Abteilung Neurobiologie der Universität Ulm

Zeitkritische Frequenzintegration im auditorischen System der Hausmaus

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades Dr.rer.nat. der Fakultät für Naturwissenschaften der Universität Ulm

vorgelegt von

Diana Beatrix Geißler

geb. Fleschhutz

aus Pfronten

Ulm 2002

Amtierender Dekan:	Prof. Dr. Wolfgang Witschel
Erster Gutachter:	Prof. Dr. Günter Ehret
Zweiter Gutachter:	Prof. Dr. Günter Kämper
Tag der mündlichen Prüfung:	28.01.2003

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung

1.1 Gerangellaute – komplexe Kommunikationslaute bei Mäusen 2
1.2 Neuronale Repräsentation akustischer Stimuli 3
1.3 c-Fos Immunzytochemie 4
1.4 Der Colliculus inferior und der auditorische Kortex 6
1.5 Fragestellung 10

2 Material und Methoden 11

2.1 Versuchstiere und deren Haltungsbedingungen 11
2.2 Verhaltensuntersuchungen zu Brutpflegereaktionen auf natürliche und synthetisierte Gerangellaute 11
2.2.1 Lautattrappen zu den Verhaltensuntersuchungen 11
2.2.2 Beschallung und Verhaltensuntersuchungen 13
2.2.3 Auswertung der Verhaltensuntersuchungen 14
2.2.4 Statistik zu den Verhaltensuntersuchungen 16
2.3 c-Fos Immunzytochemie 17
2.3.1 Elektrophysiologische Lagebestimmungen des auditorischen Kortex 18
2.3.1.1 Präparation der Tiere 18
2.3.1.2 Herstellung der Elektroden 19
2.3.1.3 Elektrophysiologie 19
2.3.2 Beschallung zur c-Fos Immunzytochemie 22
2.3.3 Präparation des Gehirns und c-Fos Reaktion 24
2.3.4 Auswertung der Gehirnschnitte 25
2.3.4.1 c-Fos Markierungen im Colliculus inferior 26
2.3.4.2 c-Fos Markierungen im auditorischen Kortex 27
2.3.5 Statistik zur c-Fos Immunzytochemie 29

3 Ergebnisse 30

3.1 Verhaltensuntersuchungen 30
3.1.1 Verhalten der Mütter 30
3.1.1.1 Natürliche Gerangellaute der Jungen und Brutpflegereaktionen der Mütter 31
3.1.1.2 Brutpflegereaktionen auf Gerangellautattrappen 36
3.1.1.3 Aufmerksamkeitsreaktionen 39
3.1.1.4 Spontane Aktionen 42
3.1.2 Verhalten der naiven Weibchen 44
3.1.2.1 Natürliche Gerangellaute der Jungen 44
3.1.2.2 Brutpflegereaktionen auf natürliche Gerangellaute der Jungen und Attrappe A 46
3.1.2.3 Aufmerksamkeitsreaktionen 49
3.1.2.4 Spontane Aktionen 50
3.2 c-Fos Immunzytochemie 51
3.2.1 c-Fos Markierungen im Colliculus inferior 51
3.2.2 c-Fos Markierungen im auditorischen Kortex 58

4 Diskussion 67

4.1 Verhaltensuntersuchungen 67
4.1.1 Verhalten der Mütter 67
4.1.1.1 Effektivität der Gerangellautattrappen 68
4.1.1.2 Brutpflegeverhalten 72
4.1.2 Verhalten der naiven Weibchen 74
4.1.3 Art der Brutpflegereaktionen und –aktionen bei Müttern und naiven Weibchen 76
4.1.4 Aufmerksamkeitsreaktionen 79
4.2 c-Fos Immunzytochemie 79
4.2.1 Markierungen im Colliculus inferior 81
4.2.2 Markierungen im auditorischen Kortex 87
4.2.3 Neuronale Grundlagen für die Verarbeitung von Gerangellauten und die c-Fos Markierungen im Colliculus inferior und auditorischen Kortex 94

5 Zusammenfassung 98

6 Abkürzungsverzeichnis 100

7 Literaturverzeichnis 101

8 Anhang 123

8.1 Muster eines Datenaufnahmeblattes zu den Verhaltensuntersuchungen 123
8.2 Skizzen der Grobkartierung des AC 124
8.3 Zeichnungen des CI 124
8.4 Zeichnungen des AC 127

1 Einleitung

Bei der Wahrnehmung und Erkennung von komplexen, akustischen Signalen, wie der menschlichen Sprachen, Melodien in der Musik oder Kommunikationslauten von Tieren, sind spektrale und temporale Aspekte der akustischen Signale von entscheidender Bedeutung. So bestimmt die Frequenzzusammensetzung von Lauten ihre spektrale Gestalt und Klangfarbe und beinhaltet in der menschlichen Sprache wichtige phonetische und prosodische Informationen. Zeitliche Aspekte spielen in der menschlichen Sprache beispielsweise bei der Unterscheidung von Phonemen eine wichtige Rolle (z.B. Liberman et al., 1957; Huggins, 1972; Pisoni, 1977). Auch wird die Tonhöhe und Klangfarbe von Lauten durch die zeitliche Kohärenz einzelner Frequenzen beeinflusst (z.B. Ciocca und Darwin, 1999).

Auf Grund der zeitlichen Kohärenz von Frequenzkomponenten ist das auditorische System in der Lage, akustische Signale in verschiedene Hörströme zu unterteilen. Ein Hörstrom setzt sich aus vielen, sich wiederholenden, gleichartigen Hörobjekten zusammen. Die Frequenzkomponenten eines akustischen Signals werden zu einem akustischen Objekt gruppiert und als ein Hörstrom wahrgenommen, wenn alle Frequenzkomponenten innerhalb eines Zeitfensters von 20 – 30 ms beginnen (z.B. Bregman und Pinker, 1978; Dannenbring und Bregman, 1978; Darwin, 1984; Darwin und Sutherland, 1984; Pisoni, 1977). Außerhalb dieses Zeitfensters werden die Frequenzkomponenten als zwei Hörströme getrennt wahrgenommen. Beginnen beispielsweise zwei Frequenzen mit einer maximalen zeitlichen Verschiebung von 29 ms zueinander, werden beide zu einem auditorischen Strom gruppiert, sodass ein einziger, sich wiederholender Laut gehört wird (Bregman und Pinker, 1978). Außerhalb dieser Grenze werden beide Frequenzen als zwei getrennte Ströme wahrgenommen, so dass zwei alternierende Töne gehört werden. Ebenso verhindert eine Lücke von minimal 40 ms zwischen einem Ton und einem Frequenzkomplex eine Verschiebung der Tonhöhe des Komplexes, d.h. einen Einfluss des Tons auf den Komplex (Ciocca und Darwin, 1999). So ist auch für die Erzeugung normal klingender Konsonanten eine Lücke von minimal 30 ms zwischen dem Konsonanten und dem nachfolgenden Vokal nötig (Huggins, 1972).

Im Gegensatz zu der Vielzahl an Daten bezüglich der Wahrnehmungsstrategien von komplexen Lauten beim Menschen, herrscht immer noch Unklarheit über die neuronalen Verarbeitungsmechanismen, welche der Erkennung von komplexen Lautmustern zu Grunde liegen. Um Mechanismen des auditorischen Systems beim Menschen, wie z.B. die Bildung von Hörströmen, verstehen zu können, werden vielfach Tiermodelle betrachtet. Das Ziel dieser Untersuchungen ist es, gemeinsame Wahrnehmungsstrategien im Hörsystem von Säugern zu finden, welche generelle Anpassungen des auditorischen Systems für die Analyse und Wahrnehmung von Kommunikationslauten bei allen Säugern, auch dem Menschen, darstellen. Im Gegensatz zum Menschen ist es im Tiermodell relativ einfach möglich, die Verarbeitung

komplexer Lautmuster auch auf neuronalem Niveau zu untersuchen. Hierbei wurden nicht nur bei Primaten Gemeinsamkeiten bezüglich der Wahrnehmung und Verarbeitung von komplexen akustischen Signalen gefunden. Auch andere Säuger, wie Mäuse (z.B. Ehret, 1992; Ehret und Haack, 1981), Chinchillas (z.B. Kuhl und Miller, 1975, 1978; Kuhl, 1981), Fledermäuse (z.B. Zimmer et al., 1998) und sogar Vögel (Dooling, 1989) weisen mit dem Menschen gemeinsame Wahrnehmungsstrategien im Hörsystem auf. In diesem Zusammenhang stellt auch das auditorische System der Hausmaus (Mus domesticus) ein geeignetes Tiermodell dar. Hier wurden, ähnlich dem Menschen, bereits Wahrnehmungsstrategien wie Kategorisierung von arteigenen Lauten entlang eines Lautdauerkontinuums (Ehret, 1992; Ehret und Haack, 1981), spektrale Frequenzintegration komplexer Kommunikationslaute (Ehret und Riecke, 2002) oder die Dominanz der linken Hemisphäre bei der Verarbeitung von Kommunikationslauten (Ehret, 1987) gefunden.

1.1 Gerangellaute – komplexe Kommunikationslaute bei Mäusen

In der vorliegenden Arbeit wurden nun die zeitlichen Aspekte für eine Frequenzintegration im auditorischen System der Hausmaus untersucht, um auch hier mögliche Gemeinsamkeiten mit dem Menschen und anderen Säugern aufzudecken. Hierzu waren die Gerangellaute junger Mäuse, aufgrund ihrer komplexen spektralen Struktur am besten geeignet. Diese werden von den Jungen abgegeben, wenn sie sich beim Säugen an die Zitzen der Mutter drängen (Ehret, 1975). Die Mütter reagieren auf die Gerangellaute der Jungen mit spezifischen Brutpflegereaktionen, wie Belecken der Jungen, einer Veränderung der Säugeposition auf den Jungen oder Nestbau (Bernecker, 1983; Ehret und Bernecker, 1986). Gerangellaute sind harmonisch aufgebaute Laute mit einer Frequenzbreite von etwa 2 – 20 kHz. Die Grundfrequenz liegt bei etwa 4 kHz, wobei mindestens zwei Obertöne zu finden sind. Die Länge der Gerangellaute beträgt im Mittel 120 ms ± 40 ms (Abbildung 1-1 A) bei einer Lautstärke von 40 – 70 dB SPL. Die harmonische Grundstruktur der Rufe kann Frequenz- und Amplitudenmodulationen der einzelnen Frequenzkomponenten beinhalten (Ehret, 1975; Haack et al., 1983).

Um die Verarbeitung komplexer, arteigener Lautmuster im Gehirn erforschen zu können, sind Verhaltensuntersuchungen bezüglich der informationstragenden Lautparameter von arteigenen, biologisch relevanten Lauten grundlegend. Ehret und Riecke (2002) haben in Attrappenversuchen die, für ein Erkennen durch die Mütter erforderliche spektrale Zusammensetzung der Gerangellaute untersucht. Diese Untersuchungen haben ergeben, dass synthetisierte Gerangellautattrappen aus drei harmonischen Frequenzen im Frequenzabstand der natürlichen Gerangellaute (3,6 kHz; 7,6 kHz; 11,4 kHz) und einer Dauer von 100 ms einen nötigen und

hinreichenden Auslöser für Brutpflegereaktionen bei den Müttern darstellen (Abbildung 1-1 B).

Hierbei stellte sich heraus, dass die Grundfrequenz eine ganz entscheidende Rolle bezüglich der Auslöseeffektivität von Brutpflegeverhalten bei den Müttern spielt. Eine Gerangellautattrappe, welche nur aus den beiden Obertönen (7,6 kHz; 11,4 kHz) besteht, stellt einen signifikant schlechteren brutpflegeauslösenden Stimulus für die Mütter dar, als Lautattrappen, welche die Grundfrequenz und beide, oder nur einen der beiden Obertöne enthalten.

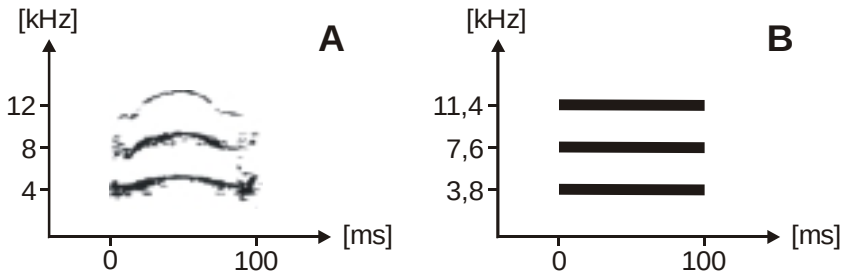


Abbildung 1-1: A: Spektrogramm eines natürlichen Gerangellautes (verändert nach Ehret, 1989). B: Synthetisierte Gerangellautattrappe, welche einen nahezu optimalen Auslöser für Brutpflegeverhalten bei den Müttern darstellt (Ehret und Riecke, 2002).

In der vorliegenden Arbeit wurden die zeitlichen Aspekte für eine Frequenzintegration im auditorischen System der Mäuse ebenfalls in psychoakustischen Untersuchungen ermittelt. Mit Hilfe von Gerangellautattrappen, bei denen der zeitliche Beginn und die Dauer der einzelnen Frequenzkomponenten systematisch verändert wurde, wurden die Reaktionen der Mütter auf die Lautattrappen in Verhaltensuntersuchungen beobachtet. Da die Mütter auf die Gerangellaute der Jungen mit dem oben beschriebenen, spezifischen Brutpflegeverhalten reagieren, war es auf Grund der Häufigkeit der Reaktionen der Mütter möglich, auf die Effektivität der Lautattrappen als Auslöser von Brutpflegeverhalten zu schließen. Auf diese Weise wurde die nötig zeitliche Kohärenz der drei Frequenzkomponenten der Gerangellaute junger Mäuse ermittelt, welche für die Lauterkennung durch die Mutter eine Rolle spielt. Anschließend wurde unter Verwendung einer optimalen und einer nicht verhaltensrelevanten Gerangellautattrappe die neuronale Repräsentation dieser Stimuli untersucht.

1.2 Neuronale Repräsentation akustischer Stimuli

Die Organisation und Funktion auditorischer Zentren im Zusammenhang mit einfachen akustischen Stimuli wurde in zahlreichen Studien, beispielsweise bei Mäusen (z.B. Stiebler,

1987a, 1987b; Stiebler et al., 1997), Ratten (z.B. Horikawa et al., 1988; Sally und Kelly, 1988), Fledermäusen (z.B. Esser und Eiermann, 1999; Suga und Jen, 1976), Katzen (z.B. Calhoun und Schreiner, 1998; Heil et al., 1992; Imig und Reale, 1980; Merzenich et al., 1975; Schreiner, 1991) und Primaten (z.B. Imig et al., 1977; Merzenich und Brugge, 1973; Morel et al., 1993) untersucht. Komplexe akustische Stimuli wurden hingegen nur in sehr wenigen Studien verwendet (z.B. Calhoun und Schreiner, 1993; Mendelson et al., 1993; Shamma et al., 1993). Die Repräsentation und Verarbeitung komplexer, arteigener Lautstrukturen wurde bislang nur anhand der Kommunikationslaute von Amphibien (z.B. Fuzessery und Feng, 1982), Vögeln (z.B. Doupe, 1997; Langner et al., 1981; Maragoliash und Fortune, 1992; Scheich et al., 1979) und Säugern (z.B. Esser et al., 1997; Ohlemiller et al., 1996; Wang et al., 1995), und anhand der Echoortungslaute von Fledermäusen (z.B. Condon et al., 1997; Fitzpatrick et al., 1993; Paschal und Wong, 1994; Suga et al., 1978, 1983) erforscht. Hierbei zeigte sich eine stimulusabhängige strukturelle und funktionelle Plastizität des auditorischen Systems, da biologisch relevante Lautmuster nicht wie einfache künstliche Laute, ohne jegliche biologische Bedeutung, verarbeitet werden (Suga, 1988, 1990). Ferner wurde eine Reorganisation von neuronalen rezeptiven Feldern nach Konditionierung auf einen akustischen Stimulus, oder nach assoziativem Lernen beschrieben (Edeline und Weinberger, 1993; Edeline et al., 1993; Recanzone et al., 1993; Weinberger, 1993; Weinberger et al., 1993).

Für die Analyse komplexer Laute ist eine Integration von spektralen und temporalen Aspekten der Laute erforderlich. Eine derartige Integration zeigen sogenannte „kombinationssensitive Neurone“. Diese antworten bevorzugt auf eine Kombination von zwei oder mehreren spektralen, oder temporalen Elementen in einem Laut (z.B. Suga et al., 1978). Solche neuronalen Antworten zeigen, dass nicht einfach von der Verarbeitung und Repräsentation einfacher akustischer Stimuli auf die Verarbeitung spektral und zeitlich komplexer Signale geschlossen werden kann.

1.3 c-Fos Immunzytochemie

In der vorliegenden Arbeit wurde die neuronale Repräsentation der komplexen Gerangellaute mit Hilfe der c-Fos Immunzytochemie untersucht. Neben der Methode der Elektrophysiologie kann neuronale Aktivität mit Hilfe der c-Fos Immunzytochemie ebenfalls auf zellulärem Niveau nachgewiesen werden (Ehret und Fischer, 1991; Friauf, 1992; Reimer, 1993; Roullier et al., 1992; Sato et al., 1992). Bei der sehr zeitaufwendigen Elektrophysiologie werden in den meisten Fällen anästhesierte Tiere verwendet, die sich nicht frei bewegen können. Durch die Narkose können neuronale Antworten in höheren auditorischen Zentren beeinflusst werden. Auch ist es technisch äußerst schwierig elektrophysiologische Ableitungen an sich frei bewegenden Tieren durchzuführen. Hier bietet die c-Fos Immunzytochemie eine schnelle und einfachere Alternative, da neuronale Aktivität bei völlig unbeeinträchtigten Tieren untersucht

werden kann, und sich die Tiere während der Beschallung völlig frei bewegen können. Aus diesem Grund kann mit der Methode der c-Fos Immunzytochemie vor allem verhaltenskorrelierte neuronale Aktivität sehr einfach untersucht werden.

Die Methode beruht darauf, das Protein c-Fos immunzytochemisch mit Hilfe von entsprechenden Antikörpern darzustellen. Neuronale Aktivität hat die Expression sehr schnell induzierbarer Gene (IEG's = immediate early genes) zur Folge (Sheng et al., 1990). Zu diesen Genen gehört auch das am schnellsten induzierbare c-fos Gen, dessen m-RNA bereits fünf Minuten nach der Stimulation synthetisiert wird. Ca. 20 min nach der Stimulation erreicht die m-RNA Konzentration ihr Maximum (Greenberg und Ziff, 1984). Die Expression des c-fos Gens kann über zwei verschiedene „second-messenger"-Systeme erfolgen (Sheng et al., 1990; siehe Abbildung 1-2). Eine Möglichkeit besteht in der Aktivierung von Ca^{2+}-Kanälen, welche durch eine Depolarisation der Zellmembran, oder durch die Bindung eines entsprechenden Neurotransmitters geöffnet werden. Durch die Aktivierung der Ca^{2+}-Kanäle führt der intrazelluläre Anstieg der Ca^{2+}-Konzentration zur Bildung eines Ca^{2+}-Calmodulin-Komplexes, der eine Ca^{2+}-Calmodulin-abhängige Proteinkinase aktiviert. Auf der anderen Seite kann die Bindung eines Neurotransmitters an seinen Rezeptor zur Aktivierung einer Adenylatcyclase führen, wodurch aus ATP (Adenosintriphosphat) cAMP (zyklisches Adenosinmonophosphat) gebildet wird. cAMP aktiviert seinerseits eine cAMP-abhängige Proteinkinase. Die Proteinkinasen können nun über die Phosphorylierung des Transkriptionsfaktors CREB (Ca^{2+}/cAMP response element binding protein) die Expression des c-fos Gens und die Synthese des c-Fos Proteins induzieren.

Das c-Fos Protein stellt einen Bestandteil von Transkriptionsfaktoren einiger zellulärer Langzeitgene dar. Da es selbst jedoch nur schlecht an den Promotor der Zielgene bindet, geht es dimere Komplexe mit anderen IEG's, wie dem c-Jun, ein. Diese Komplexe werden durch hydrophobe Wechselwirkungen zwischen Leucin-Resten, dem sogenannten Leucin-Zipper, zusammengehalten (Curran und Franza, 1988). Das gebildete c-Fos Protein kann mit Hilfe spezifischer Antikörper immunzytochemisch nachgewiesen und im Lichtmikroskop sichtbar gemacht werden (Kapitel 2.3.3).

Aufgrund der schnellen Expression des c-fos Gens und der geringen Halbwertszeit des c-Fos Proteins von 10 – 15 min (Sheng und Greenberg, 1990), kann das c-Fos als Marker unmittelbarer, neuronaler Antworten auf einen bestimmten Stimulus angesehen werden. Die Synthese von c-Fos kann beispielsweise durch elektrische (Dragunow und Robertson, 1987; Sagar et al., 1988; Sharp et al., 1989), pharmakologische (Dragunow et al., 1990; Jennes et al., 1992; Witschafter und Asin, 1995) oder sensorische Stimuli (z.B. Aronin et al., 1990; Ehret und Fischer, 1991; Reimer, 1993; Rouiller et al., 1992; Sato et al., 1992) induziert werden. Nach Beschallung mit Reintönen bestimmter Frequenzen wurden c-Fos positive Zellen in verschiedenen Zentren der Hörbahn von Säugern (Ehret und Fischer, 1991; Friauf, 1992; Friauf, 1995; Reimer, 1993; Rouiller et al., 1992; Sato et al., 1992; Scheich und Zuschratter, 1995) gefunden. Die c-Fos positiven Zellen waren hierbei, in Übereinstimmung mit elektrophysiologischen Untersuchungen, in den der Reizfrequenz entsprechenden Gebieten

der Hörbahn lokalisiert (Ehret und Fischer, 1991; Reimer, 1993; Rouiller et al., 1992). Aus diesem Grund hat sich die Methode der c-Fos Immunzytochemie als nützlich erwiesen, um neuronale Aktivität, die durch akustische Stimuli verursacht wird, zu kartieren.

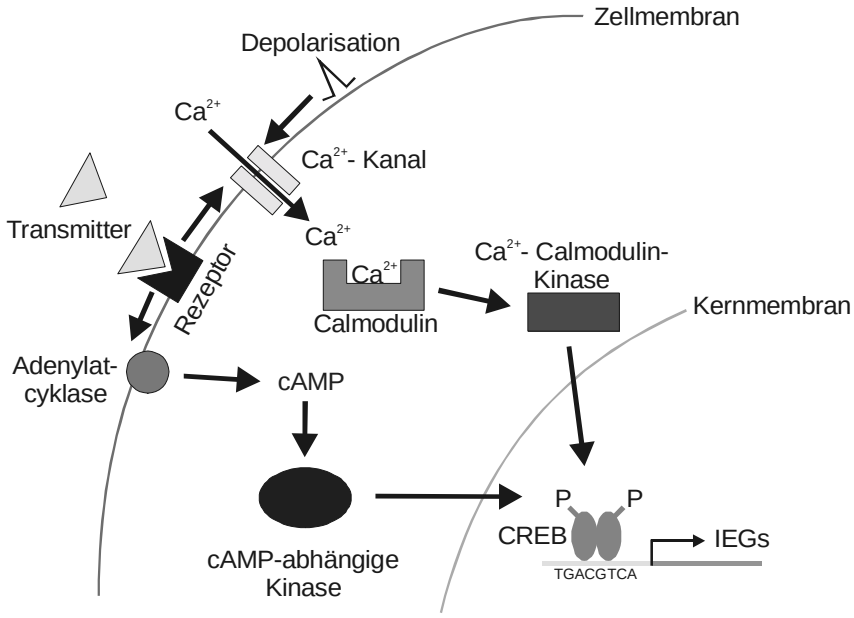


Abbildung 1-2: Darstellung der Informationsübertragung in der Nervenzelle zur Transkription des c-fos Gens über zwei verschiedene Aktivierungssysteme (verändert nach Sheng et al., 1990).

1.4 Der Colliculus inferior und der auditorische Kortex

In der vorliegenden Arbeit wurde mit Hilfe der c-Fos Immunzytochemie die Gerangellautverarbeitung im auditorischen System der Mäuse sichtbar gemacht. Hierbei wurde die, durch Gerangellaute induzierte neuronale Aktivität im Colliculus inferior (CI) und im auditorischen Kortex (AC) der Mäuse untersucht. Diese beiden höheren auditorischen Zentren stellen aufgrund ihrer Konnektivität, ihrer Frequenzrepräsentation und ihrer neuronalen Struktur die wichtigsten Zentren der Hörbahn dar. Der CI befindet sich im Mittelhirn und erhält aufsteigende Projektionen nahezu aller Hirnstammnuklei, sowie absteigende Projektionen aus dem Corpus geniculatum mediale und dem AC. (Adams, 1979; Aitkin, 1986; Frisina et al., 1989; Oliver und Huerta, 1992). Auf der anderen Seite ziehen von hier Projektionen über das Corpus geniculatum mediale in den AC. Somit stellt der CI ein wichtiges auditorisches Integrationszentrum dar. Aufgrund der zentralen Bedeutung des CI ist die neuronale Verarbeitungsweise komplexer akustischer Lautmuster im CI grundlegend für das Verständnis der

Mechanismen, durch welche der neuronale Kode dieser Laute im Thalamus und AC repräsentiert wird (Rees und Møller, 1983).

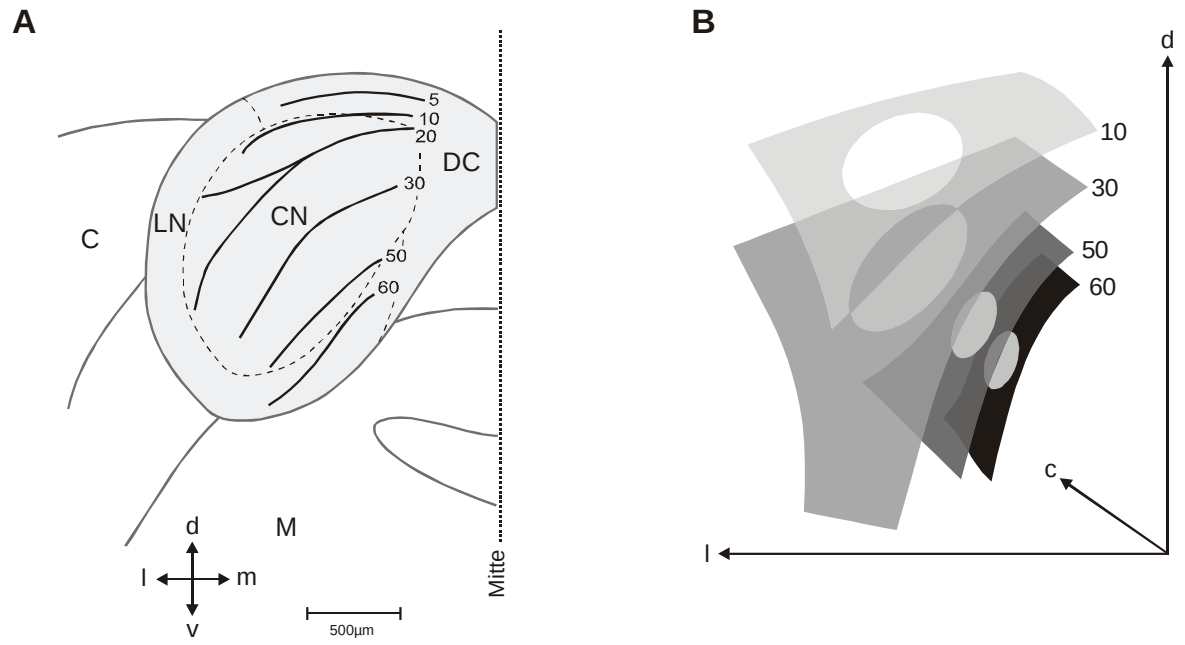


Abbildung 1-3: A: Frontalschnitt durch den CI mit Verlauf der Isofrequenzebenen (5 – 60 kHz). Die drei Regionen des CI sind ebenfalls eingezeichnet (verändert nach Stiebler und Ehret, 1985). (C = Cerebellum, CN = zentraler Nukleus, DC = dorsaler Kortex, LN = lateraler Nukleus, M = Medulla oblongata, d = dorsal, l = lateral, m = medial, v = ventral) B: Dreidimensionale Darstellung der Isofrequenzebenen (10 – 60 kHz) im CI. Die hervorgehobenen Bereiche innerhalb der Isofrequenzebenen stellen die Gegenden mit den niedrigsten Antwortschwellen der Neurone dar (verändert nach Stiebler und Ehret, 1985). (c = caudal)

Der CI kann anatomisch (Meininger et al., 1986; Willard und Ryugo, 1983) und physiologisch (Stiebler und Ehret, 1985; Stiebler, 1987a) in drei Regionen, den zentralen Nukleus (CN), den lateralen Nukleus (LN) und den dorsalen Kortex (DC) unterteilt werden (Abbildung 1-3 A). Die auf der Basilarmembran linear, tonotop angeordnete Frequenzinformation wird im CN und DC in dreidimensionalen Isofrequenzebenen repräsentiert, in denen Neurone mit ähnlichen charakteristischen Frequenzen zu finden sind (Reale und Imig, 1980). Als charakteristische Frequenz eines Neurons wird die Frequenz bezeichnet, bei der mit einer minimalen Lautstärke Antworten ausgelöst werden können. Die Isofrequenzebenen bestehen aus den fibrodendritischen Laminae, welche von den Bipolarzellen und den Afferenzen des Lemniscus lateralis gebildet werden. Untereinander werden die Schichten durch die Multipolarzellen verbunden (Morest und Oliver, 1984; Oliver und Morest, 1984). Die Frequenzen steigen im CN und DC von dorsolateral nach ventromedial an (Stiebler und Ehret, 1985; Stiebler, 1987a; siehe Abbildung 1-3 A), wobei die Isofrequenzebenen über die

Grenzen der Nuklei hinweggreifen. Innerhalb einer Isofrequenzebene sind die Antwortschwellen der Neurone zentrifugal, mit den niedrigsten Schwellenwerten im Zentrum der Ebenen (Stiebler und Ehret, 1985; Stiebler, 1987a; siehe Abbildung 1-3 B), angeordnet. Im LN des CI hingegen ist eine vom restlichen CI unabhängige Frequenzrepräsentation zu finden. Hier sind niedrige Frequenzen lateral und dorsal, und höhere Frequenzen an der Grenze zum CN lokalisiert, wobei keine Frequenzen im hohen Ultraschallbereich repräsentiert sind (Stiebler und Ehret, 1985; Stiebler, 1987a).

Im Neokortex der Maus befindet sich der AC caudolateral und wird von den zytologisch definierten Regionen 41, 22 und 36 gebildet (Caviness, 1975; siehe Abbildung 1-4 A und C). Hierbei lässt sich der AC nur durch intrakortikale Verbindungen und Projektionen aus dem Thalamus und den Nuclei des Hirnstammes definieren (Rouiller, 1997; Winer, 1992).

Im AC können von außen nach innen sechs Schichten mit strukturellen und funktionellen Unterschieden abgrenzt werden. In der äußersten Schicht (Schicht I) sind Fasern und Dendriten zu finden. Die Schicht II enthält kleine Zellen, wobei hauptsächlich Pyramidenzellen zu finden sind. In Schicht III sind Pyramidenzellen mittlerer Größe und Multipolarzellen enthalten. Schicht IV besteht aus Sternzellen, wohingegen in den Schichten V und VI große Pyramidenzellen zu finden sind (Winer, 1992). In allen Schichten liegen Neurone mit ähnlichen charakteristischen Frequenzen säulenartig übereinander. Verschiedene Schallfrequenzen sind im AC demnach nur zweidimensional repräsentiert.

Der AC kann aufgrund der Verteilung der Frequenzen und der Antworteigenschaften der Neurone in fünf verschiedene Felder unterteilt werden (Stiebler, 1987a; Stiebler et al., 1997; siehe Abbildung 1-4 B). Die Größe des gesamten AC zeigt individuell eine große Variabilität, sodass auch die Dimension der einzelnen auditorischen Felder stark variiert. Die relative Lage der Felder zueinander bleibt jedoch stets erhalten (Stiebler, 1987a, 1987b; Stiebler et al., 1997). Im anterioren auditorischen Feld (AAF) und dem caudal angrenzenden primären auditorischen Feld (AI) ist eine streng tonotope Frequenzverteilung zu erkennen (Abbildung 1-4 B). Die charakteristischen Frequenzen der Neurone im AAF steigen von rostral nach caudal an, bzw. fallen im AI von rostral nach caudal ab. Die elektrophysiologisch charakterisierten Neurone in beiden Feldern weisen enge V-förmige Frequenzabstimmungskurven (Tuningkurven) mit charakteristischen Frequenzen zwischen 3,1 kHz und 41,4 kHz auf. Frequenzen über 45 kHz sind in einem speziellen Ultraschallfeld (UF), in dem keine klare Tonotopie erkennbar ist, dorsal des AAF zu finden (Stiebler, 1987a; Stiebler et al., 1997). Das sekundäre auditorische Feld (AII) liegt ventral von AAF. Hier sind die charakteristischen Frequenzen wiederum nicht eindeutig tonotop angeordnet, wobei alle Frequenzen des Hörbereichs repräsentiert sind. Die Neurone zeichnen sich durch eine schnelle Habituation und breite, nicht V-förmige Frequenzabstimmungskurven aus (Stiebler, 1987a; Stiebler et al., 1997). Dorsocaudal des AI befindet sich das dorsoposteriore Feld (DP), in dem die Neurone eine hohe Spontanaktivität mit breiten Frequenzabstimmungskurven besitzen. Die Frequenzen

reichen bis in den Ultraschallbereich, ohne dass eine tonotope Ordnung zu erkennen ist (Stiebler, 1987a, 1987b; Stiebler et al., 1997).

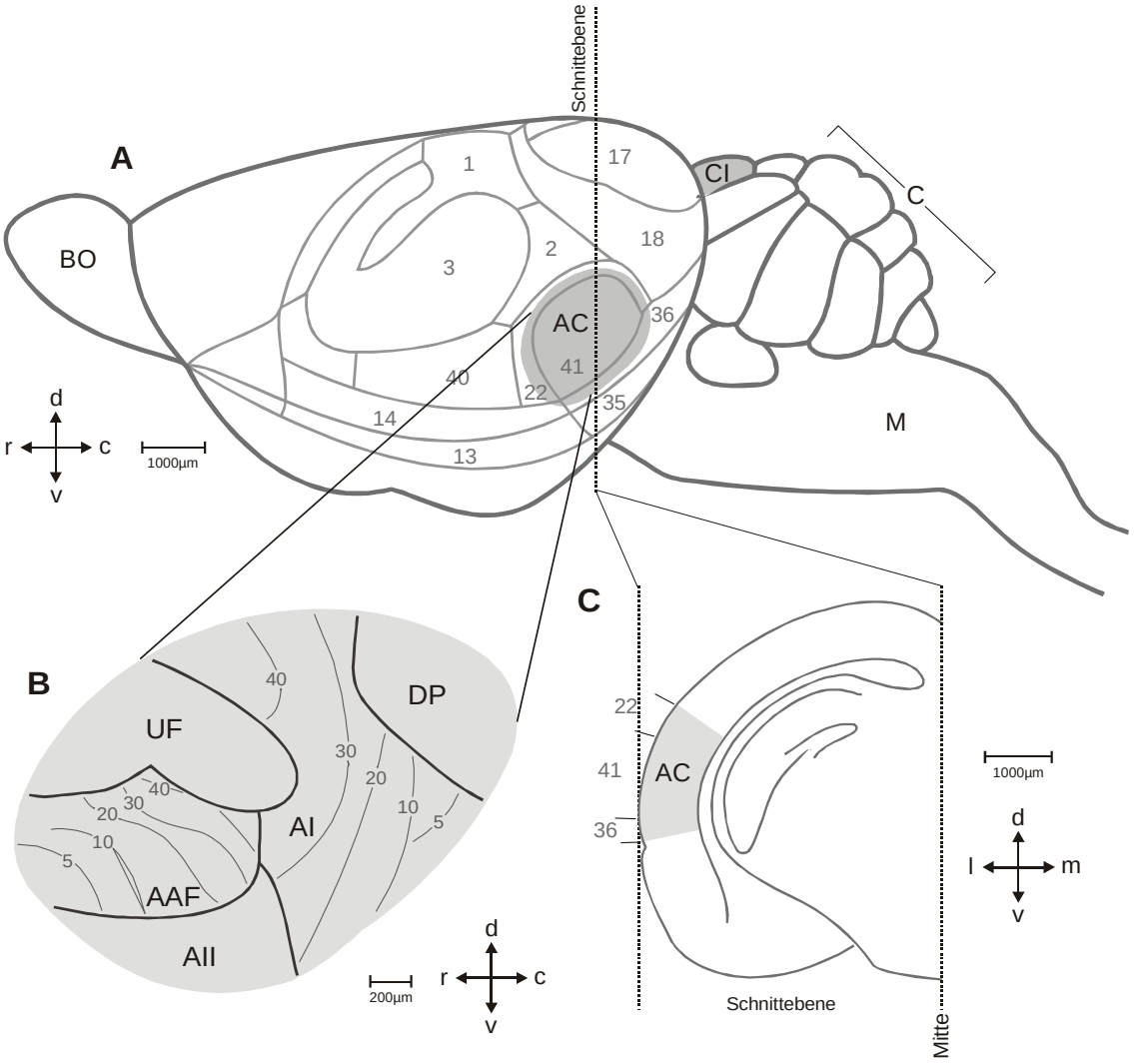


Abbildung 1-4: A: Zytologisch definierte Regionen des linken Neokortex der Maus (Zahlen in den abgegrenzten Gehirnbereichen) mit der Lage des AC (nach Caviness, 1975), sowie die Lage des CI im Gesamtgehirn. (BO = Bulbus olfactorius, C = Cerebellum, M = Medulla oblongata, c = caudal, d = dorsal, r = rostral, v = ventral) B: Lage der auditorischen Felder im AC mit Repräsentation der charakteristischen Frequenzen von Neuronen oder kleinen Neuronengruppen in kHz (nach Stiebler et al., 1997). (AI = primäres auditorisches Feld, AII = sekundäres auditorisches Feld, AAF = anteriores auditorisches Feld, DP = dorsoposteriores Feld, UF = Ultraschallfeld) C: Frontalschnitt durch den Neokortex mit der Lage des AC (Region 22; 41; 36). (l = lateral, m = medial)

1.5 Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit wurden zunächst die notwendigen zeitlichen Aspekte komplexer Kommunikationslaute für eine Erkennung durch die Mutter in Verhaltensuntersuchungen mit synthetisierten Gerangellautattrappen untersucht. Anschließend wurde unter Verwendung einer optimalen und einer nicht verhaltensrelevanten Gerangellautattrappe die neuronale Repräsentation der akustischen Stimuli in zwei auditorischen Zentren, dem CI und dem AC, mit Hilfe der c-Fos Immunzytochemie dargestellt. Das Ziel der immunzytochemischen Untersuchungen war, anhand von Unterschieden im Markierungsmuster zwischen den Versuchsgruppen die auditorischen Felder zu identifizieren, in denen die Verarbeitung und Erkennung der komplexen Kommunikationslaute stattfindet. Ferner wurde anhand der Markierungen im CI untersucht, ob eine Analyse komplexer akustischer Signale bereits im auditorischen Mittelhirn stattfindet.

Zusätzlich wurde der Frage nachgegangen, in wieweit und in welcher Weise Weibchen, die selber noch nie Mutter waren, auf die natürlichen Gerangellaute nestjunger Mäuse und auf eine optimale Gerangellautattrappe reagieren. Bei den hochfrequenten Isolationslauten der Jungen benötigen völlig unerfahrene, naive Weibchen erst einen Tag lang Kontakt zu den Jungen, wobei sie die Möglichkeit haben, sich mit der Mutter um die Jungen zu kümmern, um das adäquate Eintrageverhalten zu zeigen. Um die Ultraschallaute jedoch eindeutig als Schlüsselreiz von anderen nicht relevanten Stimuli unterscheiden zu können, benötigen sie mehr als einen Tag lang Kontakt zu den Jungen (Ehret et al., 1987). Aus diesem Grund ist es interessant zu fragen, ob die naiven Weibchen überhaupt Brutpflegeverhalten gegenüber den Jungen zeigen, und ob diese ebenfalls eine gewisse Lernphase benötigen, um die Gerangellaute als brutpflegeauslösenden Stimulus zu erkennen.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere und deren Haltungsbedingungen

Als Versuchstiere dienten in der vorliegenden Arbeit zwei bis vier Monate alte weiße Labormäuse (Mus musculus) des Auszuchtstammes NMRI. Die Tiere wurden in Makrolon Standardkäfigen (43 x 26,5 x 16 cm), mit Weichholzgranulat-Einstreu (Altromin), bei einer Temperatur von ca. 22 °C gehalten. Die Licht- und Dunkelperiode betrug jeweils 12 h, mit einer Hellphase von 8 – 20 Uhr. Wasser und Futter (Standard Diätfutter 1310, Altromin) stand den Tieren ad libitum zur Verfügung.

2.2 Verhaltensuntersuchungen zu Brutpflegereaktionen auf natürliche und synthetisierte Gerangellaute

2.2.1 Lautattrappen zu den Verhaltensuntersuchungen

Alle 17 synthetisierten Lautattrappen bestanden aus den drei harmonischen Frequenzen 3,8 kHz, 7,6 kHz und 11,4 kHz, bei denen die Dauer und der relative Beginn der einzelnen Frequenzkomponenten systematisch verändert wurde (siehe Abbildung 2-1).

Ausgehend von Attrappe A, bei der alle drei Frequenzkomponenten gleichzeitig mit einer Dauer von 100 ms generiert wurden, konnte das Einsetzen der Grundfrequenz (3,8 kHz) bei den Attrappen B – G und H – L variiert werden. Alle drei Frequenzen endeten bei den Attrappen A – L synchron. In Attrappe B – G begann die Grundfrequenz bereits 10, 20, 30, 35, 40 oder 50 ms früher als die beiden Obertöne. Bei den Attrappen H – L dagegen, wurde die Grundfrequenz erst mit einer Verzögerung von 10, 20, 30, 40 oder 50 ms gegenüber den Obertönen eingespielt. Des weiteren wurde die Gesamtdauer von 100 ms der synchron generierten Frequenzen in Attrappe A auf 50, 70 oder 80 ms (Attrappe M – O) verkürzt. Bei den Attrappen P und Q dauerten alle drei Frequenzen 100 ms, wobei die Grundfrequenz um 30 ms früher oder später gegenüber den Obertönen einsetzte.

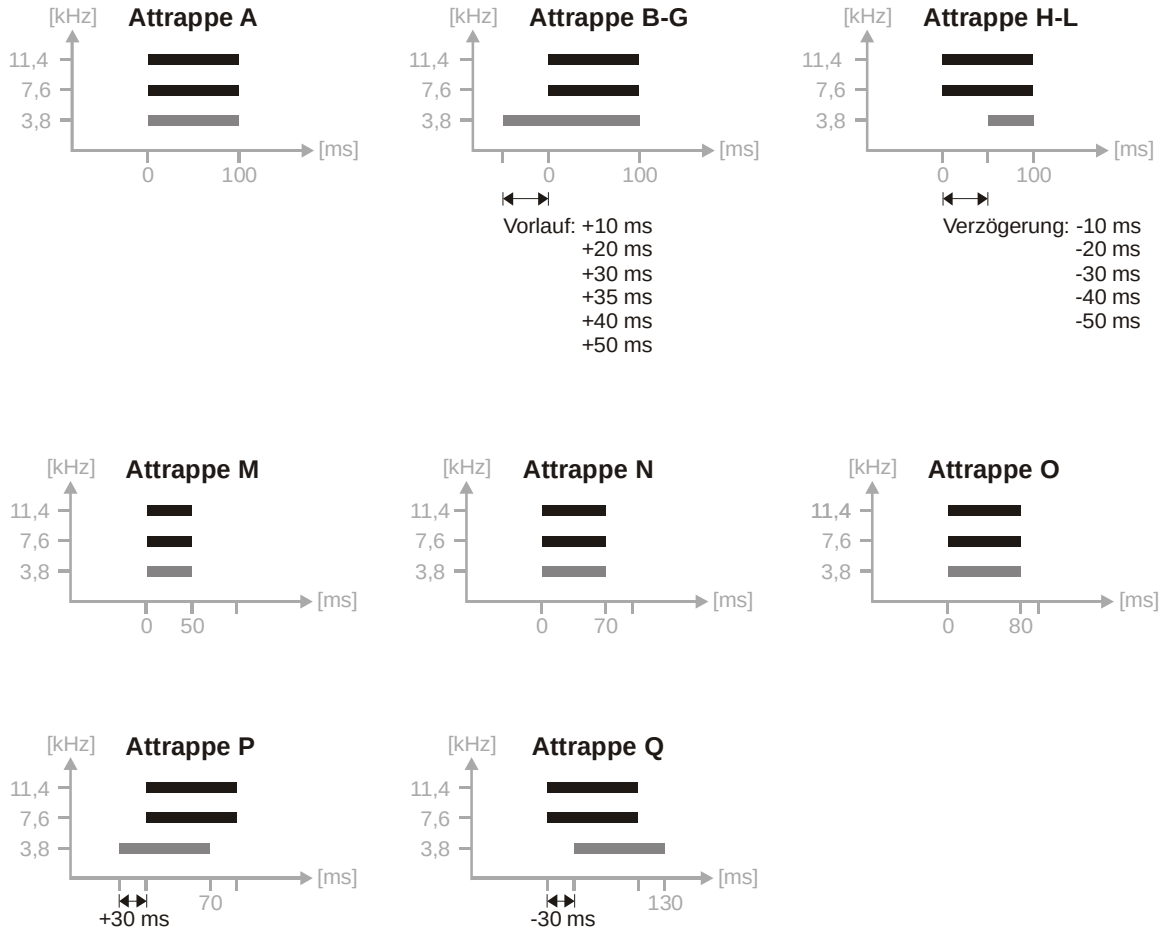


Abbildung 2-1: Schematische Darstellung der Lautattrappen für die Verhaltensuntersuchungen.

Alle Lautattrappen wurden digital (386 PC, 125 kHz DA/AD Karte Engeneering Design, Signal Software 2.2) als Serien von vier identischen Pulsen generiert. Das Interpulsintervall, bezogen auf die beiden Obertöne, betrug jeweils 200 ms. Bei den einzelnen Frequenzen handelte es sich um reine Sinustöne, deren Phasenlage zueinander gleich war. Ihre Anstiegs- und Abfallzeit betrug jeweils 5 ms. Mit Hilfe eines Verstärkers (Denon PMA-1060) konnte das Bandpass gefilterte Signal (3 – 12 kHz, Kemo VBF 8, 96 dB/Oktave) auf eine Lautstärke von insgesamt 70 dB SPL eingestellt werden, wobei alle Komponenten die gleiche Lautstärke (Nicolet 446B spectrum analyzer) von jeweils 60,5 dB SPL besaßen. Vom Verstärker ging das Signal direkt an einen Lautsprecher (Dynaudio D 28) mit einer flachen Frequenzkennlinie zwischen 3 – 19 kHz (Nicolet 446B spectrum analyzer). Zur Kontrolle wurde das Signal an einem Oszilloskop (Tektronik 5103N) sichtbar gemacht. Die Lautstärke im Käfig mit Einstreu wurde regelmäßig mit einem geeichten Kondensatormikrophon (Bruel & Kjaer 4133) überprüft, das mit einem Messverstärker (Bruel & Kjaer 2636) verbunden war. Der Versuchsaufbau und die Verschaltung der Geräte für die Verhaltensuntersuchungen sind in Abbildung 2-2 schematisch dargestellt.

2.2.2 Beschallung und Verhaltensuntersuchungen

Die Reaktionen auf natürliche Gerangellaute junger Mäuse und die beschriebenen 17 synthetisierte Gerangellautattrappen (A – Q) wurden an

- 58 primiparen Müttern im Alter von acht bis zehn Wochen, mit ihren ein bis fünf Tage alten Jungen getestet.

Des weiteren wurde das Verhalten von naiven Weibchen auf natürliche Gerangellaute untersucht. Bei den naiven Weibchen handelte es sich um ca. acht Wochen alte Weibchen, die selber noch nie Mutter waren und auch keinerlei Erfahrung im Umgang mit Jungen besaßen. Diese Weibchen wurden bereits vor der Geburt der Jungen zu trächtigen Weibchen in den Käfig gesetzt. Nach der Geburt der Jungen hatten die naiven Weibchen so die Möglichkeit Brutpflegeerfahrung zu sammeln und sich mit der Mutter um den Wurf zu kümmern.

In Verhaltensbeobachtungen wurden zunächst die Reaktionen von

- vier naiven Weibchen, welche zwei, drei oder fünf Tage Brutpflegeerfahrung sammeln konnten, auf natürliche Gerangellaute getestet.

Daraufhin wurde das Verhalten auf die synthetisierte

- Lautattrappe A von zehn naiven Weibchen mit ein bis fünf Tagen Brutpflegeerfahrung untersucht.

Auf Grund der sehr unterschiedlichen Anzahl an Jungen pro Wurf, wurde diese für die Verhaltensuntersuchungen auf 14 Junge normiert. Hierzu war es bei einer niedrigen Jungenzahl nötig, den Weibchen fremde, gleichaltrige Junge ins Nest zu legen, die sofort als „eigene“ Junge angenommen wurden. Auf diese Weise herrschten bei allen Tieren die gleichen Reizbedingungen und Veränderungen im Brutpflegeverhalten waren nicht auf eine unterschiedliche Anzahl an Jungen zurückzuführen.

Da die natürlichen Gerangellaute der Jungen unter der säugenden Mutter abgegeben werden, wurden die Versuchstiere in Spezialkäfigen (26,5 x 20 x 14 cm), mit teilweise schalldurchlässigem Boden, gehalten. Bei diesen Käfigen befand sich in der Mitte des Käfigbodens ein kreisrundes (∅ 9 cm), mit Mikrophongaze (Polyamid, 160µ) abgedecktes Loch. Auf diese Weise konnte immer ein Teil des Nestbereiches, den die Tiere grundsätzlich in einer der vier Käfigecken angelegt hatten, von unten beschallt werden. Auf den Käfigboden wurde ca. 1 cm Weichholzgranulat-Einstreu (Altromin) gegeben.

Die Verhaltensbeobachtungen wurden unter Rotlicht (Dunkelkammerleuchte, Osram) in einem schallisolierten und reflexionsarmen Raum, entweder morgens zwischen 9 – 12 Uhr oder abends zwischen 17 – 20 Uhr, durchgeführt. Damit sich die Tiere an die neue Situation gewöhnen konnten, wurde der Käfig mit den Weibchen und den Jungen mindestens zwei Stunden vor Beginn der Versuche in diesen Raum gebracht. Hier wurde das Abdeckgitter von dem Testkäfig entfernt und durch eine 15 cm hohe Kunststoff-Umrandung ersetzt. Nach der Eingewöhnungszeit konnte davon ausgegangen werden, dass die Tiere nicht mehr durch Angst oder Erkundungsverhalten beeinflusst waren.

Die Testzeit von 45 min begann, wenn sich die Weibchen in Säugestellung sitzend auf den Jungen befanden. Verließ das Weibchen während dieser Zeit das Nest, so wurde der Versuch bis zur Rückkehr ins Nest unterbrochen. Während der Testzeit hörte das Weibchen zum einen die natürlichen Gerangellaute der Jungen und zum anderen jeweils eine eingespielte Lautattrappe. Die Lautattrappen wurden möglichst in regelmäßigen Abständen eingespielt (ca. 55 Reize pro Testzeit), wobei darauf geachtet wurde, dass die Reize nicht mit den natürlichen Gerangellauten der Jungen zusammenfielen. Die Reizserien konnten direkt über ein Triggersignal am Computer ausgelöst werden. Die Reaktionen der Weibchen auf die natürlichen Gerangellaute der Jungen und die künstlichen Lautattrappen wurden über den gesamten Beobachtungszeitraum über eine Videokamera mit Mikrophon (CCD-Kamera-Modul schwarz/weiß, Conrad Elektronik) beobachtet (Monitor, JVC) und aufgezeichnet (Videorecorder, Grundig VS 550 VPS) (siehe Abbildung 2-2).

Eine Mutter wurde mit maximal drei verschiedenen Lautattrappen an verschiedenen Tagen getestet. Jede Attrappe wurde insgesamt zehnmal bei verschiedenen Müttern verwendet. Die naiven Weibchen wurden jeweils nur einmal getestet.

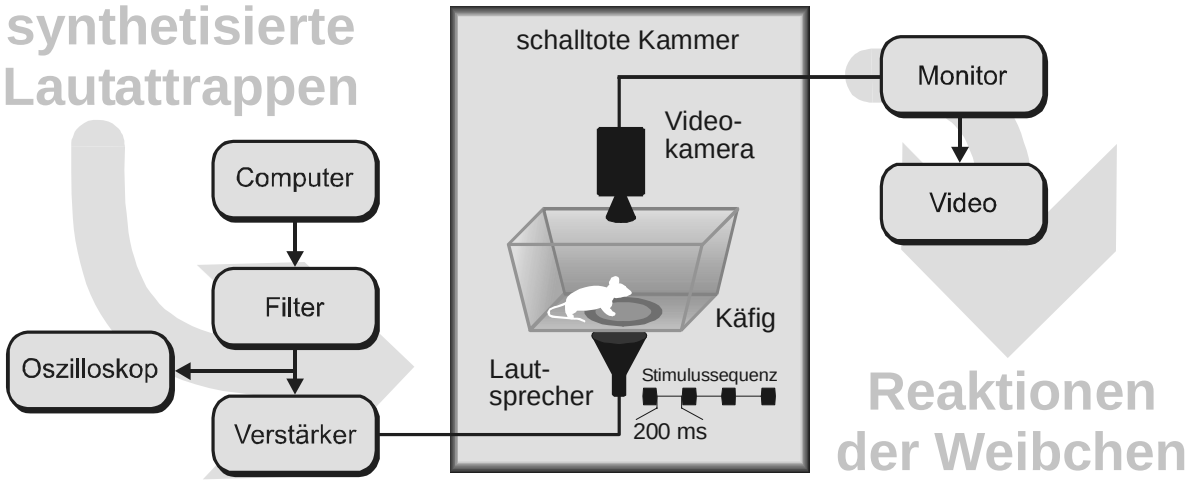


Abbildung 2-2: Geräteaufbau zu den Verhaltensuntersuchungen.

2.2.3 Auswertung der Verhaltensuntersuchungen

Die natürlichen Gerangellaute der Jungen bestehen aus Rufsequenzen mit einer unterschiedlichen Anzahl an Einzellauten. Daher wurden die von den Jungen während der Verhaltensbeobachtung abgegebenen Rufsequenzen in Rufsequenzgruppen mit einer unterschiedlichen Zahl an Einzellauten unterteilt:

- Nur ein Gerangellaut,
- zwei bis fünf Einzellaute,
- sechs bis zehn Einzellaute oder
- mehr als zehn Einzellaute innerhalb einer Rufsequenz.

Eine Rufsequenz galt als beendet, wenn mindestens drei Sekunden (Ehret und Riecke, 2002) lang keine weiteren Laute von den Jungen abgegeben wurden.

Die innerhalb der Testzeit auftretenden Verhaltensweisen der Weibchen wurden protokolliert und unterschieden in:

- **Reaktionen nach Jungenlaut:** Hierzu wurden alle Verhaltensweisen gezählt, welche das Weibchen unmittelbar (bis zu drei Sekunden) nach den natürlichen Gerangellauten der Jungen zeigte. Hierbei wurden die Reaktionen den unterschiedlichen Rufsequenzgruppen zugeordnet.
- Die Anzahl der von den Jungen produzierten Rufsequenzen, die bei den Weibchen keine Reaktion hervorrufen konnten, wurden den „**Nichtreaktionen“ nach Jungenlaut** zugeordnet.
- **Reaktionen nach Reiz:** Alle Reaktionen der Weibchen unmittelbar (bis zu drei Sekunden) nach dem Einspielen einer synthetisierten Lautattrappe.
- **„Nichtreaktionen“ nach Reiz:** Alle künstlich eingespielten Lautattrappen, die bei den Weibchen keine Reaktion hervorrufen konnten.
- **Spontane Aktionen**, welche die Weibchen ohne vorausgegangene natürliche Gerangellaute oder künstliche Lautattrappe zeigten.
- **Unklare Situationen**: Eingespielte Lautattrappen, die mit natürlichen Gerangellauten zusammenfielen, wurden als unklare Situationen eingestuft, da in diesem Fall nicht eindeutig bestimmt werden konnte, wodurch eine Reaktion der Weibchen ausgelöst wurde.

Die Reaktionen und spontanen Aktionen auf die natürlichen Gerangellaute der Jungen oder die künstlichen Lautattrappen setzten sich aus drei Brutpflegereaktionen zusammen.

- Beleckte das Weibchen die Jungen so fiel dies unter die Verhaltensweise **Lecken**.
- Als **Lageveränderung** wurden alle Änderungen der Säugeposition durch eine Körperdrehung oder durch deutliches Bewegen des Oberkörpers bezeichnet.
- Bei der Verhaltensweise **Nestbau**, wühlte das Weibchen mit der Schnauze oder den Pfoten im Einstreu, oder entfernte Kot aus dem Nestbereich.

Als Reaktion oder spontane Aktion war neben dem Brutpflegeverhalten auch das Verhalten **Aufmerksamkeit** zu beobachten, worunter ein deutliches Heben des Kopfes und anschließendes Umherschauen im Käfig fiel.

Traten auf eine akustische Stimulation mehrere Reaktionen auf, so wurde nur die erste Verhaltensänderung in den Auswertungen quantitativ erfasst.

Als Maß für die Effektivität der Lautattrappe, im Vergleich zu den natürlichen Gerangellauten beim Auslösen des Brutpflegeverhaltens, wurde der Qualitätsquotient Q aus der relativen Antworthäufigkeit auf die Lautattrappe und der relativen Antworthäufigkeit auf die natürlichen Gerangellaute gebildet (siehe Gleichung 1).

$$Q = \frac{c(a+b)}{(c+d)a}$$

Gleichung 1: Qualitätsquotient Q der Lautattrappen berechnet aus der relativen Antworthäufigkeit auf die Lautattrappe und der relativen Antworthäufigkeit auf die natürlichen Gerangellaute. (a = Anzahl der Brutpflegereaktionen nach Jungenlaut; b = Anzahl der „Nichtreaktionen" nach Jungenlaut; c = Anzahl der Brutpflegereaktionen nach Reiz; d = Anzahl der „Nichtreaktionen" nach Reiz)

Weibchen mit einer geringen inneren Motivation, auf die Rufe ihrer Jungen zu reagieren, zeigten während den Verhaltensuntersuchungen ein insgesamt niedriges Maß an Reaktionen auf die natürlichen und synthetisierten Gerangellaute. Da mit Hilfe des Qualitätsquotienten Q jedoch relative Reaktionshäufigkeiten miteinander verglichen wurden, konnte die momentane Motivation der Weibchen, auf die Gerangellaute zu reagieren, eliminiert werden. Eine geringe Motivation der Weibchen während der Verhaltensuntersuchungen, zeigt somit keinen Einfluss auf die Q-Werte. Eine Veränderung der Q-Werte ist nur auf eine unterschiedliche Antworthäufigkeit auf die Lautattrappen, bedingt durch ihre Auslöseeffektivität, zurückzuführen. Ein Wert von Q = 0 würde demnach bedeuten, dass ein Weibchen keinerlei Reaktionen auf die eingespielte Lautattrappe zeigte. Bei einem Wert von Q = 1 hingegen reagierte das Weibchen im gleichen Maße auf die natürlichen und künstlichen Gerangellaute.

2.2.4 Statistik zu den Verhaltensuntersuchungen

Um die einzelnen Daten aus den Verhaltensuntersuchungen statistisch miteinander zu vergleichen wurden folgende Tests verwendet. Als Signifikanzniveau wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0{,}05$ bei zweiseitigem Test festgelegt. Zunächst wurde die Verteilungsform der ermittelten Daten an Hand des Kolmogorof-Smirnoff-Tests und seiner Lilliefors-Modifikation (Sachs, 1999) bestimmt. Bei nicht normalverteilten Daten, oder Daten, bei denen die Verteilung aufgrund ihres geringen Umfangs nicht eindeutig bestimmt werden konnte, wurden für weitere statistische Vergleiche verteilungsunabhängige Tests verwendet. In diesem Fall wurde in den Ergebnissen der Median mit seinen beiden Quartilen (Q_{25} und Q_{75}) anstelle des Mittelwertes (bei normalverteilten Daten) angegeben.

Normalverteilte Daten wurden mit Hilfe des parametrischen t-Tests (Sachs, 1999) miteinander verglichen. Bei nicht-normalverteilten Daten wurde mit Hilfe des nichtparametrischen H-Tests von Kruskal und Wallis (Sachs, 1999) überprüft, ob die Daten mehrerer Versuchsgruppen der gleichen Grundgesamtheit entstammen. Unterschiede zwischen den Daten zweier

Versuchsgruppen wurden anschließend mit dem U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney (Sachs, 1999) ermittelt.

Da die Verhaltensweisen Lecken, Lageveränderung, Nestbau und Aufmerksamkeit als Reaktionen der Weibchen auf einen akustischen Reiz nebeneinander auftraten, gelten diese statistisch als verbundene Verhaltensweisen. Unterschiede zwischen den Häufigkeiten der gezeigten Verhaltensweisen wurden daher mittels des Wilcoxon-Tests für Paardifferenzen (Sachs, 1999) ermittelt. Da die im Test ermittelten Differenzen nicht immer normalverteilt waren, wurde für alle Vergleiche der Wilcoxon-Test für Paardifferenzen verwendet, welcher auch normalverteilte Differenzen zuverlässig abtestet.

Um einen Einfluss des Alters der Jungen auf die Rufaktivität der Jungen oder die Reaktionen der Weibchen feststellen zu können, wurde eine Korrelationsanalyse (Sachs, 1999) durchgeführt. Ebenso wurde der Einfluss der Lautattrappe auf das Aufmerksamkeitsverhalten der Mütter mittels einer Korrelationsanalyse untersucht.

Da eine Mutter zum Teil bis zu dreimal mit unterschiedlichen Lautattrappen an verschiedenen Tagen getestet wurde, gelten die erzielten Daten als statistisch abhängig. Daher wurde zunächst mit Hilfe einer Korrelationsanalyse (Sachs, 1999) überprüft, ob die Qualitätsquotienten Q, welche von mehrfach (zweiter oder dritter Test) getesteten Tieren stammen, von der Qualität der zuvor (erster und/oder zweiter Test) verwendeten Lautattrappe oder den zuvor gezeigten Reaktionsverteilungen beeinflusst wurden. Hierbei ergab sich in keinem der 11 Fälle eine statistisch signifikante Korrelation ($p > 0,3$) zwischen den Werten. Aus diesem Grund wurden alle ermittelten Daten als statistisch unabhängig angesehen. Zusätzlich wurden voneinander unabhängige Q-Wertdaten statistisch miteinander verglichen. Hierzu wurden von mehrfach getesteten Müttern nur die Daten der ersten Tests verwendet, woraus eine geringere Anzahl (minimal $n = 6$, maximal $n = 9$) an Q-Werten resultiert. Auf diese Weise wurden in den statistischen Tests nur Q-Werte verwendet, welche nicht möglicherweise durch vorangegangene Verhaltensuntersuchungen beeinflusst wurden. Die Daten wurden, wie auch die gesamten Daten, zunächst mit dem H-Test von Kruskal und Wallis (Sachs, 1999) und anschließend mit dem U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney (Sachs, 1999) statistisch untersucht. Hierbei ergaben sich die gleichen statistischen Unterschiede wie mit den Gesamtdaten, wobei das Signifikanzniveau aufgrund des geringeren Stichprobenumfangs leicht absank. Auf diese Weise wurde nochmals die Unabhängigkeit der Daten gezeigt.

2.3 c-Fos Immunzytochemie

Mit Hilfe der c-Fos Immunzytochemie kann neuronale Aktivität auf zellulärem Niveau nachgewiesen werden. Versuche unterschiedlicher Arbeitsgruppen haben gezeigt, dass eine Beschallung von Mäusen mit Tonpulsen unterschiedlicher Frequenzen eine Expression des c-fos

Gens in den Stationen der Hörbahn zur Folge hat (Ehret und Fischer, 1991; Friauf, 1992, 1995; Reimer, 1993; Rouiller et al., 1992; Sato et al., 1992; Scheich und Zuschratter, 1995). Diese Genprodukte können durch die c-Fos Immunzytochemie in Gehirnschnitten sichtbar gemacht werden. Um die c-Fos Markierungen eindeutig dem AC, sowie den einzelnen auditorischen Feldern zuordnen zu können, wurde die genaue Lage des AC im Neokortex der Mäuse elektrophysiologisch bestimmt.

2.3.1 Elektrophysiologische Lagebestimmung des auditorischen Kortex

2.3.1.1 Präparation der Tiere

Die Kartierung des AC erfolgte an narkotisierten Weibchen im Alter von 6 – 8 Wochen. Hierzu wurden die Tiere zunächst mit Atropin (0,05 mg/kg Körpergewicht, Braun) subcutan prämediziert, wodurch die Schleimsekretion in den Atemwegen reduziert, und die Herztätigkeit gestärkt werden sollte. Daraufhin wurden die Weibchen mit einem Ketamin-Xylazin-Gemisch (120 mg/kg Ketavet, Bayer und 5 mg/kg Rompun, Parke Davis) intraperitoneal anästhesiert. Nach ca. 15 min befanden sich die Mäuse in einer tiefen Narkose, so dass Stell-, Lid- und Zwischenzehenreflexe nicht mehr ausgelöst werden konnten. Nun wurde dorsal, der Bereich zwischen den Augen von den Ohren bis zur Nasenspitze, mit einem Rasierer (Braun) enthaart und desinfiziert (Kodan, Schülke & Mayr). Darauf wurde in diesem Bereich der Schädelknochen durch einen medialen Schnitt in der Kopfhaut freigelegt. Anschließend wurde der Kopf der Mäuse in einen Kopfhalter (modifiziert nach Slotnik, 1972) eingespannt, wodurch eine starre Fixierung des Schädels während der Ableitversuche gewährleistet war. Um an den linken AC zu gelangen, wurde der Musculus temporalis auf der linken Seite an der Fascia temporalis gelöst und nach unten weggeklappt. Mit einem Zahnarztbohrer (Rewatronik) wurde nun der Schädelknochen dorsal etwas oberhalb der Linea temporalis, caudal entlang der Sutura lambdoidea, ventral in der Sutura squamosa und rostral 1 – 2 mm anterior der Sutura squamosa aufgebohrt und entfernt. Die Dura wurde im Bereich des freipräparierten Areals nicht entfernt, und konnte mit den verwendeten Elektroden (siehe Kapitel 2.3.1.2) sehr leicht durchdrungen werden. Damit das Gewebe nicht austrocknete wurde es ständig mit einer körperwarmen NaCl-Lösung (0,9 %) befeuchtet. Die Körpertemperatur der Maus wurde während der gesamten Präparation und der anschließenden Ableitversuche durch ein geregeltes Wärmekissen (Homeothermic Blanket Control, Harvard) auf 37,5 °C gehalten. Im Verlauf der elektrophysiologischen Untersuchungen erfolgte eine Nachdosierung der Narkose (25 mg/kg Ketamin, 1 mg/kg Xylazin), wenn der Zwischenzehenreflex wieder auslösbar war.

2.3.1.2 Herstellung der Elektroden

Für die elektrophysiologischen Untersuchungen des AC wurden lack-/glas-isolierte Wolframelektroden verwendet. Diese wurden folgendermaßen hergestellt: Zunächst wurde ein Wolframdraht (∅ 0,1 mm) in einem Kaliumnitrat-Kaliumnitrit-Bad elektrolytisch angespitzt. Zur Stabilisierung wurde dieser Draht anschließend in eine ausgezogene Glaskapillare (innen ∅ 1 mm, außen ∅ 1,5 mm, hergestellt mit DMZ-Universal Puller, Zeitz) eingeführt, und an beiden Enden mit einem Epoxitharz-Kleber (Plus, UHU) fixiert. Um den elektrischen Widerstand der Elektrode zu erhöhen, wurde die Spitze mit Lack (E-33 red, INSL-X) überzogen. Auf diese Weise konnten Wolframelektroden mit Widerständen zwischen 2 – 4 MΩ hergestellt werden, mit denen stabile, extrazelluläre Antworten von meist kleinen Neuronengruppen (Multiunit-Ableitungen) erhalten wurden. Als Gegenelektrode wurde ein Platindraht (∅ 0,5 mm) am Schädel der Maus befestigt.

2.3.1.3 Elektrophysiologie

Um die Lage des AC und der auditorischen Felder zu bestimmen, wurden neuronale Antworten auf Tonpulse verschiedener Frequenzen elektrophysiologisch gemessen. Die gesamte Verschaltung der verwendeten Geräte ist in Abbildung 2-3 schematisch dargestellt. Die Frequenzen wurden von einem Sinusgenerator (FG1617, Voltkraft) erzeugt, und mit Hilfe eines Pulsformers (Eigenbau, Uni Konstanz Elektronik) als Pulse, mit einer Dachzeit von 60 ms, Rampenzeiten von jeweils 5 ms und einem Interpulsintervall von 270 ms, generiert. Zur Kontrolle wurde das Signal an einem Oszilloskop (DSC 1602, Gould) sichtbar gemacht. Die Lautstärke konnte über einen Abschwächer (RA 920, Kenwood) verändert werden. Von hier aus wurde das Signal an einen Verstärker (Eigenbau, Uni Ulm) geleitet. In Abhängigkeit von der jeweiligen Frequenz wurde das Signal nun an einen konventionellen Lautsprecher (Dynaudio D28) oder über einen Vorspannungsgeber (200 V DC, Uni Konstanz Elektronik) an einen elektrostatischen Ultraschallautsprecher (Eigenbau, Uni München) geleitet. Während der Ableitungen befanden sich die Tiere in einer schallisolierten, reflexionsarmen, sowie elektrisch abgeschirmten Messkammer. Die beiden Lautsprecher waren im schallisolierten Raum so befestigt, dass das rechte Ohr der Mäuse unter Freifeldbedingungen beschallt werden konnte. Die in den Kopfhalter eingespannten Tiere wurden in der Messkammer so positioniert, dass der Abstand ihres rechten Ohrs 30 cm zu den Lautsprechern betrug.

Die Wolframelektroden wurden in einen Elektrodenhalter eingespannt, und senkrecht zur Kortexoberfläche ausgerichtet. Mit Hilfe eines manuellen Mikromanipulators (Eigenbau, Uni Ulm) wurde die Elektrode, unter optischer Kontrolle (Operationsmikroskop OPMI 1, Zeiss), in der Mitte des freipräparierten Kortexareals positioniert. Ein hydraulischer Vortrieb (Nanostepper, B AR25/2 Titan, SPI) ermöglichte dann ein definiertes Eindringen der Elektrodenspitze in eine Tiefe von ca. 400 µm. Die neuronalen Antworten wurden über eine „Probe“

(World Precision Instruments) zu einem Differenzverstärker (DAM 80, World Precision Instruments; Bandpassfilter 0,3 – 10 kHz) geleitet. Von hier wurden die 10.000fach verstärkten Potentiale der Neurone zum einen am Oszilloskop (DSO 1602, Gould) sichtbar, und über einen Audioverstärker (Heinecke) und einen Lautsprecher (Cambridge Soundworks) hörbar gemacht. Auf diese Weise war eine audiovisuelle Kontrolle der neuronalen Antworten auf die verschiedenen, eingespielten Frequenzen möglich.

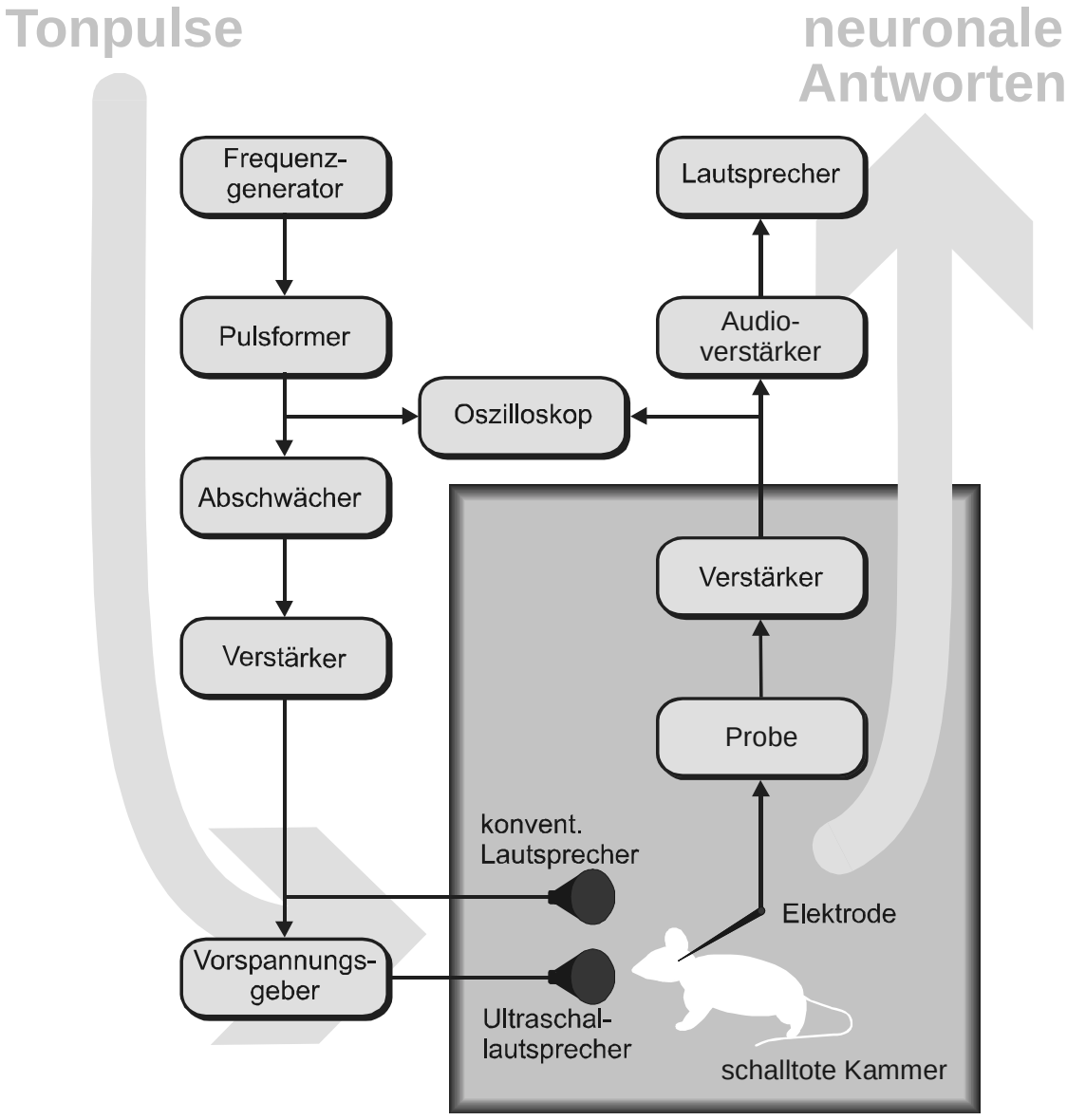


Abbildung 2-3: Geräteaufbau für die elektrophysiologische Lagebestimmung des AC und der einzelnen auditorischen Felder.

Zeigten sich an einem Punkt des AC Antworten von kleinen Gruppen eng benachbarter Neurone, wurde die Lautstärke der Tonpulse so lange abgeschwächt, bis nur noch Antworten auf einen sehr kleinen Frequenzbereich feststellbar waren. Auf diese Weise konnte die charakteristische Frequenz der Neurone an den jeweiligen Punkten des AC bestimmt werden. Die Position der charakteristischen Frequenzen und ihr Abstand zueinander wurde mit Hilfe eines geeichten Okularmikrometers ermittelt und in Kartierungsskizzen dokumentiert (Abbildung 2-4), wobei die Lage der Blutgefäße im Kortex und ihre Verzweigungen als Orientierungshilfe dienten. Bei der Kartierung des AC wurden so viele charakteristische Frequenzen bestimmt, bis die Grenze zwischen den Feldern AI und AAF, sowie die Lage der Felder AII und DP erkennbar war. Hierbei stand vor allem eine möglichst exakte Bestimmung der Feldgrenze zwischen AI und AAF im Vordergrund, da so die Lage der auditorischen Felder AII, DP und UF abgeschätzt werden konnte. Die Felder AI und AAF weisen eine tonotope Anordnung der Frequenzen auf (Stiebler, 1987a; Stiebler et al., 1997), wobei an ihrer gemeinsamen Feldgrenze die jeweils höchsten Frequenzen zu finden sind. Aus diesem Grund befand sich die Grenze der Felder AI und AAF zwischen den beiden höchsten, elektrophysiologisch ermittelten Frequenzen der beiden Felder. Der Abstand der Ableitpunkte betrug jeweils ca. 200 µm. In den Gehirnschnitten mit einer Schnittdicke von 30 µm, war somit die Feldgrenze zwischen AI und AAF in einem Bereich von ca. sechs Schnitten zu suchen. Da das Feld AI in diesem Grenzbereich deutlich weiter nach dorsal reicht als das Feld AAF (siehe Abbildung 1-4 B), war eine Zuordnung der Markierungen zu den jeweiligen Feldern in diesem Bereich und somit die Bestimmung der Feldgrenze gut möglich. In den höheren auditorischen Feldern AII und DP war aufgrund der breiten, nicht v-förmigen Frequenzabstimmungskurven der Neurone, sowie ihrer schnellen Habituation und hohen Spontanaktivität, eine Bestimmung von charakteristischen Frequenzen nur sehr schwer möglich. Dennoch wurde versucht, innerhalb jeder Kartierung, wenigstens eine charakteristische Frequenz in diesen Feldern zu ermitteln, um die c-Fos Markierungen in den Gehirnschnitten eindeutig zuordnen zu können.

Aufgrund der Verteilung der Frequenzen und der Antworteigenschaften der Neurone, wie Spontanaktivität oder schnelle Habituation, war eine grobe Kartierung des AC mit ca. 15 Ableitpunkten möglich. Nachdem die Position der auditorischen Felder erkennbar war, wurde eine Farbmarkierung im AC angebracht, die sich später in den Gehirnschnitten als eine dünne Säule darstellte (Fichtel, 1994; Fleschhutz, 1998). Hierzu wurde eine 1%ige Alcianblaulösung (Merck) durch Druckinjektion (Pneumatic Pico Pump PV 830, World Precison Instruments) über eine ausgezogene Glaskapillare (∅ 0,8 mm, hergestellt mit DMZ-Universal Puller, Zeitz) in den AC appliziert. Da der Abstand der Ableitpunkte zu der Alcianblaumarkierung durch die Kartierungsskizzen festgehalten wurde, war unter Berücksichtigung der Dicke der Gehirnschnitte eine Zuordnung der c-Fos Markierungen zu den auditorischen Feldern möglich. In Abbildung 2-4 ist die Skizze einer Grobkartierung des AC mit den ermittelten charakteristischen Frequenzen in den Feldern AI, AII, AAF, DP und UF, sowie der Verlauf der Feldgrenze zwischen AI und AAF und der Ort der Alcianblaumarkierung dargestellt.

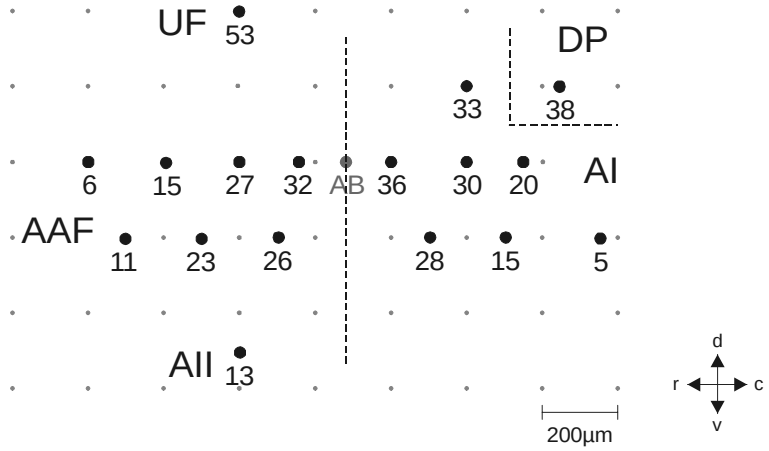


Abbildung 2-4: Skizze einer Grobkartierung des AC der Maus 1 aus der Versuchsgruppe A. Die Zahlen geben die charakteristischen Frequenzen in kHz an. AB bezeichnet den Ort der Alcianblaumarkierung. Die Lage der auditorischen Felder und der grobe Verlauf der Feldgrenzen wurde ebenfalls eingezeichnet. (AI = primäres auditorisches Feld, AII = sekundäres auditorisches Feld, AAF = anteriores auditorisches Feld, DP = dorsoposteriores Feld, UF = Ultraschallfeld, c = caudal, d = dorsal, r = rostral, v = ventral)

Nach Beendigung der Kartierung wurde das freiliegende Kortexareal durch den Musculus temporalis wieder abgedeckt, und die Kopfhaut zusammengenäht (Prolene monofil 0,7 metric, Ethicon). Die Weibchen wachten zwischen ein und zwei Stunden nach der Operation aus der Narkose auf, und erholten sich in nur wenigen Stunden völlig von dem Eingriff. In den Tagen nach der Operation wurde die Wundheilung, welche bei allen Tieren sehr schnell und ohne Komplikationen verlief, ständig kontrolliert. Um den Mäusen in den ersten Tagen die Nahrungsaufnahme zu erleichtern, erhielten die Tiere in Wasser eingeweichtes Futter. Nach dem Eingriff zeigten die Tiere keinerlei Veränderung oder Beeinträchtigung ihres Verhaltens.

2.3.2 Beschallung zur c-Fos Immunzytochemie

Die elektrophysiologisch kartierten Weibchen wurden ca. eine Woche nach der Operation mit gleichaltrigen Männchen verpaart. Nach der Geburt der Jungen wurden die Mütter in drei Versuchsgruppen unterteilt, in denen die Mütter mit ihren Jungen mit drei verschiedenen Attrappen (siehe Abbildung 2-5) aus den Verhaltensuntersuchungen beschallt wurden.

Für die Beschallung wurde der gleiche Versuchsaufbau wie in den Verhaltensuntersuchungen verwendet (siehe Kapitel 2.2.2). Der Versuchsaufbau und die Verschaltung der Geräte ist in Abbildung 2-6 schematisch dargestellt. Die Lautattrappen A, G bzw. L wurden, wie für die Verhaltensuntersuchungen, digital (386 PC, 125 kHz Da/AD Karte Engeneering Design, Signal Software 2.2) mit einer Rampenzeit von jeweils 5 ms, einem Interpulsintervall von 200 ms

(bezogen auf die beiden Obertöne) und einer Lautstärke von insgesamt 70 dB SPL generiert. Im Gegensatz zu den Verhaltensuntersuchungen wurden die Lautattrappen jedoch nicht als Serien von jeweils vier Pulsen erzeugt, sondern die Mütter wurden über 15 min durchgehend mit Tonpulsen beschallt. Die Lautstärke im Käfig mit Einstreu wurde vor jedem Versuch über ein Mikrophon (Bruel & Kjaer 4133) mit einem Messverstärker (Bruel & Kjaer 2636) überprüft.

Versuchsgruppe	**A**	**G**	**L**
Lautattrappe	A	G	L
Anzahl der Tiere (n)	9	7	7

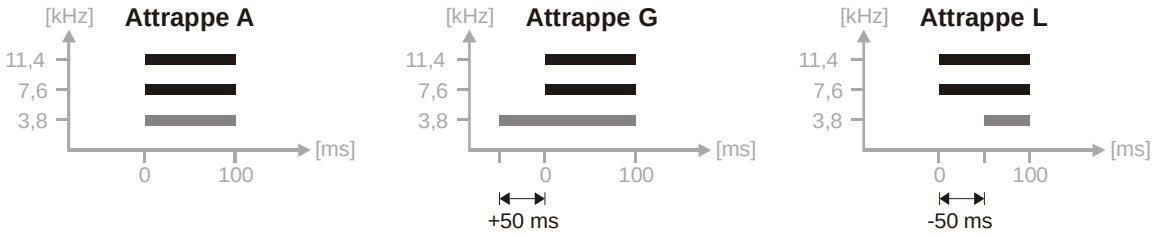


Abbildung 2-5: Versuchsgruppen und schematische Darstellung der Lautattrappen für die c-Fos Immunzytochemie.

Um Unterschiede in den c-Fos Markierungen zwischen den drei Versuchgruppen ermitteln zu können, war es wichtig, dass die Mütter nur durch die künstlich eingespielten Lautattrappen und nicht durch natürliche Gerangellaute der Jungen akustisch stimuliert wurden. Gerangellaute werden von den Jungen in den ersten fünf Tagen nach der Geburt abgegeben, wenn sich diese beim Säugen um die Zitzen der Mutter drängen (Ehret, 1975). Auch ist die Rufaktivität von ein bis zwei Tage alten Jungen geringer als bei älteren Jungen (Bernecker, 1983; Ehret und Bernecker, 1986). Aus diesem Grund wurden die Mütter für die Beschallung zur c-Fos Immunzytochemie mit nur fünf Jungen im Alter von ein bis zwei Tagen in die oben beschriebenen Spezialkäfige (siehe Kapitel 2.2.2) mit Weichholzgranulat-Einstreu (Altromin) gesetzt. Durch die geringe Anzahl an sehr jungen Jungtieren waren von diesen während der gesamten Zeit, welche die Mütter in Säugestellung auf den Jungen saßen, keine natürlichen Gerangellaute zu hören. Die Mütter mit ihren Jungen wurden während der gesamten Zeit in der Beschallungskammer über eine Videokamera mit Mikrophon (CCD-Kamera-Modul schwarz/weiß, Conrad Elektronik) außerhalb des schalltoten Raumes beobachtet (Monitor, JVC). Da die Mütter während der Beschallung mit einer der drei Lautattrappen (Attrappe A, G oder L) keine natürlichen Gerangellaute hörten, war für die Expression des c-fos Gens nur das Frequenzmuster der Lautattrappen von Bedeutung.

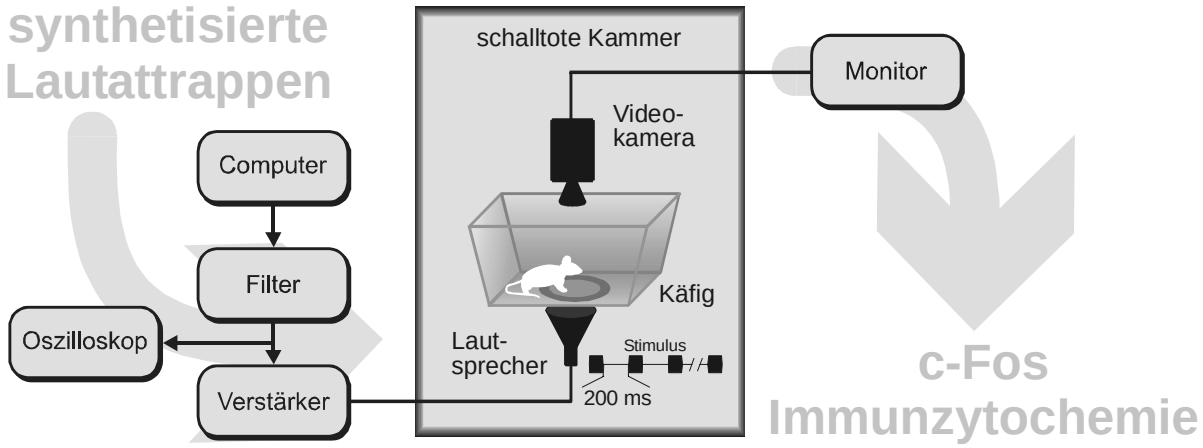


Abbildung 2-6: Geräteaufbau zur Beschallung für die c-Fos Immunzytochemie.

Die Beschallung der Tiere erfolgte, wie bei den Verhaltensbeobachtungen, unter Rotlicht (Dunkelkammerleuchte, Osram) in einem schallisolierten und reflexionsarmen Raum zwischen 9 – 12 Uhr. Mit der Beschallung der Tiere über 15 min wurde begonnen, wenn sich die Mutter mindestens 10 min in Säugestellung ruhig sitzend auf ihren Jungen befand. Nach dem Ende der Beschallung wurden die Mütter für weitere 30 min ungestört im Beschallungsraum belassen. Die Säugeperioden der Mütter dauern bei sehr jungen Jungtieren länger an als bei älteren Jungen (Bernecker, 1983; Ehret und Bernecker, 1986). Befanden sich die Mütter daher für mindestens 10 min ruhig in Säugestellung sitzend auf den Jungen, so blieben alle Mütter über den gesamten Zeitraum von 45 min auf ihren Jungen, ohne das Nest zu verlassen. Auf diese Weise herrschten während der Beschallung und den folgenden 30 min für alle Tiere die gleichen Versuchsbedingungen.

2.3.3 Präparation des Gehirns und c-Fos Reaktion

30 min nach dem Ende der Beschallung wurden die Mütter durch Dekapitation getötet. Anschließend wurde das Gehirn schnellstmöglich herauspräpariert und mit flüssigem Stickstoff schockgefroren. Danach wurden mit Hilfe eines Gefriermikrotoms (HM 500 OM, Microm) Frontalschnitte mit einer Schnittdicke von 30 µm bei -10 °C angefertigt und auf Adhäsionsobjektträger (Histobond, Marienfeld) aufgezogen.

Die Fixierung der Schnitte erfolgte daraufhin für eine Stunde in 4%igem Paraformaldehyd (Merck). Das Paraformaldehyd und alle im folgenden verwendeten Lösungen wurden in 0,1M Phosphatpuffer (pH = 7,4) angesetzt. Nach der Fixierung wurden die Gehirnschnitte, wie auch nach jedem der folgenden Schritte, dreimal für je 5 min in 0,1M Phosphatpuffer (pH = 7,4) gewaschen. Anschließend wurden die Frontalschnitte immunzytochemisch aufgearbeitet. Um

die Zellmembran für den c-Fos Antikörper durchlässig zu machen, erfolgte zunächst eine Inkubation (45 min) in einer 0,2%igen Tritonlösung (Merck). Daraufhin wurden endogene Peroxidasen mit Hilfe von einer 1%igem Wasserstoffperoxidlösung (Merck) zerstört, in der sich die Schnitte für 20 min befanden. Eine unspezifische Bindung des Antikörpers konnte durch Ziegenserum verhindert werden. Hierzu wurden die Schnitte in eine feuchte Kammer gelegt, und mit 4%igem Serum (Goat Serum, Serotec) für 30 min benetzt. Anschließend wurde das Serum nicht, wie nach den anderen Schritten in Puffer ausgewaschen, sondern nur abgesaugt. Danach wurde der c-Fos Antikörper, ein polyklonaler Antikörper aus dem Kaninchen (c-Fos Ab-5 PC 38-100UL, Lot# D14211, Oncogene), welcher in 4%igem Serum gelöst war (Verdünnung 1:1000), aufgetragen und die Schnitte 12 Stunden bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer inkubiert. Daraufhin wurden die Schnitte wiederum dreimal (je 5 min) in Phosphatpuffer gewaschen. Im folgenden wurde der zweite Antikörper (Ziege anti Kaninchen IgG/HRP PO 448, Lot 050, Dako; in Phosphatpuffer, Verdünnung 1:200) aufgetragen, und ebenfalls in einer feuchten Kammer für 60 min auf den Schnitten belassen. An diesen Zweitantikörper war eine Meerrettichperoxidase (HRP) angehängt, deren Peroxidasen bei der folgenden Färbereaktion (7 min) mit Wasserstoffperoxid (0,009%iges H_2O_2, Merck) einen Komplex bilden. Als Chromogen diente 10 mg DAB (3-3'Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid, Sigma) in 100 ml Phosphatpuffer, welches von den Peroxidasen oxidiert wurde und als farbiger Niederschlag ausfiel. Das DAB wurde durch 200 µl Nickelchlorid (Merck) intensiviert. Durch eine aufsteigende Alkoholreihe (je 5 min in 50 %, 70 % und 96 % Ethanol und Xylol, Merck) wurden die Schnitte abschließend entwässert und in Entellan (Fulka) eingebettet.

Neben den Fos positiven Zellen waren in den Gehirnschnitten nach immunzytochemischer Aufarbeitung sehr schwache, dunkle Punkte von unterschiedlicher Intensität zu erkennen. Um ein möglichst gutes Verhältnis zwischen c-Fos markierten Zellkernen und einer derartigen Hintergrundfärbung zu erzielen, wurden eine Färbereihe mit einer unterschiedlichen Konzentration des Erst- bzw. Zweitantikörpers angefertigt. Hierbei wurde bei den oben angegebenen Konzentrationen der beiden Antikörper das beste Verhältnis zwischen Markierungs- und Hintergrundintensität erzielt.

2.3.4 Auswertung der Gehirnschnitte

Die immunzytochemisch bearbeiteten Frontalschnitte wurden unter dem Lichtmikroskop (Axiophot, Zeiss) bei 100facher Vergrößerung (Okular PI 10x/25, Zeiss; Objektiv 10x Plan-Neofluar, Zeiss) ausgewertet. Die sichtbar gemachten c-Fos positiven Zellkerne stellten sich unter dem Mikroskop als kleine, kreisförmige tiefschwarze Punkte mit einem Durchmesser von ca. 10 µm dar. Neben diesen c-Fos Markierungen waren in den Gehirnschnitten auch schwächere dunkle Punkte von unterschiedlicher Intensität zu erkennen. Als c-Fos Markierungen wurden nur die dunkelsten, kreisförmigen Punkte gewertet. Unter der 100fachen Ver-

größerung war es möglich, c-Fos positive Zellkerne aufgrund ihrer Form und Farbe von Verunreinigungen oder Hintergrundfärbung abzugrenzen. Da die Stärke der Hintergrundfärbung, trotz gleicher immunzytochemischer Vorgehensweise, bei den einzelnen Tieren leicht differierte, musste das Unterscheidungskriterium zwischen c-Fos positiven Zellkernen und der Hintergrundfärbung für jedes Tier individuell festgelegt werden. Aufgrund ihrer Form und Intensität war es jedoch möglich, die Markierungen klar zu erkennen.

2.3.4.1 c-Fos Markierungen im Colliculus inferior

Die c-Fos Markierungen im CI wurden bei allen Tieren der drei Versuchsgruppen (Attrappe A: n = 9; Attrappe G und L: jeweils n = 7) ausgewertet. Aufgrund der Lage und dem Verlauf der Isofrequenzebenen im CI (Kapitel 1.4) wurden bei jedem Tier zwei Schnitte pro Hemisphäre aus dem rostrocaudalen, mittleren Drittel des CI ausgewertet (Stiebler und Ehret, 1985; Stiebler, 1987a). Es wurden nur Frontalschnitte ausgewählt, in denen der CI unbeschädigt (ohne Löcher durch Luftblasen oder Risse) war. In diesen Schnitten wurde die Ausdehnung sowie die Lage der bandenförmigen, c-Fos markierten Bereiche im linken und rechten CI bestimmt.

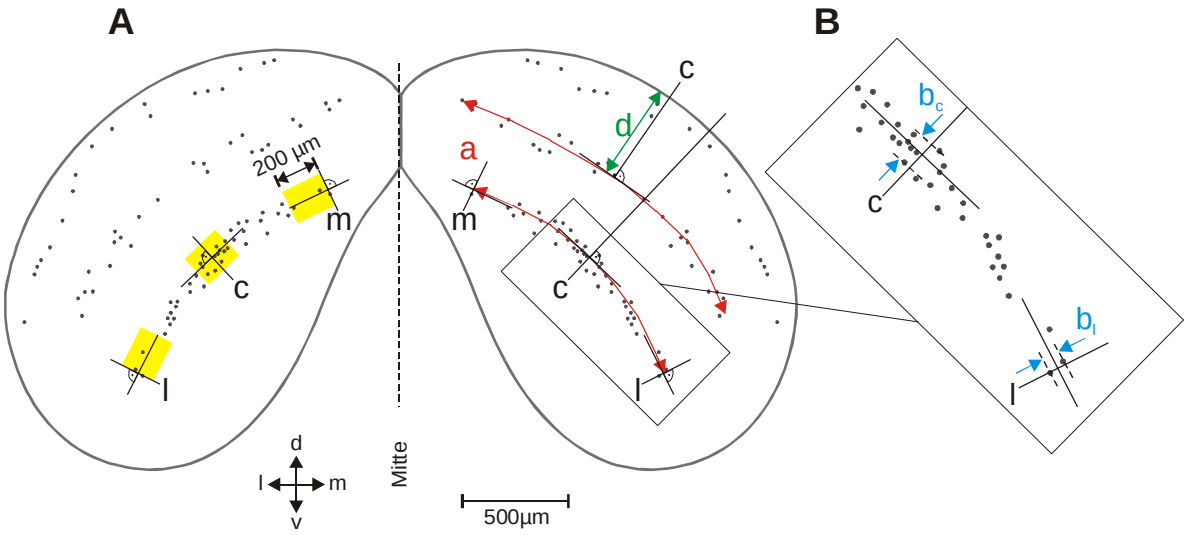


Abbildung 2-7: A: Skizze des CI der linken und rechten Hemisphäre mit den bandenförmig markierten Bereichen, sowie exemplarische Darstellung der Vorgehensweise zur Ermittlung der Ausdehnung (Länge a), der Lage (Abstand d) und der Dichte der c-Fos markierten Banden. Die gelben Rechtecke kennzeichnen die Flächen in denen die Anzahl der c-Fos Markierungen im medialen (m), zentralen (c) und lateralen (l) Bereich der Banden bestimmt wurde. B: Ausschnittvergrößerung zur Verdeutlichung der Breitenbestimmung in der Mitte (b_c) und am lateralen Rand (b_l) einer c-Fos markierten Bande. (d = dorsal, v = ventral)

Aufgrund der Krümmung der Banden musste deren Länge (a) in Segmenten von 100 µm Länge ermittelt werden (Abbildung 2-7 A). Die Breite (b) der Banden wurde zum einen an den beiden Rändern als auch in der Mitte bestimmt. Hierzu wurde zunächst am medialen (m) und lateralen (l) Rand sowie in der Mitte (c) der Bande ein Lot auf den dorsolateralen Rand des CI gefällt. Anschließend wurde zur Bestimmung der Breite der Banden, die dem Lot jeweils nächstgelegene Markierung am oberen und unteren Rand der markierten Bereiche herangezogen (Abbildung 2-7 B). Der Abstand (d) der c-Fos markierten Banden zum dorsolateralen Rand des CI wurde in der Mitte der Banden (bezüglich ihrer Breite) entlang des Lots (c) bestimmt (Abbildung 2-7 A). Die Anzahl der c-Fos Markierungen wurde pro Schnitt in jedem der markierten Banden ermittelt. Des weiteren wurde die Anzahl an Markierungen in einem Bereich von 200 µm Länge an den beiden Rändern (l und m) und in der Mitte (c) der Banden bestimmt. Die Höhe dieser Zählfenster wurde so gewählt, dass die gesamte Breite der Banden eingeschlossen wurde (gelbe Rechtecke in Abbildung 2-7 A).

2.3.4.2 c-Fos Markierungen im auditorischen Kortex

Im AC wurden nur die c-Fos Markierungen von jeweils fünf Tieren der drei Versuchsgruppen (Attrappe A, G, L) ausgewertet. Durch einen Vergleich der erstellten Kartierungsskizzen mit den vorhandenen Frequenzkarten des AC (Stiebler, 1987a; Stiebler et al., 1997), wurde zunächst die ungefähre dorsoventrale und rostrocaudale Größe des AC für jede Maus individuell bestimmt. Anschließend wurde in den Gehirnschnitten unter dem Mikroskop (Axiophot, Zeiss) bei 50facher Vergrößerung (Okular PI 10x/25, Zeiss; Objektiv 5x Plan-Neofluar, Zeiss) nach der Alcianblaumarkierung gesucht, welche gut als blaue Säule identifiziert werden konnte. Mit Hilfe der Alcianblaumarkierung, den Kartierungsskizzen und der zuvor bestimmten ungefähren Größe des AC wurde nun die Zahl der Frontalschnitte grob abgegrenzt in denen sich der AC befand. Ebenso wurden die Schnitte festgelegt, in denen die Grenze zwischen den Feldern AI und AAF zu suchen war. Hierbei wurden die Schnitte herangezogen, welche sich zwischen den beiden Ableitpunkten befanden, bei denen in beiden Feldern die höchsten charakteristischen Frequenzen gemessen wurden. Anschließend wurde bei den Frontalschnitten, welche an die Schnitte angrenzten, in denen die Feldgrenze zwischen AI und AAF zu suchen war, die dorsoventrale Lage und Ausdehnung des AC bestimmt. Diese wurde für jeden einzelnen Schnitt durch einen Vergleich mit zytologischen Kortexkarten der Maus (Caviness, 1975) bestimmt, wobei die rhinale Fissur, die auf den Gehirnschnitten gut erkennbar war, als Anhaltspunkt diente. Um die einzelnen Felder dorsoventral voneinander abgrenzen zu können, erfolgte nun ein Vergleich der Schnitte mit den selbst angefertigten Kartierungsskizzen, den Karten von Stiebler (1987a) und Stiebler und Kollegen (1997) sowie den Ergebnissen von Fichtel (1994) und Fleschhutz (1998). Auf diese Weise wurden in den einzelnen Schnitten die c-Fos Markierungen den auditorischen Feldern zugeordnet. An der rostralen bzw. caudalen Grenze des AC zeigten sich in den Frontalschnitten keine c-Fos markierten Zellen in dem Bereich oberhalb der rhinalen Fissur. Anhand der Zahl der Schnitte zwi

schen diesen beiden Grenzen wurde die rostrocaudale Ausdehnung des AC ermittelt. Anschließend wurden die Schnitte quantitativ ausgewertet, in denen sich die Feldgrenze zwischen AI und AAF befand. Hierzu wurden die Schnitte von rostral und caudal im Wechsel ausgewertet, wodurch eine Veränderung im Markierungsmuster (rostral der Grenze waren drei Felder und caudal zwei Felder mit c-Fos markierten Zellen abgrenzbar) im Bereich der Feldgrenze gut erkennbar war. Auch war der Abstand des AII zur rhinalen Fissur geringer als der des Feldes AI. Auf diese Weise konnte die Grenze zwischen AI und AAF, sowie die Abgrenzung der Felder AII und UF festgelegt werden. Da die Feldgrenzen meist nicht gerade verlaufen und individuell sehr unterschiedlich sind, konnte der exakte Beginn der einzelnen Felder zum Teil nur abgeschätzt werden. Einige wenige Schnitte von den rostrocaudalen Feldgrenzen entfernt, konnten die Felder jedoch sehr gut voneinander abgegrenzt werden. Daher waren höchstens auf ein bis zwei Schnitten die c-Fos Markierungen nicht exakt bestimmten Feldern zuzuordnen. Die dorsoventrale Gesamtausdehnung des AC wurde 500 µm caudal der Grenze zwischen den Feldern AI und AAF, bestimmt. Hierbei wurde, ungeachtet der Krümmung des Neokortex, der dorsoventrale Bereich (s) ermittelt, in dem c-Fos markierte Zellkerne in den beiden äußeren Schichten II und III des AC zu finden waren (Abbildung 2-8 C). Aufgrund der beschriebenen unterschiedlichen zellulären Zusammensetzung der kortikalen Schichten (siehe Kapitel 1.4) konnten in den Frontalschnitten vier Schichten voneinander abgegrenzt werden, wobei die Schichten II und III, sowie V und VI in den immunzytochemisch aufgearbeiteten Schnitten nicht zu unterscheiden waren.

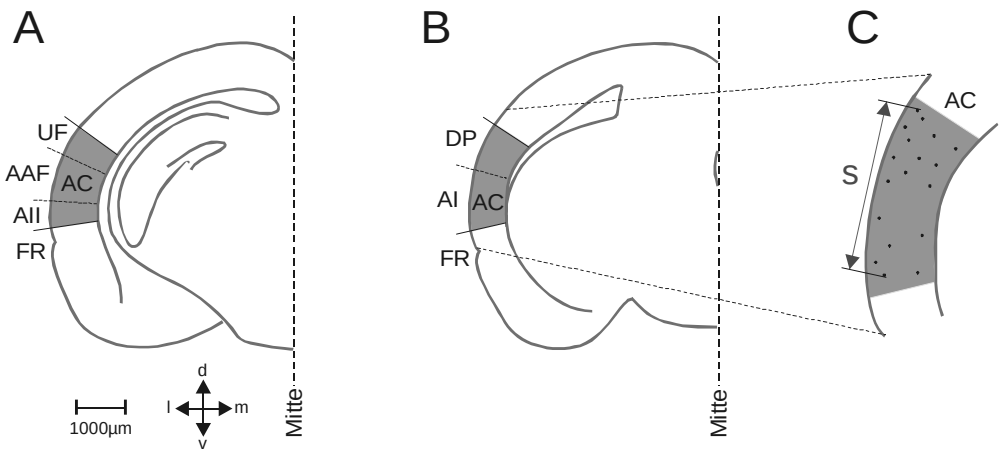


Abbildung 2-8: Lage des auditorischen Kortex AC (dunkelgrau) im rostralen (A) und caudalen (B) Bereich des Neokortex oberhalb der rhinalen Fissur (FR). Ebenfalls dargestellt ist die Lage der einzelnen auditorischen Felder auf den frontalen Gehirnschnitten (nach Caviness 1975). C: Ausschnittvergrößerung des AC zur Verdeutlichung der Vorgehensweise bei der Bestimmung der dorsoventralen Ausdehnung (s) des AC. Die Punkte kennzeichnen die c-Fos markierten Zellkerne. (AI = primäres auditorisches Feld, AII = sekundäres auditorisches Feld, AAF = anteriores auditorisches Feld, DP = dorsoposteriores Feld, UF = Ultraschallfeld, d = dorsal, l = lateral, m = medial, v = ventral)

Aufgrund der tonotopen Frequenzverteilung in den Feldern AI und AAF (siehe Kapitel 1.4), wurde die Anzahl der Fos positiven Zellen in allen, die beiden Felder umfassenden Schnitten ermittelt. Da die rostrocaudale Ausdehnung der auditorischen Felder große individuelle Unterschiede aufweist, wurde bei den übrigen Feldern nur die Anzahl der Markierungen in 15 Schnitten bestimmt, welche sich in der rostrocaudalen Mitte des jeweiligen Feldes befanden. Auf diese Weise wurden immer Werte, die aus dem gleichen Bereich der Felder stammen und welche die gleiche Anzahl an Schnitten umfassten, miteinander verglichen. Da die zelluläre Schichtung des AC auch in den immunzytochemisch gefärbten Gehirnschnitten gut sichtbar war, wurde die Anzahl der markierten Zellen auch bezüglich der kortikalen Schichten II/III, IV sowie V/VI innerhalb der Felder ermittelt.

Um die Lage und den Verlauf der c-Fos Markierungen in den auditorischen Feldern über den gesamten AC darstellen zu können, wurden dreidimensionale Rekonstruktionen des AC erstellt. Hierzu wurden mittels eines Mikroskops mit Zeichentubus (Axiophot, Zeiss), bei 50facher Vergrößerung (Okular PI 10x/25, Zeiss; Objektiv 5x Plan-Neofluar, Zeiss), maßstabsgetreue Zeichnungen des AC mit den c-Fos Färbungen angefertigt. Die so erstellten Zeichnungen wurden mit einem Scanner (Microtek) digitalisiert, und mit dem Programm CorelDRAW (Version 9, Corel) nachgezeichnet. Um zu verdeutlichen, dass es sich bei dem gezeichneten Bereich nur um einen Teil des Neokortex handelt, wurden die Kortexausschnitte mit einem leichten Grauton hinterlegt. Damit die c-Fos Markierungen auch in den Rekonstruktionen zu erkennen waren, wurden diese in den Schnitten um ca. das 2,5fache größer dargestellt. Die einzelnen Schnitte des AC wurden anschließend von caudal nach rostral so übereinandergelegt, dass eine dreidimensionale Rekonstruktion des AC entstand.

2.3.5 Statistik zur c-Fos Immunzytochemie

Innerhalb der Versuchsgruppen wurden die Werte der quantitativen Auswertung der c-Fos Markierungen in den Banden des CI, sowie die Daten bezüglich ihrer Ausdehnung und Lage mit Hilfe des Wilcoxon-Tests für Paardifferenzen (Sachs, 1999) statistisch miteinander verglichen. Mittels des nichtparametrischen H-Tests von Kruskal und Wallis (Sachs, 1999) wurde zunächst nach statistischen Unterschieden zwischen den drei Versuchsgruppen gesucht, welche anschließend mit Hilfe des U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney (Sachs, 1999) ermittelt wurden.

Die Ergebnisse für den AC hinsichtlich der Ausdehnung und der Anzahl der Markierungen in den auditorischen Feldern wurden innerhalb der Versuchsgruppen wiederum mit dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen (Sachs, 1999) auf statistische Unterschiede hin getestet. Untereinander wurden die Gruppen mit Hilfe des nichtparametrischen U-Tests von Wilcoxon, Mann und Whitney (Sachs, 1999) verglichen.

Als Signifikanzniveau wurde bei allen statistischen Vergleichen eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,05$ bei zweiseitigem Test festgelegt.

3 Ergebnisse

3.1 Verhaltensuntersuchungen

3.1.1 Verhalten der Mütter

Während der Eingewöhnungsphase im Beobachtungsraum, liefen die Mütter zunächst schnüffelnd durch den gesamten Käfig. Zum Teil streckten sie sich, nur auf den Hinterbeinen stehend, nach oben, sprangen in einer der Käfigecken an der Wand hinauf, putzten sich oder wühlten im Einstreu, ohne sich dabei um die Jungen zu kümmern. Dieses Verhalten hielt bei den Müttern im allgemeinen ein bis zwei Stunden an. Nach dieser Zeit setzten sich die Mütter in Säugestellung ruhig auf ihre Jungen, die sofort versuchten an ihre Zitzen zu gelangen. Da Mäuseweibchen nur zehn Zitzen besitzen, die Anzahl der Jungen in den Verhaltensbeobachtungen jedoch jeweils auf 14 Junge normiert war, herrschte während des Säugens ein ständiger Kampf um eine Zitze der Mutter. Hierbei gaben die Jungen immer wieder Gerangellaute als Rufsequenzen unterschiedlicher Länge ab. Auf diesen akustischen Stimulus der Jungen zeigten die Mütter Reaktionen, welche rein der Brutpflege der Jungen dienten, wie Belecken der Jungen, Nestbau oder einer Veränderung der Säugeposition. Zum Teil hoben die Weibchen nach den Gerangellauten auch nur kurz den Kopf und schauten im Käfig umher (Aufmerksamkeitsreaktion), ohne sich weiter um die Jungen zu kümmern. Einige Male reagierten die Mütter nacheinander mit mehreren der beschriebenen Verhaltensweisen, wie z.B. zuerst mit einer Veränderung der Säugeposition und anschließendem Belecken der Jungen. Bei solchen Mehrfachreaktionen wurde nur die erste, unmittelbar auf den akustischen Stimulus folgende Reaktion protokolliert. Anschließend legten sich die Mütter wieder ruhig in Säugestellung über die Jungen. Riefen die Jungen nur sehr wenig, so zeigten die Mütter die Brutpflege- und Aufmerksamkeitsreaktionen zum Teil auch ohne vorherige akustische Stimulation durch die Jungen (spontane Aktionen). In den Rufpausen der Jungen wurde den Müttern zusätzlich jeweils eine der synthetisierten Lautattrappen angeboten. Auf diese künstlichen Laute reagierten die Mütter ebenfalls mit dem oben beschriebenen Brutpflege- oder Aufmerksamkeitsverhalten. In sehr seltenen Fällen, setzten die Gerangellaute der Jungen zeitgleich mit den künstlich eingespielten Lautattrappen ein. In diesem Fall war nicht eindeutig zu entscheiden welcher akustische Stimulus eine Reaktion bei den Müttern auslöste. Daher wurden diese Fälle als „unklare Situationen“ gesondert notiert. Zeigten die Mütter innerhalb eines Zeitraums von drei Sekunden nach Ende der natürlichen oder künstlichen Gerangellaute keinerlei

Reaktion auf die akustische Stimulation, so wurde dies als „Nichtreaktion“ nach Jungenlaut bzw. Reiz protokolliert.

3.1.1.1 Natürliche Gerangellaute der Jungen und Brutpflegereaktionen der Mütter

Die natürlichen Gerangellaute der Jungen bestanden aus Lautserien (Rufsequenzen) mit einer unterschiedlichen Zahl an Einzellauten. In den folgenden Auswertungen wurde jeweils eine abgeschlossene Rufsequenz als ein Gerangellaut betrachtet. Aufgrund der Zahl an Einzellauten innerhalb der Gerangellaute (Rufsequenzen) wurden diese in vier Rufsequenzgruppen, mit nur einem Laut, zwei bis fünf, sechs bis zehn und mehr als zehn Einzellauten, unterteilt. Im folgenden wurde daher zum einen die Gesamtzahl der abgegebenen Gerangellaute (Rufsequenzen) und zum anderen die innerhalb der Rufsequenzgruppen abgegebenen Gerangellaute (Anzahl der Rufsequenzen innerhalb der entsprechenden Gruppe) betrachtet.

Die Gesamtzahlen der von den Jungen innerhalb der 45minütigen Verhaltensuntersuchungen produzierten Gerangellaute sind in folgender Abbildung 3-1 in Abhängigkeit von der eingespielten künstlichen Lautattrappe dargestellt.

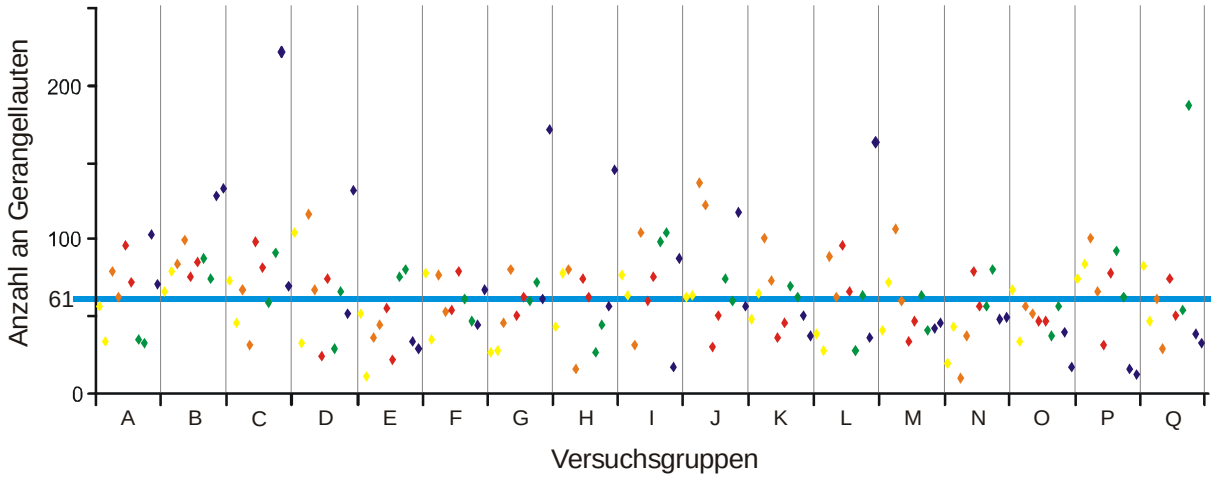


Abbildung 3-1: Gesamtzahl an abgegebenen Gerangellauten der Jungen pro Versuch (Testzeit jeweils 45 min). Die farbig gekennzeichneten Werte innerhalb der Versuchsgruppen (A – Q) stellen das Alter der Jungen (1 – 5 Tage) am Versuchstag dar. Pro Alter sind jeweils zwei Messwerte vorhanden (gelb = 1. Tag, orange = 2. Tag, rot = 3. Tag, grün = 4. Tag, dunkelblau = 5. Tag). Die hellblaue Linie kennzeichnet den Median über alle Werte.

Innerhalb aller Versuchsgruppen sind zum Teil große Unterschiede in der Gesamtzahl an abgegebenen Gerangellauten der Jungen zu beobachten (Abbildung 3-1). Zwischen den Ver-

suchsgruppen ergaben sich keine signifikanten (H-Test, $p > 0,1$) Unterschiede. Der Median über alle Werte liegt bei 61 Gerangellauten pro Testzeit von 45 min. Die geringste Anzahl von nur 10 und 11 Lauten trat bei den Versuchsgruppen E und N, die höchste von insgesamt 222 Gerangellauten bei Gruppe C auf. Im allgemeinen ist eine hohe Rufaktivität vor allem bei älteren Jungen mit einem Alter von vier bis fünf Tagen zu erkennen. Aus diesem Grund wurde im folgenden die Anzahl an Gerangellauten in Abhängigkeit vom Alter der Jungen betrachtet. Hierzu wurden die für die verschiedenen Tage erzielten Daten, ungeachtet der eingespielten künstlichen Lautattrappe, zusammengefasst und in Abbildung 3-2 graphisch dargestellt.

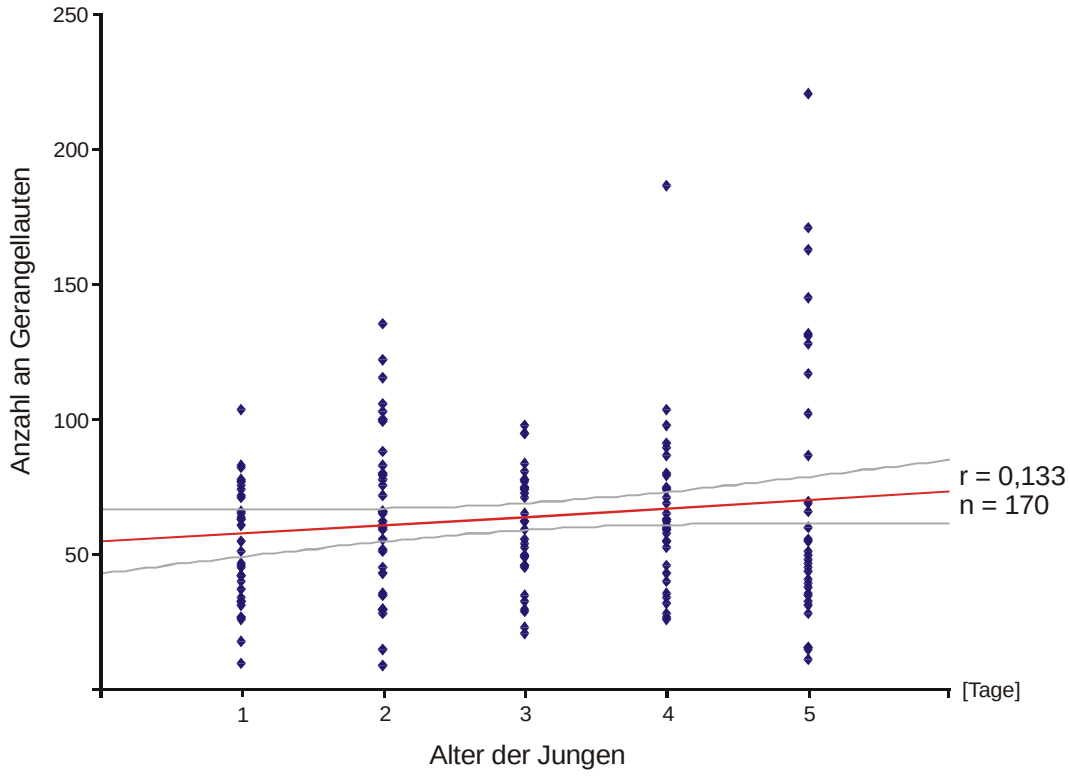


Abbildung 3-2: Anzahl der abgegebenen Gerangellaute pro Versuch in Abhängigkeit vom Alter der Jungen (1 – 5 Tage). Dargestellt ist die Regressionsgerade (rot) durch die Messwerte, sowie das 95 % Konfidenzintervall (grau). (n = Anzahl der Werte, r = Korrelationskoeffizient)

In obiger Abbildung ist ein leichter, jedoch nicht signifikanter (Korrelationsanalyse, $p > 0,05$), Anstieg in der Zahl der Gerangellaute mit zunehmendem Alter der Jungen zu erkennen. Eine Zunahme der Rufaktivität bei älteren Jungen im Vergleich zu sehr jungen Tieren war in dieser Arbeit somit nur als Tendenz zu erkennen.

Da sich die Anzahl an abgegebenen Gerangellauten bei den Versuchsgruppen nicht unterscheidet, wurde auch die Anzahl der Gerangellaute innerhalb der Rufsequenzgruppen in Abhängigkeit vom Alter der Jungen betrachtet. Die mittlere Anzahl der Gerangellaute inner-

halb der vier Rufsequenzgruppen wurde für jede Altersstufe (1 – 5 Tage), unabhängig von der Versuchsgruppe, berechnet und in Abbildung 3-3 graphisch dargestellt. Die Werte der verschiedenen Rufsequenzgruppen bei Jungen der jeweiligen Alterstufe (1 – 5 Tage) wurden mit dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen statistisch verglichen.

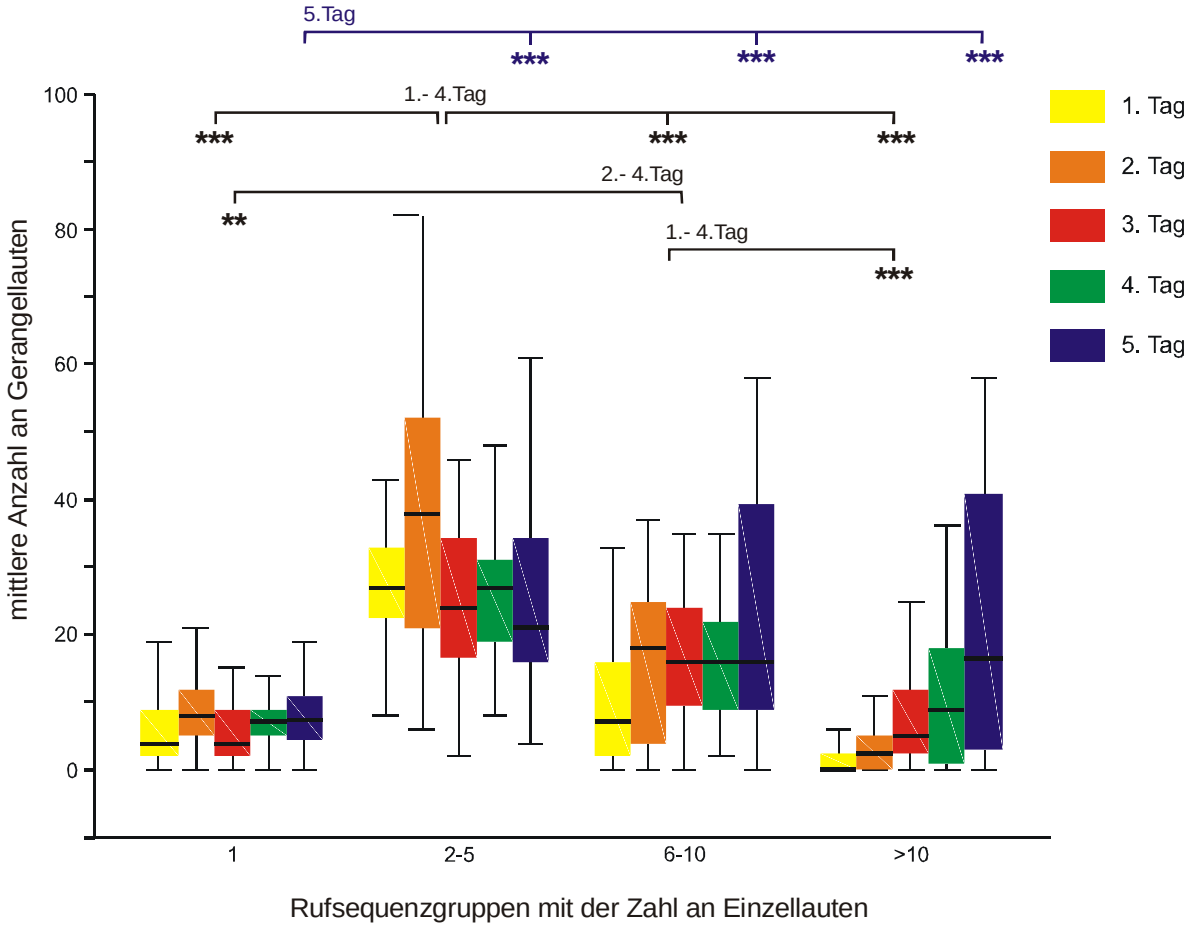


Abbildung 3-3: Anzahl an Gerangellauten innerhalb der vier verschiedenen Rufsequenzgruppen bei ein bis fünf Tage alten Jungen. Dargestellt sind die Mediane mit Quartilen (Q_{25} und Q_{75}) und Spannweite. Signifikante Unterschiede zwischen den Häufigkeiten der Rufsequenzgruppen bei Jungen der jeweiligen Alterstufen in Tagen sind mit ** ($p < 0,01$) und * ($p < 0,001$) unter den Klammern gekennzeichnet. Der Übersicht halber wurden hierbei die Alterstufen zusammengefasst, an denen die Unterschiede zwischen den Rufsequenzgruppen gleich waren. Über den jeweiligen Klammern sind die Alterstufen angegeben, für welche die signifikanten Unterschiede gelten.**

Junge Mäuse mit einem Alter von ein bis vier Tagen gaben am signifikant häufigsten ($p < 0,001$) Rufsequenzen (Gerangellaute) ab, welche zwei bis fünf Einzellaute enthielten. Rufsequenzen mit sechs bis zehn Einzellauten waren bei bis zu vier Tage alten Jungen häufiger zu hören als nur ein einzelner Laut oder eine größere Zahl an Einzellauten innerhalb einer

Rufsequenz. Statistisch signifikante Unterschiede traten im Vergleich zwischen der Rufsequenzgruppe mit sechs bis zehn Einzellauten und nur einem Laut ab einem Alter der Jungen von zwei Tagen (mindestens $p < 0,01$), und im Vergleich zu der Rufsequenzgruppe mit mehr als zehn Einzellauten bei zwischen ein und vier Tage alten Jungen auf ($p < 0,001$). Bei fünf Tage alten Jungen wurde innerhalb der Rufsequenzgruppe mit nur einem einzigen Laut gegenüber den Rufsequenzgruppen mit einer größeren Anzahl an Einzellauten (mindestens zwei) eine signifikant geringere ($p < 0,001$) Anzahl an Gerangellauten gemessen. In der Häufigkeit der abgegebenen Gerangellaute bestanden bei diesen Jungen zwischen den Gruppen mit mehr Einzellauten pro Rufsequenz keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,1$).

Innerhalb der Rufsequenzgruppen traten, bezüglich der Zahl an abgegebenen Gerangellauten zwischen den verschiedenen Altersgruppen (1 – 5 Tage) der Jungen, folgende Unterschiede auf. Nur einen einzelnen Laut gaben alle Jungen unabhängig von ihrem Alter in nur sehr geringem Maße ab, wobei zwischen den Werten keine signifikanten Unterschiede (H-Test, $p > 0,05$) bestanden. Innerhalb der übrigen Rufsequenzgruppen ergaben sich hingegen signifikante Unterschiede zwischen der Anzahl an abgegebenen Gerangellauten an den verschiedenen Tagen. Innerhalb der Gruppe von zwei bis fünf Einzellauten wurde bei zwei Tage alten Jungen eine signifikant größere (U-Test, $p < 0,05$) Anzahl an Gerangellauten gemessen als an den übrigen Tagen. Sechs bis zehn Einzellaute kamen bei Jungen ab dem zweiten Tag nach ihrer Geburt signifikant (U-Test, mindestens $p < 0,05$) häufiger vor als bei einem Tag alten Jungen. Zwischen zwei, drei, vier und fünf Tage alten Tieren bestanden innerhalb dieser Rufsequenzgruppe keine signifikanten Unterschiede (U-Test, $p > 0,1$). Innerhalb der Rufsequenzgruppe mit mehr als zehn Einzellauten stiegen die Werte mit zunehmendem Alter der Jungen deutlich an. Signifikante Unterschiede ergaben sich zwischen Jungen mit einem Alter bis zu zwei Tagen und älteren Jungen (U-Test, mindestens $p < 0,01$), sowie zwischen drei und fünf Tage alten Jungen (U-Test, $p < 0,05$).

Insgesamt gaben die Jungen aller getesteten Altersgruppen (1 – 5 Tage) Rufsequenzen mit nur einem Einzellaut in nur sehr geringem Maße ab. Der Anteil der Einzellaute an allen analysierten Rufsequenzen lag bei allen Verhaltensuntersuchungen ($n = 170$) bei durchschnittlich 12 %. Auf diesen einzelnen Laut reagierten die Mütter nur zu 14 % mit Brutpflege- oder Aufmerksamkeitsverhalten. In 86 % der Fälle zeigten die Mütter keinerlei Reaktionen auf Einzellaute ihrer Jungen. Rufsequenzen der Jungen, welche aus mindestens zwei Einzellauten bestanden, wurden zu 48 % mit Brutpflege- (45 %) oder Aufmerksamkeitsverhalten beantwortet (52 % „Nichtreaktionen“). Aus diesem Grund wurden im folgenden nur noch die Ergebnisse betrachtet, welche aus den Reaktionen bzw. „Nichtreaktionen“ auf Rufsequenzen mit mindestens zwei Einzellauten (Gerangellautserien) erhalten wurden.

Auf die Gerangellautserien der Jungen, unabhängig von der Anzahl an Einzellauten innerhalb der Rufsequenzen, wurden in erster Linie Reaktionen beobachtet, welche unmittelbar der Brutpflege des Wurfes dienten. In folgender Abbildung ist der relative Anteil (gegenüber den

„Nichtreaktionen“; Abbildung 3-4 A) und die absolute Anzahl (Abbildung 3-4 B) an Brutpflegereaktionen der Mütter auf die Gerangellautserien der Jungen in Abhängigkeit vom Alter der Jungen graphisch dargestellt.

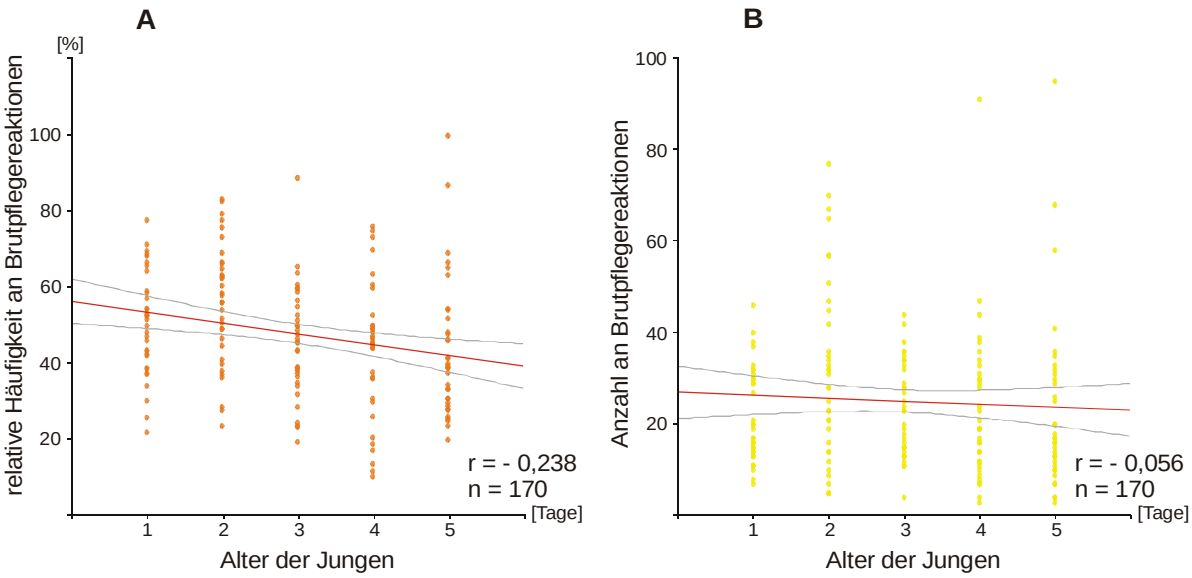


Abbildung 3-4: A: Relativer Anteil an Brutpflegereaktionen (gegenüber den „Nichtreaktionen“) in Abhängigkeit vom Alter der Jungen (1 – 5 Tage). B: Absolute Anzahl an Brutpflegereaktionen in Abhängigkeit vom Alter der Jungen (1 – 5 Tage). Dargestellt sind die Regressionsgeraden (rot) durch die Messwerte, sowie das 95 % Konfidenzintervall (grau). (n = Anzahl der Werte, r = Korrelationskoeffizient)

Der relative Anteil der Brutpflegereaktionen auf die Gerangellautserien der Jungen nimmt mit zunehmendem Alter der Jungen kontinuierlich und signifikant (Korrelationsanalyse, $p < 0,01$) ab (Abbildung 3-4 A). Aufgrund der leicht steigenden Rufaktivität der älteren Jungen (Abbildung 3-2), bleibt jedoch die absolute Anzahl an Brutpflegereaktionen der Mütter zwischen dem ersten und dem fünften Tag nach der Geburt der Jungen gleich (Abbildung 3-5 B, Korrelationsanalyse, $p > 0,1$;).

Unabhängig vom Alter der Jungen traten drei verschiedene Brutpflegereaktionen der Mütter (Lecken, Lageveränderung und Nestbau) nach den Gerangellautserien der Jungen auf. Am signifikant häufigsten lösten die Gerangellautserien der Jungen bei den Müttern intensives Belecken der Jungen aus. Signifikant weniger reagierten die Mütter mit einer Veränderung der Säugeposition (Lageveränderung). Am weitaus wenigsten wurden die Rufe der Jungen mit Nestbauaktivitäten beantwortet (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen mit jeweils $p < 0,001$). Um das Verhältnis der drei Brutpflegereaktionen zueinander zu verdeutlichen, wurden in Abbildung 3-5 die relativen Häufigkeiten der Reaktionen dargestellt.

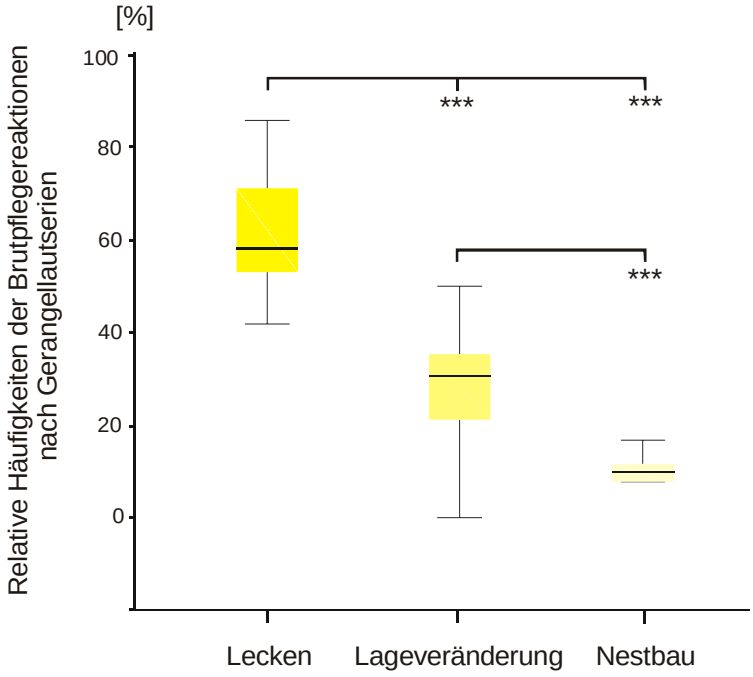


Abbildung 3-5: Vergleich zwischen den Brutpflegereaktionen – Lecken, Lageveränderung, Nestbau – nach Gerangellautserien der Jungen bei allen getesteten Müttern. Dargestellt sind die Mediane der relativen Reaktionshäufigkeiten mit Quartilen (Q_{25} und Q_{75}) und Spannweite. Signifikante Unterschiede zwischen den jeweiligen Reaktionshäufigkeiten sind mit * (p < 0,001) unter den Klammern gekennzeichnet.**

3.1.1.2 Brutpflegereaktionen auf Gerangellautattrappen

Auf die in den Rufpausen der Jungen eingespielten synthetisierten Gerangellautattrappen zeigten die Mütter ebenfalls Brutpflegereaktionen. Um die Effektivität einer künstlichen Lautattrappe in Hinsicht auf das Auslösen von Brutpflegereaktionen zu ermitteln, wurde aus den relativen Antworthäufigkeiten auf die jeweilige Lautattrappe und die natürlichen Gerangellaute der Qualitätsquotient Q gebildet (Kapitel 2.2.3).

Die Q-Werte der einzelnen Attrappen wurden zunächst auf Ausreißer (Ausreißer-Test, Sachs, 1999) hin untersucht. Hierbei stellte sich heraus, dass bei den Attrappen C (+20 ms), G (+50 ms) und J (-30 ms) jeweils eine Messung als Ausreißer zu betrachten war (mindestens $p < 0,05$). Aus diesem Grund wurden bei diesen Attrappen im folgenden nur die Ergebnisse aus den übrigen 9 Versuchen betrachtet.

In den folgenden Abbildungen sind die berechneten mittleren Q-Werte für die Lautattrappen A – L (Abbildung 3-6) und M – Q (Abbildung 3-7) als Balkendiagramme dargestellt.

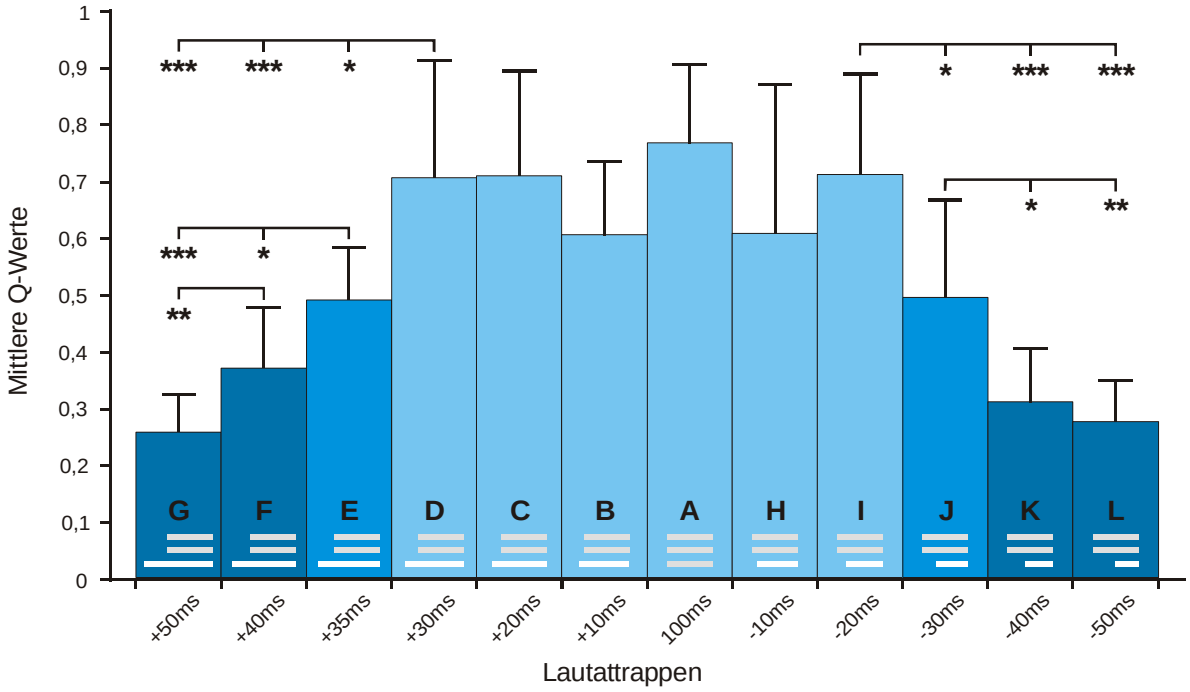


Abbildung 3-6: Effektivität der Attrappen A – L als Auslöser von Brutpflegereaktionen der Mütter. Dargestellt sind die mittleren Q-Werte mit Standardabweichung. Die Beschaffenheit der Lautattrappen ist im unteren Bereich der Balken graphisch dargestellt. Signifikante Unterschiede zwischen den jeweiligen Q-Werten sind mit * (p < 0,05), ** (p < 0,01) und * (p < 0,001) unter den Klammern gekennzeichnet.**

Der mittlere Q-Wert der Attrappe A, bei der alle drei Frequenzen synchron über 100 ms dargeboten wurden, stellte den höchsten Wert von 0,76 dar. Ein früheres Einsetzen der Grundfrequenz bis zu +30 ms (Attrappe B, C und D), sowie ein späterer Beginn der Grundfrequenz bis zu -20 ms (Attrappe H und I) zeigte keinen signifikanten Einfluss auf das Auslösen von Brutpflegereaktionen bei den Müttern (H-Test, $p > 0,1$). Außerhalb dieser Grenzen (Attrappe E – G und J – L) führte ein zunehmend früherer oder späterer Beginn der Grundfrequenz jedoch zu einem kontinuierlichen und signifikanten Absinken der mittleren Q-Werte, verglichen mit den Werten der Attrappen A – D, H und I (H-Test mit jeweils $p < 0,001$; U-Test, mindestens $p < 0,05$ in Abbildung 3-6).

Verkürzt man die Dauer der Attrappe A von 100 ms auf 80, 70 oder 50 ms, so führte dies zu einer linearen (Korrelationsanalyse, $r = 0,9152$, $n = 40$, $p < 0,001$) und signifikanten Verschlechterung der Lautattrappen als Auslöser für Brutpflegeverhalten bei den Müttern (H-Test, $p < 0,01$; U-Test, mindestens $p < 0,05$ in Abbildung 3-7). Betrachtet man Attrappe P und Q, bei denen die Grundfrequenz bei einer Dauer von 100 ms um 30 ms früher oder später als die beiden Obertöne begann, so wurden diese Lautattrappen in ähnlichem Maße wie Attrappe J (U-Test, $p > 0,1$) und signifikant schlechter als Attrappe A (U-Test, $p < 0,01$) und D (U-Test, $p < 0,05$) beantwortet. Obwohl bei den Attrappen P und Q die drei Frequenzen, wie in

Attrappe N, 70 ms simultan gehört wurden, lösten die beiden Attrappen P und Q signifikant mehr (U-Test, mindestens $p < 0,05$) Brutpflegereaktionen als Attrappe N aus. Auch die Attrappen I, J und L, mit einer simultanen Dauer der drei Frequenzen von 80, 70 bzw. 50 ms, wurden im Vergleich zu den Attrappen O, N und M signifikant mehr (U-Test, mindestens $p < 0,05$) mit Brutpflegeverhalten von den Müttern beantwortet.

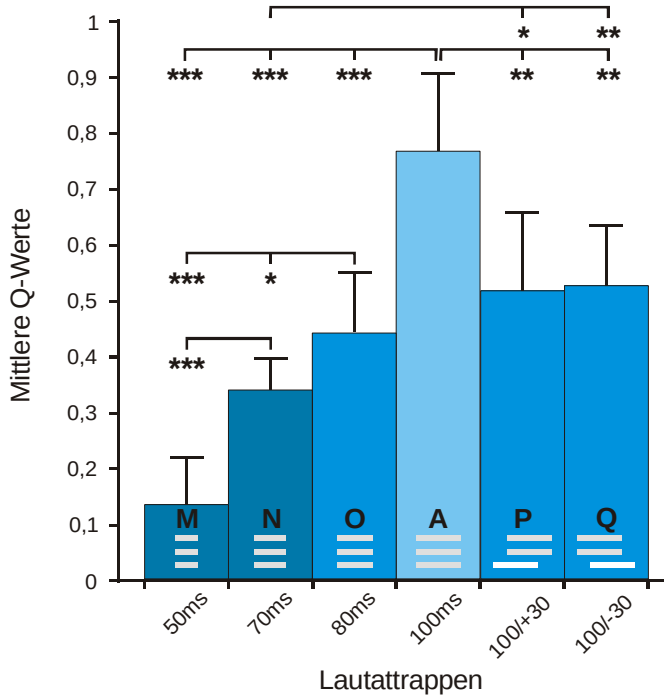


Abbildung 3-7: Effektivität der Lautattrappen M – Q als Auslöser von Brutpflegeverhalten im Vergleich zu Attrappe A. Dargestellt sind die mittleren Q-Werte mit Standardabweichung. Signifikante Unterschiede zwischen den jeweiligen Q-Werten sind mit * ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$) und * ($p < 0,001$) unter den Klammern gekennzeichnet.**

Auch auf die synthetisierten Lautattrappen zeigten die Mütter die drei beschriebenen Brutpflegereaktionen, Lecken (Le), Lageveränderung (La) und Nestbau (N). Die mittleren Reaktionshäufigkeiten sind in folgender Tabelle für jede der 17 Lautattrappen aufgelistet.

Wie aus Tabelle 3-1 zu erkennen ist, zeigten die Mütter auch auf die künstlichen Gerangellautattrappen Nestbauverhalten in nur sehr geringem Maße. Bei allen Tieren kam Nestbau mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von mindestens $p < 0,05$ (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen) weniger häufig vor, als die beiden anderen mütterlichen Verhaltensweisen (Lecken, Lageveränderung). Zwischen Belecken der Jungen und Lageveränderung wurde, bis auf Attrappe F ($p < 0,01$), O und Q (jeweils $p < 0,05$), kein signifikanter Unterschied ($p > 0,1$, jeweils Wilcoxon-Test für Paardifferenzen) in der auftretenden Häufigkeit gemessen.

Attrappe	A (100ms)			B (+10ms)			C (+20ms)			D (+30ms)			E (+35ms)			F (+40ms)			G (+50ms)		
Reaktion	Le	La	N	Le	La	N	Le	La	N	Le	La	N	Le	La	N	Le	La	N	Le	La	N
Median	7,5	5,5	2	6	6,5	1	8	7	2	5,5	7	1,5	3,5	4	0	5	3	0	2	3	0
Q_{25}	6	4	1	4	6	0	2	6	1	4	5	1	1	2	0	4	2	0	1	2	0
Q_{75}	12	10	4	7	8	2	12	8	3	9	11	3	5	5	1	7	3	0	5	7	1

Attrappe	H (-10ms)			I (-20ms)			J (-30ms)			K (-40ms)			L (-50ms)		
Reaktion	Le	La	N	Le	La	N	Le	La	N	Le	La	N	Le	La	N
Median	6	7	1,5	9	7	2	7	6	1	3	3	0	4	3	0,5
Q_{25}	4	5	1	8	6	1	5	4	0	2	1	0	3	3	0
Q_{75}	8	11	3	10	9	3	9	8	1	5	5	0	4	4	1

Attrappe	M (50ms)			N (70ms)			O (80ms)			P (100/+30)			Q (100/-30)		
Reaktion	Le	La	N	Le	La	N	Le	La	N	Le	La	N	Le	La	N
Median	2	1	0	3	3	0	4	2	0	6	2	0	7	4	0
Q_{25}	1	0	0	2	1	0	3	0	0	4	0	0	3	2	0
Q_{75}	3	2	0	4	3	1	6	3	1	9	6	0	9	5	1

Tabelle 3-1: Mittlere Häufigkeiten der Brutpflegereaktionen – Lecken (Le), Lageveränderung (La) und Nestbau (N) – nach den künstlichen Lautattrappen A – Q. Die Lautattrappen sind gemäß ihrer Effektivität mit verschiedenen Blautönen (vgl. Abbildung 3-6 und Abbildung 3-7) gekennzeichnet. Angegeben sind die Mediane mit den beiden Quartilen (Q_{25} und Q_{75}).

3.1.1.3 Aufmerksamkeitsreaktionen

Neben den Brutpflegereaktionen, bei denen sich die Mütter intensiv um ihre Jungen kümmerten, wie Belecken der Jungen, Lageveränderung und Nestbau, zeigten die Mütter auch Aufmerksamkeitsreaktionen. Diese zeigten sich in einem kurzen Anheben des Kopfes als Reaktion auf natürliche oder synthetisierte Gerangellautserien. Die Häufigkeiten der Aufmerksamkeits- und Brutpflegereaktionen auf die natürlichen Gerangellautserien der Jungen sind in Abbildung 3-8 dargestellt.

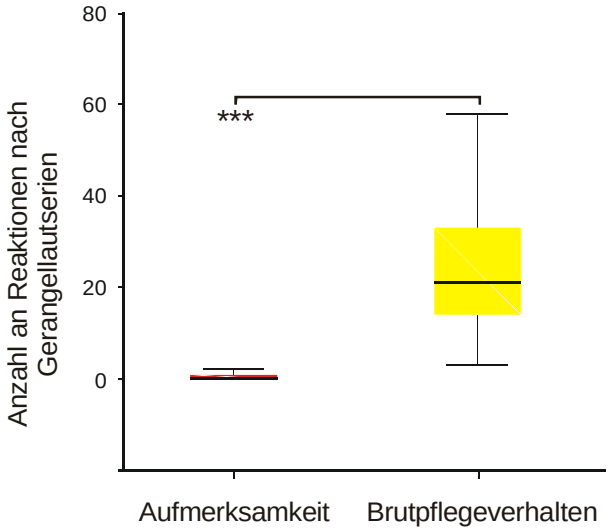


Abbildung 3-8: Vergleich zwischen den Aufmerksamkeits- und Brutpflegereaktionen der Mütter auf die natürlichen Gerangellautserien der Jungen. Dargestellt ist sind die Mediane der beiden relativen Reaktionshäufigkeiten mit Quartilen (Q_{25} und Q_{75}) und Spannweite. Ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Reaktionshäufigkeiten ist mit * ($p < 0{,}001$) unter der Klammer gekennzeichnet.**

Auf die natürlichen Gerangellautserien ihrer Jungen reagierten die Mütter signifikant weniger häufig (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, $p < 0{,}001$) mit Aufmerksamkeit als mit einer der drei beschriebenen Brutpflegereaktionen (Abbildung 3-8). In Abhängigkeit vom Alter der Jungen ergaben sich keine Unterschiede in der Häufigkeit des gezeigten Aufmerksamkeitsverhaltens (Korrelationsanalyse, $r = 0{,}102$, $n = 170$, $p > 0{,}1$).

Auf die synthetisierten Gerangellautattrappen zeigten die Mütter, in Abhängigkeit von der Qualität der Attrappe, ein unterschiedliches Maß an Aufmerksamkeitsreaktionen. Da die Reaktionshäufigkeiten der Mütter aufgrund der Auslösequalität der Lautattrappen insgesamt stark differierten, wurde der prozentuale Anteil der Aufmerksamkeitsreaktionen an allen von den Müttern gezeigten Verhaltensweisen für jede Beobachtung berechnet, und in Abbildung 3-9 und Abbildung 3-10 graphisch dargestellt.

Bei Gerangellautattrappen mit einem früheren bzw. späteren Beginn der Grundfrequenz, relativ zu den beiden Obertönen, von bis zu +30 ms und -20 ms (Attrappe B – D, H und I), welche bei den Müttern alle in gleichem Maß Brutpflegereaktionen auslösten (vgl. Q-Werte Kapitel 3.1.1.2), blieb der Anteil an Aufmerksamkeitsreaktionen gegenüber den Brutpflegereaktionen konstant (Korrelationsanalyse, $p > 0{,}05$). Ein zunehmend früherer oder späterer Beginn der Grundfrequenz führte zu einem kontinuierlichen und signifikanten Ansteigen (Korrelationsanalyse, jeweils $p < 0{,}01$) der Aufmerksamkeitsreaktionen.

Eine schrittweise Verkürzung der Gesamtdauer der eingespielten Lautattrappen von 100 auf 50 ms, hatte keinen Einfluss auf das Maß an Aufmerksamkeitsreaktionen gegenüber den

Brutpflegereaktionen. Die relative Anzahl an Aufmerksamkeitsverhalten blieb bei den Attrappen M – O und A auf einem gleichen Niveau (Korrelationsanalyse, $p > 0,05$).

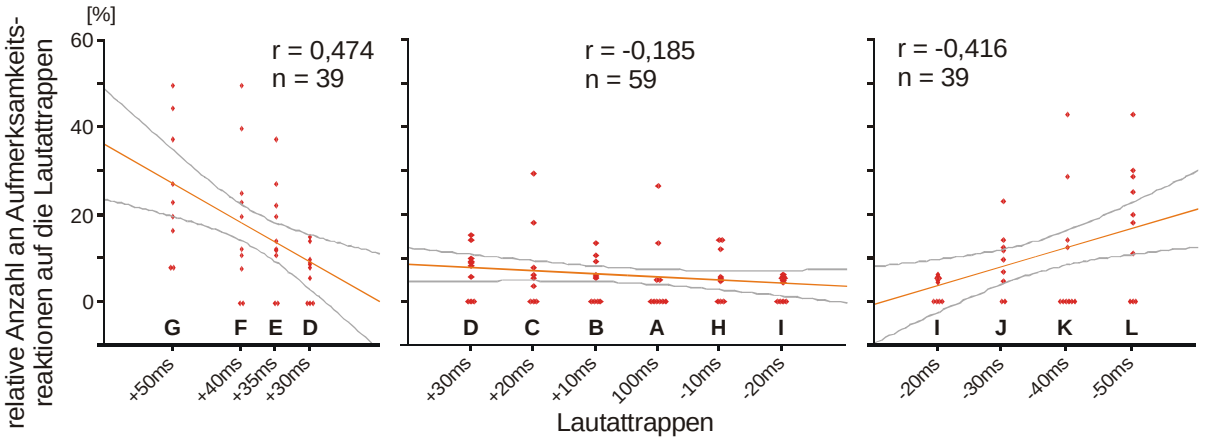


Abbildung 3-9: Relative Häufigkeiten der Aufmerksamkeitsreaktion (gegenüber den Brutpflegereaktionen) der Mütter bei den Lautattrappen A – L. Aufgrund ihrer Effektivität (vgl. Q-Werte in Abbildung 3-6) wurden die Attrappen D – G, A – D mit H und I sowie I – L miteinander verglichen. Dargestellt sind die Regressionsgeraden (orange) durch die Messwerte, sowie das 95 % Konfidenzintervall (grau). (n = Anzahl der Messwerte, r = Korrelationskoeffizient)

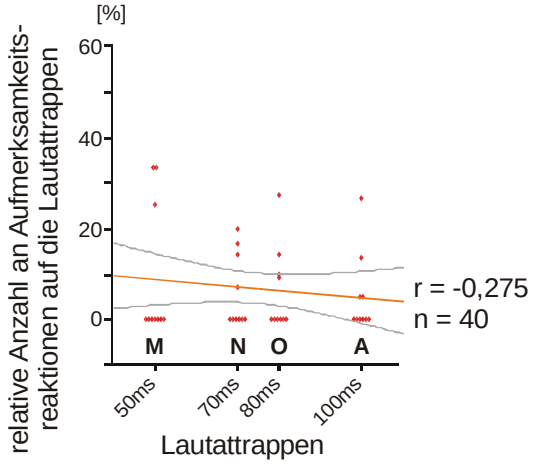


Abbildung 3-10: Relative Häufigkeiten der Aufmerksamkeitsreaktion (gegenüber den Brutpflegereaktionen) der Mütter bei den Lautattrappen M – O und A. Dargestellt ist die Regressionsgerade (orange) durch die Messwerte, sowie das 95 % Konfidenzintervall (grau). (n = Anzahl der Messwerte, r = Korrelationskoeffizient)

3.1.1.4 Spontane Aktionen

Als „spontane Aktionen“ wurden alle Verhaltensänderungen der Mütter bezeichnet, die ohne vorangegangenen akustischen Reiz zu beobachten waren. Hierbei zeigten die Mütter sowohl Brutpflege- als auch Aufmerksamkeitsreaktionen. In Abbildung 3-11 sind die spontanen Aktionen in Abhängigkeit von der im Versuch verwendeten Lautattrappe dargestellt.

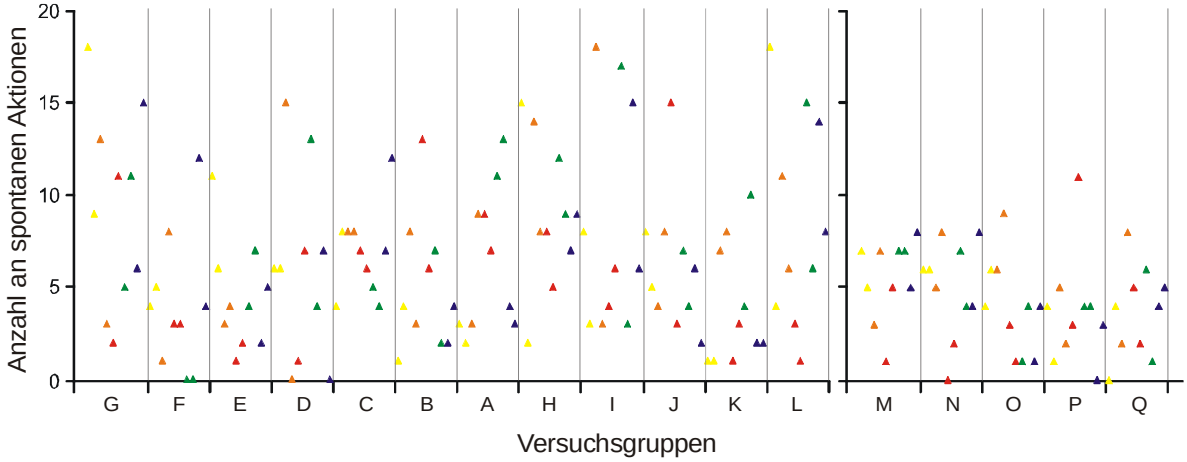


Abbildung 3-11: Anzahl der spontanen Aktionen, welche die Mütter ohne akustischen Auslöser während des Beobachtungszeitraums (45 min) zeigten. Die farbig gekennzeichneten Werte innerhalb der Versuchsgruppen (A – Q) stellen das Alter der Jungen (1 – 5 Tage) am Versuchstag dar. Pro Alter sind jeweils zwei Messwerte vorhanden (gelb = 1. Tag, orange = 2. Tag, rot = 3. Tag, grün = 4. Tag, dunkelblau = 5. Tag). Die Lautattrappen sind gemäß ihrer Effektivität wie in den Abbildung 3-6 und Abbildung 3-7 angeordnet.

Die Anzahl aller spontanen Aktionen der Mütter schwankt zwischen null und maximal 17 – 18 Aktionen innerhalb der Testzeit von 45 min. Zwischen den Werten ergaben sich statistisch keine signifikanten Unterschiede (H-Test, $p > 0,1$). Im Gegensatz zu den Ergebnissen bei den Aufmerksamkeitsreaktionen, trat bei der Anzahl an spontanen Aktionen keine Abhängigkeit von der Qualität der Lautattrappe auf. Zwischen den Attrappen A – D und H mit I, mit einem früheren bzw. späteren Beginn der Grundfrequenz von bis zu +30 ms bzw. -20 ms, wurden keine signifikanten Unterschiede (Korrelationsanalyse, $r = 0,219$, $n = 60$, $p > 0,05$) in der Anzahl an spontanen Aktionen gemessen. Auch zwischen den Attrappen G – D (früheres Einsetzen der Grundfrequenz bis zu +50 ms) und I – L (späterer Beginn der Grundfrequenz bis zu -50 ms) ergaben sich statistisch keine signifikanten Unterschiede (Korrelationsanalyse, $r = 0,234$, $n = 40$, $p > 0,1$ und $r = 0,048$, $n = 40$, $p > 0,1$) zwischen den spontanen Aktionen in Abhängigkeit von der Lautattrappe. Eine veränderte Gesamtdauer der Attrappen (Attrappe A und M – O) hatte ebenfalls keinen signifikanten (Korrelationsanalyse, $r = 0,082$, $n = 40$, $p > 0,1$) Einfluss auf die Zahl der Spontanaktionen. In Abhängigkeit vom Alter der Jungen

traten ebenfalls keine Unterschiede in der Anzahl spontaner Aktionen auf (H-Test, $p > 0,1$; Korrelationsanalyse, $r = -0,008$, $n = 170$, $p > 0,1$).

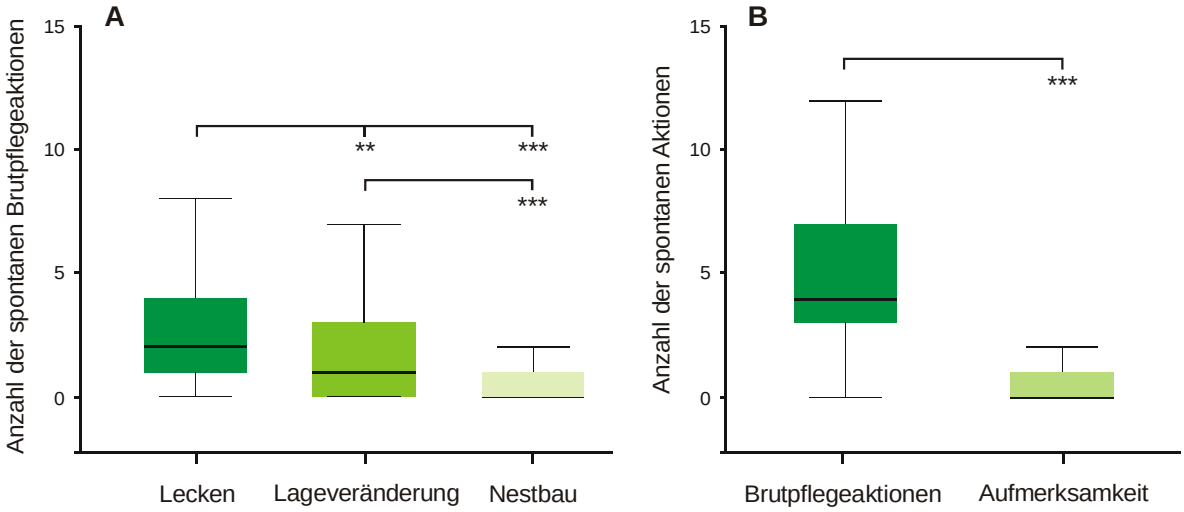


Abbildung 3-12: A: Vergleich zwischen den spontan gezeigten Brutpflegeaktionen – Lecken, Lageveränderung und Nestbau. B: Vergleich zwischen den spontanen Brutpflege- und Aufmerksamkeitsaktionen der Mütter. Dargestellt sind jeweils die Mediane der relativen Aktionshäufigkeiten mit Quartilen (Q_{25} und Q_{75}) und Spannweite. Signifikante Unterschiede zwischen den Aktionshäufigkeiten sind mit * ($p < 0,01$) und *** ($p < 0,001$) unter den Klammern gekennzeichnet.**

Bei der Häufigkeitsverteilung der von den Müttern gezeigten spontanen Aktionen sind hinsichtlich der Brutpflege- und Aufmerksamkeitsaktionen die gleichen Tendenzen wie bei den oben beschriebenen Reaktionen auf die natürlichen Gerangellaute zu erkennen. Die mittlere Anzahl der spontanen Brutpflege- und Aufmerksamkeitsaktionen ist in Abbildung 3-12 dargestellt.

Das spontane Verhalten „Belecken der Jungen“ wurde gegenüber den beiden anderen Brutpflegeaktionen Lageveränderung und Nestbau signifikant häufiger von den Müttern gezeigt. Eine Lageveränderung auf den Jungen wurde am zweithäufigsten bei den Müttern beobachtet. Ohne vorangegangene akustische Stimulation zeigten die Mütter Nestbauverhalten signifikant weniger als Lecken und Lageveränderung (Abbildung 3-12 A, jeweils Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, mindestens $p < 0,01$). Aufmerksamkeitsverhalten kam gegenüber dem Brutpflegeverhalten auch bei den spontanen Aktionen signifikant seltener vor (Abbildung 3-12 B, Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, $p < 0,001$).

3.1.2 Verhalten der naiven Weibchen

Das Verhalten naiver Weibchen gegenüber nestjungen Mäusen wurde ohne Beisein der Mütter untersucht. Zunächst wurde das Verhalten von vier naiven Weibchen mit zwei, drei oder fünf Tage alten Jungen und der entsprechenden Zeit an Brutpflegeerfahrung unter den bei den Müttern beschriebenen Versuchsbedingungen beobachtet. Die brutpflegeerfahrenen, naiven Weibchen reagierten auf die neue Umgebungssituation im Beschallungsraum, wie die Mütter, zunächst mit Unruhe und Erkundungsverhalten. Im Gegensatz zu den Müttern zeigten die naiven Weibchen dieses Verhalten jedoch nur 30 – 45 min, woraufhin sie sich in Säugestellung auf die Jungen setzten. Auf die Gerangellaute der Jungen zeigten die naiven Weibchen, wie die Mütter Brutpflege- oder Aufmerksamkeitsverhalten.

3.1.2.1 Natürliche Gerangellaute der Jungen

Da die naiven Weibchen auf die natürlichen Gerangellaute der Jungen reagierten, wurden zehn naive Weibchen, mit ein bis fünf Tagen Brutpflegeerfahrung, mit Lautattrappe A (alle drei Frequenzen synchron mit einer Dauer von 100 ms) als zusätzliche Gerangellaute beschallt und ihr Verhalten beobachtet. Das Verhalten der naiven Weibchen und die Rufaktivität der Jungen wurde im folgenden mit den Daten der Mütter nach Beschallung mit Attrappe A verglichen.

Die natürlichen Gerangellaute der Jungen bestanden auch in den Versuchen mit den naiven Weibchen aus Lautserien (Rufsequenzen) mit einer unterschiedlichen Anzahl an Einzellauten. In den folgenden Auswertungen wurde, wie bei den Müttern, jeweils eine abgeschlossene Rufsequenz als ein Gerangellaut betrachtet. Aufgrund der Zahl an Einzellauten innerhalb der Gerangellaute (Rufsequenzen) wurden diese in vier Rufsequenzgruppen, mit nur einem Laut, zwei bis fünf, sechs bis zehn und mehr als zehn Einzellauten, unterteilt. Daher wurde, wie bei den Müttern, zunächst die Gesamtzahl aller abgegebenen Gerangellaute (Rufsequenzen) und anschließend die Anzahl der Gerangellaute innerhalb der Rufsequenzgruppen betrachtet.

Die mittlere Anzahl der von den Jungen innerhalb der Verhaltensuntersuchungen mit zusätzlicher Beschallung (Testzeit jeweils 45 min) abgegebenen Gerangellaute ist in Abbildung 3-13 bei Müttern und naiven Weibchen dargestellt. Hierin ist zu erkennen, dass die Jungen bei den naiven Weibchen innerhalb der Testzeit von 45 min signifikant weniger (t-Test, $p < 0,01$) Gerangellaute abgaben als bei den Müttern.

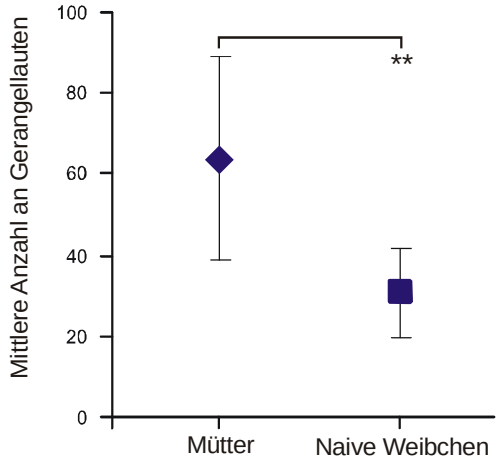


Abbildung 3-13: Mittlere Anzahl an Gerangellauten der Jungen mit Standardabweichung innerhalb der Testzeit von 45 min bei den Müttern der Versuchsgruppe A und den naiven Weibchen. Der signifikante Unterschied zwischen den beiden Häufigkeiten ist mit ** (p < 0,01) unter der Klammer dargestellt.

Bei den naiven Weibchen wurden folgende Häufigkeiten an Gerangellauten innerhalb der vier Rufsequenzgruppen, mit nur einem Laut, zwei bis fünf, sechs bis zehn und mehr als zehn Einzellauten, gemessen. In Abbildung 3-14 ist die Anzahl an Gerangellauten innerhalb der Rufsequenzgruppen bei den Verhaltensuntersuchungen der naiven Weibchen (mit zusätzlicher Beschallung mit Attrappe A) graphisch dargestellt. Pro Altersstufe (1 – 5 Tage) sind jeweils die Daten von zwei Verhaltensuntersuchungen vorhanden.

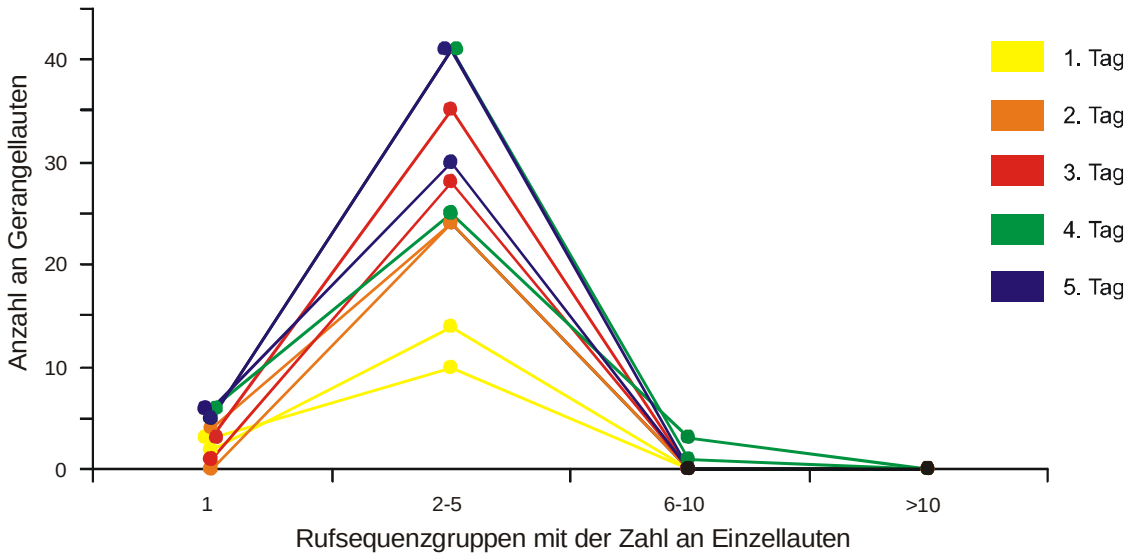


Abbildung 3-14: Anzahl an Gerangellauten innerhalb der vier verschiedenen Rufsequenzgruppen bei Jungen der jeweiligen Altersstufe in Tagen (1 – 5 Tage). Pro Alter sind die Werte aus jeweils zwei Verhaltensuntersuchungen mit naiven Weibchen dargestellt.

Aus Abbildung 3-14 ist ersichtlich, dass die Jungen jeden Alters bei den naiven Weibchen nur Rufsequenzen mit einer geringen Anzahl an Einzellauten (bis zu fünf) abgeben. Nur ein einzelner Laut pro Rufsequenz war jedoch auch sehr selten von den Jungen zu hören. Innerhalb der Rufsequenzgruppe mit zwei bis fünf Einzellauten wurde bei Jungen ab dem zweiten Tag nach ihrer Geburt gegenüber einen Tag alten Jungen eine erhöhte Anzahl an abgegebenen Gerangellauten gemessen. Rufsequenzen mit sechs bis zehn Einzellauten waren nur bei vier Tage alten Jungen, ein- und dreimal, zu hören. Mehr als zehn Einzellaute hintereinander kamen bei keiner Verhaltensuntersuchung mit naiven Weibchen vor.

Da die Häufigkeitsverteilung der abgegebenen Gerangellaute bezüglich der Anzahl an Einzellauten bei allen getesteten Tieren unabhängig vom Alter die gleiche Tendenz aufwies, wurden die Ergebnisse innerhalb der Rufsequenzgruppen zusammengefasst ($n = 10$) und statistisch miteinander verglichen (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen). Am signifikant häufigsten (jeweils $p < 0{,}001$) gaben die Jungen Rufsequenzen mit zwei bis fünf Einzellauten ab. Ein Laut pro Rufsequenz trat signifikant häufiger ($p < 0{,}01$) auf als mehr als fünf Einzellaute innerhalb einer Rufsequenz.

Auf Rufsequenzen mit nur einem Einzellaut reagierten die naiven Weibchen in keiner der Verhaltensuntersuchungen mit einer Veränderung des Verhaltens. Rufsequenzen der Jungen, welche aus mindestens zwei Einzellauten bestanden, wurden zu 60 % mit Brutpflegeverhalten beantwortet (40 % „Nichtreaktionen“). Aus diesem Grund wurden, wie bereits bei den Müttern, in den folgenden nur noch die Ergebnisse betrachtet, welche aus den Reaktionen bzw. „Nichtreaktionen“ auf Rufsequenzen mit mindestens zwei Einzellauten (Gerangellautserien) erhalten wurden.

3.1.2.2 Brutpflegereaktionen auf natürliche Gerangellaute der Jungen und Attrappe A

Da die naiven Weibchen bereits vor der Geburt der Jungen zu trächtigen Müttern in den Käfig gesetzt wurden, steht das Alter der Jungen am Versuchstag mit der Dauer der Brutpflegeerfahrung der naiven Weibchen in direktem Zusammenhang. Daher wurden die Reaktionen der naiven Weibchen auf die natürlichen und synthetisierten Gerangellautserien in Abhängigkeit von der Dauer ihrer Brutpflegeerfahrung (1 – 5 Tage) betrachtet.

Bei den Reaktionen auf die natürlichen oder künstlichen Gerangellautserien zeigte sich keinerlei Abhängigkeit von der Dauer der vorher gesammelten Brutpflegeerfahrung (H-Test, jeweils $p > 0{,}1$). Aufgrund der unterschiedlichen Gesamtzahl an abgegebenen Gerangellautserien der Jungen gegenüber der künstlich eingespielten Lautattrappe (ca. 55 Reize pro Testzeit) weist auch die Anzahl der Reaktionen auf die Gerangellautserien eine größere Streuung auf als die Anzahl der Reaktionen auf die Attrappe A.

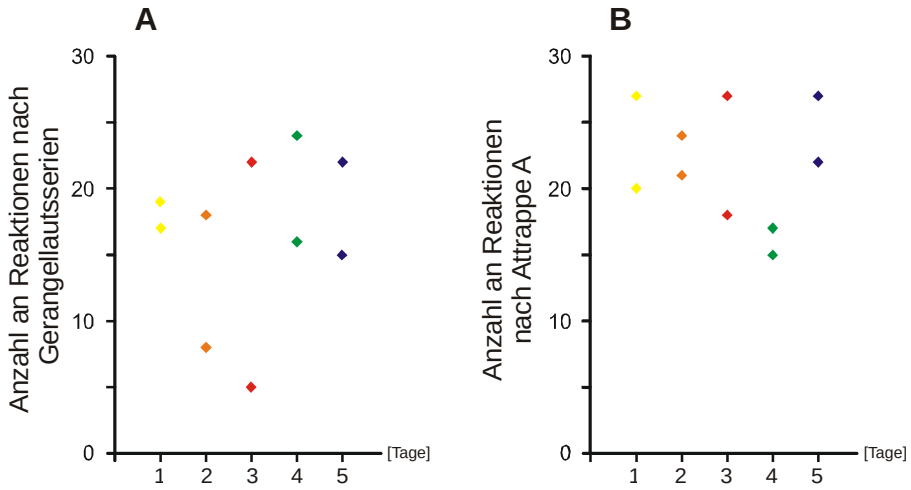


Abbildung 3-15: A: Anzahl an Reaktionen der naiven Weibchen nach den natürlichen Gerangellautserien der Jungen. B: Anzahl der Reaktionen der naiven Weibchen auf die synthetisierte Attrappe A. Die Reaktionshäufigkeiten wurden im Abhängigkeit vom Alter der Jungen aufgetragen, wobei pro Alter jeweils zwei Messwerte vorhanden sind (gelb = 1. Tag, orange = 2. Tag, rot = 3. Tag, grün = 4. Tag, dunkelblau = 5. Tag).

Die naiven Weibchen zeigten auf die natürlichen, wie auch auf die synthetisierten Gerangellautserien die bei den Müttern beschriebenen Brutpflegereaktionen, Lecken, Lageveränderung und Nestbau. Trotz des hohen Anteils an Brutpflegereaktionen (60 %) gegenüber den „Nichtreaktionen“ bei den naiven Weibchen, lag das absolute Maß an Brutpflege durch die naiven Weibchen signifikant unter dem der Mütter (t-Test, $p < 0,01$). Um das Verhältnis der drei Brutpflegereaktionen zueinander zu verdeutlichen, wurden in Abbildung 3-16 die relativen Häufigkeiten der drei Reaktionen der naiven Weibchen nach Gerangellautserien der Jungen und Attrappe A dargestellt.

Auf die Gerangellautserien der Jungen reagierten die naiven Weibchen signifikant häufiger (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, $p < 0,01$ und $p < 0,001$) mit Lecken als mit Lageveränderung oder Nestbau. Das Verhalten Nestbau zeigten die Weibchen sowohl als Reaktion auf die natürlichen Gerangellautserien als auch auf die Attrappe A nur äußerst selten (im Mittel 0,2 Reaktionen innerhalb der Testzeit von 45 min). Nach der akustischen Stimulation mit Attrappe A wurde kein Unterschied (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, $p > 0,1$) zwischen der Häufigkeit der Verhaltensweisen „Belecken der Jungen“ und „Lageveränderung“ gemessen, wobei diese beiden Verhaltensweisen signifikant häufiger (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, $p < 0,001$) vorkamen als Nestbauaktivität.

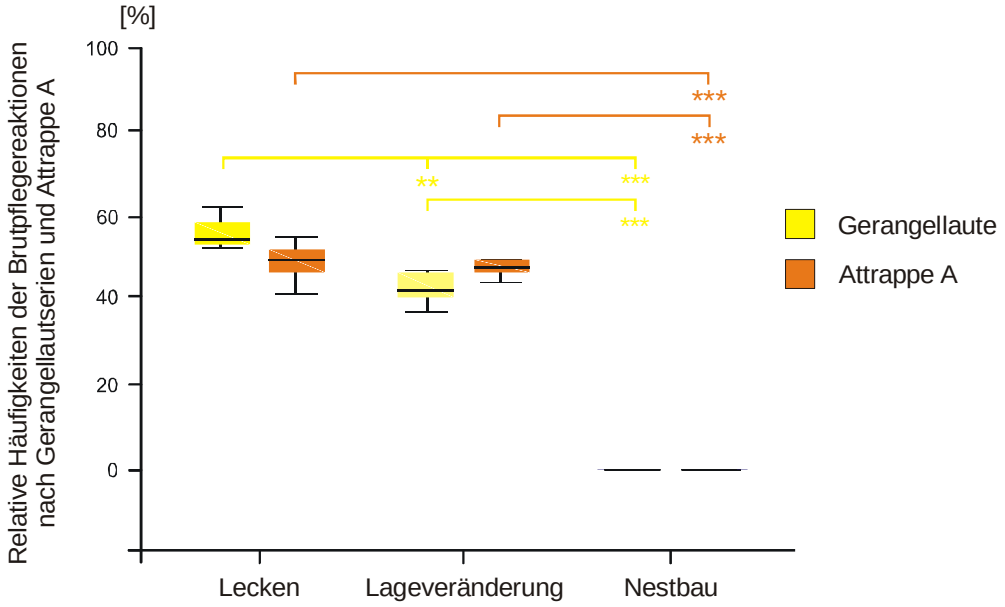


Abbildung 3-16: Mittlere relative Häufigkeiten der Brutpflegereaktionen – Lecken, Lageveränderung, Nestbau – nach Gerangellautserien der Jungen und Attrappe A bei den naiven Weibchen. Dargestellt sind die Mediane der relativen Häufigkeiten mit Quartilen (Q_{25} und Q_{75}) und Spannweite. Signifikante Unterschiede zwischen den jeweiligen Häufigkeiten sind mit ** ($p < 0,01$) und * ($p < 0,001$) unter den Klammern gekennzeichnet.**

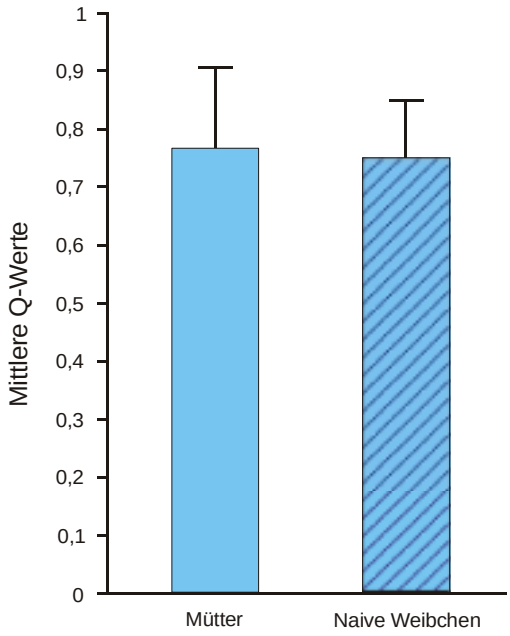


Abbildung 3-17: Effektivität der Lautattrappe A bei Müttern und naiven Weibchen. Dargestellt sind die mittleren Q-Werte mit Standardabweichung.

Die Effektivität der Attrappe A als Auslöser von Brutpflegeverhalten wurde, wie in Kapitel 2.2.3 beschrieben, auch bei den naiven Weibchen ermittelt, und mit den bei den Müttern errechneten Q-Werten dieser Attrappe verglichen (Abbildung 3-17). Die Effektivität der Gerangellautattrappe A war bei den Müttern (Q = 0,76) und naiven Weibchen (Q = 0,75) gleichermaßen hoch. Demnach wurden die künstlichen Gerangellaute der Attrappe A von den naiven Weibchen in gleichem Maße wie von den Müttern mit Brutpflegereaktionen beantwortet (t-Test, $p > 0,1$).

3.1.2.3 Aufmerksamkeitsreaktionen

Auch die naiven Weibchen zeigten als Reaktion auf die natürlichen Gerangellautserien der Jungen oder die eingespielten Lautattrappen neben den reinen Brutpflegereaktionen auch Aufmerksamkeitsverhalten. Da die Gesamtzahl der Gerangellaute bei den Tests mit den naiven Weibchen deutlich geringer war als bei den Müttern (vgl. Abbildung 3-13), wurden die relativen Häufigkeiten der Aufmerksamkeitsreaktionen miteinander verglichen und in Abbildung 3-18 graphisch dargestellt.

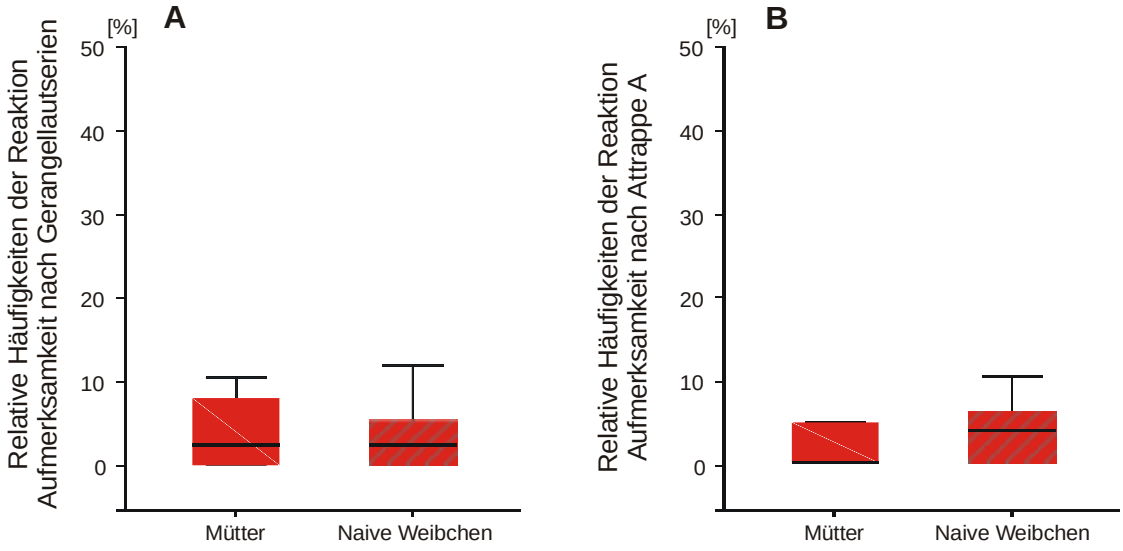


Abbildung 3-18: Relative Häufigkeiten der Aufmerksamkeitsreaktion auf natürliche Gerangellautserien der Jungen (A) und Lautattrappe A (B) bei Müttern und naiven Weibchen. Dargestellt sind die Mediane mit Quartilen (Q_{25} und Q_{75}) und Spannweite.

Der Anteil der Aufmerksamkeitsreaktionen an den insgesamt beobachteten Verhaltensweisen nach natürlichen Gerangellautserien oder künstlicher Stimulation mit Attrappe A lag bei den Müttern und naiven Weibchen im Mittel (Median) unter 5 %. Die relativen Reaktionshäufig-

keiten nach natürlichen oder synthetisierten Gerangellautserien wiesen zwischen den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede (U-Test, $p > 0,1$) auf.

3.1.2.4 Spontane Aktionen

Neben den oben beschriebenen Reaktionen auf eine akustische Stimulation, wurden bei den naiven Weibchen auch spontane Verhaltensänderungen beobachtet. Diese spontanen Aktionen traten, wie bei den Müttern, signifikant weniger häufig auf (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, $p < 0,001$) als Reaktionen auf einen akustischen Stimulus. Die Häufigkeit dieser spontanen Aktionen lag jedoch signifikant niedriger (U-Test, $p < 0,05$) als bei den Müttern der Versuchsgruppe A (Abbildung 3-19).

Bei den spontanen Aktionen der naiven Weibchen trat sowohl Brutpflege- als auch Aufmerksamkeitsverhalten auf. Hierbei zeigten die naiven Weibchen signifikant mehr Brutpflege- als Aufmerksamkeitsaktionen (Abbildung 3-20 B, Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, $p < 0,05$). Unter der Kategorie „spontanes Brutpflegeverhalten“ wurde Nestbauaktivität in keinem der zehn Versuche beobachtet. Die Häufigkeiten der beiden anderen Brutpflegeaktionen, Lecken und Lageveränderung, waren nicht signifikant voneinander verschieden (Abbildung 3-20 A, Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, $p > 0,1$).

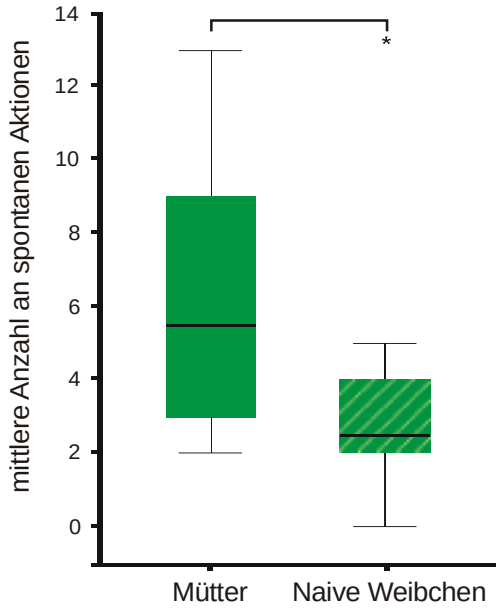


Abbildung 3-19: Mittlere Anzahl an spontanen Aktionen der naiven Weibchen verglichen mit den Müttern der Versuchsgruppe A. Dargestellt sind die Mediane mit Quartilen (Q_{25} und Q_{75}) und Spannweite. Der signifikante Unterschied ist mit * ($p < 0,05$) unter der Klammer gekennzeichnet.

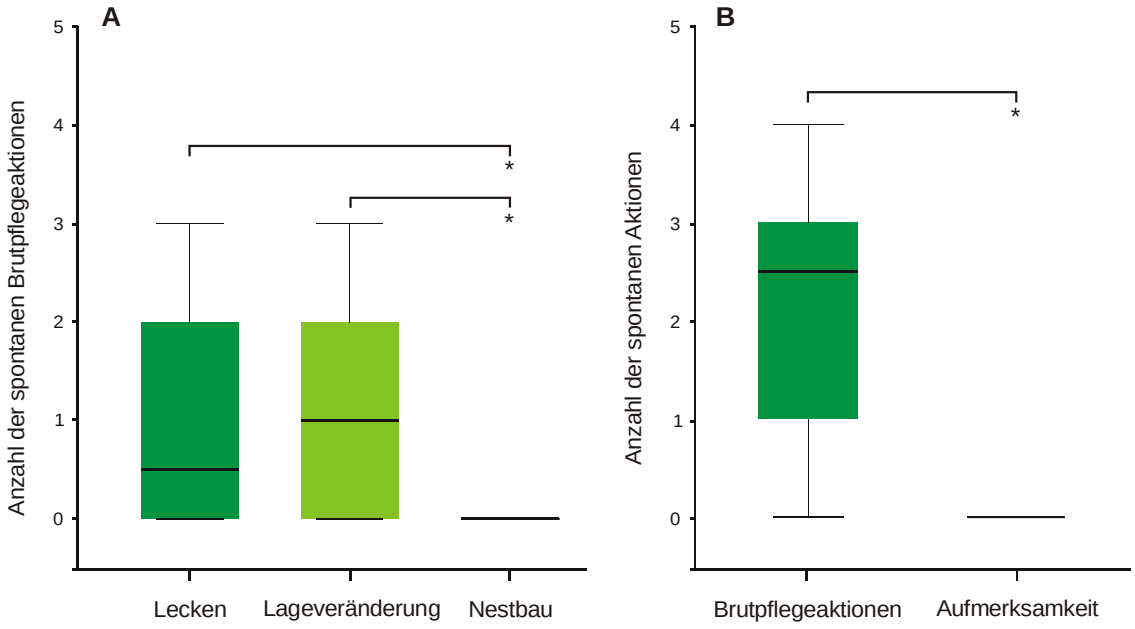


Abbildung 3-20: A: Relative Häufigkeiten der spontan gezeigten Brutpflegeaktionen – Lecken, Lageveränderung, Nestbau – der naiven Weibchen. B: Vergleich zwischen den spontanen Brutpflege- und Aufmerksamkeitsaktionen der naiven Weibchen. Dargestellt sind jeweils die Mediane der relativen Häufigkeiten mit Quartilen (Q_{25} und Q_{75}) und Spannweite. Signifikante Unterschiede zwischen den Aktionshäufigkeiten sind mit * ($p < 0,05$) unter den Klammern gekennzeichnet.

3.2 c-Fos Immunzytochemie

3.2.1 c-Fos Markierungen im Colliculus inferior

In den Schnitten durch den CI waren bei allen Versuchsgruppen c-Fos positive Zellkerne zu sehen. Im rostrocaudalen, mittleren Drittel des CI (vgl. Stiebler und Ehret, 1985; Stiebler 1987a) waren in beiden Hemisphären die c-Fos Markierungen in drei schmalen, bandenförmigen Bereichen zu finden. Zwischen diesen Banden traten keine c-Fos markierten Zellkerne auf. Für eine eindeutige Nomenklatur der drei Banden, wurde im folgenden die am weitesten dorsal am Rand des Colliculus gelegene Bande als „Bande 1“ bezeichnet. Die nächsten weiter ventromedial gelegenen, markierten Bereiche erhielten die Bezeichnung „Bande 2“ und „Bande 3“ (Abbildung 3-21).

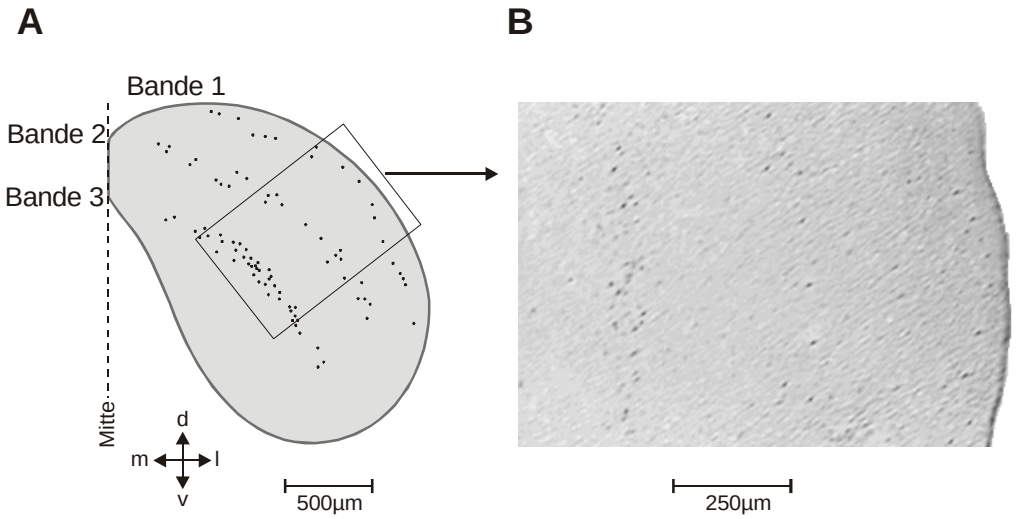


Abbildung 3-21: A: Zeichnung des CI der rechten Hemisphäre mit c-Fos markierten Zellkernen einer mit Attrappe A beschallten Mutter (d = dorsal, l = lateral, m = medial, v = ventral). B: Ausschnitt aus dem rechten CI mit den in der Zeichnung A eingezeichneten c-Fos Markierungen.

Mit zunehmender Entfernung von der Mitte und somit abnehmender Größe des CI wurde es immer schwieriger, die markierten Banden voneinander abzugrenzen. Aus diesem Grund wurden bei jedem Tier zwei Schnitte pro Hemisphäre aus dem rostrocaudalen, mittleren Drittel des CI ausgewertet. Die pro Tier innerhalb einer Hemisphäre erhaltenen Werte wurden gemittelt, und mit den Daten der anderen Tiere oder der anderen Hemisphäre verglichen. Um die genaue Lage und Ausdehnung der c-Fos markierten Banden zu ermitteln, wurde deren Abstand zum dorsolateralen Rand des CI sowie deren Gesamtlänge und Breite bestimmt (siehe Kapitel 2.3.4.1). Des weitern wurde die Anzahl an Markierungen innerhalb jeder Bande quantitativ erfasst.

Zwischen allen drei Versuchsgruppen wurden keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Lage (H-Test, jeweils $p > 0,1$) der drei Banden in den Frontalschnitten des CI festgestellt. Aus diesem Grund wurden die Daten aller drei Versuchsgruppen (insgesamt $n = 13$) zusammen statistisch ausgewertet. In Abbildung 3-22 ist der mittlere Abstand der drei Banden mit c-Fos markierten Zellkernen vom dorsolateralen Rand des CI dargestellt.

Wie aus Abbildung 3-22 zu sehen ist, wurde die 1. Bande in einem Abstand von 80 µm in der linken und 72 µm in der rechten Hemisphäre vom dorsolateralen Rand des CI gefunden. 400 µm in Richtung ventromedial lag dann ein weiterer Bereich (2. Bande) mit c-Fos markierten Zellkernen, dessen Abstand zum dorsolateralen Rand des CI im Mittel 482 µm in der linken und 493 µm in der rechten Hemisphäre betrug. Nach weiteren 400 µm war eine 3. Bande in einem Abstand von durchschnittlich 843 µm (links) bzw. 860 µm (rechts) zum Rand des CI zu sehen. Hierbei zeigte sich bei allen drei Banden über ihre gesamte Länge hinweg ein gleichmäßiger Abstand zum dorsolateralen Rand des CI. Die Abstände der drei markierten

Banden vom dorsolateralen Rand des CI unterschieden sich in beiden Hemisphären signifikant (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, jeweils $p < 0{,}001$) voneinander. Zwischen beiden Hemisphären wurden bezüglich der Lage der c-Fos Markierungen keine signifikanten Unterschiede (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, jeweils $p > 0{,}1$) festgestellt.

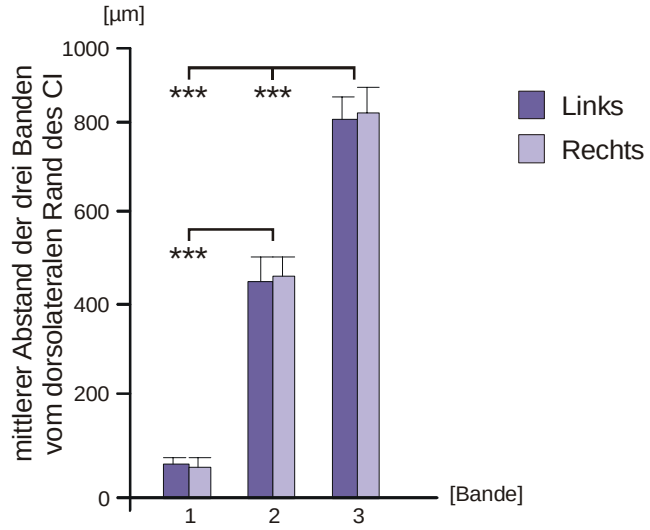


Abbildung 3-22: Mittlerer Abstand der drei Banden mit c-Fos markierten Zellkernen vom dorsolateralen Rand des CI in der linken und rechten Hemisphäre bei den Tieren aller drei Versuchsgruppen. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichung. Signifikante Unterschiede zwischen den Werten der drei Banden sind mit * ($p < 0{,}01$) unter den Klammern gekennzeichnet, wobei sich die Klammern auf Unterschiede in beiden Hemisphären beziehen.**

Auch bezüglich der Länge der drei Banden in den ausgewerteten Frontalschnitten des CI ergaben sich zwischen allen drei Versuchsgruppen keine signifikanten Unterschiede (H-Test, mindestens $p > 0{,}05$). Daher wurden die Werte der jeweiligen Bande aus allen drei Versuchsgruppen (insgesamt $n = 13$) zusammengefasst und statistisch miteinander verglichen. In Abbildung 3-23 ist die mittlere Länge der drei Banden mit c-Fos markierten Zellen im CI der linken und rechten Hemisphäre dargestellt.

Bei allen drei Versuchsgruppen stellte die 1. Bande mit Werten um die 1670 µm die signifikant längste (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, jeweils $p < 0{,}001$) der drei Banden in beiden Hemisphären des CI dar. Die Länge der 3. Bande (im Mittel 1280 µm) nahm gegenüber der 2. Bande (im Mittel 1390 µm) etwas ab, wobei nur in der linken Hemisphäre ein signifikanter Unterschied (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, $p < 0{,}001$) zwischen beiden auftrat.

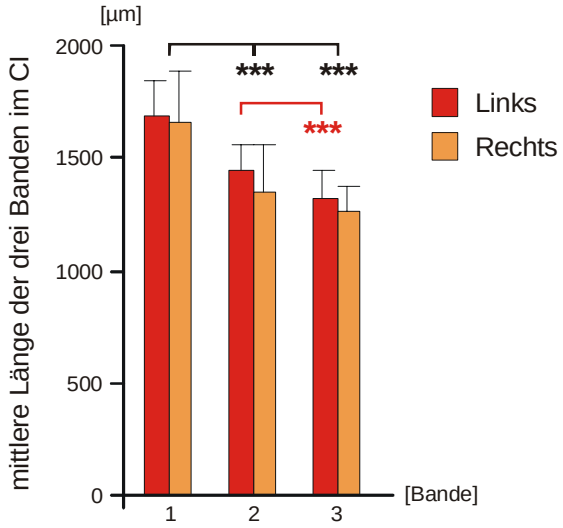


Abbildung 3-23: Mittlere Länge der drei Banden mit c-Fos markierten Zellkernen im CI der drei Versuchsgruppen in der linken und rechten Hemisphäre. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichung. Signifikante Unterschiede zwischen den Werten der drei Banden sind mit * (p < 0,01) unter den Klammern gekennzeichnet. Hierbei bezieht sich die Farbe der Klammer auf die entsprechenden Hemisphäre. Schwarz kennzeichnet einen Unterschied zwischen den Banden in beiden Hemisphären.**

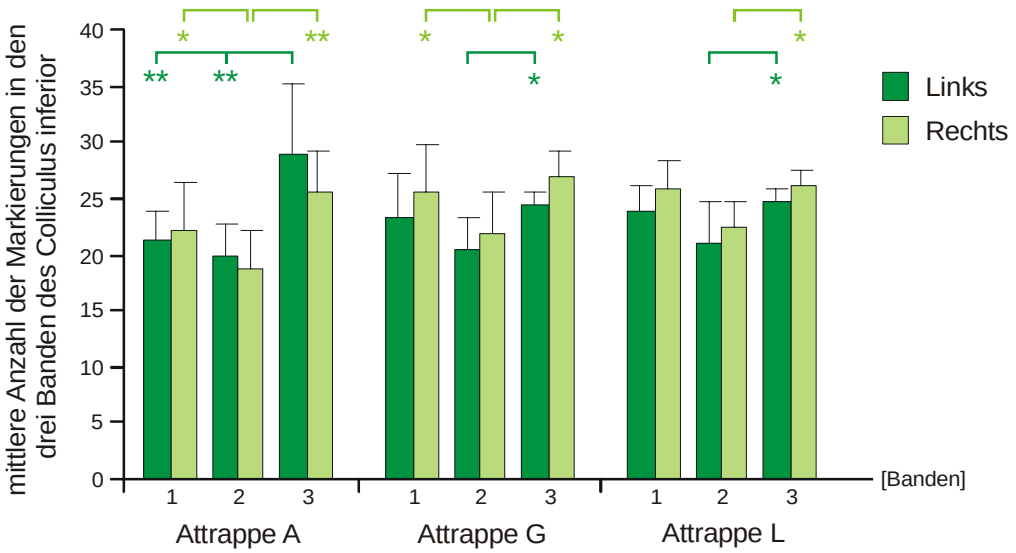


Abbildung 3-24: Mittelwerte mit Standardabweichung der Anzahl c-Fos markierter Zellkerne innerhalb der drei Banden im CI der Versuchsgruppen A, G und L in der linken und rechten Hemisphäre. Signifikante Unterschiede zwischen den Häufigkeiten sind mit * (p < 0,5) und ** (p < 0,01) unter den Klammern gekennzeichnet. Hierbei beziehen sich die Farben der Klammern auf die entsprechenden Hemisphären.

In Abbildung 3-24 ist die mittlere Anzahl der Markierungen in den drei Banden für jede der drei Versuchsgruppen (Attrappe A, G, L) dargestellt. Die Daten innerhalb jeder Versuchsgruppe wurden mit dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen (Sachs, 1999) statistisch miteinander verglichen.

Trotz ihrer geringen Länge war bei Attrappe A in der linken Hemisphäre die mittlere Anzahl an c-Fos positiven Zellkernen innerhalb der 3. Bande signifikant größer als in der 1. und 2. Bande (jeweils $p < 0,01$). In der rechten Hemisphäre hingegen unterschied sich die Anzahl an Markierungen in der 2. Bande signifikant von den beiden anderen (mindestens $p < 0,05$), in denen mehr markierte Zellkerne gefunden wurden. In der linken Hemisphäre war dies nur als Tendenz zu erkennen. Innerhalb der Gruppen G und L wurden in der 2. Bande ebenfalls weniger Markierungen ermittelt als in den Banden 1 und 3, was statistisch nur in der rechten Hemisphäre der Attrappe G (jeweils $p < 0,05$) belegt werden konnte. In der linken Hemisphäre der Gruppe G und in beiden Hemisphären der Gruppe L ergaben sich nur statistische Unterschiede zwischen der 2. und 3. Bande.

Betrachtet man nun die Markierungsdichte (Anzahl der Markierungen pro 100 µm) in den drei Banden des CI bei allen drei Versuchsgruppen, so ergaben sich folgende Werte (Abbildung 3-25).

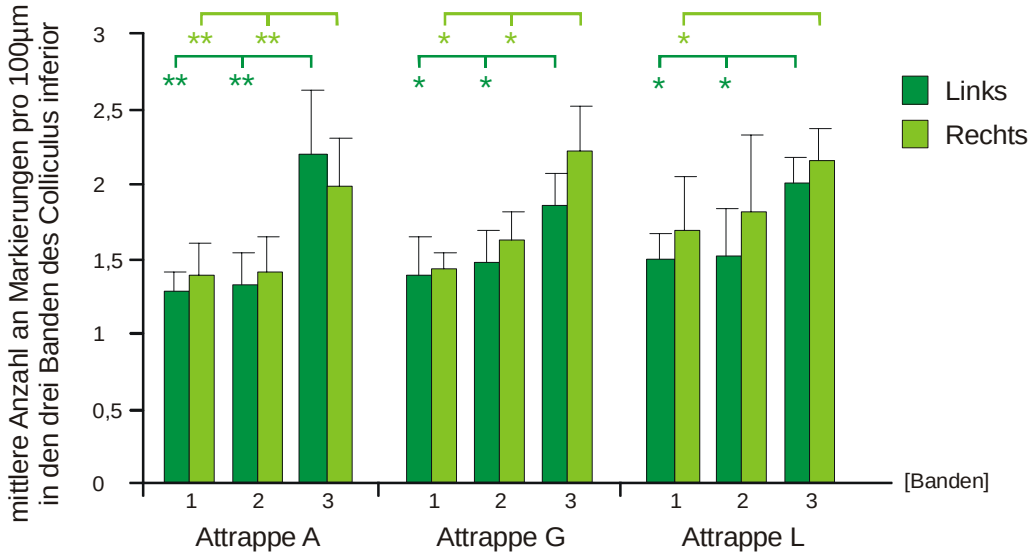


Abbildung 3-25: Mittelwerte mit Standardabweichung der Anzahl c-Fos markierter Zellkerne pro 100 µm in den drei Banden des CI der Versuchsgruppen A, G und L in der linken und rechten Hemisphäre. Signifikante Unterschiede sind mit * ($p < 0,05$) und ** ($p < 0,01$) unter den Klammern gekennzeichnet. Hierbei beziehen sich die Farben der Klammern auf die entsprechenden Hemisphären.

In der 3. Bande aller drei Versuchgruppen zeigte sich gegenüber der 1. und 2. Bande in beiden Hemisphären eine signifikant höhere Markierungsdichte (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, mindestens $p < 0,05$). Bei Attrappe L war der Unterschied zwischen der 2. und 3. Bande in der rechten Hemisphäre nur als Tendenz zu erkennen. Zwischen der Bande 1 und 2 ergaben sich in beiden Hemisphären aller drei Versuchsgruppen trotz der unterschiedlichen Länge (vgl. Abbildung 3-23) hinsichtlich ihrer Markierungsdichte keine signifikanten Unterschiede (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, jeweils $p > 0,1$).

Die Breite der drei Banden wurde in ihrem medialen, zentralen und lateralen Bereich bestimmt. Zwischen den drei Versuchsgruppen wurden hinsichtlich der Breite der Banden in den drei Bereichen keine signifikante Unterschiede (H-Test, $p > 0,1$) festgestellt. Aus diesem Grund wurden die Daten aller drei Versuchsgruppen zusammen statistisch ausgewertet (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen; Sachs, 1999). In Abbildung 3-26 ist die mittlere Breite der drei Banden in ihrem medialen, zentralen und lateralen Bereich dargestellt.

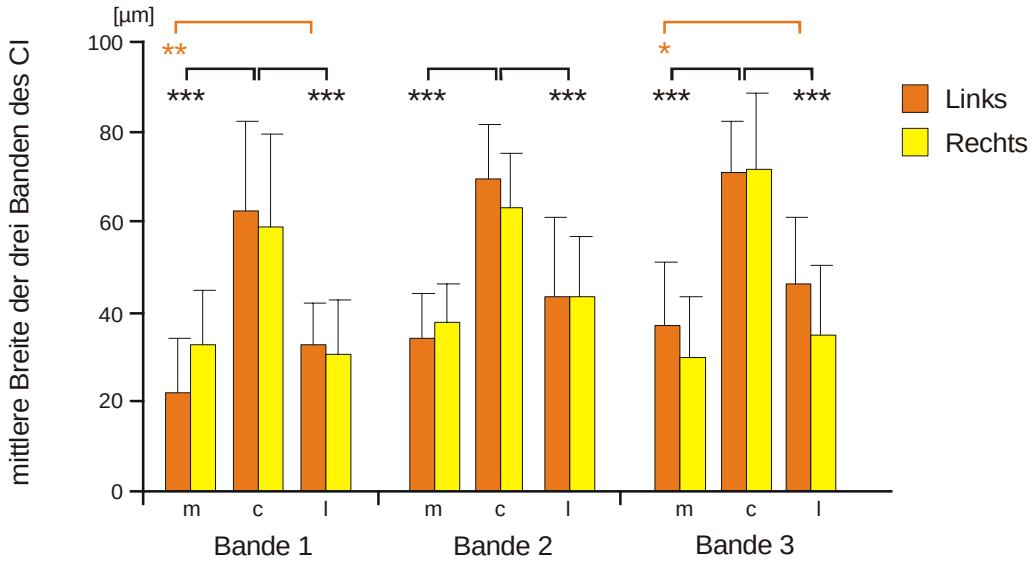


Abbildung 3-26: Mittlere Breite der drei Banden des CI in der linken und rechten Hemisphäre in ihrem medialen (m), zentralen (c) und lateralen (l) Bereich bei den Tieren aller drei Versuchsgruppen. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichung. Signifikante Unterschiede zwischen den Werten der drei Bereiche innerhalb der Banden sind mit * ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$) und * ($p < 0,001$) unter den Klammern gekennzeichnet. Hierbei bezieht sich die Farbe der Klammern auf die entsprechende Hemisphäre. Schwarz kennzeichnet einen Unterschied zwischen den Bereichen in beiden Hemisphären.**

Bei allen drei Banden wurden im zentralen Bereich (c), im Vergleich zu den beiden Endbereichen (m und l), die signifikant höchsten Breiten ($p < 0,001$) in beiden Hemisphären gemessen. Die Bande 1 war in der linken Hemisphäre lateral signifikant breiter als medial ($p < 0,01$),

wohingegen in der rechten Hemisphäre lateral und medial keine signifikanten Unterschiede in der Breite auftraten. Bei den Banden 2 und 3 wurden lateral größere Werte gemessen als medial, was nur für die 3. Bande in der linken Hemisphäre des CI statistisch verifiziert werden konnte ($p < 0,05$). In beiden Hemisphären der Bande 2 und der rechten Hemisphäre der Bande 3 war dies nur als Tendenz zu erkennen.

Im folgenden wurde die Markierungsdichte (Anzahl der Markierungen innerhalb einer Länge von 200 µm, vgl. Kapitel 2.3.4.1 Abbildung 2-7) im medialen, zentralen und lateralen Bereich der drei Banden betrachtet (Abbildung 3-27).

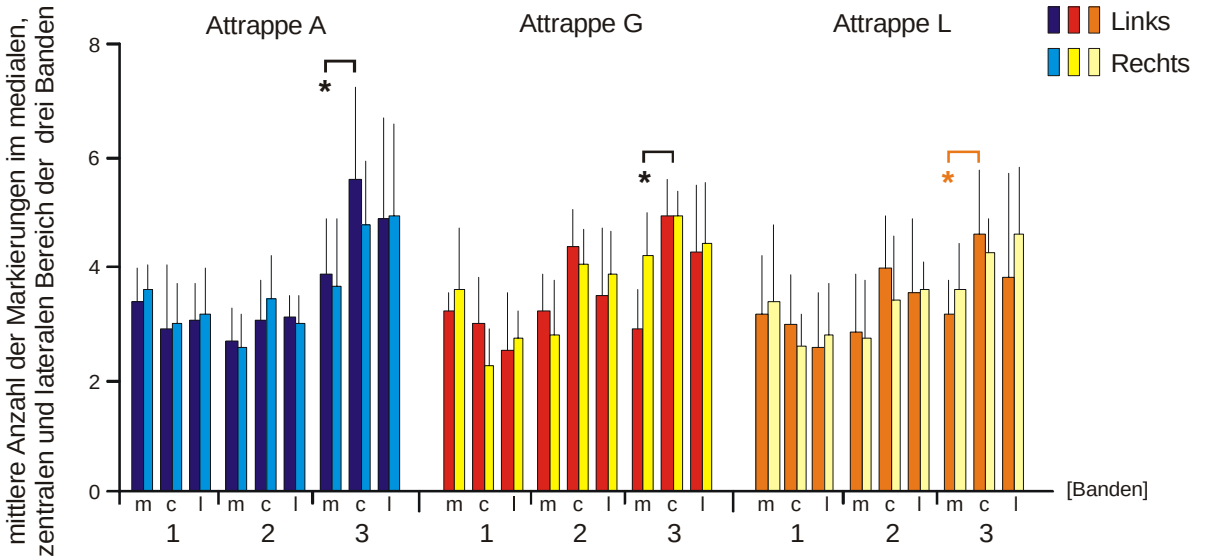


Abbildung 3-27: Mittlere Anzahl an Markierungen im medialen (m), zentralen (c) und lateralen (l) Bereich der drei Banden des CI der Versuchsgruppen A (dunkelblau/hellblau), G (rot/gelb) und L (orange/hellgelb) in der linken und rechten Hemisphäre. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichung. Signifikante Unterschiede zwischen den Häufigkeiten sind mit * ($p < 0,05$) unter den Klammern dargestellt. Hierbei beziehen sich die Farben der Klammern auf die entsprechenden Hemisphären. Schwarz kennzeichnet einen Unterschied zwischen den Bereichen in beiden Hemisphären.

In der 1. Bande aller drei Versuchsgruppen wurde medial eine größere Anzahl an Markierungen gefunden als in ihren zentralen oder lateralen Bereichen, in welchen eine ähnliche Zahl an Markierungen auftrat. Diese Häufigkeitsverteilung der c-Fos Markierungen konnte jedoch nicht statistisch belegt werden (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, mindestens $p > 0,05$). In den Banden 2 und 3 hingegen kamen in ihrem medialen Bereich weniger c-Fos markierte Zellkerne vor als zentral und lateral. Zum Teil wurden auch zentral mehr Markierungen gefunden als lateral. Statistisch signifikante Unterschiede ergaben sich jedoch nur in den linken Hemisphären aller drei Versuchsgruppen zwischen dem medialen und zentralen Bereich der

Bande 3 (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, jeweils $p < 0,05$). In der rechten Hemisphäre wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den medialen und zentralen Bereichen nur in der 3. Bande der Versuchsgruppe G ermittelt.

3.2.2 c-Fos Markierungen im auditorischen Kortex

Rostral des CI waren bei allen Versuchsgruppen c-Fos Markierungen im Bereich des AC zu finden. Mit Hilfe der Alcianblaumarkierung und den elektrophysiologisch erstellten Kartierungsskizzen wurde die Lage der auditorischen Felder und die Grenze zwischen den Feldern AAF und AI auf den Gehirnschnitten festgelegt.

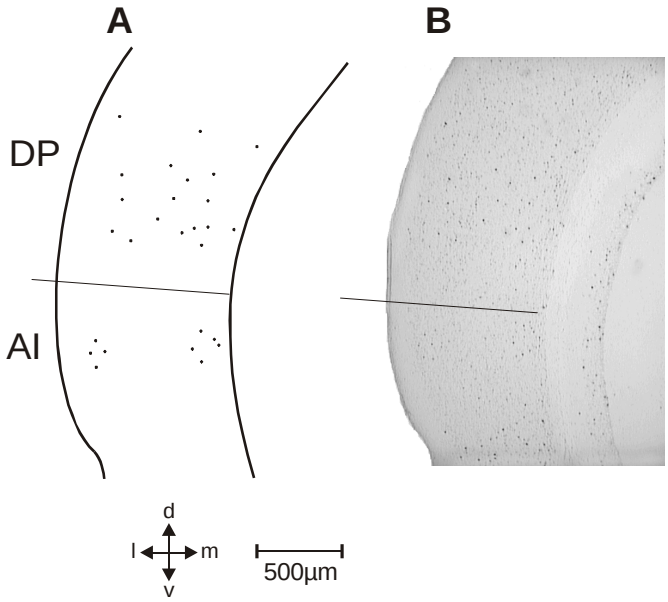


Abbildung 3-28: A: Zeichnung eines Frontalschnittes im Bereich des AC der linken Hemisphäre im Bereich der Felder AI (primäres auditorisches Feld) und DP (dorsoposteriores Feld) mit c-Fos markierten Zellkernen einer mit Attrappe A beschallten Mutter (Maus 1) (d = dorsal, m = medial, l = lateral, v = ventral). B: Frontalschnitt des linken AC mit den in der Zeichnung A eingezeichneten c-Fos Markierungen.

Im caudalen Teil des AC befanden sich die Fos positiven Zellkerne in den Gehirnschnitten ca. 250 µm dorsal der rhinalen Fissur in einem ca. 2000 µm hohen Areal. Innerhalb dieses Bereichs waren die Felder AI (ventral) und DP (dorsal) durch einen zum Teil schmalen, jedoch gut sichtbaren, Streifen ohne Markierungen voneinander abgrenzbar (Abbildung 3-28). Die Markierungen waren in AI und DP über die gesamte Feldfläche verteilt in den kortikalen

Schichten II bis VI zu finden. In zunehmend caudaler Richtung wurden in beiden Feldern keine c-Fos Markierungen mehr gefunden. Im Feld DP waren in Richtung rostral, zur Mitte des AC hin, ebenfalls keine Markierungen mehr zu sehen. In diesem Bereich erstreckte sich das Feld AI bis zu seinem rostralen Ende zunehmend nach dorsal.

Rostral an das Feld AI schließen sich die Felder AII, AAF und UF an. Hier waren ca. 200 µm dorsal der rhinalen Fissur gefärbten Zellkerne zu erkennen, wobei sich die drei Felder wiederum durch schmale Areale ohne markierte Zellen voneinander abgrenzen ließen (Abbildung 3-29). In den Feldern AII, AAF und UF lagen die Markierungen, wie in den Feldern AI und DP, diffus verstreut in den kortikalen Schichten II bis VI. Die c-Fos Markierungen erstreckten sich in allen Feldern einige hundert Mikrometer nach rostral, bis keine gefärbten Zellen mehr zu finden waren. In der linken Kortexhemisphäre wurden bei allen Versuchsgruppen außerhalb des AC, dorsal des Feldes UF, markierte Zellen im Bereich des dorsalen Feldes DF gefunden.

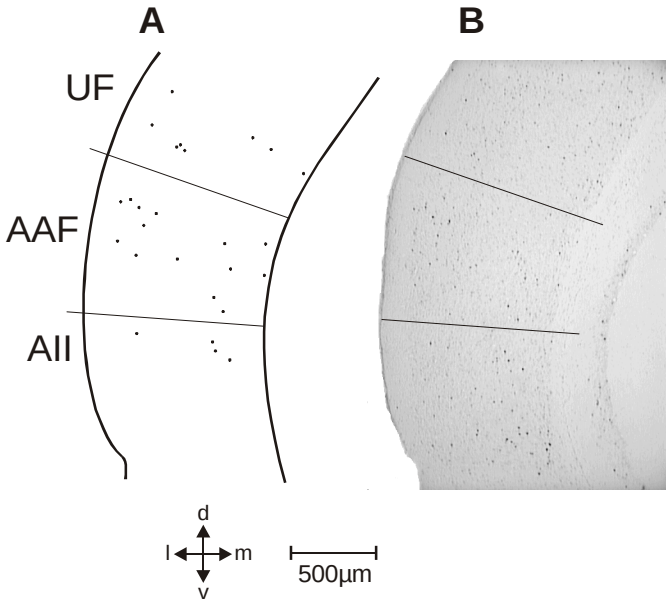


Abbildung 3-29: A: Zeichnung eines Frontalschnittes im Bereich des AC der linken Hemisphäre im Bereich der Felder AII (sekundäres auditorisches Feld), AAF (anteriores auditorisches Feld) und UF (Ultraschallfeld) mit c-Fos markierten Zellkernen einer mit Attrappe A beschallten Mutter (Maus 1) (d = dorsal, m = medial, l = lateral, v = ventral). B: Frontalschnitt des linken AC mit den in der Zeichnung A eingezeichneten c-Fos Markierungen.

Die rostrocaudale Ausdehnung der auditorischen Felder wurde anhand der Zahl der Serienschnitte mit markierten Arealen ermittelt. Hierzu wurde die Anzahl der Schnitte mit Markierungen der jeweiligen Felder (AI, AII, AAF, DP, UF und DF) mit der Schnittdicke von 30 µm

multipliziert. Die rostrocaudale Ausdehnung wurde auf diese Weise für beide Hemisphären bestimmt. Die rostrocaudale Gesamtausdehnung des AC ergab sich aus der Summe der Frontalschnitte in denen c-Fos Markierungen in den auditorischen Feldern (AI, AII, AAF, DP und UF) gefunden wurden. Abbildung 3-30 zeigt die rostrocaudale Ausdehnung der c-Fos markierten Areale in den Feldern AII, AAF, AI, UF, DP und DF bei den Müttern der drei Versuchsgruppen. Die Gesamtausdehnung der Bereiche mit c-Fos Markierungen im AC der rechten und linken Hemisphäre ist ebenfalls in Abbildung 3-30 graphisch dargestellt.

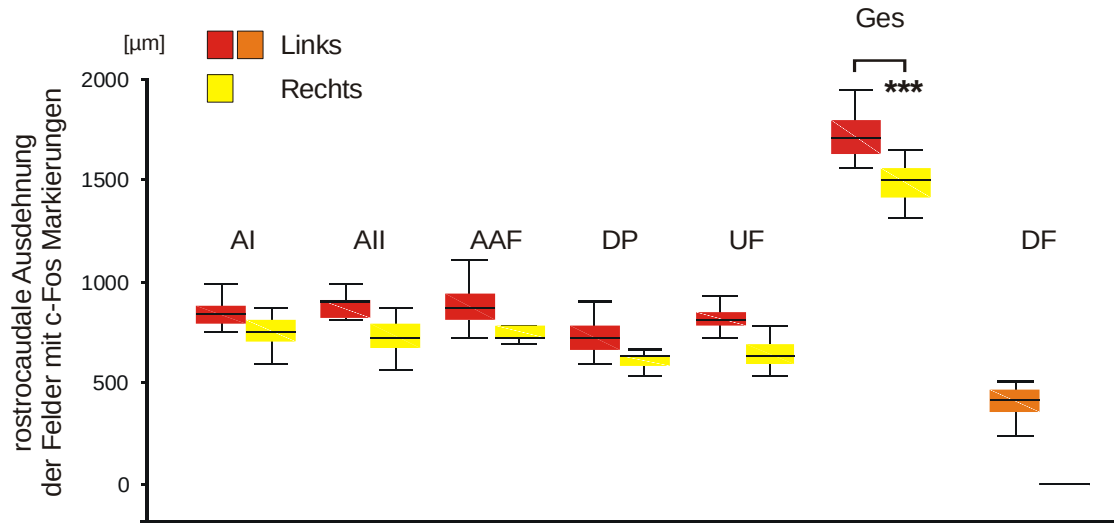


Abbildung 3-30: Rostrocaudale Ausdehnung der c-Fos markierten Areale in den auditorischen Feldern AI (primäres auditorisches Feld, AII (sekundäres auditorisches Feld), AAF (anteriores auditorisches Feld), DP (dorsoposteriores Feld), UF (Ultraschallfeld) und dem DF (dorsales Feld), sowie die Gesamtausdehnung (Ges) der markierten Bereiche im AC bei den Müttern der drei Versuchsgruppen in beiden Hemisphären. Dargestellt sind die Mediane mit Quartilen (Q_{25} und Q_{75}) und Spannweite. Der signifikante Unterschied zwischen der Gesamtausdehnung in der linken und rechten Hemisphäre ist mit * ($p < 0,001$) unter der Klammer gekennzeichnet.**

Die rostrocaudale Ausdehnung der c-Fos Markierungen im Feld AI betrug in der linken Hemisphäre im Mittel 840 µm und rechts 750 µm. Die Markierungen im Feld AII erstreckten sich in rostrocaudaler Richtung im Mittel über ein Areal von 900 µm Länge in der linken und 720 µm Länge in der rechten Hemisphäre. In der linken Hemisphäre lagen die Werte für das Feld AAF im Mittel bei 870 µm. In der rechten Hemisphäre wurde eine Länge von 720 µm ermittelt. Die Markierungen im DP erstreckten sich rostrocaudal über ein Areal von ca. 720 µm in der linken bzw. 630 µm in der rechten Hemisphäre. Hiermit stellte das DP neben dem Feld UF, mit Werten von 810 µm (links) und 630 µm (rechts), das Feld mit der geringsten rostrocaudalen Ausdehnung dar. In der linken Hemisphäre erstreckten sich die Markierungen in allen Feldern über ein signifikant (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, mindestens $p < 0,01$) längeres Areal als in der rechten Hemisphäre. Die rostrocaudale

Gesamtausdehnung der c-Fos markierten Bereiche in der linken Hemisphäre des AC (1710 µm) war signifikant (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, $p < 0{,}001$) größer als in der rechten Hemisphäre (1500µm). Das Feld DF erstreckte sich (in der linken Hemisphäre) über ein rostrocaudales Areal von durchschnittlich 420 µm.

Die gesamte dorsoventrale Ausdehnung der c-Fos Markierungen im AC (ohne das Feld DF) wurde 500 µm caudal der Feldgrenze zwischen AAF und AI im Bereich der Felder AI und DP bestimmt. Hierbei wurde bei den Versuchstieren im Mittel eine dorsoventrale Länge von 1435 µm in der linken Hemisphäre und 1385 µm in der rechten Hemisphäre abgemessen, wobei sich zwischen den beiden Gehirnhälften ein statistisch signifikanter Unterschied (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, $p < 0{,}01$ in Abbildung 3-31) ergab.

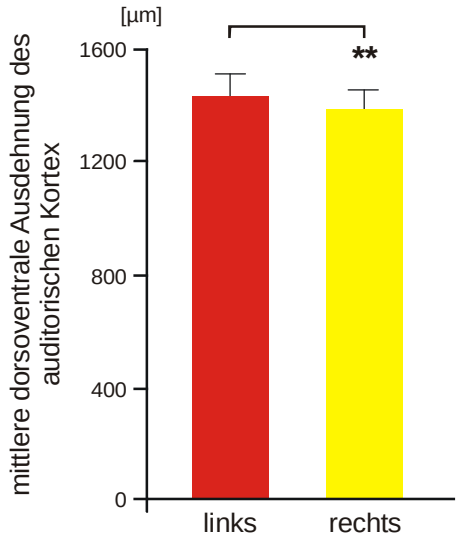


Abbildung 3-31: Mittelwerte mit Standardabweichung der dorsoventralen Ausdehnung des AC (ohne das Feld DF) bei den Müttern der drei Versuchsgruppen in der linken und rechten Hemisphäre. Der signifikante Unterschied zwischen den beiden Hemisphären ist mit ** ($p < 0{,}01$) unter der Klammer gekennzeichnet.

Um die Lage und den Verlauf der c-Fos Markierungen in den einzelnen auditorischen Feldern über den gesamten AC verfolgen zu können, wurden die markierten Zellkerne und der Umriss des Neokortex aus diesem Bereich in jedem Gehirnschnitt maßstabsgetreu nachgezeichnet. Anschließend wurden die einzelnen Zeichnungen nacheinander von caudal nach rostral angeordnet, so dass eine dreidimensionale Rekonstruktion des AC entstand.

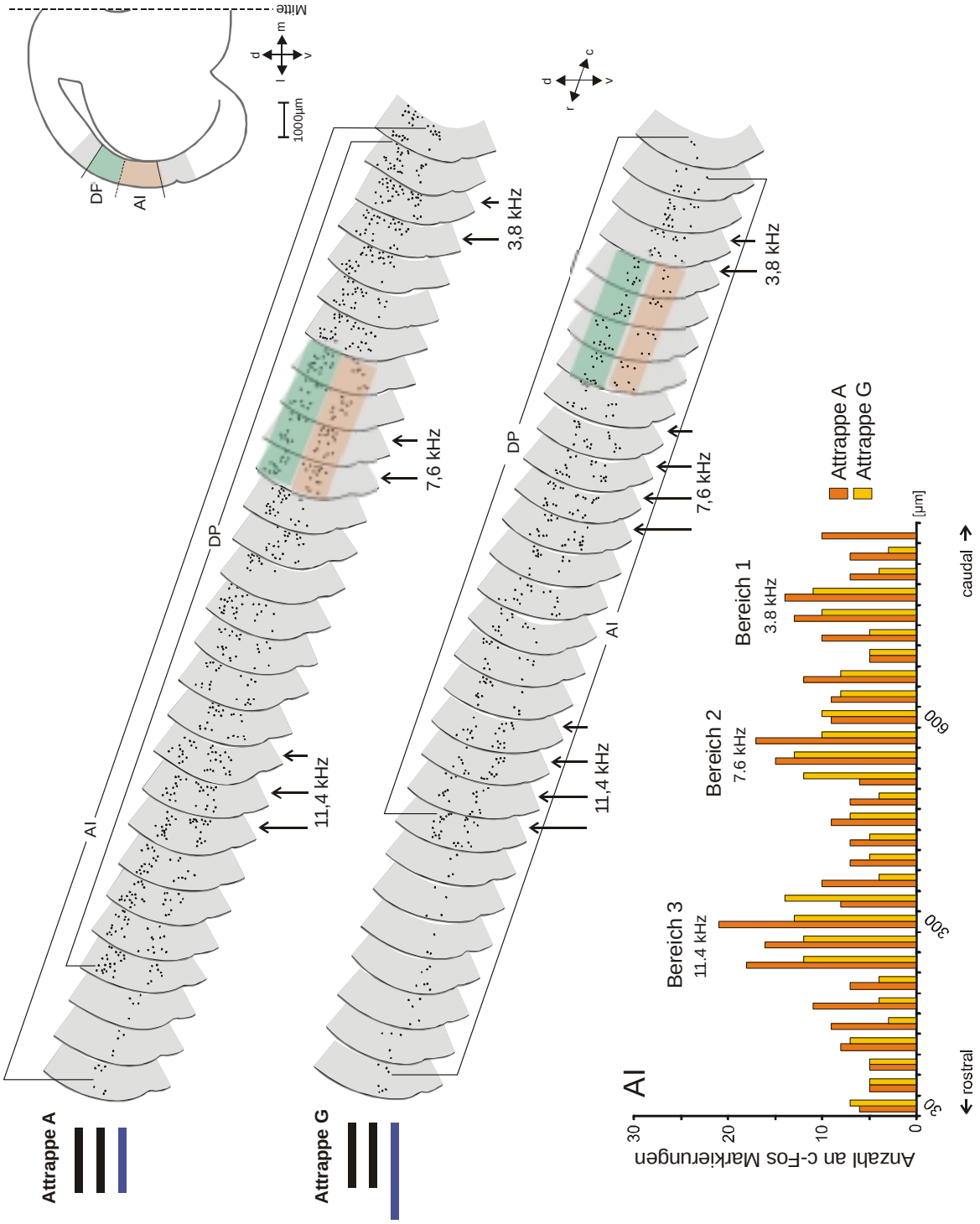


Abbildung 3-32: Dreidimensionale Rekonstruktion des AC der linken Hemisphäre je einer Mutter der Gruppe A und G im Bereich der Felder AI (primäres auditorisches Feld, orange) und DP (dorsoposteriores Feld, grün). Die Lage der auditorischen Felder ist in jeweils vier Schnitten der Rekonstruktionen farbig hervorgehoben (c = caudal, d = dorsal, l = lateral, m = medial, r = rostral, v = ventral). Im Diagramm ist die Anzahl der c-Fos Markierungen im Feld AI nach Beschallung mit Attrappe A und G graphisch dargestellt.

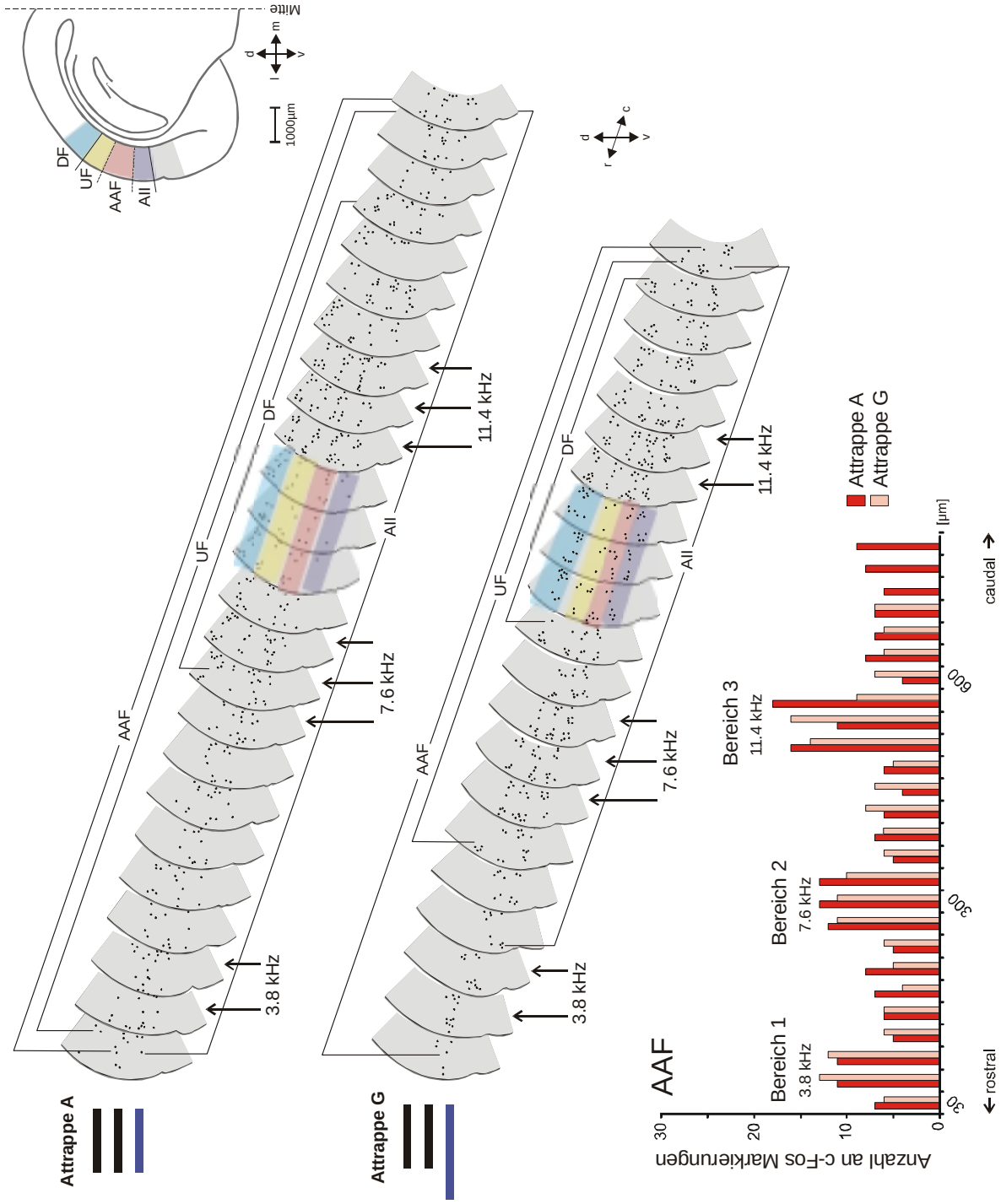


Abbildung 3-33: Dreidimensionale Rekonstruktion des AC der linken Hemisphäre je einer Mutter der Gruppe A und G im Bereich der Felder AII (sekundäres auditorisches Feld, blau), AAF (anteriores auditorisches Feld, rot), UF (Ultraschallfeld, gelb) und DF (dorsales Feld, hellblau). Die Lage der auditorischen Felder ist in jeweils drei Schnitten der Rekonstruktionen farbig hervorgehoben (c = caudal, d = dorsal, l = lateral, m = medial, r = rostral, v = ventral). Im Diagramm ist die Anzahl der c-Fos Markierungen im Feld AAF nach Beschallung mit Attrappe A und G graphisch dargestellt.

Die Verteilung und Anzahl der c-Fos markierten Zellkerne weist für die Gruppen G und L keinerlei Unterschiede auf. Aus diesem Grund sind nur die Markierungen in einem Gehirn der Gruppe A und G im folgenden graphisch dargestellt. Abbildung 3-32 und Abbildung 3-33 zeigen die gezeichneten Schnittserien der linken Gehirnhemisphäre einer Mutter der Gruppe A und G.

Betrachtet man die c-Fos Markierungen in den Rekonstruktionen der beiden Versuchsgruppen, so sind folgende Ergebnisse zu erkennen. Innerhalb der Felder AAF und AI stieg die Zahl der Markierungen bei allen Versuchsgruppen auf einigen wenigen Schnitten plötzlich, zum Teil auf die doppelte Anzahl c-Fos markierter Zellkerne, an (vgl. Diagramme in den Abbildung 3-32 und Abbildung 3-33). Die durchschnittliche rostrocaudale Ausdehnung dieser Bereiche betrug 75 µm. Im Feld AI trat diese erhöhte Anzahl an Markierungen caudal ca. 260 µm (linke Hemisphäre) bzw. ca. 240 µm (rechte Hemisphäre) von der Feldgrenze zwischen AI und AAF entfernt dreimal im Abstand von durchschnittlich 150 µm auf. Im AAF kamen ebenfalls drei Bereiche mit einer erhöhten Anzahl an c-Fos Markierungen im Abstand von ca. 150 µm vor, wobei diese rostral ca. 240 µm (links) bzw. 230 µm (rechts) von der Feldgrenze zwischen AI und AAF entfernt lagen. Der letzte Bereich mit einer erhöhten Anzahl an c-Fos markierten Zellkernen lag nur wenige Schnitte (im Mittel 60 µm) vom caudalen (AI) bzw. rostralen (AAF) Ende der beiden Felder entfernt. Für eine eindeutige Bezeichnung der drei Bereiche in den beiden Feldern, wurde im folgenden der im Feld AI am weitesten caudal gelegene Bereich als „Bereich 1“, der äußerst rostrale Bereich als „Bereich 3“ und der Bereich dazwischen als „Bereich 2“ bezeichnet. In gleicher Weise erhielt im AAF der äußerst rostrale Bereich die Bezeichnung „Bereich 1“ bzw. der äußerst caudale Bereich die Bezeichnung „Bereich 3“. Für einen statistischen Vergleich der Zahl der Markierungen in den drei Bereichen mit der Zahl der Markierungen in den übrigen Schnitten, wurde jeweils die mittlere Anzahl an Markierungen innerhalb der drei Bereiche (Bereich 1, 2, 3) und der übrigen Schnitte miteinander verglichen (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen). Zwischen den Werten der drei Bereiche ergaben sich keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,1$). Dagegen lag die Anzahl der c-Fos Markierungen in den drei Bereichen 1, 2 bzw. 3 signifikant höher als in den übrigen Schnitten (mindestens $p < 0,05$). Eine genaue Zuordnung der c-Fos Markierungen zu den voneinander abgrenzbaren kortikalen Schichten (Schicht II/III, IV, V/VI), ergab eine erhöhte Anzahl an c-Fos Markierungen in den Schichten II/III bei den Bereichen 1, 2 und 3 gegenüber den restlichen Schnitten der Felder (Abbildung 3-34). Daher wurde die mittlere Anzahl der c-Fos markierten Zellkerne der Schichten II/III in den Bereichen 1, 2 und 3 mit der mittleren Anzahl der Markierungen in den übrigen Schnitten der beiden Felder bei den einzelnen Tieren statistisch verglichen. Hierbei traten signifikante Unterschiede (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, mindestens $p < 0,05$) zwischen der Anzahl an c-Fos Markierungen in den drei Bereichen und den übrigen Schnitten auf.

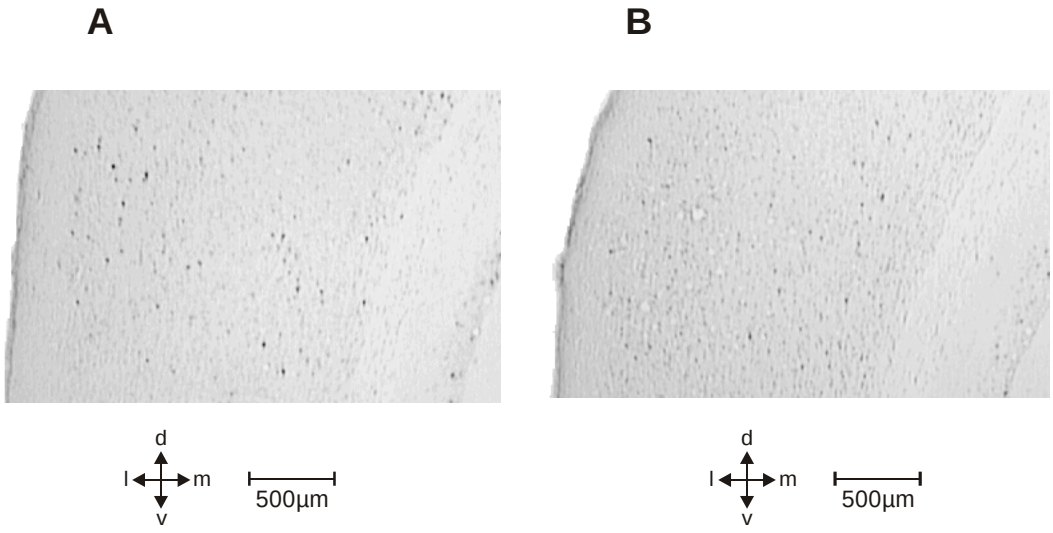


Abbildung 3-34: Ausschnitt aus dem AC der linken Hemisphäre im Bereich des Feldes AAF (anteriores auditorisches Feld) mit c-Fos markierten Zellkernen einer mit Attrappe A beschallten Mutter (Maus 1) aus dem „Bereich 1“ (linke Abbildung) und einem unmittelbar angrenzenden Gehirnschnitt (rechte Abbildung) (d = dorsal, m = medial, l = lateral, v = ventral).

In den Feldern AII, UF und DP war innerhalb einer Versuchsgruppe in allen Schnitten beider Hemisphären eine relativ konstante Anzahl an c-Fos markierten Zellkernen zu finden. In Abbildung 3-35 ist die mittlere Anzahl an c-Fos Markierungen aus den ausgewerteten 15 Gehirnschnitten aus der Mitte der beiden Felder von fünf Tieren jeder Versuchsgruppe dargestellt.

Betrachtet man die Anzahl an Markierungen im Feld AII, so traten in den Schnitten der Gruppe A signifikant (U-Test, $p < 0{,}001$) weniger markierte Zellen auf als in den Schnitten der Gruppe G bzw. L. Zwischen den beiden Hemisphären wurden innerhalb der Gruppen bezüglich der Anzahl an Markierungen keine signifikanten (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, $p > 0{,}1$) Unterschiede ermittelt. Im Feld DP wurden bei der Versuchsgruppe A in der linken Gehirnhemisphäre signifikant mehr (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, $p < 0{,}001$) c-Fos Markierungen gefunden als in der rechten Hemisphäre. Auch im Vergleich zur Anzahl der Markierungen im DP bei den Gruppen G und L traten in der linken Hemisphäre der Gruppe A signifikant (U-Test, $p < 0{,}001$) mehr Markierungen auf als bei den Gruppen G und L. Zwischen den Werten der drei Versuchsgruppen in der rechten Hemisphäre traten hingegen keine signifikanten (U-Test, $p > 0{,}1$) Unterschiede auf. Bei der Versuchsgruppe A wurden im Feld AII in beiden Hemisphären signifikant (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, $p < 0{,}001$) weniger c-Fos Markierungen gemessen als im dorsoposterioren Feld DP. In den Feldern AII und DP der Gruppe G und L ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl an Markierungen in beiden Hemisphären (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen, $p > 0{,}1$).

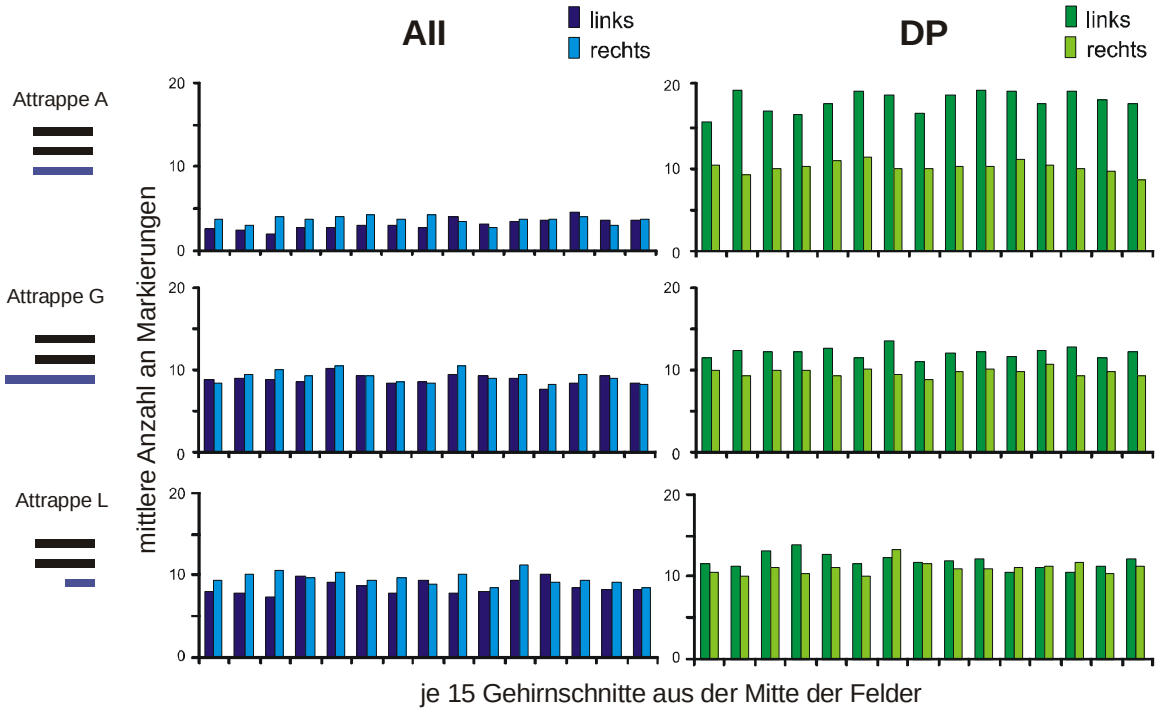


Abbildung 3-35: Mittlere Anzahl an Markierungen in den Feldern AII und DP bei den Versuchsgruppen A, G und L der linken und rechten Hemisphäre. Dargestellt sind die Mittelwerte der ausgewerteten 15 Gehirnschnitte aus der rostrocaudalen Mitte der Felder von jeweils fünf Tieren jeder Versuchsgruppe.

Im Feld DF wurden nur c-Fos markierte Zellen in der linken Hemisphäre gefunden. Zwischen den drei Versuchsgruppen (Gruppe A, G, L) ergaben sich keine signifikanten Unterschiede (U-Test, $p > 0,1$) in der Anzahl markierter Zellen im DF.

4 Diskussion

4.1 Verhaltensuntersuchungen

4.1.1 Verhalten der Mütter

In der vorliegenden Arbeit wurden die Reaktionen der Mütter auf die Gerangellaute ihrer Jungen und auf verschiedene synthetisierte Gerangellautattrappen in Verhaltensexperimenten untersucht. Gerangellaute werden von den Jungen abgegeben, wenn sich diese beim Säugen um die Zitzen der Mutter drängen (Ehret, 1975). Aus diesem Grund wurde das Verhalten der Mütter in den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit während der Säugeperioden beobachtet. Innerhalb dieser Zeit wurden den Müttern künstliche Gerangellaute als zusätzlicher akustischer Stimulus neben den natürlichen Gerangellauten angeboten. Um die Reaktionen der Mütter auf die Gerangellaute der Jungen untersuchen und zusätzlich die künstlichen Lautattrappen einspielen zu können, waren längere Säugeperioden der Mütter grundlegend. Da die Reaktionen der Mütter auf die synthetisierten Gerangellautattrappen mit den Reaktionen auf die natürlichen Gerangellaute verglichen wurden, spielte auch die Motivation der Mütter, auf die Gerangellaute zu reagieren, eine wichtige Rolle. Daher wurden die Verhaltensuntersuchungen, wie bei Ehret und Riecke (2002), an Müttern mit ihren ein bis fünf Tage alten Jungen durchgeführt. In dieser Zeit werden die brutpflegeauslösenden Gerangellaute von den Jungen nur dann abgegeben, wenn sich diese um die Zitzen der Mutter drängen (Ehret, 1975). Bei älteren Jungen treten auch dann Gerangellaute auf, wenn sie im Nest übereinander krabbeln, ohne dass die Mutter auf ihnen sitzt (Bernecker, 1983; Ehret und Bernecker, 1986). In der Zeit vom ersten bis zum fünften Tag nach der Geburt der Jungen nimmt die Brutpflegeaktivität der Mütter stetig zu. Auch dauern die Säugeperioden der Mütter bei bis zu fünf Tage alten Jungen länger an als bei älteren Jungen. Ab dem sechsten Tag nach der Geburt der Jungen verlassen die Mütter häufiger das Nest, um sich zu putzen oder Nahrung aufzunehmen. Unter diesen Aspekten erschien der Zeitraum zwischen dem ersten und dem fünften Tag nach der Geburt der Jungen optimal für die Verhaltensuntersuchungen geeignet.

Das Verhalten von Müttern auf künstlich eingespielte Jungenlaute wurde bereits mit Hilfe von Tonbandaufnahmen natürlicher Gerangellaute untersucht. Auf die eingespielten, natürlichen Gerangellaute zeigten die Mütter die gleichen Brutpflegereaktionen wie auf natürliche Gerangellaute der Jungen (Bernecker, 1983; Riecke, 1987). Auch wurden die eingespielten Geran-

gellaute in gleichem Maß beantwortet wie die natürlichen Jungenlaute (Riecke, 1987; Ehret und Riecke, 2002). Ferner wurden die spezifischen Brutpflegereaktionen der Mütter, wie Belecken der Jungen, Lageveränderung und Nestbau, auch durch künstlich erzeugte Gerangellautattrappen ausgelöst (Riecke, 1987; Ehret und Riecke, 2002). Mit Hilfe synthetisierter Gerangellautattrappen kann somit, durch eine Veränderung der spektralen (Untersuchungen von Riecke, 1987) und der zeitlichen Zusammensetzung (Verhaltensuntersuchungen der vorliegenden Arbeit), die notwendige akustische Gestalt der Gerangellaute für ein Erkennen durch die Mütter bestimmt werden.

4.1.1.1 Effektivität der Gerangellautattrappen

Die Effektivität der Lautattrappe A, bei der alle drei Frequenzen synchron mit einer Dauer von 100 ms generiert wurden, in Hinsicht auf das Auslösen von Brutpflegeverhalten erreichte bei den Müttern einen Q-Wert von 0,76. Dies entspricht den Daten von Ehret und Riecke (2002) bei Verhaltensuntersuchungen mit der gleichen Lautattrappe. Die berechneten Qualitätsquotienten der Attrappe A weichen auch von den ermittelten Q-Werten nach Beschallung mit natürlichen Gerangellauten vom Tonband nicht signifikant ab (Ehret und Riecke, 2002; Riecke, 1987).

Anhand der Q-Werte der Attrappen B – L kann die Bedeutung der zeitlichen Kohärenz der Frequenzkomponenten von Gerangellauten gezeigt werden. Ein früherer Beginn der Grundfrequenz von bis zu 30 ms (Attrappe B – D) und ein späterer Beginn bis zu 20 ms (Attrappe H, I) gegenüber den beiden Obertönen zeigte keinen Einfluss auf das Niveau der Q-Werte und somit auf die Effektivität der Lautattrappen als Auslöser von Brutpflegeverhalten. Außerhalb dieser Grenzen führte ein zunehmend früherer bzw. späterer Beginn der Grundfrequenz zu einem kontinuierlichen und signifikanten Absinken der ermittelten Q-Werte. Ein weiterer wichtiger Faktor bei der Erkennung der Gerangellaute ist ihre Gesamtdauer. Natürliche Gerangellaute bestehen aus mindestens drei harmonischen Frequenzen mit einer Dauer von im Mittel 120 ± 40 ms (Ehret, 1975). Bei den Attrappen M – O wurde die Gesamtdauer der drei Frequenzen, ausgehend von der Attrappe A mit einer Dauer von 100 ms, auf 80, 70 bzw. 50 ms verkürzt. Diese schrittweise Verkürzung der Lautattrappendauer führte ebenfalls zu einem kontinuierlichen, signifikanten Absinken der Effektivität der Lautattrappen als Auslöser von Brutpflegeverhalten. Dies zeigt, dass die synthetisierten Gerangellaute nicht zwei verschiedenen Wahrnehmungsklassen (attraktiver oder wenig attraktiver Auslöser von Brutpflegeverhalten) zugeordnet werden. Es besteht zwar ein kritisches Zeitfenster von 30 ms Vorlauf und 20 ms Verzögerung der Grundfrequenz, innerhalb dessen, die Stimuli in der Wahrnehmung nicht unterschieden werden, außerhalb dieses Zeitfensters erfolgt jedoch keine strenge Kategorisierung der Lautattrappen. Vielmehr ist eine kontinuierliche Abhängigkeit der Lauterkennung von der zeitlichen Verschiebung der Grundfrequenz und der Gesamtdauer der Lautattrappen zu erkennen.

Diese kontinuierliche Verschlechterung der Auslöseeffektivität außerhalb des kritischen Zeitfensters steht im Gegensatz zur kategorialen Lautwahrnehmung und Bedeutungsunterscheidung im Zeitbereich von einigen arteigenen Lauten bei Mäusen (Ehret, 1992; Ehret und Haack, 1981, 1982), Fledermäusen (Zimmer et al., 1998), Affen (Snowdon und Pola, 1978) und dem Menschen (Liberman et al., 1957; Pisoni und Lazarus, 1974). So erfolgt bei Mäusen eine Kategorisierung von Ultraschallauten, welche von nestjungen Mäusen abgegeben werden und bei ihren Eltern Such- und Eintrageverhalten auslösen, entlang eines Lautdauerkontinuums bei 27 ms ± 5 ms (Ehret, 1992; Ehret und Haack, 1981, 1982). Auch die Isolationsrufe der Jungen bei Fledermäusen werden anhand der Lautdauer erkannt (Zimmer et al., 1998). In der menschlichen Sprache tritt eine kategoriale Wahrnehmung bei der Unterscheidung von Phonemen auf. Bei der Unterscheidung von Konsonanten, wie b und p oder d und t, spielt die Stimmeinsatzzeit (voice onset time = VOT) eine entscheidende Rolle. So werden die Konsonantenpaare vor einem nachfolgenden Vokal entlang des VOT-Kontinuums bei 27 ms (Unterscheidung zwischen b und p) bzw. 35 ms (Unterscheidung zwischen d und t) kategorisiert (z.B. Liberman et al., 1957, 1961; Pisoni und Lazarus, 1974; Summerfield und Haggard, 1977).

Der Grund für die Verschlechterung der Auslöseeffektivität der Lautattrappen für Brutpflegeverhalten außerhalb des Zeitfensters von +30 ms (Vorlauf der Grundfrequenz) bzw. -20 ms (Verzögerung der Grundfrequenz) könnte in einer unterschiedlichen auditorischen Wahrnehmung der Lautattrappen innerhalb und außerhalb des kritischen Zeitfensters liegen. Beim Menschen wurde eine Gruppierung von Frequenzkomponenten durch das auditorische System beschrieben, wenn diese innerhalb bestimmter zeitlicher Grenzen gehört werden (z.B. Bregman und Pinker, 1978; Dannenbring und Bregman, 1978; Darwin, 1984; Darwin und Sutherland, 1984; Pisoni, 1977). Innerhalb dieses Zeitfensters werden die Frequenzkomponenten eines akustischen Signals zu einem akustischen Objekt gruppiert und als ein Hörstrom wahrgenommen; außerhalb werden die Frequenzkomponenten als zwei Hörströme (zwei akustische Objekte) getrennt wahrgenommen. Beginnen beispielsweise zwei Frequenzen mit einer maximalen Verschiebung von 29 ms zueinander, so werden beide zu einem auditorischen Strom gruppiert, so dass ein einziger, sich wiederholender Laut (ein akustisches Objekt) gehört wird (Bregman und Pinker, 1978). Außerhalb dieser Grenze werden beide Frequenzen als zwei getrennte Ströme wahrgenommen, so dass zwei alternierende Töne (zwei akustische Objekte) gehört werden. Ebenso wird eine Frequenz mit einer maximalen Vorlaufzeit von 32 ms noch als Formant in einen sprachlichen Laut integriert (Darwin, 1984; Darwin und Sutherland, 1984). In einem nicht sprachlichen Zusammenhang beträgt die maximale Zeitdifferenz (Vorlauf oder Verzögerung) nur 20 ms (Pisoni, 1977). Um in den auditorischen Strom eines Dreiformantenkomplexes eine Frequenz als zweiten Formanten zu integrieren, ist eine Zeitdifferenz zwischen der Frequenz und dem Formantenkomplex von weniger als 35 ms nötig (Dannenbring und Bregman, 1978). Ein Ton mit einer maximalen Vorlaufzeit von 40 ms führt zu einer Verschiebung der Tonhöhe des nachfolgenden Frequenzkomplexes (Darwin und Ciocca, 1992). Auf der anderen Seite verhindert eine Lücke von minimal 40 ms zwischen

dem Ton und dem Frequenzkomplex eine Verschiebung der Tonhöhe des Komplexes (Ciocca und Darwin, 1999). Um normal klingende Konsonanten in einer Lautsequenz der menschlichen Sprache zu erzeugen, ist eine Lücke (Stimmeinsatzzeit) von minimal 30 ms nötig (Huggins, 1972). Eine Unterscheidung der Konsonanten erfolgt entlang des VOT-Kontinuums bei 27 ms (b/p) bzw. 35 ms (d/t) (z.B. Libermann et al., 1957, 1961; Pisoni und Lazarus, 1974; Summerfield und Haggard, 1977). Eine Erkennung von artspezifischen Lauten über VOT-Unterschiede wurde auch bei Vögeln (Dooling, 1989), Chinchillas (Kuhl, 1981; Kuhl und Miller, 1975, 1978) und Affen (Waters und Wilson, 1976) beschrieben. Hierbei wurden die gleichen Zeitgrenzen wie bei menschlichen Sprachlauten gefunden. Die aufgeführten Untersuchungen haben gezeigt, dass eine spektrale Integration verschiedener Frequenzen nur dann zu einer gemeinsamen akustischen Wahrnehmung führen kann, wenn alle Frequenzkomponenten, die zusammen gruppiert werden sollen, innerhalb eines Zeitfensters von ± 20 bis 30 ms beginnen. Eine getrennte Wahrnehmung von Frequenzkomponenten erfolgt außerhalb dieses kritischen Zeitfensters von 20 – 40 ms.

Die gleichbleibende Effektivität der Lautattrappen als Auslöser für Brutpflegeverhalten bei den Müttern bis zu einem Vorlauf der Grundfrequenz von 30 ms bzw. einer Verzögerung von 20 ms gegenüber den beiden Obertönen, kann ebenfalls auf eine Gruppierung aller drei Frequenzen zu einem akustischen Objekt zurückgeführt werden. Der kontinuierliche Abfall der Auslöseeffektivität der Lautattrappen mit einer zunehmenden zeitlichen Verschiebung (Vorlauf oder Verzögerung) der Grundfrequenz außerhalb dieser Grenzen, deutet auf eine getrennte Wahrnehmung der Grundfrequenz und der beiden Obertöne hin (zwei Ströme akustischer Objekte). Es ist somit bei Vögeln, Mäusen, anderen Säugern und dem Menschen ein gemeinsames kritisches Zeitfenster für die spektrale Integration von Frequenzkomponenten innerhalb und der Trennung von Frequenzkomponenten außerhalb dieses Zeitfensters vorhanden.

Neben den spektralen Aspekten (Ehret und Riecke, 2002) und der zeitlichen Kohärenz der Frequenzkomponenten eines Gerangellautes spielt auch die Anzahl der Einzellaute innerhalb einer Rufsequenz eine entscheidende Rolle, um einen optimalen Auslöser für Brutpflegeverhalten zu bilden. Hörten die Mütter nur einen einzigen Gerangellaut, so wurde dieser trotz seiner optimalen spektralen und zeitlichen Struktur nicht mit Brutpflegeverhalten beantwortet. Brutpflegeverhalten wurde bei den Müttern nur dann ausgelöst, wenn die einzelnen akustischen Objekte, die Gerangellaute, als Serien von mindestens zwei Lauten von den Müttern gehört wurden. Gerangellaute oder Lautattrappen, welche aus einer Serie von vier Einzellauten bestehen, stellen einen optimalen Auslöser von Brutpflegeverhalten dar (Riecke, 1987). Die Bedeutung eines Gerangellautes wird von den Müttern folglich nur dann erkannt, wenn diese als ein Strom von entsprechenden akustischen Objekten (sog. akustische Gestalt) wahrgenommen werden. Dies lässt darauf schließen, dass bei den Gerangellautattrappen A – D, H und I ebenfalls ein Strom von jeweils vier akustischen Objekten (Serien von vier Lauten) gehört wurde. Bei den Lautattrappen E – G und J – L hingegen, teilen sich aufgrund des zunehmenden früheren bzw. späteren Beginns der Grundfrequenz die Gerangellaute in jeweils zwei akustische Objekte, die Grundfrequenz und die beiden Obertöne, und bilden somit eine unge-

nügende akustische Gestalt als Auslöser für mütterliches Verhalten. Die Fähigkeit des Gehörs, akustische Objekte zu einem auditorischen Storm zu verschmelzen oder zu trennen ist bei allen Vertebraten, von den Fischen (Fay, 1998, 2000) über die Vögel (Hulse et al., 1997; MacDougall-Shackleton et al., 1998) bis hin zum Menschen (z.B. Darwin et al., 1995) zu finden. In den aufgeführten Arbeiten waren die Tiere darauf konditioniert bestimmte akustische Muster mit einem oder zwei auditorischen Strömen zu unterscheiden. Im Gegensatz hierzu waren die Versuchstiere dieser Arbeit nicht konditioniert und reagierten auf die akustischen Reize in einer natürlichen Verhaltenssituation.

Neben der zeitlichen Kohärenz der Frequenzkomponenten und der Gesamtdauer der akustischen Stimuli hat auch die Dauer, mit der die Frequenzkomponenten synchron synthetisiert werden, einen Einfluss auf die Effektivität der Lautattrappen. Bei den Attrappen A – D, H und I unterschieden sich die Q-Werte nicht signifikant voneinander. Die simultane Dauer aller drei Frequenzen betrug bei diesen Lautattrappen mindestens 80 ms. Da die natürliche Gerangellaute der Jungen aus mindestens drei harmonischen Frequenzen mit einer Dauer von im Mittel 120 ± 40 ms bestehen (Ehret, 1975), liegt die simultane Dauer der drei Frequenzen bei diesen Lautattrappen (Attrappe A – D, H, I) meist innerhalb der natürlichen Gerangellautlänge. In wie weit die Gruppierung von Frequenzkomponenten von der simultanen Dauer der Frequenzen abhängt, wird bei einem Vergleich der Q-Werte folgender Attrappen ersichtlich. Bei den Attrappen P, Q, N und J lag die simultane Dauer der drei Frequenzen bei 70 ms. Die Q-Werte der Attrappen P, Q (alle drei Formanten mit einer Dauer von 100 ms und einer zeitlichen Verschiebung der Grundfrequenz um 30 ms Vorlauf bzw. Verzögerung) und J (Grundfrequenz mit einer Verzögerung von 30 ms) lagen signifikant höher als die Werte der Attrappe N (Gesamtdauer 70 ms), wobei sie sich alle signifikant von den Q-Werten der Attrappe A unterscheiden. Demzufolge überlagert sich die Dauer, mit der alle drei Frequenzen simultan gehört werden, mit der Gesamtlänge und mit dem gemeinsamen Anfang und Ende der Frequenzen. Dies wird auch deutlich aus den Effektivitätsunterschieden zwischen den Attrappen mit einer Gesamtdauer von 50, 70 oder 80 ms (Attrappen M – O) und den Attrappen I, J und L mit einem späteren Beginn der Grundfrequenz gegenüber den Obertönen und somit einer entsprechend kürzeren simultanen Dauer der drei Frequenzen. Hierbei ergaben sich für die Attrappen I, J und L signifikant höhere Q-Werte als bei den Attrappen M – O. Bei der Gruppierung, der in den Gerangellautattrappen enthaltenen Frequenzkomponenten, zu einem akustischen Objekt und der Bildung eines einzigen Hörstroms, besteht somit ein nicht linearer Zusammenhang zwischen der Wahrnehmung der Gesamtdauer und dem verzögerten Beginn der Grundfrequenz.

Daher stellt sich die Frage, welche Effektivität eine Lautattrappe mit einer simultanen Dauer der drei Frequenzen von 100 ms und einem verzögerten Beginn der Grundfrequenz um 30 ms (Dauer der Obertöne: 130 ms) besäße. Die Attrappe A, mit einer Gesamtdauer von 100 ms, stellte gegenüber Lautattrappen mit einer kürzeren Gesamtdauer (Attrappe M – O) einen nahezu optimalen Auslöser für Brutpflegeverhalten bei den Müttern dar. In den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit, wurde die Attrappe J mit einem späteren Beginn der Grundfre-

quenz von 30 ms bereits signifikant schlechter beantwortet als Attrappen mit einer geringeren Verzögerung der Grundfrequenz. Aufgrund des beschriebenen nicht linearen Zusammenhangs zwischen der Wahrnehmung der Dauer und dem verzögerten Beginn der Grundfrequenz, wäre zu erwarten, dass diese Lautattrappe einen effektiven Auslöser von Brutpflegeverhalten darstellt. In diesem Zusammenhang stellt sich auch die Frage, wie Lautattrappen mit einer längeren Gesamtdauer bzw. längeren Dauer der Obertöne von den Müttern beantwortet werden. Um diesen Fragen nachzugehen sind weitere Verhaltensuntersuchungen mit Lautattrappen nötig, bei denen sowohl die Gesamtdauer als auch das Verhältnis zwischen dem Beginn der Grundfrequenz und der simultanen Dauer der Frequenzkomponenten systematisch verändert wird.

Ein Zusammenhang zwischen der Gesamtdauer und dem synchronen Anfang oder Ende der Frequenzkomponenten bei der Bildung auditorischer Ströme wurde auch schon bei der menschlichen Schallverarbeitung beobachtet. Untersuchungen bezüglich der notwendigen simultanen Dauer bei einem unterschiedlichen Beginn der Frequenzkomponenten, wie bei den Attrappen J – L, ergaben beim Menschen (z.B. Dannenbring und Bregman, 1978, Darwin und Ciocca, 1992), dass auch hier Formanten über einen Zeitraum von 80 ms (wie in Attrappe I) simultan gehört werden müssen, um zusammen als ein Strom wahrgenommen zu werden.

Die Wahrnehmungsstrategien komplexer akustischer Signale machen deutlich, dass diese nicht einfach periphere Prozesse wie die Auflösung der Frequenzkomponenten widerspiegeln, sondern dass zentrale Integrationsmechanismen, die Zeitintervalle und die Dauer von akustischen Signalen mit kommunikativer und verhaltensrelevanter Bedeutung bewerten, hierfür nötig sind (siehe Kapitel 4.2.3).

4.1.1.2 Brutpflegeverhalten

Die Gesamtzahl der von den Jungen abgegebenen Gerangellaute unterscheidet sich bei allen Versuchsgruppen, unabhängig von der Qualität der eingespielten Lautattrappe, nicht signifikant. Eine geringere Reaktionshäufigkeit der Mütter bei weniger effektiven Lautattrappen (Attrappe E – G, J – Q) oder ein höheres Maß an Reaktionen bei Lautattrappen mit einer sehr guten Auslöseeffektivität (Attrappen A – D, H, I) hat demnach keinen Einfluss auf die Rufaktivität der Jungen. Mit zunehmendem Alter nimmt die Rufaktivität der Jungen kontinuierlich zu (Bernecker, 1983; Ehret und Bernecker, 1986). Ein Anstieg an abgegebenen Gerangellauten mit zunehmenden Alter der Jungen zeigte sich auch in den Verhaltensuntersuchungen dieser Arbeit und in den Versuchen von Ehret und Riecke (2002), bei denen die Mütter zusätzlich mit Gerangellautattrappen beschallt wurden. Auch hier ist keine Abhängigkeit von der Effektivität der verwendeten Lautattrappe zu beobachten.

Nach der Geburt der Jungen verlieren die Mütter relativ schnell ihr Interesse an den Jungen (Scudder et al., 1967) und die Rate der mütterlichen Verhaltensweisen fällt stark ab (Noirot, 1964b). Die abnehmende Motivation der Mütter zeigte sich auch in der vorliegenden Arbeit an der Abnahme des relativen Anteils der Brutpflegereaktionen gegenüber den „Nichtreaktionen“ auf die Gerangellaute mit zunehmendem Alter der Jungen. Dieser geringere Anteil an Brutpflegereaktionen der Mütter wurde durch eine leicht gesteigerte Rufaktivität der Jungen mit zunehmenden Alter ausgeglichen. Auf diese Weise erhalten auch die älteren Jungen ein konstantes Maß an Zuwendung durch die Mutter (Ehret und Bernecker, 1986; Ehret und Riecke, 2002). Dies bedeutet, dass die Motivation der Mütter, sich weiter um ihre Jungen zu kümmern, von den Jungen selbst auf einem hohem Niveau gehalten wird. Die Erhaltung der Motivation, und somit einer konstanten Versorgung der Jungen durch die Mütter, wird als eine wichtige Funktion der Gerangellaute angesehen (Ehret und Bernecker, 1986).

In der vorliegenden Arbeit erhielten die Jungen durch die künstlich eingespielten Lautattrappen ein zusätzliches Maß an Brutpflege von den Müttern, wodurch ein Einfluss auf die Rufaktivität der Jungen zu erwarten wäre. Hierbei sollte sich die Qualität der Lautattrappen und die damit verbundene Reaktionshäufigkeit der Mütter entscheidend auf die Rufaktivität der Jungen auswirken. Die Rufaktivität der Jungen blieb jedoch unabhängig vom Maß der erhaltenen Brutpflege durch die Mutter gleich. Es zeigte sich somit innerhalb der Altersgruppen (1 – 5 Tage) kein Einfluss der Häufigkeit der zusätzlichen Brutpflegereaktionen, ausgelöst durch die eingespielten Lautattrappen, auf die Rufaktivität der Jungen. Die Dauer der Verhaltensuntersuchungen von 45 min, in denen die Lautattrappen als zusätzliche akustische Stimuli eingespielt wurden, reicht somit nicht aus, um das Rufverhalten der Jungen zu verändern. Bei der Veränderung der Rufaktivität mit zunehmendem Alter der Jungen handelt es sich daher um eine Anpassung an eine langfristige und kontinuierliche Änderung des mütterlichen Verhaltens.

Die Zahl der spontanen Aktionen blieb in den Verhaltensbeobachtungen dieser Arbeit zwischen dem ersten und fünften Tag nach der Geburt der Jungen konstant. Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu den Beobachtungen von Ehret und Bernecker (1986), bei denen die Anzahl an spontanen Aktionen in den ersten fünf Tagen deutlich abnahm und anschließend auf einem konstanten Niveau blieb. In diesen Untersuchungen wurde nur das Verhalten von Mäusemüttern auf die natürlichen Gerangellaute ihrer Jungen beobachtet. Ein signifikanter Abfall in der Häufigkeit der spontanen Aktionen bei zunehmend älteren Jungen trat jedoch auch bei einer zusätzlichen Beschallung der Mütter mit Gerangellautattrappen in den Verhaltensuntersuchungen von Ehret und Riecke (2002) auf. Hierbei zeigte die Auslöseeffektivität der Lautattrappen keinen Einfluss auf die Anzahl der spontanen Aktionen. Aus diesem Grund scheint die Häufigkeit der Brutpflegereaktionen die Anzahl der spontanen Aktionen nicht zu beeinflussen. Die Abnahme an spontanen Aktionen mit zunehmendem Alter der Jungen wird als Zeichen für die abnehmende Motivation der Mütter gesehen (Ehret und Riecke, 2002).

In der vorliegenden Arbeit gingen in die Bewertung der spontanen Aktionen die Daten von insgesamt 170 Tieren ein. Bei den Untersuchungen von Ehret und Riecke (2002) betrug die Anzahl der getesteten Tiere nur 60. Daher könnte der Grund für die unterschiedlichen Ergebnisse, trotz der identischen Versuchsdurchführung, in der Gesamtzahl der beobachteten Tiere zu suchen sein. Aufgrund der oben beschriebenen gleichbleibenden absoluten Anzahl an Brutpflegereaktionen und der konstanten Zahl der spontanen Aktionen bei ein bis fünf Tage alten Jungen bleibt das Maß an Zuwendung durch die Mütter in diesem Zeitraum gleich. Auch hier scheint der Beobachtungszeitraum von 45 min nicht auszureichen, um einen Einfluss der Lautattrappen auf die spontanen Aktionen sichtbar zumachen.

Die Gesamtzahl der spontanen Brutpflegeaktionen lag weit unter den Brutpflegereaktionen der Mütter auf einen natürlichen oder künstlichen Stimulus. Eine deutlich geringe Anzahl an spontanen Brutpflegeaktionen gegenüber den akustisch ausgelösten Reaktionen wurde auch von Bernecker (1983) und Riecke (1987) beschrieben. Hierin wird deutlich, dass die Gerangellaute den notwendigen Auslöser für Brutpflegeverhalten, wie Lecken, Lageveränderung und Nestbau, bei den Müttern darstellen.

4.1.2 Verhalten der naiven Weibchen

Die naiven Weibchen zeigten bereits gegenüber einen Tag alten Jungen mütterliche Verhaltensweisen, wie Belecken der Jungen, Nestbau oder Einnahme der Säugeposition. Mütterliches Verhalten nicht-laktierender Weibchen wurde bereits bei einer Vielzahl von Nagern beschrieben (Leblond, 1940; Richards, 1966a, 1966b; Riddle et al., 1942; Rowell, 1961). Bei Mäusen werden mütterliche Verhaltensweisen entweder hormonell oder durch Erfahrung im Umgang mit den Jungen hervorgerufen (Leblond und Nelson, 1937; Beniest-Noirot, 1958). Neugeborene Junge stellen für naive Weibchen einen optimalen Auslöser dar, um mütterliches Verhalten auszulösen. Auf ältere Junge reagieren unerfahrene Mütter hingegen weniger mit mütterlichem Verhalten (Noirot, 1965). Um mütterliches Verhalten, wie Eintragen der Jungen, Belecken, Nestbau oder Einnahme der Säugeposition hervorzurufen, reicht bereits ein einmaliger Kontakt zu den Jungen von 5 min aus (Noirot, 1964c). Untersuchungen von Ehret und Mitarbeitern (1987) bezüglich dem Eintrageverhalten von Mäusen haben ergeben, dass naive Weibchen zwar auch ohne vorherigen Kontakt zu den Jungen Eintrageverhalten zeigen, nach einem Tag Kontakt zu den Jungen jedoch eine Zunahme des Verhaltens zu erkennen ist. Die hochfrequenten Ultraschallaute der Jungen stellen hierbei den Schlüsselreiz für das Eintrageverhalten dar (Ehret und Haack, 1982). Um die Ultraschallaute eindeutig als Schlüsselreiz von anderen, nicht relevanten Stimuli unterscheiden zu können, benötigen naive Weibchen mehr als einen Tag lang Erfahrung mit den Jungen (Ehret et al., 1987). Bei den Verhaltensuntersuchungen dieser Arbeit zeigten die naiven Weibchen bereits am ersten Tag nach der Geburt der Jungen ein Maß an Brutpflegeverhalten, was auch nach längerem Kontakt zu den

Jungen konstant blieb. Ebenso reagierten die naiven Weibchen auf die Gerangellaute der Jungen schon nach einem Tag Kontakt zu den Jungen mit den typischen Brutpflegereaktionen, wie Lecken, Lageveränderung und Nestbau.

Auch die Lautattrappe A stellte für die naiven Weibchen bereits ab dem ersten Versuchstag (einen Tag alte Jungen und somit ein Tag Brutpflegeerfahrung) einen optimalen Stimulus für das Auslösen von Brutpflegeverhalten dar. Die mittleren Q-Werte der Attrappe A bei den naiven Weibchen unterschieden sich nicht signifikant von den Q-Werten der Mütter. Die synthetisierte Attrappe A wurde demnach von Müttern und naiven Weibchen in gleichem Maße mit Brutpflegreaktionen beantwortet.

Im Gegensatz zu den Ultraschallauten, deren Bedeutung erst nach einem längern Kontakt zu den Jungen erkannt wird, wurden die natürlichen Gerangellaute und die Lautattrappe A bereits ab dem ersten Versuchstag von den naiven Weibchen mit Brutpflegereaktionen beantwortet und somit als Schlüsselreiz für die entsprechenden Brutpflegereaktionen (Lecken, Lageveränderung, Nestbau) erkannt. Daher stellt sich die Frage, ob die Bedeutung der Gerangellaute ohne Erfahrung mit nestjungen Mäusen von den naiven Weibchen erkannt wird, oder ob auch hier die Bedeutung erst im Umgang mit den Jungen erlernt werden muss. Da die naiven Weibchen in der vorliegenden Arbeit bereits vor der Geburt der Jungen zu den trächtigen Weibchen in den Käfig gesetzt wurden, hatten die naiven Weibchen auch am ersten Versuchstag bereits einige Stunden Kontakt zu den Jungen, in der sie Brutpflegeerfahrung sammeln konnten. Um daher dieser Frage nachzugehen, müsste das Verhalten naiver Weibchen gegenüber den Jungen ab dem Zeitpunkt der Geburt über mehrere Stunden beobachtet werden. Falls auch hier ein Lernprozess zu beobachten wäre, würde die Bedeutung der Gerangellaute von den naiven Weibchen deutlich schneller erkannt werden, als die Bedeutung der Ultraschallaute.

Während den Verhaltensuntersuchungen (Testzeit jeweils 45 min) gaben die Jungen bei den naiven Weibchen nur ca. die Hälfte an Gerangellaute ab als bei den Müttern. Die Jungen konnten mit ihren Rufen bei den naiven Weibchen die gleichen Verhaltensreaktionen hervorrufen wie bei den Müttern. Hierbei reagierten die naiven Weibchen zu ca. 60 % mit Brutpflegeverhalten auf die natürlichen Gerangellaute. Die Reaktionshäufigkeit der Mütter lag hingegen nur bei ca. 45 %. Trotz der höheren Antwortrate der naiven Weibchen auf die Gerangellaute lag das Gesamtmaß an mütterlichen Verhalten wegen der geringern Rufaktivität der Jungen deutlich niedriger als bei den Müttern. Daher stellt sich die Frage, warum die Jungen trotz der geringeren Brutpflegeaktivität eine derart niedrige Anzahl an Gerangellauten abgeben. Eine Funktion der Gerangellaute liegt in der Aufrechterhaltung von mütterlichem Verhalten während der ersten zwei Wochen nach der Geburt der Jungen (Ehret und Bernecker, 1986). Wie Ehret und Bernecker (1986) bereits vermuteten, könnten Gerangellaute auch als Auslöser für die Ausschüttung von Oxytocin fungieren, und so die Milchproduktion fördern. Eine derartige Wirkung von Jungenlauten wurde bereits beim Menschen beschrieben, wenn

Mütter auf die Schreie ihrer Babys reagieren (Vuorenkoski, 1975). Von den naiven Weibchen konnten die Jungen keine Milch, sondern nur die beschriebenen Brutpflegereaktionen, bekommen. Hierin könnte der Grund für die geringe Rufaktivität der Jungen bei naiven Weibchen zu suchen sein. Die Jungen versuchten auch von den naiven Weibchen durch Rufen mit Gerangellauten mütterliches Verhalten und Milch zu bekommen. Da sie jedoch keine Nahrung erhielten, reduzierten sie die viel Energie verbrauchenden Rufe. Dies erhärtet die Vermutung von Ehret und Bernecker (1986), dass die Gerangellaute mit dem Erhalt von Nahrung im Zusammenhang stehen. Dass die Brutpflegereaktionen, Lecken und Lageveränderung jedoch auch einen wichtigen Aspekt für die Jungen darstellen, zeigte sich am nicht völligen Absinken der Rufaktivität bei den naiven Weibchen.

Spontane Aktionen ohne vorangegangenen akustischen Stimulus zeigten die naiven Weibchen deutlich weniger häufig als die Mütter. Hierbei lag auch bei den naiven Weibchen die Gesamtzahl der spontanen Brutpflegeaktionen weit unter der Zahl der Brutpflegereaktionen auf einen natürlichen oder künstlichen Stimulus. Dies zeigt, dass auch bei den naiven Weibchen Brutpflegeverhalten in erster Linie durch die Gerangellaute der Jungen ausgelöst wird. Trotz der geringeren Gesamtzahl an Brutpflegereaktionen ist die Zahl der spontanen Aktionen bei den naiven Weibchen sehr gering. Naive Weibchen, deren Verhalten auf natürliche Gerangellaute der Jungen beobachtet wurde (ohne Einspielung synthetisierter Gerangellaute), zeigten ein signifikant höheres Maß an spontanen Aktionen als naive Weibchen, welche zusätzlich mit der Lautattrappe A beschallt wurden. Hierin zeigt sich, dass die naiven Weibchen insgesamt über ein geringes Potential an mütterlichem Verhalten verfügen. Dieses Potential scheint durch die Reaktionen auf die Gerangellaute der Jungen und die eingespielten synthetisierten Lautattrappen bereits weitgehend erschöpft, so dass kaum noch spontane Aktionen zu sehen sind.

4.1.3 Art der Brutpflegereaktionen und -aktionen bei Müttern und naiven Weibchen

Auf die Gerangellautserien der Jungen reagierten die Mütter am häufigsten mit intensivem Belecken ihrer Jungen. Signifikant weniger reagierten die Mütter mit einer Lageveränderung auf die Gerangellautserien. Am weitaus wenigsten wurden die Gerangellautserien mit Nestbauaktivitäten beantwortet. Eine derartige Häufigkeitsverteilung der Brutpflegereaktionen wurde bereits von Bernecker (1983) und Riecke (1987) bei Müttern beschrieben. Hierbei zeigte sich keine Abhängigkeit vom Alter der Jungen.

Das Belecken der Jungen an Körper und After wirkt stimulierend auf die Verdauung, die Abgabe von Urin sowie die Exkretion der Jungen. Daher ist dieses Verhalten der Mutter am

wichtigsten für die Entwicklung der Jungen (Hafez, 1970). Die Verteilung der Reaktionshäufigkeiten mit der bevorzugten Verhaltensweise Lecken zeigt, dass die gute Entwicklung der Jungen bei den mütterlichen Reaktionen auf die Gerangellaute im Vordergrund steht (Ehret und Bernecker, 1986). In diesem Zusammenhang stellt die Reaktion Lageveränderung eine bereits weniger wichtige Verhaltensweise dar. Durch eine Veränderung der Säugeposition auf den Jungen gelangen andere Junge näher an die Zitzen. Da sich die Jungen jedoch selbst aktiv um einen Platz an einer Zitze der Mutter bemühen, unterstützt die Mutter durch die Lageveränderung das Bemühen von Jungen, die sich am Rand des Nestes befinden. Hiermit trägt diese Verhaltensweise ebenfalls, jedoch in geringerem Maße, zur Entwicklung der Jungen bei. Bei der Verhaltensweise Nestbau wird in erster Linie der Nestbereich von Kot gesäubert, was hauptsächlich der Hygiene dient. Daher spielt diese Verhaltensweise für die Entwicklung der Jungen nur eine untergeordnete Rolle, was sich auch in der Reaktionshäufigkeit der Mütter widerspiegelt.

Bei den spontanen Brutpflegeaktionen der Mütter wurde Lecken als häufigste Verhaltensweise gemessen. Signifikant weniger zeigten die Mütter das Verhalten Lageveränderung. Nestbauaktivität stellte die am wenigsten häufige spontane Verhaltensweise dar. Diese Häufigkeitsverteilung der Verhaltensweisen entspricht der Verteilung der Reaktionen auf die natürlichen Gerangellautserien der Jungen. Dies könnte bedeuten, dass die Pflegehandlungen nach einer internen Häufigkeitsverteilung der Motivation für die drei Handlungsmöglichkeiten ausgeführt werden.

Auf die synthetisierten Lautattrappen reagierten die Mütter ebenfalls mit Lecken, Lageveränderung und Nestbau, wobei sich eine andere Verteilung der Reaktionshäufigkeiten zeigte als bei den Reaktionen auf die natürlichen Gerangellaute der Jungen. Nestbauverhalten kam, wie bei den Reaktionen auf die natürlichen Gerangellaute, am wenigsten häufig vor. Zwischen den Häufigkeiten der Verhaltensweisen Lecken und Lageveränderung bestand jedoch bei den meisten Attrappen kein statistischer Unterschied. Bezüglich der Verteilung der Brutpflegereaktionen war keine Abhängigkeit von der Qualität der Lautattrappe sichtbar. Auch zeigte sich kein Unterschied zwischen den Lautattrappen mit einem früheren oder späteren Beginn der Grundfrequenz (Attrappe B – L, P, Q) und den Attrappen mit einer verkürzten Gesamtdauer (Attrappe M – O).

Im Gegensatz zu der beschriebenen Verteilung der Brutpflegereaktionen auf die Lautattrappen in der vorliegenden Arbeit, stellte in den Untersuchungen von Riecke (1987) Lecken die häufigste Verhaltensweise dar (56 – 81 %). In ihren Untersuchungen wurden Gerangellautattrappen mit einer unterschiedlichen spektralen Zusammensetzung verwendet. Bei der in der vorliegenden Arbeit als Attrappe A bezeichneten Lautattrappe, überwiegte in den Untersuchungen von Riecke (1987) das Belecken der Jungen jedoch nicht mehr so deutlich gegenüber den anderen beiden Verhaltensweisen (49 % Lecken, 37 % Lageveränderung, 14 % Nestbau). Der Grund für die Verteilung der Reaktionshäufigkeiten auf die synthetisierten Lautattrappen

in der vorliegenden Arbeit, könnte daher in der spektralen Zusammensetzung der Lautattrappen zu suchen sein. Die spektrale Zusammensetzung natürlicher Gerangellaute weist sehr große Variationen auf (z.B. Ehret und Riecke, 2002). Alle Gerangellaute besitzen jedoch eine harmonische Grundstruktur mit der Grundfrequenz bei etwa 4 kHz und mindestens zwei Obertönen, wobei Frequenz- oder Amplitudenmodulationen enthalten sein können (Ehret, 1975; Haack et al., 1983). Bisher wurden nur die Reaktionen der Mütter auf Gerangellaute im allgemeinen untersucht. In der großen Vielfalt der bisher aufgezeichneten Gerangellaute könnte jedoch eine gezielte Strategie der Jungen liegen, bei ihren Müttern ganz bestimmte Verhaltensweisen hervorzurufen. Auf diese Weise könnten Junge das Verhalten der Mütter durch eine minimale Variation ihrer Laute, beispielsweise durch Amplitudenmodulationen, gezielt beeinflussen. Als Hinweis für eine derartige Strategie könnte die Verteilung der Brutpflegereaktionen bei folgender Lautattrappe aus den Untersuchungen von Riecke (1987) dienen. Auf eine Lautattrappe, welche aus der Kombination der Attrappe A (Bezeichnung in der vorliegenden Arbeit) und einer zusätzlichen Amplitudenmodulation bestand, zeigten die Mütter um ein vielfaches mehr Lecken als Lageveränderung (77 % Lecken, 13 % Lageveränderung, 10 % Nestbau; Riecke, 1987).

Auf die Gerangellautserien der Jungen reagierten die naiven Weibchen, wie die Mütter, am häufigsten mit Belecken der Jungen. Bereits signifikant weniger häufig zeigten die naiven Weibchen eine Lageveränderung auf den Jungen als Antwort auf die Gerangellautserien. Wiederum signifikant weniger reagierten die naiven Weibchen mit Nestbauverhalten. Bei den spontanen Brutpflegeaktionen zeigten die naiven Weibchen die gleiche Häufigkeitsverteilung wie bei den Reaktionen auf die Attrappe A. Hier waren die Häufigkeiten der beiden Brutpflegeaktionen, Lecken und Lageveränderung nicht voneinander verschieden. Mit Nestbauaktivität reagierten die naiven Weibchen auf die Lautattrappe A nur in sehr geringem maße. Spontanes Nestbauverhalten zeigte hingegen keines der naiven Weibchen. Demnach zeigten die naiven Weibchen, im Gegensatz zu den Müttern, ohne Stimulus durch die Jungen keine Präferenz zwischen den Verhaltenweisen Lecken und Lageveränderung. Diese Häufigkeitsverteilung der Brutpflegeaktionen der naiven Weibchen stützt die Vermutung, dass die Jungen durch eine Variation ihrer Laute ganz bestimmte Reaktionen auslösen. Dieser Vermutung widerspricht jedoch die Verteilung der Brutpflegereaktionen und -aktionen bei den Müttern, woraus sich die Existenz eines internen Programms ableiten lässt, welches über die Häufigkeitsverteilung der Brutpflegehandlungen entscheidet. Um dem Grund für die unterschiedlichen Häufigkeitsverteilungen der Brutpflegehandlungen nachzugehen, sind Untersuchungen bezüglich der genauen Lautstruktur von natürlichen Gerangellauten und ihren auslösenden Verhaltensweisen nötig.

4.1.4 Aufmerksamkeitsverhalten der Mütter und naiven Weibchen

Neben den Brutpflegereaktionen stellte die Reaktion Aufmerksamkeit bei den Müttern und naiven Weibchen eine untergeordnete Rolle dar. Sie trat in den Verhaltensuntersuchungen dieser Arbeit, wie auch in den Studien von Riecke (1987) signifikant weniger häufig auf als die drei Brutpflegereaktionen. Auch als spontanes Verhalten zeigten die Mütter und naiven Weibchen signifikant mehr Brutpflegeaktionen als Aufmerksamkeit. Auf die synthetisierten Lautattrappen zeigte sich bei den Müttern eine Abhängigkeit der Zahl an Aufmerksamkeitsreaktion vom relativen Beginn der Grundfrequenz. So stieg das Aufmerksamkeitsverhalten bei einer zunehmend früheren oder späteren Präsentation der Grundfrequenz außerhalb der Grenzen von +30 bzw. -20 ms (Attrappe E – G und J – L) kontinuierlich an. Im Gegensatz hierzu reagierten die Mütter bei Lautattrappen mit einer schrittweise Verkürzung der Gesamtdauer (Attrappe M – O) nicht mit einem Anstieg an Aufmerksamkeitsverhalten, obwohl die Attrappen M – O aufgrund ihrer geringen Gesamtdauer von 50, 70 oder 80 ms ebenfalls zunehmend unattraktivere Lautattrappen für das Auslösen von Brutpflegeverhalten bei den Müttern darstellten. Die Häufigkeit der Aufmerksamkeitsreaktionen bei den verschiedenen Lautattrappen unterstützt die Hypothese, dass die Attrappen E – G und J – L, im Gegensatz zu den Attrappen M – O, als zwei Ströme akustischer Objekte wahrgenommen werden und daher variabler klingen als die Attrappen M – O. Demnach erzeugt eine Variabilität der akustischen Stimuli mehr Aufmerksamkeitsreaktionen als Eintönigkeit.

4.2 c-Fos Immunzytochemie

Vielfach wird neuronale Aktivität durch lokale elektrophysiologische Ableitungen an einzelnen oder mehreren Neuronen untersucht. Hierzu werden in den meisten Fällen anästhesierte Tiere verwendet, an denen neuronale Antworten in verschiedenen Zentren des Gehirns gemessen werden. Verhaltenskorrelierte neuronale Aktivität kann jedoch nur an wachen, sich frei bewegenden Tieren erforscht werden. Hier stellt die c-Fos Immunzytochemie, im Vergleich zur Elektrophysiologie, eine sehr einfache Methode dar, neuronale Aktivität auf zellulärem Niveau nachzuweisen (z.B. Ehret und Fischer, 1991; Hunt et al., 1989; Reimer, 1993; Sagar et al., 1988; Sheng und Greenberg, 1990). Die Synthese des Proteins c-Fos kann durch elektrische (z.B. Dragunow und Robertson, 1987; Sagar et al., 1988, 1989), pharmakologische (z.B. Dragunow et al., 1990; Jennes et al., 1992; Witschafter und Asin, 1995) oder sensorische Stimuli (z. B. Aronin et al., 1990; Ehret und Fischer, 1991; Reimer, 1993; Rouiller et al., 1992; Sato et al., 1992) aber auch durch Stress (Chen und Herbert, 1995; Smith et al., 1992), Angst (Campeau et al., 1991) oder Wachstumsfaktoren (Engele und Schilling, 1996; Gibbs und Martynowski, 1997; Kohmura et al. 1995; Müller et al., 1984) induziert werden. Nach einer Beschallung mit Reintönen bestimmter Frequenzen wurden c-Fos positive Zellen in verschiedenen Zentren der Hörbahn von Säugern gefunden (Ehret und Fischer, 1991; Friauf,

1992, 1995; Reimer, 1993; Rouiller et al., 1992; Sato et al., 1992; Scheich und Zuschratter, 1995). Die c-Fos positiven Zellen waren hier in den der Reizfrequenz entsprechenden Gebieten der Hörbahn lokalisiert (Ehret und Fischer, 1991; Reimer, 1993; Rouiller et al., 1992; Scheich und Zuschratter, 1995). Mit Hilfe der c-Fos Immunzytochemie ist es somit möglich, neuronale Aktivität in verschiedenen Bereichen des auditorischen Systems, wie einzelnen kortikalen Feldern oder Isofrequenzebenen im CI, sichtbar zu machen. Hierbei wurden auch Veränderungen von neuronalen Aktivierungsmustern im auditorischen System sichtbar gemacht. Im AC von Mäusen beispielsweise wurden Unterschiede im Aktivierungsmuster in Abhängigkeit von der biologischen Bedeutung eines Stimulus beobachtet. So veränderte sich das Muster der c-Fos Markierungen im AC bei einer Beschallung mit Ultraschallauten, je nachdem ob der Stimulus von den Tieren erkannt wurde oder nicht (Fichtel, 1994; Fichtel und Ehret, 1999; Fleschhutz, 1998). Mit Hilfe der c-Fos Immunzytochemie kann Plastizität von neuronalen Aktivierungsmustern als Folge bestimmter Stimulus-Merkmale oder -Bedeutungen dargestellt werden.

Bei den c-Fos immunzytochemischen Untersuchungen in dieser Arbeit wurden akustische Stimuli in Form von Gerangellautattrappen verwendet. Hierzu wurden Lautattrappen mit einer unterschiedlichen Auslöseeffektivität für Brutpflegeverhalten bei den Müttern ausgewählt. Auf diese Weise wurde die neuronale Repräsentation unterschiedlich effektiver Stimuli untersucht. Neben der Attrappe A, welche einen nahezu optimalen akustischen Auslöser darstellt, wurden zwei Attrappen mit einem sehr frühen bzw. späten Beginn der Grundfrequenz gegenüber den beiden Obertönen (Attrappe G und L) und einer äußerst geringen Auslöseeffektivität für Brutpflegeverhalten verwendet. Primipare Mütter wurden mit jeweils einer der drei Lautattrappen (Attrappe A, G oder L) über 15 min beschallt. Die Lautattrappen wurden, wie auch die natürlichen Gerangellaute der Jungen, mit einer Lautstärke von insgesamt 70 dB SPL eingespielt, wobei die einzelnen Frequenzkomponenten eine Lautstärke von jeweils 60,5 dB SPL besaßen. Wie bereits Ehret und Fischer (1991) zeigen konnten, reichen akustische Signale mit einer Lautstärke im Bereich der natürlichen Laute aus, um die c-fos Expression im auditorischen System zu induzieren. Scheich und Zuschratter (1995) zeigten, dass nur eine kurze akustische Stimulation zu einer Verteilung von c-Fos Markierungen führte, in welcher eine tonotope Ordnung zu erkennen und eine Zuordnung der Markierungen zu den auditorischen Feldern möglich war. Nach einer länger andauernden Stimulation über eine Stunde zeigte sich eine diffuse Verteilung der c-Fos Markierungen im gesamten AC. Auch nach einer Stimulation mit Gerangellauten über 45 min traten in Frontalschnitten des AC eine große Anzahl diffus verteilter c-Fos Markierungen auf, welche nicht eindeutig den auditorischen Feldern zuzuordnen waren. Eine tonotope Verteilung der Markierungen war ebenfalls nicht zu erkennen (Schupp, 1996). Aus diesem Grund wurden in der vorliegenden Arbeit die Tiere nur über den kurzen Zeitraum von 15 min mit jeweils einer der drei Lautattrappen (Attrappe A, G, oder L) beschallt.

4.2.1 Markierungen im Colliculus inferior

Der CI stellt ein wichtiges auditorisches Integrationszentrum dar (Adams, 1979; Aitkin, 1986; Frisima et al., 1989; Oliver und Huerta, 1992). Daher ist die Art, in der die Neurone des CI Stimuli verarbeiten, grundlegend für das Verständnis der Mechanismen, durch welche der neuronale Code komplexer akustischer Lautmuster im Thalamus und AC repräsentiert wird (Rees und Møller, 1983). Nach einer Beschallung mit allen drei synthetisierten Lautattrappen (Attrappe A, G bzw. L) wurden c-Fos Markierungen in allen Frontalschnitten durch den CI gefunden. Im rostrocaudalen mittleren Drittel des CI waren drei schmale, bandenförmige Bereiche von c-Fos markierten Zellkernen voneinander abgrenzbar (vgl. Kapitel 3.2.1, Abbildung 3-21). Hierbei zeigte sich bei allen drei Banden über ihre gesamte Länge hinweg ein gleichmäßiger Abstand zum dorsolateralen Rand des CI. Da die synthetisierten Gerangellautattrappen alle aus den drei harmonischen Frequenzen 3,8 kHz, 7,6 kHz und 11,4 kHz bestanden und die Frequenzen im CI in Isofrequenzebenen repräsentiert sind, erscheint eine Dreigliederung von bandenförmig markierten Bereichen naheliegend. Betrachtet man allerdings die genaue Lage dieser Banden, so treten zum Teil erhebliche Unterschiede zur Lage der Beschallungsfrequenzen in elektrophysiologisch erstellten Frequenzkarten des CI (Stiebler, 1987a; Stiebler und Ehret, 1985) auf.

Um die Lage der drei Banden in den Gehirnschnitten mit der Lage der entsprechenden Frequenzen in den elektrophysiologisch erstellten Frequenzkarten des CI vergleichen zu können, wurde der Abstand der drei Frequenzen zum dorsolateralen Rand des CI (wie in Kapitel 2.3.4.1 beschrieben) auch in den Frequenzkarten von Stiebler (1987a) ermittelt. Der Abstand der Frequenzen wurde in insgesamt 15 CI Karten von Stiebler (1987a) aus dem mittleren Bereich des CI bestimmt. In diesen Frequenzkarten waren nicht immer exakt die drei Frequenzen der Gerangellaute zu finden. Aus diesem Grund wurden jeweils Frequenzen ausgewählt, welche den drei Frequenzen der Gerangellaute am nächsten waren. Die elektrophysiologischen Ableitungen im CI erfolgten bei Stiebler (1987a) in der rechten Hemisphäre. Für einen statistischen Vergleich der Abstände wurden daher nur die Abstandswerte der drei Banden mit c-Fos Markierungen aus der rechten Hemisphäre ($n = 23$) herangezogen.

Die 1. Bande mit c-Fos Markierungen befand sich bei allen drei Versuchsgruppen in der linken Hemisphäre 80 µm und in der rechten Hemisphäre 72 µm vom dorsolateralen Rand des CI entfernt. Ein Vergleich mit den Frequenzkarten von Stiebler (1987a) zeigt, dass auch hier in einem Bereich von ca. 76 µm vom Rande des CI entfernt, Frequenzen um die 3,8 kHz lokalisiert sind. Bezüglich der Lage der Frequenz 3,8 kHz besteht zwischen den elektrophysiologischen Werten (Stiebler, 1987a) und den Werten aus den Frontalschnitten der vorliegenden Arbeit kein signifikanter Unterscheid (t-Test zwischen den Werten der rechten Hemisphäre, $p > 0,1$). In den elektrophysiologischen Karten des CI (Stiebler, 1987a) waren Frequenzen von 7,6 kHz und 11,4 kHz mit einem durchschnittlichen Abstand von 201 µm, bzw. 406 µm zum dorsolateralen Rand des CI zu finden. In den Frontalschnitten des CI betrug

der Abstand der 2. Bande mit c-Fos Markierungen vom dorsolateralen des CI hingegen 482 µm in der linken Hemisphäre, bzw. 493 µm in der rechten Hemisphäre. Die 3. Bande lag 843 µm (links), bzw. 860 µm (rechts) vom dorsolateralen Rand des CI entfernt. Somit unterscheiden sich die Abstände der Frequenzen 7,6 kHz bzw. 11,4 kHz in den elektrophysiologischen Karten des CI signifikant von den Abständen der beiden Banden 2 bzw. 3 (t-Test zwischen den Werten der rechten Hemisphäre, jeweils $p < 0{,}001$). In den Frequenzkarten des CI von Stiebler (1987a) traten in einem Abstand von 493 µm (Abstand der 2. Bande in der rechten Hemisphäre) Frequenzen um die 14 kHz auf. In einem Abstand von 860 µm (Abstand der 3. Bande in der rechten Hemisphäre) zum dorsolateralen Rand waren in den Karten des CI (Stiebler, 1987a) Neurone mit charakteristischen Frequenzen um die 26 kHz zu finden.

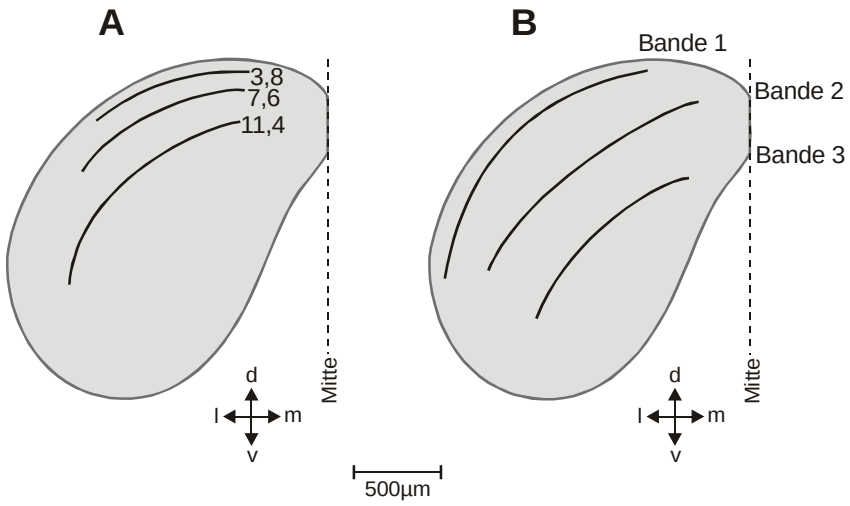


Abbildung 4-1: A: Lage der drei in den Gerangellautattrappen enthaltenen Frequenzen 3,8 kHz, 7,6 kHz und 11,4 kHz im CI in den elektrophysiologisch erstellten Frequenzkarten (verändert nach Stiebler, 1987a; Stiebler und Ehret, 1985). B: Lage der drei Banden mit c-Fos markierten Zellkernen im CI nach einer Beschallung mit Gerangellautattrappen. (d = dorsal, l = lateral, m = medial, v = ventral)

In den Frontalschnitten dieser Arbeit war es nicht möglich die einzelnen Nuklei des CI voneinander abzugrenzen. Bezüglich der genauen Abgrenzung der Nuklei existieren verschiedene Modelle, welche auf neuroanatomische Untersuchungen mit unterschiedlichen Färbemethoden basieren. Die Unterteilung erfolgte in diesen neuroanatomischen Arbeiten anhand von unterschiedlichen Faserrichtungen (Willard und Ryugo, 1983), oder der Orientierung von Dendriten der CI Neuronen (Meininger et al., 1986; Morest und Oliver, 1984). Aufgrund der sehr uneinheitlichen Abgrenzung der Nuklei in den aufgeführten neuroanatomischen Arbeiten, wurde in der vorliegenden Arbeit die Unterteilung des CI von Stiebler (1987a) verwendet, welche auf physiologischen Ergebnissen in Übereinstimmung mit neuroanatomischen Daten von Morest und Oliver (1984) beruht. Durch einen Vergleich der Lage der drei Banden mit c-Fos markierten Zellkernen mit den Karten von Stiebler (1987a), war folgende Zuordnung der

Banden zu den einzelnen Nuklei des CI möglich. Die 1. Bande, welche nur wenige Mikrometer vom dorsolateralen Rand des CI entfernt verläuft, erstreckte sich vom DC bis in den LN des CI. Da in den Frontalschnitten des CI keine Grenze zwischen dem DC und dem LN erkennbar war, konnte keine genaue Zuordnung der c-Fos Markierungen zu den jeweiligen Nuklei erfolgen. Aufgrund ihres Abstands zum dorsolateralen Rand des CI wurden die Banden 2 und 3 dem CN des CI zugeordnet. Bande 1 befand sich in Übereinstimmung mit den elektrophysiologischen Daten nur wenige Mikrometer vom dorsolateralen Rand des CI entfernt. Es liegt demnach eine Frequenzabbildung der Gerangellaute in den Gehirnschnitten des CI vor, die bis auf die Grundfrequenz nicht mit den elektrophysiologischen Frequenzkarten übereinstimmt.

Bei einer Beschallung mit Reintönen waren c-Fos Markierungen hingegen, in Übereinstimmung mit elektrophysiologischen Untersuchungen, in den der Reizfrequenz entsprechenden Gebieten lokalisiert (Ehret und Fischer, 1991; Reimer, 1993; Rouiller et al., 1992). Im CI zeigt sich somit eine stimulusabhängige Plastizität bezüglich der Repräsentation von komplexen Kommunikationslauten und Reintönen. Die vorhandenen Frequenzkarten des CI basieren auf Untersuchungen mit synthetischen Reintönen (Stiebler, 1987a; Stiebler und Ehret, 1985). Die zum Teil große Diskrepanz zwischen der Abbildung von Reintönen und komplexen, biologisch relevanten Kommunikationslauten macht deutlich, wie wichtig weitere Untersuchungen mit komplexen, verhaltensrelevanten Lautmustern sind, um die genauen Verarbeitungsmechanismen dieser Laute verstehen zu können.

Im auditorischen System adulter Tiere wurde eine stimulusabhängige strukturelle und funktionelle Plastizität vor allem für Zentren des auditorischen Vorderhirns wie dem Corpus geniculatum mediale und dem AC beschrieben. Eine Reorganisation von neuronalen rezeptiven Feldern tritt nach selektiver Stimulation, Habituation, klassischer Konditionierung oder assoziativem Lernen auf (Calford et al., 1993; Condon und Weinberger, 1991; Edeline und Weinberger, 1993; Edeline et al., 1993; Recanzone et al., 1993; Weinberger, 1993; Weinberger et al., 1993). Durch eine Veränderung der rezeptiven Felder werden so Karten des auditorischen Systems bezüglich der Antworteigenschaften von Neuronen unter Umständen völlig neu gestaltet.

Plastizität wurde auch im auditorischen Mittelhirn bei Fledermäusen und Mäusen beschrieben. Hierbei sind corticofugale Projektionen für frequenzspezifische Veränderungen bezüglich der Tonotopie, Frequenzabstimmung, Sensitivität und des Antwortverhaltens von Neuronen im CI verantwortlich (Jen et al., 1998; Yan und Ehret, 2001; Yan und Suga, 1996, 1998; Zang und Suga, 2000; Zhou und Jen, 2000). Das corticofugale System trägt auch zur Reorganisation durch bestimmte sensorische Erfahrungen bei (Gao und Suga, 1998; Yan und Suga, 1998). Es moduliert neuronale Antworten im CI durch Exzitation, Inhibition und Fazilitation, was mehr als drei Stunden anhalten kann (Zhou und Jen, 2000).

Die Veränderung des Abbildungsortes der Frequenzen 7,6 kHz und 11,4 kHz bei einer Beschallung mit harmonischen Gerangellauten, könnte durch das corticofugale System hervorgerufen werden. Direkte Projektionen des AC in den CI wurden bei einer Vielzahl von

Säugern beschrieben (Adams, 1980; Anderson et al., 1980; Coleman et al., 1984; Druga et al., 1988; Faye-Lund, 1985; Morest und Oliver, 1984). Hierbei wurden direkte Verbindungen vor allem in den LN und DC des CI gefunden (z.B. Anderson et al., 1980; Faye-Lund, 1985; Morest und Oliver, 1984; Willard und Ryugo, 1983). Der CN erhält nur schwachen Eingang aus dem AC (Saldana et al., 1996). Bei Untersuchungen an Ratten und Meerschweinchen zeigten sich direkte Projektionen aus dem dorsorostralen Teil des AC, was bei der Maus den Feldern UF und AAF entspricht, in den LN (Druga et al., 1988; Faye-Lund, 1985). Der DC des CI besitzt hingegen Verbindungen aus dem gesamten AC (Druga et al., 1988; Faye-Lund, 1985). Der Ursprung dieser Neurone ist in allen kortikalen Feldern in der Schicht V zu suchen (Druga et al., 1988).

Yan und Ehret (2001) konnten bei der Maus durch lokale Stimulation in primären Feldern des AC eine Veränderung der Tonotopie im CI in Abhängigkeit von der kortikalen Bestfrequenz (Frequenz mit der höchsten Antwortrate eines Neurons) erzielen. Hierbei war eine Frequenzverschiebung in Richtung der dem kortikalen Reizort entsprechenden Bestfrequenz zu beobachten. Somit könnte auch hier der AC einen Einfluss auf den CI ausüben. Da in der vorliegenden Arbeit die Frequenzen in den primären auditorischen Feldern AI und AAF an den entsprechenden Orten der drei Beschallungsfrequenzen abgebildet werden (siehe Diskussion 4.2.2), kann ein Einfluss dieser Felder auf die Abbildung der Frequenzen im CI ausgeschlossen werden. Daher könnte für die Veränderung der Tonotopie ein Einfluss der höheren auditorischen Felder verantwortlich sein. Um dieser Vermutung nachzugehen, sind Experimente wie bei Yan und Ehret (2001) mit einer kortikalen Stimulation in höhern auditorischen Feldern nötig.

Ferner könnten für die Abbildung der Obertöne laterale Inhibitionen innerhalb des CI, und Verbindungen zwischen den Laminae verantwortlich sein. Laterale Inhibition wurde im CI der Katze beschrieben (Ehret, 1997). In diesen Experimenten wurde die neuronale Aktivität im CI mit Hilfe der ^{14}C-Desoxyglucose Autoradiographie nach simultaner Beschallung mit einem Reinton (8 kHz) und breitbandigem Rauschen dargestellt. Hierbei zeigte sich neuronale Aktivität im Bereich der entsprechenden Isofrequenzbande des Reintons (8 kHz). Beiderseits dieses Bereichs waren die autoradiographischen Markierungen geringer, wobei die Intensität der Markierungen, welche auf das Rauschsignal zurückzuführen waren, mit zunehmender Entfernung wieder stärker wurde. Diese Untersuchungen haben gezeigt, dass die Isofrequenzebenen von Hemmfeldern umgeben sind, und so die neuronale Aktivität in benachbarten Isofrequenzebenen gehemmt wird. Die laterale Hemmung kann auf inhibitorische, GABAerge Projektionen aus dem lateralen Lemniscus, sowie auf inhibitorische Verschaltungen zwischen den Laminae zurückgeführt werden. Hierfür erscheinen die Multipolarzellen des CI am besten geeignet. Die Multipolarzellen erhalten keinen direkten synaptischen Eingang aus dem lateralen Lemniscus (Pedemonte et al. 1993) und erstrecken sich über mehrere fibrodendritische Laminae (Herrera et al. 1988), wodurch sie Einfluss auf Neurone in verschiedenen Isofrequenzebenen haben. Die Frequenzen der Gerangellautattrappen liegen in den elektrophysiologisch erstellten Frequenzkarten in benachbarten Isofrequenzebenen (Stiebler, 1987a; Stiebler et al., 1997). Daher könnte das Fehlen der c-Fos Markierungen in

den Isofrequenzebenen der Frequenzen 7,6 und 11,4 kHz auf laterale Inhibitionen zurückgeführt werden. Um zu klären, wie weit der Einfluss der Hemmfelder um die Isofrequenzebenen reicht, wären weitere c-Fos immunzytochemische Untersuchungen mit akustischen Stimuli interessant, welche die Grundfrequenz (3,8 kHz) und den zweiten Oberton (11,4 kHz) der Gerangellaute enthalten.

Die c-Fos markierten Banden konnten im äußerst caudalen und rostralen Bereich des CI nicht mehr klar voneinander abgegrenzt werden. Betrachtet man die Lage und den Verlauf der Isofrequenzebenen im rostralen Drittel des CI, so wird ersichtlich, dass der Abstand der Isofrequenzebenen zunehmend geringer und deren Steigung immer steiler wird. Im caudalen Drittel des CI verringert sich der Abstand der Isofrequenzebenen nicht so stark wie im rostralen Bereich des CI, allerdings wird auch hier die Größe des CI zunehmend geringer (Stiebler, 1987a; Stiebler und Ehret, 1985). Die Verschmelzung der markierten Banden ist somit auf den Verlauf der Isofrequenzebenen und die abnehmende Größe des CI zurückzuführen. Somit zeigt sich, dass die zunehmend geringeren Abstände mit Hilfe der c-Fos Immunzytochemie nicht mehr getrennt aufgelöst werden können.

Wie bereits oben beschrieben, befanden sich die Banden 2 und 3 im CN des CI. Die Bande 1 zog sich hingegen aus dem DC bis in den LN des CI hinein. Zwischen den Längen der drei c-Fos markierten Banden ergaben sich folgende Unterschiede. Bei Bande 1 aller Versuchsgruppen wurden die größten und bei Bande 3 die geringsten Längen gemessen. Die Länge der 1.Bande betrug im Mittel 1670 µm in beiden Hemisphären. Die 2. Bande erstreckte sich in beiden Hemisphären über eine Länge von ca. 1390 µm, die 3. Bande über eine Länge von 1280 µm. Die beiden Banden 2 und 3 reichten weiter nach medial als Bande 1. In den elektrophysiologischen Untersuchungen des CI (Stiebler, 1987a) wurden medial vor allem in tieferen Schichten neuronale Antworten gemessen. Äußerst medial im zentralen Grau und dem Nucleus commisuralis (Morest und Oliver, 1984), sowie im periaquaeductalen Grau und dem Nucleus interstitialis (Willard und Ryngo, 1983) wurden elektrophysiologisch keine Antworten auf Tonpulse gemessen. Lateral zogen die Banden 2 und 3 wie die Isofrequenzebenen in den Frequenzkarten (Stiebler, 1987a; Stiebler und Ehret, 1985) nach ventrolateral. Ein Vergleich mit den Grenzen der Nuklei des CI in diesen Frequenzkarten zeigt, dass auch die Banden 2 und 3 mit c-Fos Markierungen nicht bis in den LN des CI hineinreichen. Wie nach einer Beschallung mit Reintönen (Ehret und Fischer, 1991) wurden nach einer Beschallung mit Gerangellauten in den Banden 2 und 3 die c-Fos markierten Zellen über die ganze Länge der Isofrequenzbänder verteilt gefunden.

Die 1. Bande mit c-Fos markierten Zellen besitzt hingegen eine deutlich größere Länge als die Isofrequenzbänder in diesem Bereich. In den Frequenzkarten von Stiebler (1987a) verliefen die Isofrequenzbänder, in denen niedrige Frequenzen zu finden waren nur im Bereich des DC, welcher elektrophysiologisch nicht vom CN abgegrenzt werden kann. Die Bande 1 mit c-Fos Markierungen hingegen beginnt im DC und reicht lateral weit in den LN hinein. Elektro-

physiologische Untersuchungen des LN verschiedener Säuger ergaben eine vom Rest des CI unabhängige Frequenzrepräsentation (Clopton und Winfield, 1973; Kitzes, 1984; Rose et al., 1963; Stiebler, 1987a; Stiebler und Ehret, 1985). Hierbei konnte bei der Maus (Stiebler, 1987a; Stiebler und Ehret, 1985) eine tonotope Anordnung mit niedrigen Frequenzen lateral und dorsal und höheren Frequenzen an der Grenze des LN zum CN und ventral beobachtet werden. Im LN sind nur niedrige Frequenzen bis ca. 34 kHz repräsentiert. Die Frequenzen, welche im LN abgebildet werden, umfassen demnach das Frequenzspektrum verschiedener Laute junger und adulter Mäuse, wie z.B. Schmerzschrei und Gerangellaute von Jungtieren oder Abwehrlaute erwachsener Tiere (Bernecker, 1983; Ehret, 1975; Ehret und Bernecker, 1986; Haack et al., 1983). Die Neurone des LN unterscheiden sich auch in ihren Eigenschaften, mit längeren Latenzen (Willot und Demuth, 1986) und breiten, unregelmäßigen Tuningkurven (Aitkin et al., 1972) deutlich von Neuronen des CN. Aufgrund dieser Charakteristika und seiner Verbindungen zu somatosensorischen und motorischen Zentren wurde der LN als Zentrum von akustomotorischer Integration betrachtet (Aitkin et al., 1981). Da sich die c-Fos Markierungen in der 1. Bande, im Gegensatz zu den Isofrequenzebenen höherer Frequenzen, bis in den LN des CI hineinziehen, zeigt sich auch hier die Divergenz in der Abbildung von Reintönen und verhaltensrelevanten komplexen Lautmustern.

Obwohl die dritte Bande die geringste Länge der drei Banden besaß, trat hier bei allen Versuchsgruppen die größte Gesamtzahl an Markierungen und die größte Markierungsdichte (Anzahl der Markierungen pro 100 µm) auf. In den Banden 1 und 2 war die Anzahl der Markierungen insgesamt geringer, wobei in der Bande 1 mehr Markierungen zu finden waren als in der Bande 2. Hinsichtlich ihrer Markierungsdichte unterschieden sich die beiden Banden 2 und 3 nicht voneinander. Die Breite der drei Banden wurde in ihrem medialen, zentralen und lateralen Bereich bestimmt. Betrachtet man die Breite der einzelnen Banden über ihre gesamte Länge hinweg, so stieg diese in ihrem zentralen Bereich (c) gegenüber den beiden Rändern (m und l) in beiden Hemisphären signifikant an. Alle drei Banden waren lateral breiter als medial. In den drei unterschiedlich breiten Bereichen (m, c bzw. l) der Banden trat eine unterschiedlich hohe Anzahl an c-Fos Markierungen auf. In der Bande 1 aller drei Versuchsgruppen wurde medial eine größere Anzahl an c-Fos Markierungen gefunden als zentral und lateral. In den Banden 2 und 3 hingegen traten medial weniger c-Fos Markierungen auf als zentral und lateral. Im zentralen Bereich dieser beiden Banden waren meist mehr Markierungen zu finden als lateral.

Eine mögliche Erklärung für die beschriebene Form der drei Banden und die Dichteverteilung in den drei Bandenbereichen könnte in der Empfindlichkeitsverteilung der Neurone zu finden sein. Im zentralen Bereich des CI liegen die Antwortschwellen der Neurone niedriger als in seinem medialen Teil. Innerhalb der Isofrequenzebenen sind die niedrigsten Schwellenwerte im Zentrum zu finden, wobei lateral niedrigere Schwellen gemessen wurden als medial (Stiebler, 1987a; Stiebler und Ehret, 1985). Die Lautstärke der Lautattrappen während der Beschallung betrug 70 dB SPL, wobei die einzelnen Frequenzkomponenten jeweils eine Laut-

stärke von 60,5 dB SPL besaßen. Bei einer Beschallung mit den Lautattrappen wurden daher in den Bereichen mit geringeren Schwellen mehr Neurone erregt als in den Bereichen mit höheren Schwellenwerten. Somit steht die Anzahl und die Verteilung der Markierungen in den Banden 2 und 3 mit der beschriebenen Schwellenverteilung der Neurone in Einklang. Hinsichtlich der Verteilung der c-Fos Markierungen innerhalb der Bande unterscheidet sich die 1. Bande von den beiden Banden 2 und 3. In der Bande 1 traten medial mehr Markierungen auf als zentral und lateral. Da im LN höhere Antwortschwellen der Neurone zu finden sind als im DC oder CN (Stiebler, 1987a; Stiebler und Ehret, 1985), lässt die Verteilung der c-Fos Markierungen in Bande 1 den Schluss zu, dass der mediale Bereich der Bande dem DC, der zentrale und laterale Bereich hingegen dem LN zuzuordnen ist.

Alle drei verwendeten Gerangellautattrappen (Attrappe A, G bzw. L) zeigten im CI ein einheitliches Markierungsmuster, unabhängig von ihrer Auslöseeffektivität bezüglich der Brutpflegereaktionen bei den Müttern. Somit scheint eine genaue Bewertung der Gerangellaute im Hinblick auf ihre Auslöseeffektivität für Verhalten, erst in höheren auditorischen Zentren wie dem AC stattzufinden.

4.2.2 Markierungen im auditorischen Kortex

In der vorliegenden Arbeit zeigten sich nach einer Beschallung mit synthetisierten Gerangellautattrappen bei allen Versuchsgruppen c-Fos Markierungen im Bereich des AC, wobei eine Zuordnung der Markierungen zu den auditorischen Feldern möglich war. In der rostrocaudalen Ausdehnung der c-Fos markierten Areale im AC ergaben sich zum Teil erhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen Tieren. Diese individuelle Variabilität bezüglich der Größe des AC und der auditorischen Felder im Neokortex der Maus wurde auch schon in den elektrophysiologisch erstellten Frequenzkarten des AC von Stiebler (1987a) sowie Stiebler und Kollegen (1997) und in den immunzytochemischen Studien von Fichtel (1994) und Fleschhutz (1998) festgestellt. Ähnliche individuelle Größenunterschiede des AC zeigten sich auch bei anderen Säugern, wie Ratten (Horikawa et al., 1988; Sally und Kelly, 1988), Fledermäusen (O'Neill und Suga, 1982; Ostwald, 1984; Dear et al., 1993) und Katzen (Merzenich et al., 1975; Reale und Imig, 1980).

In der linken Hemisphäre erstreckten sich die c-Fos Markierungen im gesamten AC über ein signifikant größeres rostrocaudales Areal als in der rechten Hemisphäre. Auch bei den einzelnen auditorischen Feldern wurden bezüglich ihrer rostrocaudalen Ausdehnung in der linken Hemisphäre höhere Werte (jedoch keine signifikanten Unterschiede) gemessen als in der

rechten Hemisphäre. Ein rostrocaudaler Größenunterschied des AC und der auditorischen Felder zwischen den beiden Hemisphären wurde bereits in immunzytochemischen Studien von Fichtel (1994) und Fleschhutz (1998) beschrieben. Auch in der dorsoventralen Gesamtausdehnung des AC, welche 500 µm caudal der Grenze zwischen den Feldern AI und AAF gemessen wurde, traten in der linken Hemisphäre signifikant größere Werte auf als in der rechten Hemisphäre. Der rostrocaudale und dorsoventrale Größenunterschied zwischen den beiden Kortexhemisphären bestätigt auch die bei den elektrophysiologischen Kartierungen des AC der Maus festgestellten Hemisphärenunterschiede (Stiebler, 1987a; Stiebler et al., 1997). Da bei den elektrophysiologischen Frequenzkartierungen immer nur eine Kortexseite pro Tier charakterisiert wurde, liegen keine direkten Vergleiche bezüglich der Größe der beiden Hemisphären vor, und die Größenunterschiede beziehen sich auf die Populationen der untersuchten Tiere. Die Ergebnisse dieser Arbeit und die Daten aus den Arbeiten von Fichtel (1994) und Fleschhutz (1998) bestätigen die größere Ausdehnung des AC in der linken, gegenüber der rechten Hemisphäre, auch für Einzelindividuen.

Hemisphärenunterschiede hinsichtlich der Größe bestimmter Regionen sind ein weit verbreitetes Phänomen und wurden auch im Gehirn von Fischen, Amphibien (Braitenberg und Kemali, 1970) oder dem Menschen (z.B. Chi et al., 1977; Galaburda et al., 1978; Geschwind und Levitsky, 1968; Teszner et al., 1972; Wada et al., 1975; Witelson und Pallie, 1973) beschrieben. Bei Fischen und Amphibien wurden Größenunterschiede zwischen den beiden Hemisphären bei Epithalamus und Habenula gemessen (Braitenberg und Kemali, 1970). Im Gehirn des Menschen erstrecken sich beispielsweise das Planum temporale, ein Teil des assoziativen AC, oder der temporoparietale Kortex, eine Region welche mit der Funktion der menschlichen Sprache in Zusammenhang steht, in den beiden Hemisphären über ein unterschiedlich großes Areal. Hierbei wurden in den meisten Gehirnen in der linken Hemisphäre, wie auch beim AC von Mäusen, größere Areale als in der rechten Hemisphäre gemessen (Chi et al., 1977; Galaburda et al., 1978; Geschwind und Levitsky, 1968; Teszner et al., 1972; Wada et al., 1975; Witelson und Pallie, 1973).

Hinsichtlich der rostrocaudalen Ausdehnung der c-Fos Markierungen in den fünf auditorischen Feldern zeigten sich folgende Unterschiede: Die beiden Felder UF und DP besaßen die geringste rostrocaudale Ausdehnung. Zwischen den Feldern AI, AAF und AII bestanden keine deutlichen Unterschiede, wobei das AII etwas kleiner als das dorsal angrenzende Feld AAF war. Ein Vergleich mit den Frequenzkarten des AC der Maus (Stiebler, 1987a; Stiebler et al., 1997) zeigt, dass auch diese Größenverhältnisse aus den Frontalschnitten der Gehirne in beiden Hemisphären mit den elektrophysiologisch gewonnenen Karten übereinstimmen. Daraus ist zu schließen, dass nach einer Beschallung mit allen drei Lautattrappen c-Fos Markierungen in allen auditorischen Feldern über ihre gesamte rostrocaudale Ausdehnung verteilt zu finden sind.

Die verwendeten Lautattrappen (Attrappe A, G bzw. L) setzten sich alle aus den drei harmonischen Frequenzen 3,8 kHz, 7,6 kHz und 11,4 kHz zusammen. Im Feld AII sind charakteris-

tische Frequenzen zwischen 2 kHz und 73 kHz lokalisiert. Im DP wurden charakteristische Frequenzen von 10 kHz bis in den hohen Ultraschallbereich gemessen. Diese beiden höheren auditorischen Felder weisen keine tonotope Ordnung in der Verteilung der charakteristische Frequenzen auf. Die primären auditorischen Felder AI und AAF zeigen hingegen eine streng tonotope Organisation, mit charakteristischen Frequenzen zwischen 2 kHz und 45 kHz, wobei die niedrigsten Frequenzen caudal (AI) bzw. rostral (AAF) und die höchsten Frequenzen jeweils an der Grenze zwischen den beiden Feldern (in AI rostral, in AAF caudal) lokalisiert sind. Frequenzen über 45 kHz sind im UF repräsentiert (Stiebler, 1987a, 1987b; Stiebler et al., 1997). Aufgrund der Verteilung der charakteristischen Frequenzen in den auditorischen Feldern wären c-Fos Markierungen vor allem in Feldern, wie dem AII, AI und AAF zu vermuten, in denen charakteristische Frequenzen im Bereich der Beschallungsfrequenzen repräsentiert sind. Nach einer Beschallung mit Gerangellauten traten c-Fos Markierungen nicht nur in diesen Feldern des AC auf, sondern in allen Feldern des AC. Zusätzlich waren die c-Fos Markierungen in allen Feldern über die gesamte rostrocaudale Ausdehnung der Felder, und nicht in den Feldern AI und AAF nur auf den caudalen bzw. rostralen Bereich beschränkt, zu finden. Aus diesem Grund haben in den Feldern AI, AAF, UF und DP auch Neurone mit höheren, charakteristischen Frequenzen als im Schallreiz vorhanden das c-Fos Protein synthetisiert. Der Grund ist in den Frequenzabstimmungskurven der Neurone zu suchen. Bei der charakteristischen Frequenz eines Neurons können mit einer minimalen Lautstärke Antworten ausgelöst werden. Mit zunehmender Lautstärke des akustischen Stimulus antwortet das Neuron auf einen zunehmend größeren Frequenzbereich. Die Lautstärke der Lautattrappen betrug bei der Beschallung insgesamt 70 dB SPL, wobei die einzelnen Frequenzkomponenten eine Lautstärke von 60,5 dB SPL besaßen. Daher zeigten auch Neurone mit charakteristischen Frequenzen außerhalb der im Schallreiz vorhanden Frequenzen neuronale Aktivität.

In den beiden primären auditorischen Feldern AI und AAF wurden bei allen drei Versuchsgruppen, in beiden Hemisphären, drei Bereiche mit deutlich erhöhten Zahlen an Markierungen ermittelt. Hierbei stieg die Anzahl der c-Fos positiven Zellen auf einigen Schnitten plötzlich sprunghaft an. Dieser sprunghafte Anstieg an Markierungen zeigte sich im AI caudal ca. 250 µm und im AAF rostral ca. 235 µm von der Feldgrenze zwischen AI und AAF entfernt, dreimal im Abstand von durchschnittlich 150 µm. Die durchschnittliche rostrocaudale Ausdehnung dieser drei Bereiche erhöhter Dichte c-Fos positiver Zellen betrug 75 µm. In den übrigen Schnitten ergab sich hingegen in beiden Feldern eine konstant niedrige Anzahl an Markierungen. In den elektrophysiologisch erstellten Frequenzkarten von Stiebler (1987a) sowie Stiebler und Kollegen (1997) ist in diesen beiden Feldern eine tonotope Anordnung der Frequenzen zu erkennen, wobei niedrige Frequenzen im AI caudal und im AAF rostral zu finden sind. Ein Vergleich mit den Frequenzkarten (Stiebler, 1987a; Stiebler et al., 1997) zeigt, dass sich die drei Bereiche mit der erhöhten Anzahl an c-Fos Markierungen, in den entsprechenden Abbildungsorten der drei Beschallungsfrequenzen, 3,8 kHz, 7,6 kHz und 11,4 kHz befinden. Im Gegensatz zu der Lage der Markierungen im CI stimmt in den primä-

ren auditorischen Feldern des AC die Lage der nach einer Beschallung mit Gerangellauten aktiven Neurone exakt mit der Lage der elektrophysiologisch ermittelten charakteristischen Frequenzen überein. Auch bei c-Fos immunzytochemischen Untersuchungen von Scheich und Zuschratter (1995) war eine tonotope Ordnung in den primären auditorischen Feldern zu erkennen. Somit kann die Lage der Frequenzen in den auditorischen Feldern mit einer tonotopen Ordnung, mit Hilfe der c-Fos Immunzytochemie dargestellt werden.

Die erhöhte Anzahl c-Fos markierter Zellkerne an den Abbildungsorten der im Schallreiz vorhandenen Frequenzen in den Feldern AI und AAF, ist vor allem auf eine erhöhte Anzahl an Markierungen in den kortikalen Schichten II und III zurückzuführen. Die Neurone der Schicht III erhalten exitatorischen Eingang aus dem ipsilateralen Corpus geniculatum mediale und AII sowie dem kontralateralen AI (Mitani et al., 1985; Rouiller et al., 1991; Winer, 1992). So ist die erhöhte Anzahl an c-Fos markierten Zellen auf ipsi- und kontralaterale Erregungen aus dem Corpus geniculatum mediale, dem AI und AII zurückzuführen.

Im UF wurde bei allen Versuchsgruppen nur eine geringe Anzahl an Markierungen gemessen, wobei keine Unterschiede zwischen den drei Gruppen und den beiden Hemisphären auftraten. Aufgrund der Antworteigenschaften der Neurone wird das UF als spezialisierter Teil des AI angesehen, in dem die Verarbeitung höherer Frequenzen stattfindet (Stiebler, 1987b; Stiebler et al., 1997). Das Markierungsniveau im UF gleicht dem in den Feldern AI und AAF außerhalb der stärker markierten Bereiche. Nach einer Beschallung mit den drei Lautattrappen ist in allen drei primären auditorischen Feldern das gleiche Markierungsmuster zu finden. Die beiden Lautattrappen G und L stellen jedoch einen signifikant schlechtern Auslöser für Brutpflegeverhalten bei den Müttern dar, als die Lautattrappe A. Daher liegt der Schluss nahe, dass die Neurone in diesen Feldern zwar von den Frequenzen der Gerangellaute angesprochen wurden, eine genaue Analyse der Stimuli in Hinblick auf ihre biologische Relevanz erst in höheren auditorischen Zentren stattfindet.

In Untersuchungen an Zellkulturen (Sheng et al., 1993) und Gehirnschnittpräparaten (Brainslice) (Fichtel, 1998) wurde gezeigt, dass die Induktion der c-fos Expression von zeitlichen Parametern des elektrischen Signals beeinflusst wird. Einen optimalen, elektrischen Stimulus stellen hierbei Pulsserien aus sechs Einzelpulsen mit einer Frequenz von 10 Hz dar, die einmal pro Minute appliziert wurden. In den Gehirnschnittpräparaten (Fichtel, 1998), zeigten sich nach einer Stimulation mit Dauerpulsen keine c-Fos Markierungen. Nach einer Beschallung mit den Gerangellautattrappen, welche ebenfalls als Dauerpulse generiert wurden, traten hingegen in der vorliegenden Arbeit c-Fos markierte Zellen in den auditorischen Feldern auf. Daher besteht kein direkter Zusammenhang zwischen der zeitlichen Struktur der elektrischen und akustischen Stimuli. Da die c-fos Expression jedoch von zeitlichen Parametern des elektrischen Signals beeinflusst wird, könnten die Markierungen in den primären auditorischen Feldern, außerhalb der Tonotopiebereiche, auf die zeitlichen Parameter (Pulse) des akustischen Signals zurückgeführt werden.

In allen Gehirnschnitten der beiden sekundären auditorischen Feldern AII und DP trat innerhalb der Versuchsgruppen eine relativ konstante Anzahl an c-Fos markierten Zellkernen auf. Elektrophysiologische Untersuchungen in den Feldern AII und DP zeigten keine tonotope Anordnung der Frequenzen (Stiebler, 1987a; Stiebler et al., 1997). Auf Grund der Verteilung der c-Fos Markierungen wurden bei einer Beschallung mit den verwendeten Lautattrappen (Attrappe A, G bzw. L) Neurone im gesamten Bereich der beiden Felder angesprochen. Vergleicht man jedoch die drei Versuchsgruppen untereinander, so ergeben sich zwischen der Gruppe A und den Gruppen G bzw. L signifikante Unterschiede bezüglich der Zahl an c-Fos markierten Zellen in den beiden Feldern. Im AII der Gruppe A traten in beiden Hemisphären weniger c-Fos Markierungen auf als bei den Gruppen G und L. Zwischen den beiden Gruppen G und L zeigten sich hingegen keine Unterschiede in der Anzahl an c-Fos markierten Zellkernen. Im DP wurden in der linken Hemisphäre der Versuchsgruppe A mehr c-Fos Markierungen gezählt, als bei den beiden Gruppen G bzw. L. Zwischen der rechten Hemisphäre aller drei Versuchgruppen traten keine Unterschiede auf. Verglichen mit der Attrappe A besitzen die beiden Attrappen G und L nur eine sehr geringe Auslöseeffektivität für Brutpflegeverhalten bei den Müttern. Demnach wird die Anzahl an c-Fos Markierungen in beiden Hemisphären des AII, sowie in der linken Hemisphäre des DP, im Gegensatz zu den primären auditorischen Feldern AI, AAF und UF, von der Auslöseeffektivität der verwendeten Lautattrappe beeinflusst.

Auch bei der Verarbeitung von Ultraschallauten zeigte sich im AII eine unterschiedliche neuronale Aktivität in Abhängigkeit von der biologischen Bedeutung der Signale für die getesteten Tiere. Diese wurde ebenfalls c-Fos immunzytochemisch dargestellt (Fichtel, 1994, 1999). Ultraschallaute werden von den Jungen abgegeben, die sich außerhalb des Nestes befinden und auskühlen. Sie lösen bei ihren Müttern Such- und Eintrageverhalten aus (Ehret und Haack, 1982, 1984; Ehret et al., 1987; Haack et al., 1983; Noirot, 1972). Für naive Weibchen, welche selber keine Erfahrung mit nestjungen Mäusen haben, stellen die hochfrequenten Isolationsrufe der Jungen keinen Auslöser für das Eintrageverhalten dar (Ehret und Koch, 1989). Nach einer Beschallung mit Ultraschallauten wurden bei Tieren, welche die biologische Bedeutung eines akustischen Stimulus nicht einordnen konnten (naive Weibchen), im AII weniger c-Fos markierte Zellen gefunden, als bei Tieren, für die Ultraschallaute einen Auslöser für mütterliches Verhalten darstellen (Mütter). Durch die Behandlung mit speziellen Neuropharmaka, wie Haloperidol, ist es möglich die Erkennung der Ultraschallaute bei den Müttern zu hemmen (Wegener et al., 1988). Nach einer Beschallung mit Ultraschallauten wurden im AII der behandelten Mütter, ebenfalls weniger c-Fos Markierungen gemessen, als bei unbehandelten Müttern (Fleschhutz, 1998). Somit stellt sich nach Beschallung mit Ultraschallauten eine andere Häufigkeitsverteilung c-Fos markierter Zellen, in Abhängigkeit von der biologischen Bedeutung des akustischen Stimulus, dar, als nach einer Beschallung mit Gerangellauten.

Ergebnisse aus anatomischen und elektrophysiologischen Untersuchungen an Affen (z.B. Rauschecker et al., 1995, 1997; Romanski et al., 1999) und Studien an Menschen, mit Hilfe der Positronenemissionstomographie oder die Magnetresonanztomographie (z.B. Alain et al.,

2001), führten zu der Hypothese, dass bei der Lokalisation („wo“) und der Identifikation („was“) eines akustischen Stimulus zwei getrennte, kortikale Verarbeitungswege existieren. Die räumliche, auditorische Information wird über dorsale Projektionen, welche im caudalen Bereich des AC beginnen, in Regionen des präfrontalen Kortex geleitet (Romanski et al., 1999). Bei der Identifikation des akustischen Stimulus, wie beispielsweise bei der Verarbeitung von Kommunikationslauten und Sprache oder der Unterscheidung von Phonemen (z.B. Gabrieli et al., 1998; Pugh et al., 1996), sind hingegen ventrale Verbindungen in den präfrontalen Kortex aus dem rostralen Bereich des AC aktiv (Romanski et al., 1999).

Bei der Maus wäre aufgrund ihrer Lage das Feld AII bei der Identifikation und das Feld DP bei der Lokalisation eines akustischen Stimulus beteiligt. Somit wäre im AII (Ientifikation), wie nach einer Beschallung mit Ultraschallauten, eine erhöhte neuronale Aktivität, und damit eine erhöhte Anzahl an c-Fos Markierungen zu erwarten, wenn der akustische Stimulus von den Tieren erkannt wurde. Nach einer Beschallung mit Gerangellautattrappen zeigten sich hingegen weniger c-Fos Markierungen bei Attrappe A, welche einen optimalen Auslöser für Brutpflegeverhalten bei den Müttern darstellt, als bei den Attrappen G bzw. L. Auch nach einer Beschallung mit Ultraschallauten wurden im UF bei Müttern weniger c-Fos Markierungen gemessen als bei naiven Weibchen, welche die Bedeutung der Laute nicht erkannt hatten (Fichtel, 1994, 1999). Daher hat ein „Erkennen“ eines akustischen Stimulus nicht immer eine erhöhte neuronale Aktivität zur Folge. Somit könnte die Identifikation der Ultraschallaute im UF und die Identifikation der niederfrequenten Gerangellaute im AII erfolgen. Es bleibt jedoch die Frage offen, in welchem Zusammenhang die Markierungen im AII nach einer Beschallung mit Ultraschallauten stehen.

Im DP traten in Abhängigkeit von der biologischen Bedeutung der Gerangellautattrappen Unterschiede in der Anzahl an c-Fos Markierungen zwischen den beiden Hemisphären auf. Bei Mäusen wurde eine Lateralisierung auch in Bezug auf die Verarbeitung von Ultraschallauten beschrieben (Ehret, 1987). Hier werden die hochfrequenten Isolationsrufe junger Mäuse, welche bei der Mutter Such- und Eintrageverhalten auslösen, vorzugsweise in der linken Hemisphäre des Gehirns verarbeitet. Auch bei Affen werden arteigene Kommunikationslaute vorzugsweise in der linken Hemisphäre verarbeitet (Petersen et al., 1978, 1984). Des weiteren zeigten sich Hemisphärenunterschiede beim Menschen im Hinblick auf die Verarbeitung komplexer Laute, wie Sprache oder Musik. So werden Tonhöhe und Klangfarbe in der Musik oder prosodische Informationen der Sprache, vor allem in der rechten Hemisphäre verarbeitet (Patel et al., 1998; Zatorre et al., 1994). Rhythmus und Sprachlaute mit schnellen spektralen Änderungen, wie Formantübergänge, hingegen werden hauptsächlich in der linken Hemisphäre repräsentiert (Johnsrude et al., 1997).

Aufgrund der beschriebenen Verteilung der c-Fos Markierungen im DP, nach Beschallung mit Ultraschall- oder Gerangellauten, liegt der Schluss nahe, dass bei der Lokalisation eines akustischen Signals („wo“-Weg, vgl. S. 92) hauptsächlich die linke Hemisphäre beteiligt ist. Die Markierungsunterschiede in Abhängigkeit von der biologischen Bedeutung des akusti-

schen Signals deuten darauf hin, dass eine Lokalisation eines akustischen Signals nur dann erfolgt, wenn es als biologisch relevant identifiziert wurde.

In der linken Hemisphäre aller drei Versuchsgruppen waren Markierungen in einem Bereich dorsal des UF zu erkennen, der als dorsales Feld (DF) bezeichnet wird (Fichtel, 1994; Fleschhutz, 1998; Hofstetter und Ehret, 1992). Diese c-Fos markierten Zellen befinden sich bereits außerhalb des AC im assoziativen Teil des Neokortex (Caviness, 1975). Bei der Maus wurden ipsilaterale Verbindungen aus dem UF in das DF nachgewiesen (Hofstetter und Ehret, 1992). Dem DF der Maus kann dem suprasylvinischen Assoziationsfeld bei der Katze gleichgesetzt werden. Bei der Katze besitzt dieses Feld Verbindung zu thalamischen Nuclei, welche für die Verarbeitung akustischer, somatosensorischer und visueller Informationen verantwortlich sind (Niimi und Matsuoka, 1979). Neurone in diesem multimodalen Feld antworten daher sowohl auf akustische, wie auch auf somatosensorische und visuelle Stimuli (z.B. Thompson et al., 1963; Webster et al., 1974; Irvine and Huebner, 1979). Auch nach einer Beschallung mit Ultraschallauten wurden c-Fos Markierungen im Bereich des DF nur in der linken Hemisphäre gefunden (Fichtel, 1994; Fleschhutz, 1998). Hierbei traten nur bei Müttern, für welche die Ultraschallaute einen akustischen Auslöser für mütterliches Verhalten darstellen, c-Fos markierte Zellen auf. Naive Weibchen, für welche die Ultraschallaute keinen Schlüsselreiz für Brutpflegeverhalten darstellen, zeigten nach einer Beschallung mit Ultraschallauten keine Markierungen in diesem Feld. Aus diesem Grund wurde dem DF der linken Hemisphäre eine assoziative Funktion im Zusammenhang mit Brutpflegeverhalten zugeschrieben (Fichtel, 1994). Andererseits traten nach einer Beschallung mit Ultraschallauten auch bei Müttern c-Fos Markierungen im DF auf, bei denen die Schlüsselreizerkennung durch eine Behandlung mit speziellen Neuropharmaka, wie Haloperidol, gehemmt wurde (Fleschhutz, 1998). In der vorliegenden Arbeit wurden nach einer Beschallung mit Gerangellauten im linken DF c-Fos Markierungen bei allen drei Versuchsgruppen, unabhängig von der Auslöseeffektivität der Lautattrappen, gefunden. Diese beiden Ergebnisse sprechen gegen die Vermutung, dass dem DF der linken Hemisphäre eine assoziative Funktion im Zusammenhang mit mütterlichem Verhalten zugeschrieben werden kann. Um dem Grund für das Fehlen der c-Fos Markierungen bei naiven Weibchen nach einer Beschallung mit Ultraschallauten nachzugehen, sind weitere c-Fos Immunzytochemische Untersuchungen mit naiven Weibchen nötig. Im Gegensatz zu Ultraschallauten stellen Gerangellaute für die naiven Weibchen, bereits nach einem Kontakt zu den Jungen, von nur einem Tag, einen Auslöser von mütterlichem Verhalten dar. Daher stellt sich die Frage, ob die Gerangellaute bei den naiven Weibchen, wie bei den Müttern, zu c-Fos Markierungen im DF führen oder nicht.

4.2.3 Neuronale Grundlagen für die Verarbeitung von Gerangellauten und die c-Fos Markierungen im Colliculus inferior und auditorischen Kortex

Die Organisation und Funktion des CI und AC im Zusammenhang mit einfachen akustischen Stimuli, wie reinen oder modulierten Tönen und Rauschen, wurde bei einer Vielzahl von Tieren, wie Mäusen (z.B. Stiebler, 1987a, 1987b; Stiebler et al., 1997), Ratten (z.B. Horikawa et al., 1988; Sally und Kelly, 1988), Fledermäusen (z.B. Esser und Eiermann, 1999; Suga und Jen, 1976), Katzen (z.B. Calhoun und Schreiner, 1998; Eggermont, 1991; Heil et al., 1992; Imig und Reale, 1980; Mendelson et al., 1997; Merzenich et al., 1975; Schreiner, 1991) oder Primaten (z.B. Cheung et al., 2001; Imig et al., 1977; Lu et al., 2001; Merzenich und Brugge, 1973; Morel et al., 1993) untersucht. Die Repräsentation und Verarbeitung komplexer akustischer Lautmuster, insbesondere verhaltensrelevanter Kommunikationslaute, wurde hingegen bisher nur sehr wenig erforscht (z.B. Calhoun und Schreiner, 1993; O'Neil und Suga, 1979; Shamma et al., 1993; Suga et al., 1978, 1983; Wang et al., 1995; Wenstrup et al. 1999). Für die Analyse von komplexen, biologisch wichtigen Lauten, ist eine Integration von spektralen und temporalen Aspekten dieser Laute erforderlich. Eine derartige Integration zeigen sogenannte „kombinationssensitive Neurone", welche bevorzugt antworten, wenn zwei oder mehrere spektrale oder temporale Elemente in einem Laut kombiniert sind. Kombinationssensitive Neurone wurden bei einer Vielzahl von Vertebraten, wie Fröschen, Vögeln und Säugern im auditorischen Mittel- und Vorderhirn beschrieben (z.B. Doupe, 1997; Fuzessery und Feng, 1982, 1983; Leroy und Wenstrup, 2000; Maragoliash und Fortune, 1992; Mittmann und Wenstrup, 1995; Ohlemiller et al., 1996; Olsen, 1992; Portfors und Wenstrup, 1999; Rauschecker et al., 1995; Schuller et al., 1991; Suga et al., 1978, 1983; Yan und Suga, 1996; Winer et al., 1995). Im AC wurden integrative Neurone, vor allem in nicht tonotop organisierten Regionen (Doupe, 1997; Fuzessery und Feng, 1983; Maragoliash und Fortune, 1992; Ohlemiller et al., 1996; Olsen, 1992; Rauschecker et al., 1995; Rauschecker, 1998; Suga et al., 1978, 1983; Winer et al., 1995), aber auch in primären auditorischen Feldern, mit einer tonotopen Anordnung der Frequenzen, von Fledermäusen (z.B. Fitzpatrick et al., 1993), Katzen (Sutter und Schreiner, 1991; Sutter et al., 1999) und Primaten (Brosch et al., 1999) beschrieben. Bei Fledermäusen (Esser et al., 1997; Leroy und Wenstrup, 2000; Mittmann und Wenstrup, 1995; O'Neill und Suga, 1979; Portfors und Wenstrup, 1999; Yan und Suga, 1996; Suga et al., 1983) oder Vögeln (Doupe, 1997; Langner et al., 1981; Maragoliash und Fortune, 1992; Scheich et al., 1979) wurden kombinationssensitive Neurone gefunden, welche auf den zeitlichen Zusammenhang von Lauten mit dem spektralen Muster arteigener Kommunikationslaute oder Vokalisationen bevorzugt antworten. Daher wird vermutet, dass Neurone mit derartig spezifischen Sensitivitäten entscheidend zur Analyse komplexer arteigener Laute beitragen (z.B. Doupe, 1997; Fuzessery und Feng, 1982; Maragoliash und Fortune, 1992; Ohlemiller et al., 1996; Olsen, 1992; Rauschecker et al., 1995; Schuller et al., 1991; Suga et al., 1978, 1983). Bei der Katze wurden kombinationssensitive Neurone mit Frequenzabstimmungskurven beschrieben, welche zwei oder mehrere, deutlich voneinander abgrenzbare

Schwellen-Minima aufweisen (Sutter und Schreiner, 1991). Diese Neurone zeigten eine erhöhte Antwortrate und eine Schwellenerniedrigung auf eine Kombination spektraler oder temporaler Elemente in einem Laut. Auch bei Fledermäusen wurden solch mehrgipfelige Frequenzabstimmungskurven beschrieben, welche mit der Verarbeitung der Echoortungslaute in Verbindung gebracht werden (Suga et al., 1979, 1983). Bei Mäusen wurden Neurone mit komplexen, mehrgipfeligen Frequenzabstimmungskurven im CI (Casseday und Covey, 1992; Ehret und Moffat, 1985; Egorova et al., 2001) und in den beiden höheren auditorischen Felder AII und DP gefunden (Stiebler, 1987a; Stiebler el al., 1997).

Nach einer Beschallung mit den drei synthetisierten Lautattrappen (Attrappe A, G bzw. L) wurden in den höheren auditorischen Feldern AII und DP Unterschiede in der Anzahl an c-Fos markierten Zellkernen zwischen der Versuchsgruppe A und den Versuchsgruppen G bzw. L gefunden. Die Verhaltensuntersuchungen dieser Arbeit haben gezeigt, dass Lautattrappen mit einem früheren Beginn der Grundfrequenz gegenüber den beiden Obertönen bis zu 30 ms (Attrappen B – D) und einem späteren Beginn bis zu 20 ms (Attrappen H, I) für die Mütter einen sehr effektiven Auslöser für Brutpflegeverhalten darstellen. Lautattrappen bei denen der Beginn der Grundfrequenz hingegen weiter verschoben wurde (Attrappen E – G, J – L), führten zu einem kontinuierlichen Absinken der Brutpflegereaktionen bei den Müttern. In diesem Zusammenhang besitzen die Attrappen G und L nur eine äußerst geringe Auslöseeffektivität von Brutpflegeverhalten. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und die Untersuchungen bei Vögeln (Dooling, 1989), Chinchillas (Kuhl, 1981; Kuhl und Miller, 1975, 1978), Affen (Waters und Wilson, 1976) und dem Menschen (z.B. Bregman und Pinker, 1978; Ciocca und Darwin, 1999; Dannenbring und Bregman, 1978; Darwin, 1984; Darwin und Ciocca, 1992; Darwin und Sutherland, 1984; Huggins, 1972; Libermann et al., 1961; Pisoni, 1977; Summerfield und Haggard, 1977) haben gezeigt, dass eine spektrale Integration von Frequenzkomponenten innerhalb eines kritischen Zeitfensters von 20 ms bis 40 ms erfolgt. Da kombinationssensitive Neurone bevorzugt auf eine bestimmte Kombination spektraler oder temporaler Elemente in einem Laut antworten, könnten diese Neurone die Basis für die unterschiedliche Auslöseeffektivität von Brutpflegeverhalten bei den Müttern sein. In den höheren auditorischen Feldern AII und DP wurden Neurone mit mehrgipfeligen Frequenzabstimmungskurven beschrieben (Stiebler, 1987a; Stiebler et al., 1997). Da in diesen beiden Feldern Unterschiede in der Zahl der c-Fos Markierungen zwischen den Versuchsgruppen A und den Versuchsgruppen G bzw. L auftraten, könnte es sich bei den c-Fos markierten Zellen um derartige Neurone handeln. Dieser Vermutung müsste in elektrophysiologischen Studien unter der Verwendung der Gerangellautattrappen nachgegangen werden. Die Antworteigenschaften der Neurone im AII und DP und die Verteilung der c-Fos Markierungen in diesen Feldern bei der Versuchsgruppe A, verglichen mit den Versuchsgruppen G bzw. L, lassen den Schluss zu, dass hier weniger eine Analyse einfacher Töne, sondern vielmehr die Verarbeitung und Bewertung komplexer Lautmuster stattfindet.

Nach einer Beschallung mit den drei synthetisierten Lautattrappen (Attrappe A, G bzw. L) wurden im gesamten CI c-Fos Markierungen gefunden, wobei keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen auftraten. Daher haben zeitliche Aspekte der akustischen Stimuli im CI keinen Einfluss auf die Zahl und den Ort der Markierungen. Vielmehr scheint die spektrale Zusammensetzung ausschlaggebend für das Auftreten der c-Fos markierten Zellkerne im CI zu sein. Dies würde bedeuten, dass im auditorischen Mittel- und Vorderhirn unterschiedliche Aspekte komplexer akustischer Stimuli analysiert werden. Die Aufgabe des CI bestünde somit in der Analyse der spektralen Zusammensetzung der Laute. Ob die Neurone im AC zeitliche und spektrale Aspekte komplexer Laute analysieren, konnte in der vorliegenden Arbeit nicht geklärt werden, da alle Lautattrappen die gleiche spektrale Zusammensetzung besaßen. Um diesen Vermutungen hinsichtlich der Analyse von komplexen Lauten im CI und AC nachzugehen sind elektrophysiologische Unersuchungen von Neuronen mit unterschiedlichen Gerangellautattrappen nötig, bei denen sowohl die spektrale Zusammensetzung (wie in den Verhaltensuntersuchungen von Ehret und Riecke, 2002) als auch die zeitliche Kohärenz (wie in den Verhaltensuntersuchungen der vorliegenden Arbeit) der Frequenzkomponenten verändert wird.

Neben der zeitlichen Kohärenz der Frequenzkomponenten spielt bei der Erkennung der Gerangellaute durch die Mutter auch die Dauer der akustischen Signale eine wichtige Rolle. So besitzt die Lautattrappe A, mit einer Dauer von 100 ms eine höhere Auslöseeffektivität für Brutpflegeverhalten bei den Müttern, als Lautattrappen mit einer kürzern Dauer (Attrappe M – O). Im auditorischen Mittel- und Vorderhirn einer Vielzahl von Vertebraten wurden Neurone gefunden, welche bevorzugt auf eine bestimmte Dauer eines Stimulus antworten (Brand et al., 2000; Casseday et al., 1994; Covey und Casseday, 1999; Ehrlich et al., 1997; Feng et al., 1990; Galazyuk und Feng, 1997; Gooler und Feng, 1992; He et al., 1997; Jen und Feng, 1999; Jen und Zhou, 1999). Im CI von Mäusen bevorzugen 70 % dieser Neurone Laute mit einer Dauer von mehr als ca. 20 ms (Brand et al., 2000). Im CI von Fröschen sind einige Neurone ebenfalls auf längere Laute sensitiv (Gooler und Feng, 1992), wohingegen bei Fledermäusen Laute mit einer kurzen Dauer von 1 – 30 ms bevorzugt werden (Casseday et al., 1994; Ehrlich et al., 1997; Jen und Feng, 1999; Jen und Zhou, 1999). Da nach einer Beschallung mit den unterschiedlichen Gerangellautattrappen in dieser Arbeit zwischen den Versuchsgruppen keine Markierungsunterschiede gemessen wurden, liegt der Schluss nahe, dass die Markierungen im CI durch die Gerangellaute nicht auf Neurone zurückzuführen sind, welche auf eine bestimmte Dauer eines akustischen Signals sensitiv reagieren.

Im Gegensatz zum CI, zeigen die Neurone im AC von Fledermäusen und Katzen ein erhöhtes Antwortverhalten auf Laute mit einer Dauer von mehr als 100 ms (Galazyuk und Feng, 1997; He et al., 1997). Bei Fledermäusen und Fröschen wurden Parallelen zwischen den von diesen Neuronen bevorzugten Längen und der Dauer biologisch bedeutender Laute dieser Tiere gezogen. Hierbei stellte sich heraus, dass die von den Neuronen bevorzugten Längen akustischer Stimuli an die akustische Umwelt der Tiere angepasst sind (Casseday et al., 1994; Ehrlich et

al., 1997; Jen und Feng, 1999; Gooler und Feng, 1992; Jen und Zhou, 1999). Betrachtet man die Ergebnisse aus den Verhaltensuntersuchungen der vorliegenden Arbeit, so könnten auch im AC von Mäusen Neurone vorhanden sein, welche akustische Stimuli mit einer Länge von 100 ms bevorzugen. Das Vorhandensein derartiger Neurone im AC von Mäusen wäre die Basis für die unterschiedliche Effektivität von Lautattrappen mit einer Dauer von 100 ms (Attrappe A) und Lautattrappen mit einer kürzeren Attrappendauer, wie in Attrappe M – O.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden zunächst die zeitlichen Aspekte für eine Frequenzintegration im auditorischen System der Maus (Mus musculus) mit Hilfe von Lautattrappen untersucht. Als Grundlage für diese Attrappen dienten die komplexen Gerangellaute nestjunger Mäuse. Hierbei stellte sich heraus, dass

- Lautattrappen mit einer harmonischen Zusammensetzung von drei Frequenzen (3,6 kHz; 7,6 kHz; 11,4 kHz) und einer simultanen Dauer aller drei Frequenzen von 100 ms einen nahezu optimalen Auslöser von Brutpflegeverhalten bei den Müttern darstellten.
- Lautattrappen mit einer geringeren Dauer von 80, 70 bzw. 50 ms lösten weniger Brutpflegereaktionen bei den Müttern aus.
- Eine zeitliche Verschiebung der Grundfrequenz, bis zu einem Vorlauf von 30 ms und einer Verzögerung von 20 ms gegenüber den beiden Obertönen hatte keinen Einfluss auf die Häufigkeit der Brutpflegereaktionen bei den Müttern. Außerhalb dieser Grenzen führte eine weitere zeitliche Verschiebung der Grundfrequenz zu einem kontinuierlichem Absinken der Brutpflegereaktionen.
- Hinsichtlich der Effektivität der Lautattrappen als Auslöser von Brutpflegeverhalten bestand ein nichtlinearer Zusammenhang zwischen der Gesamtdauer der Attrappen, der Dauer mit der alle drei Frequenzen simultan gehört wurden und dem verzögerten Beginn der Grundfrequenz.

Die Ergebnisse der Verhaltensuntersuchungen zeigten, dass bei Mäusen ein mit Vögeln, Chinchillas, Affen und dem Menschen gemeinsames Zeitfenster existiert, innerhalb dessen die Frequenzkomponenten eines Lautes zu einem akustischen Objekt gruppiert werden und somit zusammen als ein Hörstrom wahrgenommen werden. Bei der Gruppierung der Frequenzkomponenten durch das auditorische System und der Erzeugung auditorischer Ströme spielt, wie beim Menschen, sowohl der relative Beginn der Frequenzkomponenten zueinander, wie auch die synchrone Dauer der Frequenzen und die Gesamtdauer der akustischen Signale eine entscheidende Rolle.

Das nächste Ziel der vorliegenden Arbeit war die neuronale Repräsentation der Gerangellaute im CI und AC mit Hilfe der c-Fos Immunzytochemie zu untersuchen. Hierzu wurden c-Fos Markierungen im CI und AC miteinander verglichen, die nach Beschallung mit einer das Brutpflegeverhalten häufiger auslösenden und somit effektiveren Attrappe A bzw. zwei uneffektiven Lautattrappen (Attrappe G, L) auftraten.

- Im CI wurden bei allen drei Versuchsgruppen drei Banden mit c-Fos Markierungen gefunden, wobei keine Unterschiede in der Lage und der Anzahl an c-Fos markierten Zellkernen zwischen den Versuchsgruppen auftraten.
- Die 1. Bande befand sich im CI, in Übereinstimmung mit elektrophysiologischen Untersuchungen, in dem der Reizfrequenz (3,8 kHz) entsprechenden Gebiet. Die Banden 2 und 3 lagen hingegen in Gebieten, in denen elektrophysiologisch charakteristische Frequenzen von 14 und 26 kHz zu finden sind.
- In den beiden primären auditorischen Feldern AI und AAF zeigte sich nach einer Beschallung mit allen drei Lautattrappen (Attrappe A, G, L) in drei Bereichen (in Übereinstimmung mit den elektrophysiologisch ermittelten Abbildungsorten der drei Beschallungsfrequenzen) eine deutlich erhöhte Anzahl an c-Fos Markierungen.
- In den sekundären auditorischen Feldern AII und DP ergaben sich Unterschiede in der Zahl c-Fos markierter Zellen in Abhängigkeit von der biologischen Bedeutung der akustischen Stimuli (effektive oder uneffektive Lautattrappe für das Auslösen von Brutpflegeverhalten).

Die Ergebnisse der c-Fos immunzytochemischen Untersuchungen des CI und AC zeigen, dass im CI eine Reorganisation (Plastizität) von neuronalem Antwortverhalten in Abhängigkeit von der Komplexität der akustischen Signale vorliegt. Aufgrund des einheitlichen Markierungsmusters im CI und der Markierungsunterschiede in den sekundären auditorischen Feldern, nach Beschallung mit verschieden biologisch relevanten Gerangellautattrappen, liegt der Schluss nahe, dass eine Analyse komplexer, arteigener Laute in Hinblick auf ihre biologische Bedeutung nicht im CI, sondern erst im höheren auditorischen Feldern, wie dem AII und DP, stattfindet.

Ferner wurde der Frage nachgegangen, in wieweit und in welcher Weise Weibchen, welche selber noch nie Mutter waren, auf die natürlichen Gerangellaute nestjunger Mäuse und auf eine optimale Gerangellautattrappe reagieren. Hierbei stellte sich heraus, dass

- naive Weibchen bereits nach einem Tag Kontakt zu den Jungen sich wie die Mütter um die Jungen kümmerten und auf die Gerangellaute der Jungen oder die synthetisierte Lautattrappe mit Brutpflegeverhalten reagierten.
- Im Gegensatz zu den Müttern, welche auf die Gerangellaute ihrer Jungen am häufigsten mit Belecken der Jungen gefolgt von Lageveränderung und Nestbau reagierten, zeigten die naiven Weibchen die beiden Brutpflegereaktionen, Lecken und Lageveränderung gleich häufig.

Dies zeigt, dass die Pflegehandlungen bei Müttern und naiven Weibchen nach einer unterschiedlichen, internen Häufigkeitsverteilung der Motivation für die drei Handlungsmöglichkeiten ausgeführt werden.

6 Abkürzungsverzeichnis

AI	primäres auditorisches Feld
AII	sekundäres auditorisches Feld
AAF	anteriores auditorisches Feld
AC	auditorischer Cortex
ATP	Adenosintriphosphat
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CI	Colliculus inferior
CN	zentraler Nukleus des Colliculus inferior
CREB	Ca^{2+}/cAMP response element binding protein
DAB	Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid
DC	dorsaler Cortex des Colliculus inferior
DF	dorsales Feld
DP	dorsoposteriores Feld
HRP	Meerrettichperoxydase (horseraddish peroxidase)
IEG	immediate early gene
LN	lateraler Nukleus des Colliculus inferior
NMRI	naval medical research institute
SPL	sound pressure level (Schalldruckpegel)
VOT	voice onset time (Stimmeinsatzzeit)

7 Literaturverzeichnis

Adams JC (1979) Ascending connections to the inferior colliculus. J Comp Neurol 183: 519-538

Adams JC (1980) Crossed and descending projections to the inferior colliculus. Neurosci Lett 19: 1-5

Aitkin LM (1986) The auditory brainstem. In: Ottson D (ed) Prog. Sensory Physiol. 7: Springer, Berlin: 128-209

Aitkin LM (1990) The auditory cortex. Structural and functional bases of auditory perception. Chapman and Hall

Aitkin LM, Fryman S, Blake DW, Webster WR (1972) Responses of neurons in the rabbit inferior colliculus. I. Frequency-specificity and topographic arrangement. Brain Res 47: 77-90

Aitkin LM, Kenyon CE, Philpott P (1981) The representation of the auditory and somatorsensory systems in the external nucleus of the cat inferior colliculus. J Comp Neurol 196: 25-40

Alain C, Arnott SR, Hevenor S, Graham S, Grady CL (2001) “What” and “where” in the human auditory system. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 98. 12301-12306

Anderson RA, Snyder RL, Merzenich MM (1980) The topographic organization of corticollicular projections from physiological identified loci in the AI, AII and anterior auditory cortical fields of the cat. J Comp Neurol 191: 479-494

Aronin N, Sagar SM, Sharp FR, Schwartz WJ (1990) Light regulates expression of a Fos-related protein in rat suprachiasmatic nuclei. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 87: 5959-5962

Beniest-Noirot E (1958) Analyse du components dit maternel chez la souris. Monogr franç Psychol No 1

Bernecker C (1983) Zur kommunikativen Bedeutung des “Gerangellautes” nestjunger Hausmäuse (Mus musculus). Diplomarbeit Universität Konstanz

Braitenberg V, Kemali M (1970) Exceptions to bilateral symmetry in the epithalamus of lower vertebrates. J Comp Neurol 138: 137-146

Brand A, Urban A, Grotte B (2000) Duration tuning in the mouse auditory midbrain. J Neurophysiol 84: 1790-1799

Bregman AS, Pinker S (1978) Auditory streaming and the building of timbre. Canad J Psychol 32(1): 19-31

Brosch M, Schulz A, Scheich H (1999) Processing of sound sequences in macaque monkey auditory cortex: response enhancement. J Neurophysiol 82: 1542-1559

Calford MB, Rajan R, Irvine DR (1993) Rapid changes in the frequency tuning of neurons in cat auditory cortex resulting from pure-tone induced temporary threshold shift. Neurosci 55, 953-964

Calhoun BM, Schreiner CE (1993) Spatial frequency filters in cat auditory cortex. Soc Neurosci Abstr 23: 1422

Calhoun BM, Schreiner CE (1998) Spectral envelope coding in cat primari auditory cortex: linear and non-linear effects of stimulus characteristics. Eur J Neurosci 10(3): 926-940

Campeau S, Hayward MD, Hope BT, Rosen JB, Nestler EJ, Davis M (1991) Induction of the c-fos proto-oncogene in the rat amygdala during unconditioned and conditioned fear. Brain Res 565: 349-352

Casseday JH, Covey E (1992) Frequency tuning properties of neurons in the inferior colliculus of the an FM bat. J Comp Neurol 319: 34-50

Casseday JH, Ehrlich D, Covey E (1994) Neural tuning for sound duration: role of inhibitory mechanisms in the inferior colliculus. Science 264: 847-850

Caviness VS (1975) Architectonic map of neocortex of the normal mouse. J Comp Neurol 164: 247-264

Chen X, Herbert J (1995) Regional changes in c-fos expression in the basal forebrain and brainstem during adaptation to repeated stress: correlations with cardiovascular, hypothermic and endocrine responses. Neurosci 64: 675-685

Chi JG, Dooling EC, Gilles FH (1977) Gyral development of the human brain. Ann Neurol: 86

Ciocca V, Darwin CJ (1999) The integration of nonsimultaneous frequency components into an single virtual pitch. J Acoust Soc Am 105(4): 2421-2430

Clopton BM, Winfield JA (1973) Tonotopic organization in the inferior colliculus of the rat. Brain Res 56: 355-358

Coleman J, Rainer R, Clerici WJ (1984) Projection patterns of rat auditory cortex. Soc Neurosci Abstr 10: 247

Condon CD, Galazyuk A, White KA, Feng AS (1997) Neurons in the auditory cortex of the little brown bat exhibit selectivity for complex amplitude-modulated signals that mimic echoes from fluttering insects. Aud Neurosci 3: 269-287

Condon CD, Weinberger NM (1991) Habituation produces frequency-specific plasticity of receptive fields in the auditory cortex. Behav Neurosci 105: 416-430

Covey E, Casseday JH (1999) Timing in the auditory system of the bar. Annu Rev Physiol 61: 457-476

Curran T, Franza BR (1988) Fos and Jun: the AP-1 connection. Cell 55: 395-397

Dannenbring GL, Bregman AS (1978) Streaming vs. fusion of sinusoidal components of complex tones. Percept Psychophys 24(4): 369-376

Darwin CJ (1981) Perceptual grouping of speech components differing in fundamental frequency and onset-time. Q J Exp Psychol 33A: 185-207

Darwin CJ (1984) Perceiving vowels in the presence of another sound: constraints on formant perception. J Acoust Soc Am 76(6): 1636-1647

Darwin CJ, Ciocca V (1992) Grouping in pitch perception: effects of onset asynchrony and ear of presentation of a mistuned component. J Acoust Soc Am 91(6): 3381-3390

Darwin CJ, Hukin RW, Al-Khatib BY (1995) Grouping in pitch perception: Evidence for sequential constrains. J Acoust. Soc. Am. 98: 880-885

Darwin CJ, Sutherland NS (1984) Grouping frequency components of vowels: when is a harmonic not a harmonic? Q J Exp Psychol 36A: 193-208

Dear SP, Fritz J, Haresign T, Ferragamo M, Simmons JA (1993) Tonotopic and functional organization in the auditory cortex of the big brown bat, Eptesicus fuscus. J Neurophysiol 70: 1988-2009

Dooling RJ (1989) Perception of complex, species-specific vocalizations by birds and humans. In: Dooling RJ, Hulse SH (eds) The comparative psychology of audition: perceiving complex sounds. Erlbaum, Hillsdale: 423-444

Doupe AJ (1997) Song- and order-selective neurons in the songbird anterior forebrain and their emergence during vocal development. J Neurosci 17: 1147-1167

Dragunow M, Robertson H (1987) Generalized seizures induce c-fos prontein(s) in mammalian neurons. Neurosci Lett 82: 157-161

Dragunow M, Williams M, Faull RLM (1990) Haloperidol induces Fos and related intrastriatal grafts derived from fetal striatal primordial. Brain Res 530: 309-312

Druga R, Syka J, Rajkowska-Markow G (1988) Localization of cortical neurons projecting to the inferior colliculus in the rat and guinea pig. In: Syka J, Masterton RB (eds) Auditory pathway structure and function. Plenum Press, New York, London: 293-298

Edeline JM, Phan P, Weinberger NM (1993) Rapid development of learning-induced receptive field plasticity in the auditory cortex. Behav Neurosci 107: 539-551

Edeline JM, Weinberger NM (1993) Receptive field plasticity in the auditory cortex during frequency discrimination training: selective retuning independent of task difficulty. Behav Neurosci 107: 82-103

Egorova M, Ehret G, Vartanian I, Esser KH (2001) Frequency response areas of neurons in the mouse inferior colliculus. I. Threshold and tuning characteristics. Exp Brain Res 140: 145-161

Ehret G (1975) Schallsignale der Hausmaus (Mus musculus). Behaviour 52: 38-56

Ehret G (1987) Left hemisphere advantage in the mouse brain for ultrasound recognition in a communicative context. Nature 325: 249-251

Ehret G (1989) Hearing in the mouse. In: Dooling RJ, Hulse SH (eds) The comparative psychology of audition. Perceiving complex sounds. Erlbaum, Hillsdale: 3-32

Ehret G (1992) Categorical perception of mouse-pup ultrasounds in the temporal domain. Anim Behav 43: 409-416

Ehret G (1997) The auditory midbrain: A “shunting yard” of acoustical information processing. In: Ehret G, Romand R (eds.) The central auditory system. Oxford University Press, New York, 259-316

Ehret G, Bernecker C (1986) Low-frequency communication by mouse pups (Mus musculus): wriggling calls release maternal behaviour. Anim Behav 34: 821-830

Ehret G, Fischer R (1991) Neuronal activity in the auditory system visualized by c-fos gene expression. Brain Res 567: 350-354

Ehret G, Haack B (1981) Categorical perception of mouse pup ultrasound by lactating females. Naturwissenschaften 68: 208-209

Ehret G, Haack B (1982) Ultrasound recognition in house mice: Key-stimulus configuration and recognition mechanism. J Comp Physiol 148: 245-251

Ehret G, Haack B (1984) Motivation and arousal influence sound-induced maternal pup-retrieving behavior in lactating house mice. Z. Tierspychol 65: 25-39

Ehret G, Koch M, Haack B, Markl H (1987) Sex and parental experience determine the onset of an instinctive behaviour in mice. Naturwissenschaften 74: 47

Ehret G, Koch M (1989) Ultrasound induced parental behaviour in house mice is controlled by female sex hormones and parental experience. Ethology 80: 81-93

Ehret G, Moffat AJM (1985) Inferior colliculus of the house mouse. II. Single unit responses to tones, noise and tone-noise combinations as a function of sound intensity. J Comp Physiol A 156: 619-635

Ehret G, Riecke S (2002) Mice and humans perceive multiharmonic communication sounds in the same way. Proc Natl Acad Sci USA 99: 479-482

Ehrlich D, Casseday JH, Covey E (1997) Neural tuning to sound duration in the inferior colliculus of the big brown bat, Eptesicus fuscus. J Neurophysiol 77: 2360-2372

Engele J, Schilling K (1996) Growth factor-induced c-fos expression defined distinct subsets of midbrain dopaminergic neurons. Neurosci 73: 397-406

Esser KH, Condon CJ, Suga N, Kanwal JS (1997) Syntax processing by auditory cortical neurons in the FM-FM area of the mustached bat Pteronotus parnellii. Proc Natl Acad Sci USA 94: 14019-14024

Esser KH, Eiermann A (1999) Tonotopic organization and parcellation of auditory cortex in the FM-bat Carollia perspicillata. Eur J Neurosci 11: 1-14

Fay RR (1998) Auditory stream segregation in goldfish (Carassius auratus). Hear Res120: 69-76

Fay RR (2000) Spectral contrasts underlying auditory stream segregation in goldfish (Carassius auratus). J Assoc Res Otolaryngol 1: 120-128

Faye-Lund H (1985) The neocortical projection to the inferior colliculus in the albino rat. Anat Embryol 173: 53-70

Feng AS, Hall JC, Gooler DM (1990) Neural basis of sound pattern recognition in anurans. Prog Neurobiol 34: 313-329

Fichtel I (1994) c-Fos-immuncytochemische Analyse neuronaler Aktivität am elektrophysiologisch charakterisierten auditorischen Cortex der Hausmaus (Mus musculus domesticus). Diplomarbeit Universität Ulm

Fichtel I (1998) Elektrisch induzierte c-fos Expression in Gehirnschnittpräparaten des Colliculus inferior der Maus. Dissertation Universität Ulm

Fichtel I, Ehret G (1999) Perception and recognition discriminated in the mouse auditory cortex by c-Fos labeling. NeuroReport 10, 2341-2345

Fitzpatrick DC, Kanwal JS, Butman JA, Suga N (1993) Combination-sensitive neurons in the primary auditory cortex of the mustached bat. J Neurosci 13: 931-940

Fleschhutz DB (1998) Dopaminerger Einfluss auf die Ultraschall-Repräsentation im auditorischen Cortex der Hausmaus – eine c-Fos immuncytochemische Studie. Diplomarbeit Universität Ulm

Friauf E (1992) Tonotopic order in the adult and developing auditory system of the rat as shown by c-fos immuncytochemistry. J Neurosci 4: 789-812

Friauf E (1995) c-fos immunocytochemical evidence for acoustic pathway mapping in rats. Behav Brain Res 66: 217-224

Frisina RD, O'Neill WE, Zettel ML (1989) Functional organization of mustached bat inferior colliculus: II. Connections of the FM2 region. J Comp Neurol 284: 85-107

Fuzessery ZM, Feng AS (1982) Frequency selectivity in the anuran auditory midbrain: single unit responses to single and multiple tones. J Comp Physiol [A] 146: 471-484

Fuzessery ZM, Feng AS (1983) Mating call selectivity in the thalamus and midbrain of the leopard frog (Rana p. pipiens): single and multiunit analysis. J Comp Physiol [A] 150: 333-344

Gabrieli JD, Poldrack RA, Desmond JE (1998) The role of left prefrontal cortex in language and memory. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 95: 906-913

Galaburda AM, LeMay M, Kemper TL, Geschwind N (1978) Right-left asymmetries in the brain. Science 199: 852-856

Galazyuk AV, Feng AS (1997) Encoding of sound duration by neurons in the auditory cortex of the little brown bat, Myotis lucifugus. J Comp Physiol A 180: 301-311

Gao E, Suga N (1998) Experience-dependent corticofugal adjustment of midbrain frequency map in bat auditory system. Proc Natl Acad Sci USA 95: 12663-12670

Geschwind N, Levitsky W (1968) Human brain: left-right asymmetries in temporal speech region. Science 161: 186-187

Gibbs RB, Martynowski C (1997) Nerve growth factor induces Fos-like immunoreactivity within identified cholinergic neurons in the adult rat basal forebrain. Brain Res 753: 141-151

Gooler DM, Feng AS (1992) Temporal coding in the frog auditory midbrain: the influence of duration and rise-fall time on the processing of complex amplitude-modulated stimuli. J Neurophysiol 67: 1-22

Greenberg ME, Ziff EB (1984) Stimulation of 3T3 cells induces transcription of the c-fos proto-oncogene. Nature 311: 433-438

Haack B, Markl H, Ehret G (1983) Sound communications between parents and offspring. In: Willot FJ (ed) The auditory psychobiology of the mouse. CC Thomas, Springfield: 57-97

Hafez ESE (1970) Reproduction and feeding techniques for laboratory animals. Lea&Ferbiger, Philadelphia

Hofstetter KM, Ehret G (1992) The auditory cortex of the mouse: connections of the ultrasonic field. J Comp Neurol 323: 370-386

He JF, HashikawaT, Ojima H, Kinouchi Y (1997) Temporal integration and duration tuning in the dorsal zone of cat auditory cortex. J Neurosci 17: 2615-2625

Heil P, Rajan R, Irvine DRF (1992) Sensitivity of neurons in cat primary auditory cortex to tones and frequency-modulated stimuli. I. Effects of variation of stimulus parameters. Hear Res 63: 108-134

Herrera M, Correa J, Del Campo FS, Ruiz A (1988) Stellate cells and their axonal patterns in the central nucleus of the inferior colliculus of the cat (Felis domesticus). J Hirnforsch 4: 393-402

Horikawa J, Ito S, Hosokawa Y, Homma T, Murata K (1988) Tonotopic representation in the rat auditory cortex. Proc Jpn Acad 64 B: 260-263

Huggins AWF (1972) Just noticeable differences for segment duration in natural speech. J Acoust Soc Am 51(4): 1270-1278

Hulse SH, MacDougall-Shackleton SA, Wisniewski AB (1997) Auditory scene analysis by songbirds: stream segregation of birdsong by european starlings (Sturnus vulgaris). J Comp Psychol 111: 3-13

Hunt SP, Williams S, Pini A, Errington M, Bliss T, Evan G (1989) Activity-dependent expression of proto-oncogene c-fos within neurons of the central nervous system. In: Ottson D, Rostène (eds) Visualization of Brain Functions. Macmillan Press, London: 319-329

Imig TJ, Reale RA (1980) Patterns to cortico-cortical connections related to tonotopic maps in cat auditory cortex. J Comp Neurol 192: 293-332

Imig TJ, Ruggero MA, Kitzes LM, Bruffe J (1977) Organization of the auditory cortex in the owl monkey (Aotus trivirgatus). J Comp Neurol 171: 111-128

Irvine DFR, Huebner (1979) Acoustic response characteristics of neurons in nonspecific areas of cat cerebral cortex. J Neurophysiol 42: 107-122

Jen PH, Chen QC, Sun XD (1998) Corticofugal regulation of auditory sensitivity in the bat inferior colliculus. J Comp Physiol [A] 183(6): 683-697

Jen PHS, Feng RB (1999) Bicuculine applications affects discharge pattern and pulse-duration tuning characteristics of bat inferior colliculus neurons. J Comp Physiol [A] 184: 185-194

Jen PH, Zhou XM (1999) Temporally patterned pulse trains affect duration tuning characteristics of bat inferior collicular neurons. J Comp Physiol [A] 185: 471-478

Jennes L, Jennes ME, Purvis C, Nees M (1992) C-fos expression in noradrenergic A2 neurons of the rat during the estrous cycle and after steroid hormone treatments. Brain Res 586: 171-175

Johnsrude IS, Zatorre RJ, Milner BA, Evans AC (1997) Left-hemisphere specialization for the processing of acoustic transients. Neuroreport 8: 1761-1765

Kitzes LM (1984) Some physiological consequences of neonatal cochlear destruction in the inferior colliculus of the gerbil, Meriones unguiculatus. Brain Res 306: 171-178

Kohmura E, Yuguchi T, Yamada K, Sakaguchi T, Wanaka A, Hayakawa T (1995) Expression of c-fos mRNA after cortical ablation in the rat brain is modulated by basic fibroplast growth factor (bFGF) and the NMDA receptor is involved in c-fos expression. Mol Brain Res 28: 117-121

Kuhl PK (1981) Discrimination of speech by nonhuman animals: basic auditory sensitivities conducive to the perception of speech-sound categories. J Acoust Soc Am 70: 340-349

Kuhl PK, Miller JD (1975) Speech perception by the chinchilla: voiced-voiceless distinction in alveolar plosive consonants. Science 190: 69-72

Kuhl PK, Miller JD (1978) Speech perception by the chinchilla: identification functions for synthetic VOT stimuli. J Acoust Soc Am 63: 905-917

Langner G, Bonke D, Scheich H (1981) Neuronal discrimination of natural and synthetic vowels in field L of trained mynah birds. Exp Brain Res 43: 11-24

Leblond CP (1940) Nervous and hormonal factors in the maternal behavior of the mouse. J genet Psychol 57: 327-344

Leblond CP, Nelson WO (1937) Maternal behavior in hypophysectomised male and female mice. Am J Physiol 120: 167-172

Leroy SA, Wenstrup JJ (2000) Spectral integration in the inferior colliculus of the mustached bat. J Neurosci 20 (22): 8533-8541

Liberman AM, Harris KS, Hoffmann H, Griffith BC (1957) The discrimination of speech sounds within an across phoneme boundaries. J Exp Psychol 54, 358-368

Liberman AM, Paris KS, Kinney JA, Lane H (1961) The discrimination of relative onset-time of components of certain speech and nonspeech patterns. J Exp Psychol 61(5): 379-388

MacDougall-Shackleton SA, Hulse SH, Gentner TQ, White W (1998) Auditory scene analysis by European starlings (Sturnus vulgaris): Perceptual segregation of tone sequences. J Acoust Soc Am 103(6): 3581-3587

Maragoliash D, Fortune ES (1992) Temporal and harmonic combination-sensitive neurons in the zebra finch's HVc. J Neurosci 12: 4309-4326

Markl H, Ehret G (1973) Die Hörschwelle der Maus (Mus musculus). Eine kritische Wertung der Methoden zur Bestimmung der Hörschwelle eines Säugetiers. Z. Tierpsychol 33: 274-286

Meininger V, Pol D, Derer P (1986) The inferior colliculus of the mouse. A nissel and golgi study. Neurosci 17: 1159-1179

Mendelson J, Schreiner C, Sutter M, Grasse K (1993) Functional topography of cat primary auditory cortex: response to frequency-modulated sweeps. Exp Brain Res 94: 65-87

Merzenich MM, Brugge JF (1973) Representation of the cochlear partition on the superior temporal plane of the macaque monkey. Brain Res 50: 275-294

Merzenich MM, Knight PL, Roth GL (1975) Representation of the cochlea within the primary auditory cortex of the cat. J Neurophysiol 38: 231-249

Mitani A, Shimokouchi M, Itoh K, Nomura S, Kudo M, Mizuno N (1985) Morphology and laminar organization of electrophysiologically identified neurons in the primary auditory cortex in the cat. J Comp Neurol 235: 430-447

Mittmann DH, Wenstrup JJ (1995) Combination-sensitive neurons in the inferior colliculus. Hear Res 90: 185-191

Morel A, Garraghty PE, Kaas JH (1993) Tonotopic organization, architectonic fields and connections of auditory cortex in macaque monkeys. J Comp Neurol 335: 437-459

Morest DK, Oliver DL (1984) The neuronal architecture of the inferior colliculus in the cat: Defining the functional anatomy of the auditory midbrain. J Comp Neurol 222: 209-236

Müller R, Bravo R, Burckhardt J (1984) Induction of c-fos gene and protein by growth factors precedes activation of c-myc. Nature 312: 716-720

Niimi K, Matsuoka H (1979) Thalamocortical organization of the auditory system in the cat studied by retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. Adv Anat Embryol Cell Biol 57: 1-56

Noirot E (1964a) Changes in responsiveness to young in the adult mouse. II. The effect of external stimuli. J Comp Physiol Psychol 57: 97-99

Noirot E (1964b) Changes in responsiveness to young in the adult mouse. IV. The effect of an initial contact with a strong stimulus. Anim Behav 12: 442-445

Noirot E (1965) Changes in responsiveness to young in the adult mouse. III. The effect of immediately preceding performance. Behavior 24: 318-325

Noirot E (1972) Ultrasound and maternal behavior in small rodents. Dev Psychobiol 5: 371-387

Ohlemiller KK, Kanwal JS, Suga N (1996) Facilitative responses to species-specific calls in cortical FM-FM neurons of the mustached bat. NeuroReport 7: 1749-1755

Oliver DL, Huerta MF (1992) Inferior and superior colliculi. In: Webster DB, Popper AN, Fay RR (eds) The mammalian auditory pathway: neuroanatomy. Springer, New York: 168-221

Oliver DL, Morest DK (1984) The central nucleus of the inferior colliculus in the car. J Comp Neurol 222(2): 237-264

Olsen JF (1992) High-order auditory filters. Curr Opin Neurobiol 2: 489-497

O'Neill WE, Suga N (1979) Target range-sensitive neurons in the auditory cortex of the mustache bat. Science 203: 69-73

O'Neill WE, Suga N (1982) Encoding of target-range information and its representation in the auditory cortex of the mustached bat. J Neurosci 47: 225-255

Ostwald J (1984) Tonotopical organization and pure tone response characteristics of single units in the auditory cortex of the greater horseshoe bat. J Comp Physiol A 155: 821-834

Paschal WG, Wong D (1994) Frequency organization of delay-sensitive neurons in the auditory cortex of the FM bat, Myotis lucifugus. J Neurophysiol 72: 366-379

Patel AD, Peretz I, Tramo M, Labreque R (1998) Processing prosodic and musical patterns: a neuropsychological investigation. Brain Lang 61: 123-144

Pedemonte M, Torterolo P, Velluti Ra (1993) In vivo intracellular characteristics of inferior colliculus neurons in guinea pigs. Brain Res 759: 24-31

Petersen MR, Beecher MD, Zoloth SR, Moody DB, Stebbins WC (1978) Neural lateralization of species-specific vocalizations by Japanese macaques (Macaca fuscata). Science 202, 324-327

Petersen MR, Beecher MD, Zoloth SR, Green S, Marler PR, Moody DB, Stebbins WC (1984) Neural lateralization of vocalizations by Japanese macaques: communicative significance is more important than acoustic structure. Behav Neurosci 98: 779-790

Pisoni DB (1977) Identification and discrimination of the relative onset time of two component tones: implications for voicing prception in stops. J Acoust Soc Am 61(5): 1352-1361

Pisoni DB, Lazarus JH (1974) Categorical and non-categorical modes of speech perception along a voicing continuum. J Acoust Soc Am 55: 328-333

Portfors CV, Wenstrup JJ (1999) Delay-tuned neurons in the inferior colliculus of the mustached bat: implications for analysis of target distance. J Neurophysiol 82: 1326-1338

Pugh KR, Offywitz BA, Shaywitz SE, Fulbright RK, Byrd D, Skudlarski P, Shankweiler DP, Katz L, Constable RT, Fletcher J, Lacadie C, Marchione K, Gore JC (1996) Auditory selective attention: an fMRI investigation. Neuroimage 4: 159-173

Rauschecker JP (1998) Cortical processing of complex sounds. Curr Opin Neurobiol 8: 516-521

Rauschecker JP, Tian B, Hauser M (1995) Processing of complex sounds in the macaque nonprimary auditory cortex. Science 268: 111-114

Rauschecker JP, Tian B, Pons T, Mishkin M (1997) Serial and parallel processing in rhesus monkey auditory cortex. J Comp Neurol 382: 89-103

Reale RA, Imig TJ (1980) Tonotopic organization in auditory cortex of the cat. J Comp Neurol 192: 265-291

Recanzone GH, Schreiner CE, Merzenich MM (1993) Plasticity in the frequency representation of primary auditory cortex following discrimination training in adult owl monkeys. J Neurosci 13: 87-103

Rees AJ, Møller AR (1983) Responses of neurons in the inferior colliculus of the rat to AM and FM tones. Hear Res 10: 301-330

Reimer K (1993) Simultaneous demonstration of fos-like immunoreactivity and 2-desoxy-glucose uptake in the inferior colliculus of the mouse. Brain Rex 616: 339-343

Richards MPM (1966a) Maternal behaviour in virgin female golden hamsters (Mesocricetus auratus Waterhouse): The role of the age of the test pup. Anim. Behav. 14: 303-309

Richards MPM (1966b) Maternal behaviour in the golden hamster: responsiveness to young in virgin, pregnant, and lactating females, Anim. Behav. 14: 310-313

Riddle O, Lahr EL, Bates RW (1942) The role of hormones in the initiation of maternal behavior in rats. Am J Physiol 137: 299-317

Riecke S (1987) An welchen Frequenzparametern erkennt ein Mäuseweibchen (Mus musculus) die Gerangellaute seiner Jungen? Staatsexamensarbeit Universität Konstanz

Romanski LM, Tian B, Fritz J, Mishkin M, Goldman-Rakic PS, Rauschecker JP (1999) Dual streams of auditory afferents target multiple domains in the primate prefrontal cortex. Nat Neurosci 2: 1131-1136

Rose JE, Greenwood DD, Goldberg JM, Hind JE (1963) Some discharge characteristics of single neurons in the inferior colliculus of the cat: I. Tonotopical organization, relation of spike-counts to tone intensity, and firing patterns of single elements. J Neurophysiol 26: 294-320

Rouiller EM (1997) Functional organization of the auditory pathways. In: Ehret G, Romand R (eds) The central auditory system. Oxford University Press, New York: 3-96

Rouiller EM, Simm GM, Villa AE, de Ribaupierre Y, de Ribaupierre F. (1991) Auditory corticocortical interconnections in the cat: evidence for parallel and hierarchical arrangement of the auditory cortical areas. Exp Brain Res 86:483-505

Rouiller EM, Wan XST, Moret V, Liang F (1992) Mapping of c-fos expression elicited by pure tone stimulation in the auditory pathway of the rat, with emphasis on the cochlear nucleus. Neurosci Lett 144: 19-24

Rowell TE (1961) Maternal behaviour in non-maternal golden hamsters. Anim Behav 9: 11-15

Sachs L (1999) Angewandte Statistik. Springer-Verlag Berlin Heidelberg

Sagar SM, Sharp FR, Curran T (1988) Expression of c-fos protein in brain: metabolic mapping at the cellular level. Science 240: 1328-1331

Saldana E, Feliciano M, Mugnaini E (1996) Distribution of descending projections from primary auditory neocortex to inferior colliculus mimics topography of intracollicular projections. J Comp Neurol 371: 15-40

Sally SL, Kelly JB (1988) Organization of auditory cortex in the albino rat: sound frequency. J Neurophysiol 59: 1627-1638

Sato K, Houtani T, Ueyama T, Ikeda M, Yamashita T, Kumazawa T, Sugimoto T (1992) Mapping of the cochlear nucleus subregions in the rat with neuronal Fos protein induced by acoustic stimulation with low tones. Neurosci Lett 142: 48-52

Scheich H, Langner G, Bonke D (1979) J Comp Physiol A 132: 257-276

Scheich H, Zuschratter W (1995) Mapping of stimulus features and meaning in gerbil auditory cortex with 2-desoxyglucose and c-Fos antibodies. Behav Brain Res 66: 195-205

Schreinder CE (1991) Functional topographics in the primary auditory cortex of the cat. Acta Otolaryngol Suppl 491: 7-15

Schuller G, O'Neill WE, Radtke-Schuller S (1991) Facilitation and delay sensitivity of auditory cortex neurons in CF-FM bats, Rhinolophus rouxi and Pteronotus p. parnellii. Eur J Neurosci 3: 1165-1181

Schupp B (1996) c-Fos-immuncytochemische Untersuchungen zur Gerangellautverarbeitung im elektrophysiologisch identifizierten auditorischen Cortex der Maus (Mus musculus domesticus). Diplomarbeit Universität Ulm

Scudder CL, Karczmar AG, Lockett L (1967) Behavioural developmental studies on four genera and several strains of mice. Anim Behav 15: 353-363

Shamma SA, Versnel H, Kowalski NA (1993) Organization of primary auditory cortex evident in responses to rippled complex sounds stimuli. Soc Neurosci Abstr 23: 1422

Sharp FR, Gonzales MF, Sharp JW, Sagar SM (1989) c-fos expression and [^{14}C]2-desoxyclucose uptake in the caudal cerebellum of the rat during motor/sensory stimulation. J Comp Neurol 284: 621-636

Sheng M, Greenberg ME (1990) The regulation and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system. Neuron 4: 477-485

Sheng M, Fields RD, Nelson PG (1993) Specific regulation of immediate early genes by patterned neuronal activity. J Neurosci Res 35: 459-467

Sheng M, McFadden G, Greenberg ME (1990) Membrane depolarisation and calcium induce c-fos transcription via phosphorylation of transcription factor CREB. Neuron 4: 571-582

Smith MA, Banerjee S, Gold PW, Glowa J (1992) Induction of c-fos mRNA in rat brain by conditioned and unconditioned stressors. Brain Res 578: 135-141

Snowdon CT, Pola YV (1978) Interspecific and intraspecific responses to synthesized pygmy marmoset vocalizations. Anim Bahav26: 192-206

Steinschneider M, Reser D, Schroeder CE, Arezzo JC (1995) Tonotopic organization of responses reflecting stop consonant place of articulation in primary auditory cortex (A1) of the monkey. Brain Res 674: 147-152

Stiebler I (1987a) Frequenzrepräsentation und Schallempfindlichkeit im Colliculus inferior und auditorischen Cortex der Hausmaus (Mus musculus). Dissertation Universität Konstanz

Stiebler I (1987b) A distinct ultrasound-processing area in the auditory cortex of the mouse. Naturwissenschaften 74: 96-97

Stiebler I, Ehret G (1985) Inferior colliculus of the house mouse. I. A Quantitative Study of Tonotopic organization, frequency representation and tone-threshold distribution. J Comp Neurol 238: 65-76

Stiebler I, Neulist R, Fichtel I, Ehret G (1997) The auditory cortex of the house mouse: left-right differences, tonotopic organization and quantitative analysis of frequency representation. J Comp Physiol 181: 559-571

Suga N (1988) Auditory neuroethology and speech processing: complex sound processing by combination-sensitive neurons. In: Edelman GM, Gall WE, Cowan WM (eds) Functions of the auditory system. Wiley, New York: 679-720

Suga N (1990) Cortical computational maps for auditory imaging. Neural Networks 3: 3-21

Suga N, Jen PHS (1976) Disproportionate Tonotopic representation for processing CF-FM sonar signals in the mustache bat auditory cortex. Science 194: 542-544

Suga N, O'Neill WE, Manabe T (1978) Cortical neurons sensitive to combinations of information-bearing elements of biosonar signals in the mustached bat. Science 200: 778-781

Suga N, O'Neill WE, Kujirai K, Manabe T (1983) Specificity of combination-sensitive neurons for processing of complex biosonar signals in auditory cortex of the mustached bat. J Neurophysiol 49: 1573-1626

Summerfield Q, Haggard M (1977) On the dissociation of spectral and temporal cues to the voicing distinction in initial stop consonants. J Acoust Soc Am 62(2): 435-448

Sutter ML, Schreiner CE (1991) Physiology and topography of neurons with multipeaked tuning curves in cat primary auditory cortex. J Neurophysiol 65: 1207-1226

Sutter ML, Schreiner CE, McLean M, O'Connor KN, Loftus WC (1999) Organization of inhibitory frequency receptive fields in cat primary auditory cortex. J Neurophysiol 82: 2358-2371

Teszner D, Tzavaras A, Gruner J, Hécaen H (1972) Right-left asymmetry of the planum temporale; apropos of the anatomical study of 100 brains. Rev Neurol 126: 444

Thompson RF, Johnson MH, Hoopes JJ (1963) Organization of auditory, somatic sensory and visual projections to association fields of cerebral cortex in the cat. J Neurophysiol 26: 343-364

Vuorenkoski V (1975) Maternal recognition of infant sounds. Symp Zool Soc Lond 37: 331-338

Wada JA, Clarke R, Hamm A (1975) Cerebral hemispheric asymmetry in humans. Arch Neurol 32: 239-246

Wang X, Merzenich MM, Beitel R, Schreiner CE (1995) Representation of a species-specific vocalization in the primary auditory cortex of the common marmoset: temporal and spectral characteristics. J Neurophysiol 74: 2685-2706

Waters RS, Wilson A (1976) Speech perception by rhesus monkeys: the voicing distinction in synthesized labial and velar stop consonants. Percept Psychophys 19: 285-289

Webster KG, Irvine DRF, Thompson RF (1974) Acoustic tuning of single cells in middle suprasylvian cortex of cat. Brain Res 76: 493-502

Wegener S, Schmidt WJ, Ehret G (1988) Haloperidol- and apomorphine-induced changes in pup searching behaviour of house mice. Psychopharmacol 95: 271-275

Weinberger NM (1993) Learning-induced changes of auditory receptive fields. Curr Opin Neurobiol 3: 570-577

Weinberger NM, Javid R, Lepan B (1993) Long-term retention of learning-induced receptive-field plasticity in the auditory cortex. Proc Natl Acad Sci USA 90: 2394-2398

Wenstrup JJ; Mitmann DH, Grose CD (1999) Inputs to combination-sensitive neurons in the inferior colliculus. J Comp Neurol 409: 509-528

Willard FH, Ryugo DK (1983) Anatomy of the central auditory system. In: Willot JF (ed) The auditory psychobiology of the mouse. Thomas, Springfield: 201-304

Willot JF, Demuth RM (1986) The influence of stimulus repetition on the acoustic startle response and on responses of inferior colliculus neurons of mice. Brain Res 386: 105-112

Winer JA (1992) The functional architecture of the medial geniculate body and the primary auditory cortex. In: Webster DB, Popper AN, Fay RR (eds): The mammalian auditory pathway: neuroanatomy. Springer, New York: 222-409

Winer JA, Larue DT, Pollak GD (1995) GABA and glycine in the central auditory system of the mustache bat: structural substrates for inhibitory neuronal organization. J Comp Neurol 355: 317-353

Wirtschafter D, Asin KE (1995) Dopamine antagonists induce fos-like-immunoreactivity in the substantia nigra and entopeduncular nucleus of the rat. Brain Res 670: 205-214

Witelson S, Pallie W (1973) Left hemisphere specialization for language in the newborn. Neuroanatomical evidence of asymmetry. Brain 96: 641-646

Yan J, Ehret G (2001) Corticofugal reorganization of the midbrain Tonotopic map in mice. NeuroReport 12: 3313-3316

Yan J, Suga N (1996) The midbrain creates and the thalamus sharpens echo-delay tuning for the cortical representation of target-distance information in the mustached bat. Hear Res 93: 102-110

Yan W, Suga N (1998) Corticofugal modulation of the midbrain frequency map in the bat auditory system. Nature Neurosci 1: 54-58

Zatorre RJ, Evans AC, Meyer E (1994) Neural mechanisms underlying melodic perception and memory for pitch. J Neurosci 14: 1908-1919

Zhang Y, Suga N (2000) Modulation of responses and frequency tuning of thalamic and collicular neurons by cortical activation in mustached bats. J Neurophysiol 84: 325-333

Zhou X, Jen PHS (2000) Brief and short-term corticofugal modulation of subcortical auditory responses in the big brown bat, Eptesicus fuscus. J Neurophysiol 84: 3083-3087

Zimmer U, Ehret G, Esser KH (1998) Categorical perception of sounds mimicking species-specific communication calls in FM-bat Phyllostomus discolor. In: Elsner N; Wehner R (Hrsg.). Göttingen Neurobiology Report, Vol. II, Thieme Stuttgart: 326

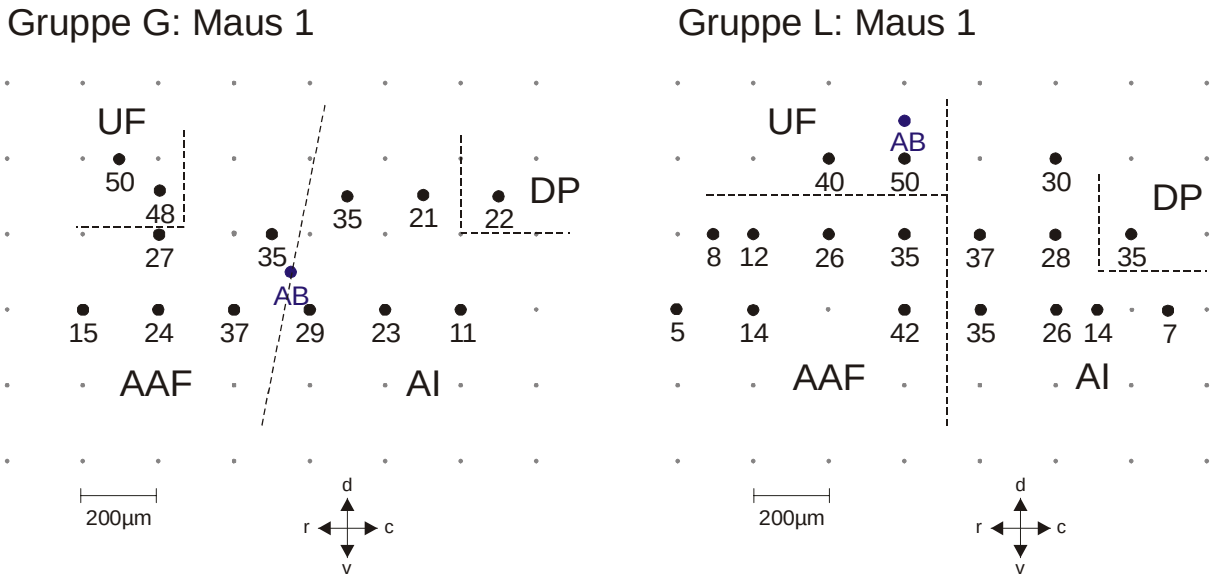
8 Anhang

8.1 Muster eines Datenaufnahmeblattes zu den Verhaltensuntersuchungen

Maus	**Wurf**		**Testtag**	
	Jungen Alter		**Attrappe**	
Reakt. Nach Jungenlaut	Anzahl der Einzellaute pro Rufsequenz			
	1	2-5	6-10	> 10
Lecken				
Lageveränderung				
Nestbau				
Aufmerksamkeit				
Keine Reaktion				
Reaktionen nach Reiz				
Lecken				
Lageveränderung				
Nestbau				
Aufmerksamkeit				
Keine Reaktion				
Spontane Aktionen				
Lecken				
Lageveränderung				
Nestbau				
Aufmerksamkeit				
Unklare Situationen				
Bemerkungen				

8.2 Skizzen der Grobkartierung des AC

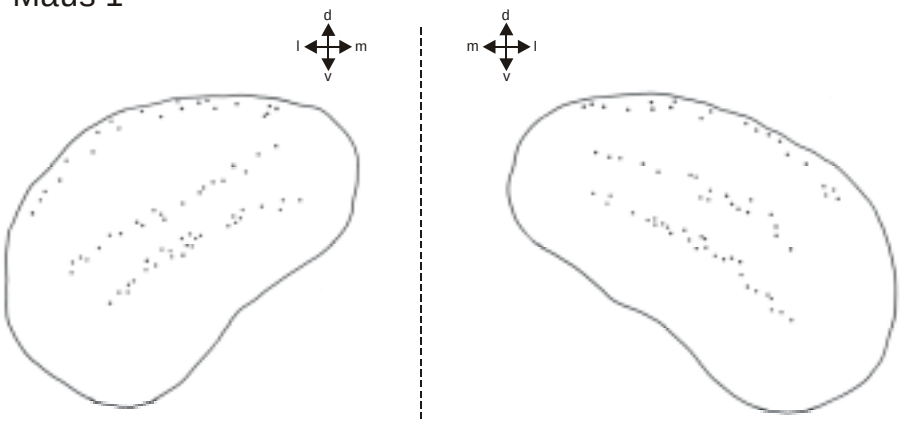
In den folgenden beiden Abbildungen sind zwei Beispiele für die Skizzen der Grobkartierungen des AC einer Maus der Gruppe G und L dargestellt. Die Zahlen geben die charakteristischen Frequenzen in kHz an. AB bezeichnet den Ort der Alcianblaumarkierung. Die Lage der auditorischen Felder und der grobe Verlauf der Feldgrenzen wurde ebenfalls eingezeichnet (AI = primäres auditorisches Feld, AAF = anteriores auditorisches Feld, DP = dorsoposteriores Feld, UF = Ultraschallfeld, c = caudal, d = dorsal, r = rostral, v = ventral).



8.3 Zeichnungen des CI

In folgenden Abbildungen sind Zeichnungen mit den c-Fos Markierungen aus dem rostrocaudalen, mittleren Drittel des CI bei den ausgewerteten Mäusen jeder Versuchsgruppe dargestellt (d = dorsal, l = lateral, m = medial, v = ventral). Da zwischen den Versuchsgruppen keine Unterschiede im Markierungsmuster c-Fos positiver Zellen auftraten, wurden pro Versuchsgruppe jeweils zwei Zeichnungen der linken und rechten Hemisphäre bei verschiedenen Tieren als Beispiele erstellt.

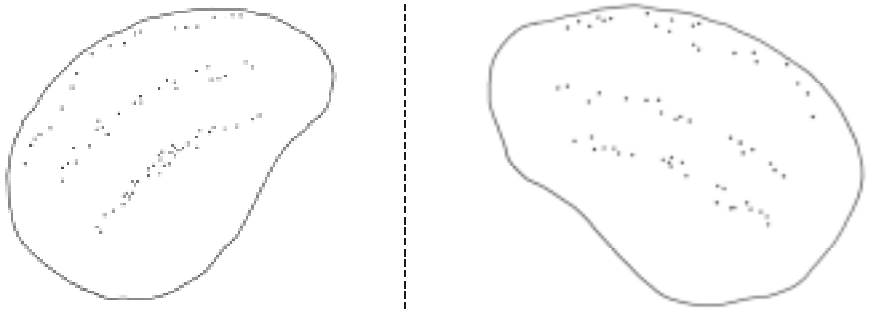
Attrappe A: Maus 1



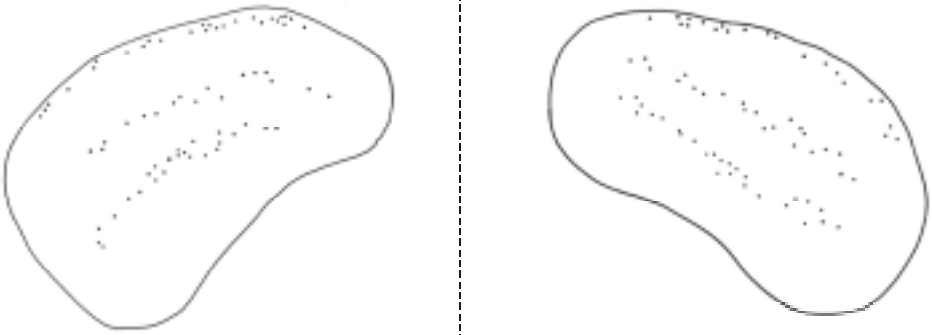
linke Hemisphäre

rechte Hemisphäre

Attrappe A: Maus 2



Attrappe G: Maus 1



Attrappe G: Maus 2





Attrappe L: Maus 1





Attrappe L: Maus 2

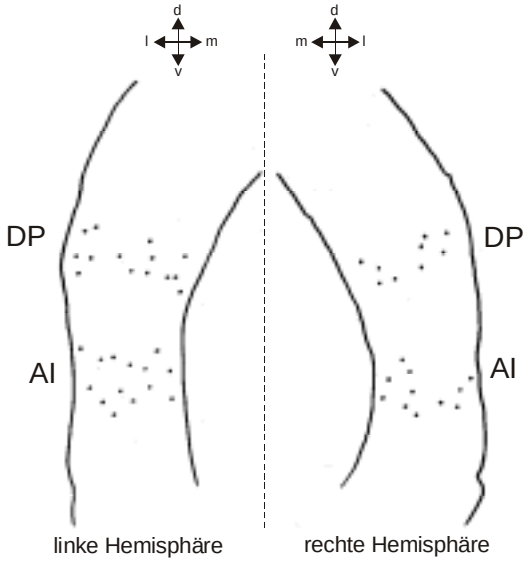


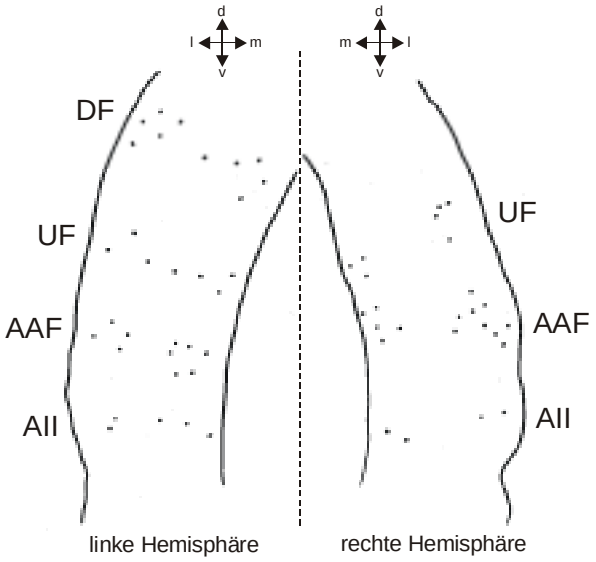


8.4 Zeichnungen des AC

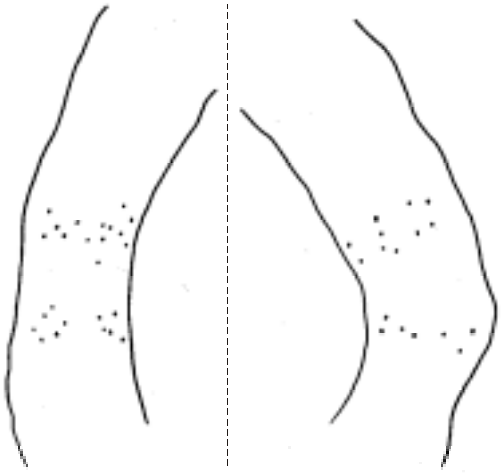
In folgenden Abbildungen sind Zeichnungen mit den c-Fos Markierungen aus dem AC im Bereich der Felder AI (primäres auditorisches Feld), DP (dorsoposteriores Feld) bzw. AII (sekundäres auditorisches Feld), AAF (anteriores auditorisches Feld), UF (Ultraschallfeld) und DF (dorsales Feld) bei den ausgewerteten Mäusen jeder Versuchsgruppe dargestellt (d = dorsal, l = lateral, m = medial, v = ventral). Die Zeichnungen stellen die Verteilung der c-Fos Markierungen im caudalen und rostralen Bereich des AC exemplarisch dar.

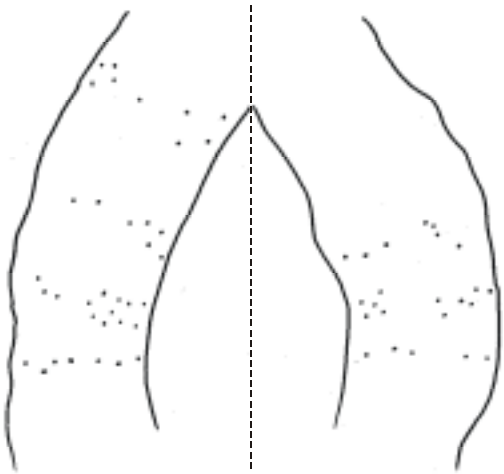
Attrappe A: Maus 2





Attrappe A: Maus 3





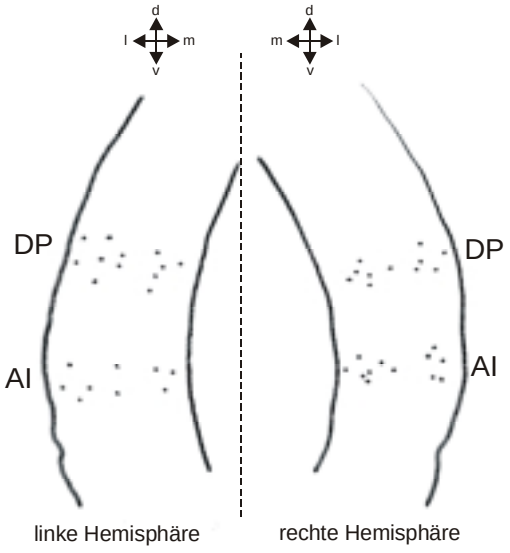
Attrappe A: Maus 4

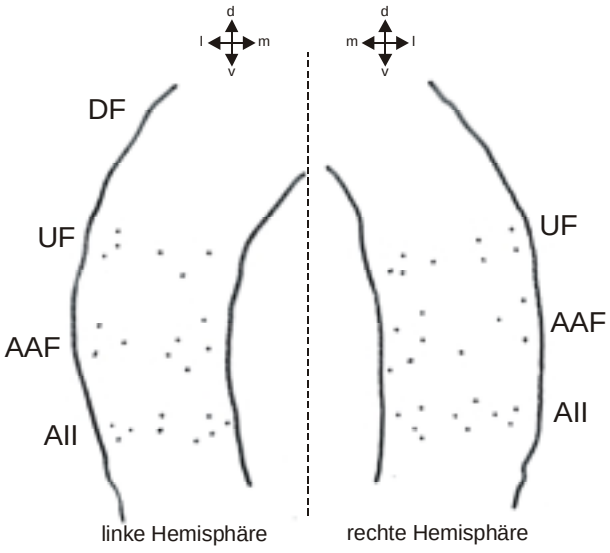


Attrappe A: Maus 5

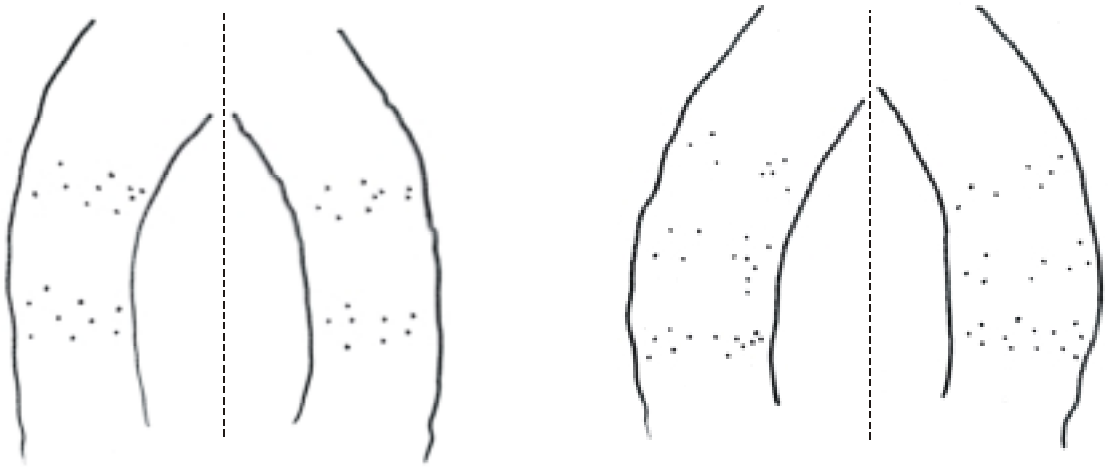


Attrappe G: Maus 1

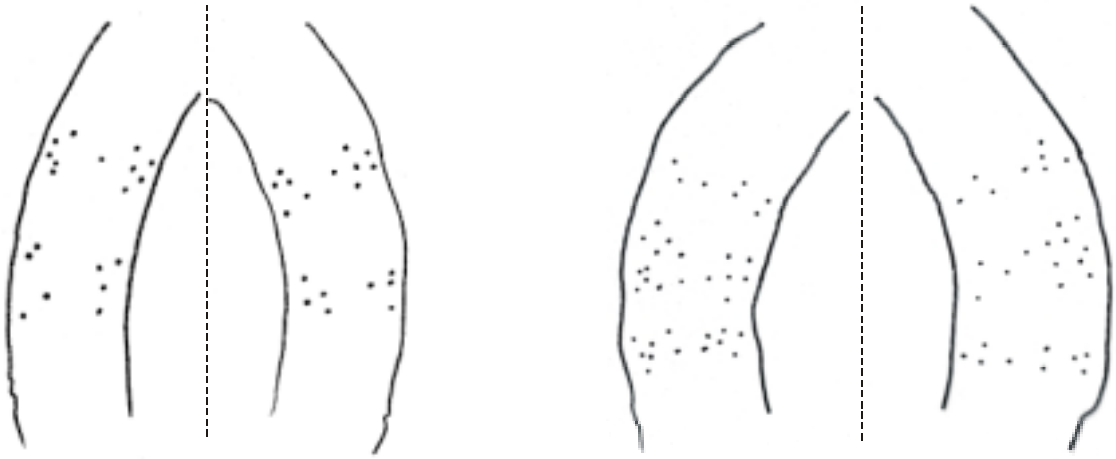




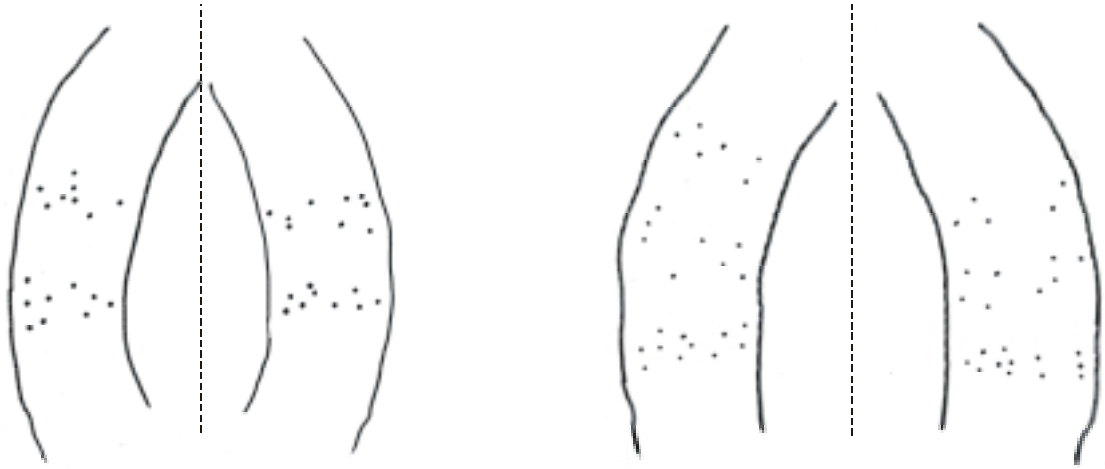
Attrappe G: Maus 2



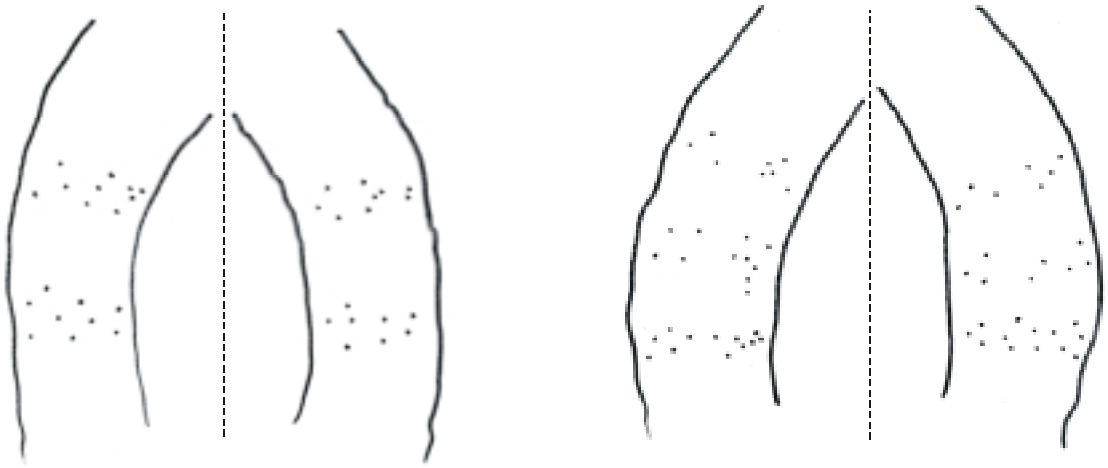
Attrappe G: Maus 3



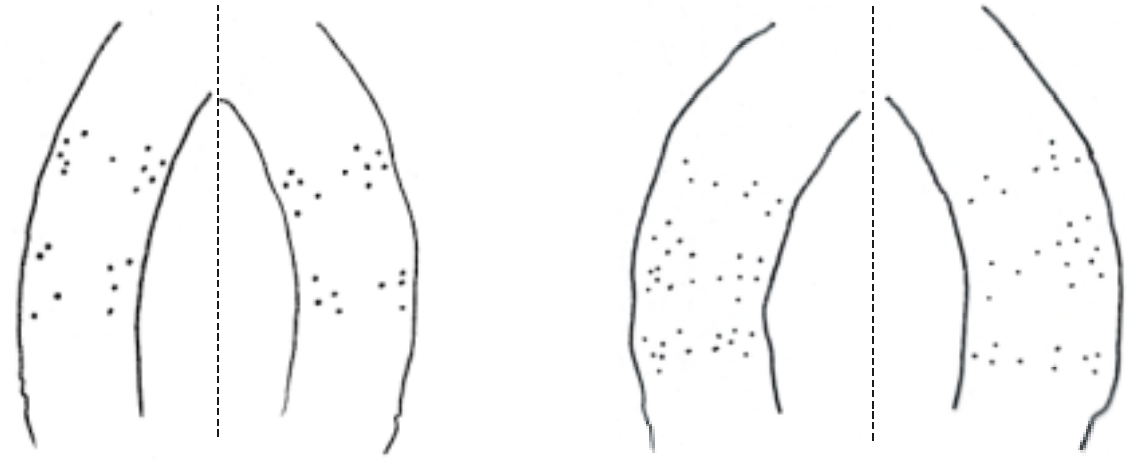
Attrappe G: Maus 4



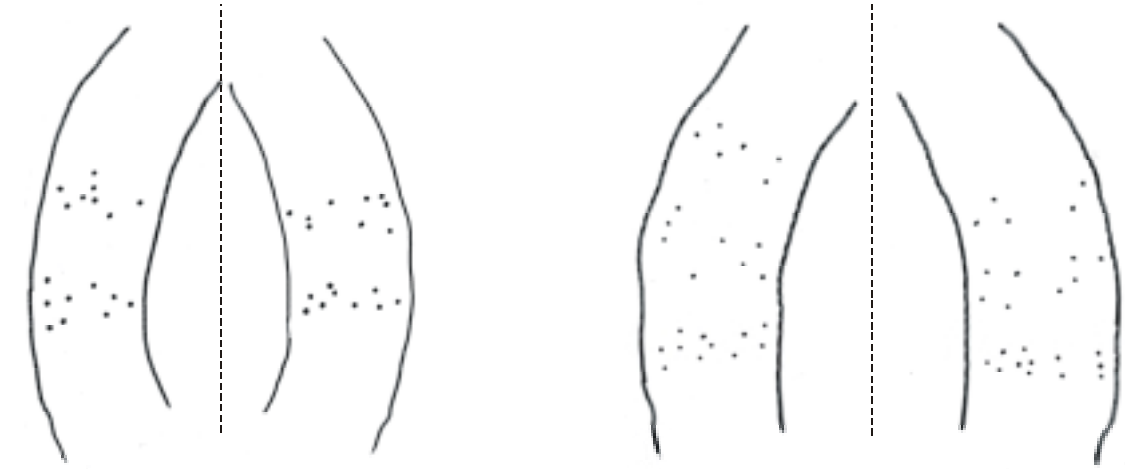
Attrappe G: Maus 2



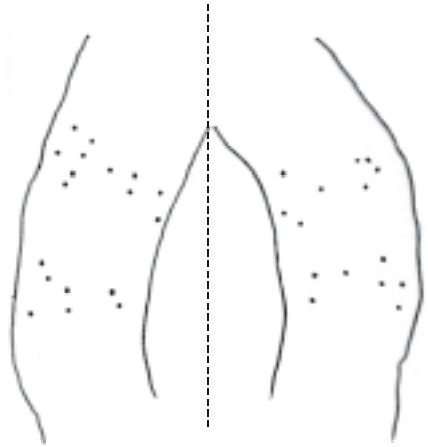
Attrappe G: Maus 3

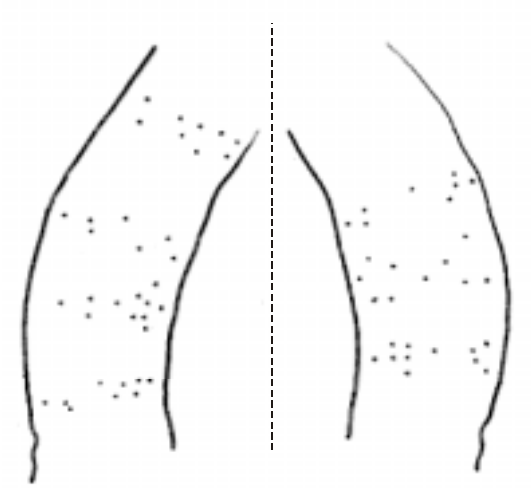


Attrappe G: Maus 4

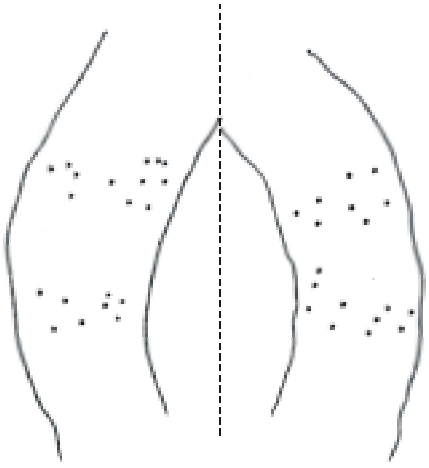


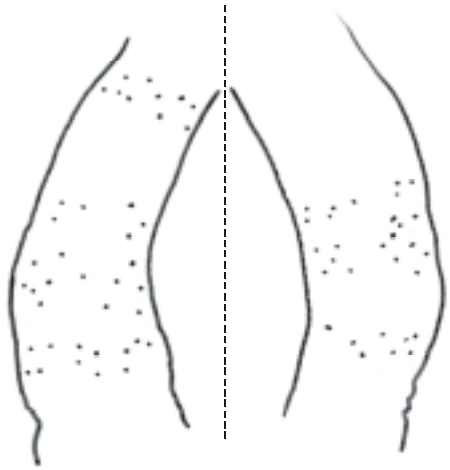
Attrappe L: Maus 3



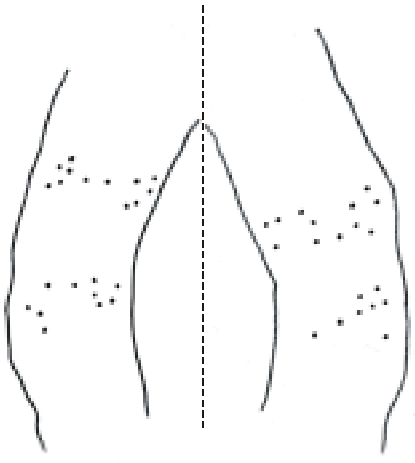


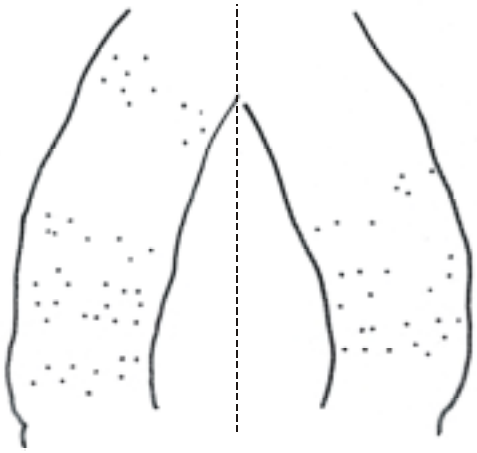
Attrappe L: Maus 4





Attrappe L: Maus 5





Danksagung

Ich bedanke mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Günter Ehret für die Anregung zum Thema meiner Doktorarbeit und das Interesse mit dem er das Entstehen dieser Arbeit stets begleitete. Bedanken möchte ich mich auch bei unserer TA Sabine Schmidt für die guten Ratschläge bei der c-Fos Immunzytochemie.

Ein ganz großes Dankeschön geht an meinen Mann Richard und an meine Mama, die mir stets zur Seite standen.

Lebenslauf

Name:	Diana Beatrix Geißler, geb.: Fleschhutz	
Wohnort:	Ulm / Donau	
Geburtstag:	24. April 1971	
Geburtsort:	Füssen	
Staatsangehörigkeit:	deutsch	
Familienstand:	verheiratet seit 21. Februar 2002	
Ausbildung:	1978-1982	Grundschule Pfronten
	1982-1991	Gymnasium Füssen
		Abschluss: allgemeine Hochschulreife
	1992-1998	Studium der Biologie an der Universität Ulm
Promotion:	seit 1998	an der Universität Ulm