



## Arthropodenseminar BUGS 2007 in der Weidacher Hütte bei Ulm

Veranstaltet durch das Institut für Neurobiologie der Universität Ulm.  
Verantwortliche: Dr. Uwe Rose, Dr. Wolfgang Stein, Prof. Dr. Harald Wolf.

### Dienstag 25.09.2007

15:00-16:00 Uhr: Zimmerverteilung

16:00-17:00 Uhr: Begrüßung und Vorstellungsrunde

17:00-18:30 Uhr: **AG Heinzl (Dr. R. Spiess), Universität Bonn.**

**Andreas Schoofs:** Introducing the larval Dipteran stomatogastric nervous system: What do we know so far?

**Ulrike Siebenaller:** Born to eat: The larval Calliphora (Blow Fly) machinery for feeding.

**Benjamin Usai:** To eat or not to eat: Does sensory input change larval (fictive) feeding behaviour?

18:30-19:30 Uhr: Abendessen

19:30- 20:30 Uhr: **AG Schmitz (Dr. M. Gebhardt), Universität Bonn.**

**Eva Kreiß:** "Biologie und Verhalten pyrophiler Käfer am Beispiel von *Acanthocnemus nigricans*."

**Michael Gebhardt:** "Modellierung der Sensillenantworten von *Acanthocnemus nigricans* beim Überflug von thermisch heterogenen Brandflächen"

Ab 20:30 Uhr: Diskussionsrunde

## Mittwoch 26.09.2007

8:00-9:00 Uhr: Frühstück

9:00-10:30 Uhr: **AG Rose, Universität Ulm.**

**Uwe Rose:** Mechanismen der homöostatische Regulation elektrischer Erregbarkeit: Grundlagen, Modellsysteme und Stand der Forschung.

**Mario Wanischek:** Regulation der Kalziumleitfähigkeit als Anpassung nach genetisch-bedingten Erregbarkeitsstörungen.

**Christiane Marinc:** Homöostatische Funktion und Interaktion von chloridabhängigen Ionenkanälen; eine RNAi Studie

11:00-16:00 Uhr: Mittagessen.

16:30-18:30 Uhr: **AG Stein, Universität Ulm.**

**Wolfgang Stein:**

I. Introduction to the stomatogastric nervous system.

II. Convergent and divergent actions of neuromodulators on motor pattern activation.

**Stefanie Heigle:** The effects of a temperature-dependent change in conductance on motor pattern.

**Nelly Daur:** Why not quiet, but spontaneously active? The effect of a second spike-initiation zone in a sensory neuron on motor pattern generation.

**Ulrike Hedrich:** Characterization of a descending pathway in the crab, *Cancer pagurus*.

18:30-19:30 Uhr: Abendessen

19:30-21:00 Uhr: **AG Wolf, Universität Ulm.**

**Harald Wolf:** Scorpion pectine organs - chemosensors with glomerular projection areas.

**Karin Dotzauer:** Wirkungsweise des neuroaktiven Insektizids Pymetrozin.

**Jessica Ausborn:** The tegula – a proprioceptor revisited.

**Donnerstag 27.09.2007**

8:00-9:00 Uhr: Frühstück

9:00-10:30 Uhr: **Vortrag und Präsentation der Fa. Olympus (Dr. Alexander Krause)**

10:30-11:00 Uhr: Kaffee

11:00-12:00 Uhr: **AG Lehmann, Universität Ulm.**

**Peter Schützner:** *Drosophila* free flight kinematics - Current knowledge and new approaches.

12:00-14:00 Uhr: Mittagessen

14:00-15:00 Uhr: **AG Wegener, Philipps-Universität Marburg.**

**Christian Wegener.** Peptiderge Systeme in *Drosophila*.

15:00-16:30 Uhr: **AG Lakes-Harlan, Universität Gießen**

**Silke Krüger:** Deafferentierung in einem auditorischen Neuropil bei *Schistocerca gregaria*.

**Johannes Strauß:** Das komplexe Tibialorgan gehörloser Ensifera (Gryllacrididae und Stenopelmatidae).

Ab 17:00: Diskussionsrunde

**Freitag 28.09.2007**

8:00-9:00 Uhr: Frühstück

9:00-10:30 Uhr: Diskussionsrunde und Abschlussbesprechung.



photograph by C. Wegener

The happy participants of the BUGS2007 seminar held at the Weidacher Hütte near Ulm after 3 days of intense discussions and rain.

# The tegula – a proprioceptor revisited

Jessica Ausborn, Universität Ulm

The sensory system plays a key role in the generation of behavior by providing the nervous system with information about the environment and feedback about body movements such that motor output can continuously be adapted to changing circumstances. While the effects of sensory organs on nervous system function have been demonstrated in many systems, the impact of sensory activity has rarely been studied in conditions where motor output and sensory activity can interact as they do in behaving animals. In such situations, emergent properties may surface and govern the characteristics of the motor system.

To study the dynamics of sensorimotor interaction, I used a realistic computational model of the locust flight pattern generator, including its sensory components. The locust flight motor output is produced by a central pattern generator that interacts with phasic sensory feedback from the tegula, a proprioceptor that signals downstroke movement of the wing.

A quantitative computer model which included all previously identified connections among interneurons in the flight central pattern generator showed a very good match between the model and the animal, both without and then with tegula feedback. With reference to the cycle frequency, the model predicted that motor patterns can be regulated via the modulation of sensory feedback loops. In particular, tegula feedback strength determined cycle frequency such that stronger feedback initially increased cycle frequency but subsequently resulted in a frequency decrease. A detailed analysis of the tegula input pattern onto motor and interneurons revealed that the tegula influences the pattern generator via two complementary pathways. When activated, the tegula provides a negative feedback loop as well as a delayed positive feedback. The direct negative feedback activates elevator motoneurons as well as their premotor-interneurons while it inhibits depressor motoneurons and their premotor-interneurons. The delayed positive feedback loop is mainly mediated via the tegula synapse onto interneuron 301. A reduction of the model to either exclusively negative feedback or delayed positive feedback showed that the positive feedback loop is mainly responsible for the initial increase in frequency, while the negative feedback loop decreases frequency exponentially. Both feedback configurations interact to generate the biphasic shape of the observed frequency regulation.

This study demonstrates that sensorimotor interaction creates emergent properties that dominate the dynamics of the system and that computational models can be used to characterize the mechanisms underlying these properties.

## **Why not quiet, but spontaneously active? The effect of a sensory neuron with a second spike-initiation zone on motor pattern generation**

N. Daur & W. Stein  
Institute of Neurobiology, Ulm University, Ulm, Germany

Sensory feedback is prevalent in motor networks. One interesting sensory neuron is the anterior gastric receptor AGR in the stomatogastric nervous system of the crab, *Cancer pagurus*, which measures the tension of a muscle involved in the chewing of food. This gastric muscle is driven by the rhythmic activity of the gastric mill central pattern generator in the stomatogastric ganglion. AGR possesses two spike initiation zones. While the spike-initiation zone located in close proximity of the muscle generates phasic AGR feedback each time the muscle contracts, the spike initiation zone in the more central part of the neuron provides tonic activity with low firing frequencies whenever the other spike-initiation zone is silent. The functional role of this tonic sensory activity is unclear.

We studied the impact of phasic and low tonic AGR firing on the gastric mill motor pattern in the isolated stomatogastric nervous system. Therefore, we recorded the soma of AGR intracellularly 1) to measure the activity of the second spike-initiation zone and 2) to alter the firing frequency of both spike initiation zones with current injections. By recording the activities of two gastric mill motor neurons (DG, dorsal gastric motor neuron; LG, lateral gastric motor neuron) we monitored the response of the gastric mill rhythm to our current injections.

We stimulated AGR simultaneously with the motoneuron that innervates the gastric muscle such that it was activated in the same way as it is in the animal. We found that during this rhythmic activation, AGR firing frequencies had to exceed 10Hz to affect the gastric mill motor pattern. In contrast, even tonic AGR frequencies as low as 2 Hz affected the rhythm.

Our results show that the second spike-initiation zone in AGR as well as AGR's phasic activity has an influence on the gastric mill rhythm. Thus, tonic sensory activity with low firing frequencies which occurs independently of changes in the parameters measured by the sense organ may be functionally relevant for motor pattern generation.

Supported by DFG STE 937/5-1.

## Wirkungsweise des neuroaktiven Insektizids Pymetrozin

Karin Dotzauer, Harald Wolf;

Institut für Neurobiologie Universität Ulm

Pymetrozin gehört zu einer neuen Klasse von Insektiziden, bewirkt eine Inhibition des Fressverhaltens und wird vor allem gegen pflanzensaugende Schädlinge eingesetzt. Es wirkt aber auch auf *Locusta migratoria* und führt neben der Inhibition des Fressverhaltens zu einem deutlichen Verlust der Körperhaltungskontrolle. Dieses Symptom wird durch einen Verlust der reizkorrelierten Antwortaktivität in den (femorale) Chordotonalorganen verursacht, welche in ihrer Gesamtheit auch den Angriffspunkt von Pymetrozin bei *L. migratoria* darstellen (Ausborn, Wolf, Mader, Kayser, 2005).

Als Modell für die Untersuchung der Wirkungsweise von Pymetrozin auf zellulärer Ebene bedienen wir uns *Drosophila melanogaster*, da hier vor allem die einzigartige (genetische) Manipulierbarkeit einen entscheidenden Vorteil darstellt.

Es wurden Versuche mit einem Fluoreszenzfarbstoff durchgeführt, die eine Wirkung des Insektizids auf die TRP-Kanäle (transient receptor potential) der segmentalen Chordotonalorgane von *Drosophila melanogaster* andeuten.

Diese Erkenntnisse sollen mit elektrophysiologischen Experimenten untermauert werden. Da die segmentalen Chordotonalorgane von *Drosophila melanogaster* für elektrophysiologische Untersuchungen jedoch relativ schwer zugänglich sind, wurde *Calliphora vicina* als „Modell des Modells“ untersucht. Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass es nach Applikation von Pymetrozin, wie schon bei *L. migratoria* beschrieben, zu einem Verlust der reizkorrelierten Antwortaktivität kommt.

*Locusta migratoria*, *Drosophila melanogaster*, *Calliphora vicina*, Chordotonalorgan,  
Insektizid

## Characterization of a descending pathway in the crab, *Cancer pagurus*

Ulrike B.S. Hedrich & Wolfgang Stein  
Institute of Neurobiology, Ulm University  
D-89069 Ulm, Germany

We are using the stomatogastric nervous system of the crab *Cancer pagurus* to study the effects of higher neural centers on motor pattern generation. The axons of the inferior ventricular (IV) neurons in the brain project via the inferior ventricular nerve (*ivn*) to the stomatogastric nervous system (STNS). The STNS contains two central pattern generators in the stomatogastric ganglion (STG), which generate the spontaneously active, rapid pyloric rhythm (filtering of food) and the slow gastric mill rhythm (GMR, chewing of food).

To test what kind of information the IV neurons transfer from the brain to the stomatogastric nervous system and if they affect motor pattern generation in the STG, we simultaneously recorded the activity of IV and motor neurons in intact animals. We tested the impact of visual, mechanosensory and olfactory information, but only a focal application of a mixture of seawater and food to the antennae caused an increase in *ivn* activity and a rhythmic firing of the IV neurons. Additionally, in 3 of the 13 experiments, a gastric mill rhythm was elicited. In the other experiments, the activity of the IV neurons increased, but the frequency was below 20Hz.

In the isolated nervous system, the IV neurons showed spontaneous rhythmic activity in more than half the preparations (N=19 of 34). When firing frequencies exceeded 30 Hz (in 3 of 19 experiments), a GMR was elicited.

To test the actions of the IV neurons on motor pattern generation we rhythmically stimulated the *ivn* in the isolated nervous system. This rhythmic stimulation affected both the pyloric and the gastric mill rhythm. The pyloric rhythm sped up and the activities of several pyloric neurons were significantly diminished during the *ivn* stimulus. In preparations without a spontaneous GMR, extracellular stimulation of the *ivn* (40Hz) elicited a GMR that lasted for the duration of the stimulus. When a GMR was already active, the stimulus entrained the GMR. There was no long term effect on the two motor patterns.

Both motor patterns are modulated by identified projection neurons in the Commissural ganglia (CoGs). The activities of several of these projection neurons were also affected by *ivn* stimulation. The modulatory commissural neuron 1 (MCN1) and the commissural projection neuron 2 (CPN2) were slowly depolarised by the IV neurons and their activities increased. The modulatory commissural neuron 5 (MCN5) received a direct electrical postsynaptic potential from the IV neurons. Lesion experiment showed that the effects on the motor patterns are in part due to the actions of the IV neurons on these projection neurons in the CoGs.

Our results indicate that the IV neurons are sensitive to olfactory stimuli and relay this information to the motor circuits in the STG, possibly via their actions on the projection neurons located in the CoGs.

Supported by DFG STE 937/2-2.

## The effects of a temperature-dependent leak current on motor pattern

Although there are fluctuations in temperature in the natural habitat of the crab *Cancer pagurus*, these fluctuations cause a dramatic change in the gastric mill rhythm (GMR). This rhythm is responsible for the chewing of food in the gastric mill and it is driven by the alternating activity of the lateral gastric neuron LG and the interneuron Int1. *In vitro*, an increase in temperature from 10 to 13°C stops this alternating activity, which functionally inactivates the GMR. Furthermore, the spikes produced by LG seem to get smaller and its membrane potential is more hyperpolarized.

Both effects may be caused by a temperature-dependent leak current in LG which may also cause the breakdown of the GMR. Conductance measurements in LG revealed an increase in conductance at higher temperatures. In further experiments the responsibility of this temperature-dependent leak current for the breakdown of the GMR will be determined. Voltage clamp will be used to characterize this leak current in more detail and its effects on motor pattern generation will be tested by manipulating the current with dynamic clamp. In these experiments, I will try to reestablish the rhythm at 13°C by subtracting the leak current from LG. At 10°C, I will add the leak current to mimic the effects of a temperature increase.

## Sensorische Ökologie des pyrophilen Käfers *Acanthocnemus nigricans* (Coleoptera: Acanthocnemidae)

Eva Kreiß, Michael Gebhardt

AG Schmitz, Abt. f. vergleichende Neurobiologie, Institut für Zoologie, Universität Bonn

Bis heute wurde für mehr als 50 Insektenarten ein so genanntes pyrophiles Verhalten beschrieben. Diese Insekten finden sich bevorzugt nach Waldbränden auf den noch heißen und rauchenden Brandflächen. Bei den Prachtkäfern der Gattung *Melanophila* (Paläarktis) und bei *Merimna atrata* (Australien) ist das Fortpflanzungsgeschehen an die verbrannten Bäume gebunden, in deren Bast sich die Larven entwickeln. Bei der pyrophilen Käferart *Acanthocnemus nigricans* ist die Larvenbiologie zwar unbekannt, Käfer beider Geschlechter treffen sich aber sofort nach einem Feuer in unmittelbarer Nähe noch glimmender, heißer Holzreste, den „hot spots“. Die drei Käfer besitzen zur Lokalisierung von und zur Orientierung auf den Brandflächen spezialisierte Sinnesorgane, die durch konvektive Wärme und durch Infrarotstrahlung aktiviert werden. Bei *Melanophila* leiten sich die Sensillen dieser Sinnesorgane von trichoiden Haarsensillen ab, sie funktionieren nach dem photomechanischen Prinzip. Bei *Merimna* besitzt jedes Organ nur einen Wärmerezeptor, der ein spezialisiertes multipolares Sensillum darstellt und nach dem Bolometerprinzip funktioniert. Die Sensillen von *Acanthocnemus*, von denen bis zu 90 Stück je Organ – einem Paar kutikulärer, thermisch isolierter Scheibchen auf dem Prosternum – auftreten, gehören zu einem erst kürzlich neu beschriebenen Sensillentyp; sie leiten sich vermutlich ebenfalls von Mechanorezeptoren ab. Diese sind in Ruhe aktiv und beantworten Wärmereize mit phasisch-tonischen Entladungen; Abkühlung verursacht eine Pause in der Entladung (Reizung mit rechteckigen He-Ne Rotlichtlaserpulsen,  $\lambda = 632 \text{ nm}$ , oder IR-Strahlung,  $\lambda = 1 - 10 \text{ }\mu\text{m}$ ). Mit einer Schwellenintensität von etwa  $25 \text{ mW/cm}^2$  (He-Ne Laser) liegen die *Acanthocnemus*-Sensillen zwischen denen von *Merimna* ( $40 \text{ mW/cm}^2$ ) und *Melanophila* ( $5 \text{ mW/cm}^2$ ). Das zeitliche Auflösungsvermögen der Sensillen beträgt mindestens 20 Hz, so dass sie bei einer angenommenen Fluggeschwindigkeit zwischen 0,2 und 0,5 m/s kalte Landstellen im Bereich von etwa 0,5 bis 1 cm Breite auflösen können. Ein einfaches phänomenologisches Modell der Sensillen legt nahe, dass die Spikepausen nach einer Abkühlung den Kontrast der Sensillenantworten auf natürliche Temperaturprofile, wie sie auf den „hot spots“ gefunden werden, erhöhen. Außerdem sollten nach diesem Modell die Käfer ihre Suchflüge über den „hot spots“ mit Geschwindigkeiten um 0,1 m/s ausführen, was im Feld überprüft wird. Unsere momentane Arbeitshypothese ist, dass *Acanthocnemus* seine Infrarotorgane zur Nahorientierung auf der Brandfläche benutzt, während *Melanophila* seinen empfindlicheren Infrarotsinn zur Fernlokalisierung von Bränden einsetzt.

Unterstützt durch die DFG und BMBF.

Aktuelle Projektseite mit mehr Information:

<http://www.zoologie.uni-bonn.de/Neurophysiologie/home/Schmitz/BMBF-HP/index.html>

## **Deafferentierung in einem auditorischen Neuropil bei *Schistocerca gregaria***

Diplomarbeit Silke Krüger, Abt. Integrative Sinnesphysiologie, JLU Giessen

Plastizität beschreibt dynamische Veränderungen des Nervensystems, welche zum Beispiel aufgrund von äußeren Verletzungen auftreten können. Ein bekanntes Beispiel für plastische Vorgänge stellt das Gehörsystem der afrikanischen Wüstenheuschrecke *Schistocerca gregaria* dar. Eine Entfernung des Müllerschen Organs führt hier zu einer Degeneration der auditorischen Afferenzen, sowie einem Auswachsen der auditorischen Interneurone im auditorischen Neuropil. In dieser Arbeit wurde anhand der Ausmessung des Neuropils untersucht, inwieweit sich die plastischen Vorgänge auf das gesamte Zellnetzwerk auswirken. Dabei hat sich gezeigt, dass die Neuropilgröße nach der Deafferentierung auf der defekten Seite abnimmt, was mit der Degeneration der Afferenzen und dem Auswachsen der Interneurone korrelieren könnte. Weiterhin wurde anhand einer Synapsinmarkierung die Auswirkung der Deafferentierung auf Zellverbindungen untersucht. Dabei trat eine Zunahme der Synapsinimmunreaktivität 5 Tage nach Deafferentierung auf der operierten Seite auf. Dieses könnte aus dem Einwachsen neuer Fasern, der Vergrößerung vorhandener Synapsen oder der Erhöhung der Synapsendichte durch die Neuropilverkleinerung resultieren. Des Weiteren wurden die neurochemischen Veränderungen im auditorischen Neuropil nach Deafferentierung untersucht. Dabei zeigte sich eine Verminderung der Acetylcholinesterase-Immunreaktivität 5 Tage nach der Deafferentierung, was auf der Deafferentierung der auditorischen Afferenzen basieren könnte, und somit ACh als möglichen Transmitter dieser Afferenzen bestärken könnte. Die  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA)-Immunreaktivität, nahm 4 Tage nach Deafferentierung ab, was mit dem Auswachsen der Interneurone einhergehen könnte, und am folgenden Tag wieder zu, was auf ein Einwachsen neuer Fasern hindeuten könnte. Die Immunreaktivität der Stickstoffmonoxid-Synthase nahm 5 Tage nach der Deafferentierung zu, was auf eventuelle modulatorische Funktionen beim Axonwachstum hindeuten könnte, aber wohl eher auf eine fehlerhafte Markierung zurückzuführen ist. Die Serotonin- und Glutamat-Immunreaktivität zeigte keine Veränderung nach der Deafferentierung, so dass eine Beteiligung an plastischen Vorgängen im auditorischen Neuropil wohl unwahrscheinlich ist. Weitere Untersuchungen sind nötig um die Plastizität im auditorischen Neuropil von *S. gregaria* nach Deafferentierung aufzuklären.

Properties, modulation and physiological relevance of *Drosophila melanogaster* chloride current (CIC-2) and a chloride dependent K<sup>+</sup> current

*Christiane Marinc, Institute of Neurobiology, University of Ulm*

Excitable cells express large numbers of different classes of ion channels. Their properties and differential expression determine the general excitability and activation pattern of neurons and muscle cells. Many classes of ion channels that contribute to cellular excitability have been characterised, but their functional relevance including modulation *in vivo* remains obscure in most cases.

In the current study we will employ the larval body wall muscle of the fruit fly *Drosophila melanogaster*, to analyse the function, modulation and physiological relevance of two ionic currents, both of which are believed to contribute to the regulation of basic cellular excitability. In the body wall muscle the chloride current DmCIC-2 is activated by hyperpolarisation, elevation of intracellular chloride and hypotonic conditions (Rose et al., 2006). This current seems to regulate intracellular chloride concentration and cell swelling and thus may contribute to the regulation of membrane potential, which might be of physiological importance under pathological conditions (Wright and Rees, 1997). Although many studies report considerable variations of the speed and shape of channel activation, nothing is known about CIC-2 modulation under physiological conditions (reviewed in: Jentsch et al., 2002).

In *Drosophila* muscles, elevated intracellular chloride concentration did not only enhance CIC-2 current, but also a potassium current (Rose, unpublished) which is obviously dependent on chloride. A similar current (slo-2) was recently characterised in *C. elegans* (Yuan et al., 2000, Santi et al., 2003) and is believed to be a major reserve current, likely to be activated under hypoxic conditions. The mammalian ortholog of this channel (slo2.1, slo2.2) is expressed in brain neurons and differentially modulated by neurotransmitters (Santi et al., 2006).

The goal of this study is to further analyse the particular biophysical characteristics, modulation and physiological relevance of the slo-2-like and CIC-2 current in *Drosophila* muscle cells. The basic molecular and biophysical characteristics of slo-2-like currents will be revealed by PCR and two electrode voltage clamp analysis. Insights into the physiological relevance will also be obtained by down regulating CIC-2 and slo-2-like expression using the RNAi technique. Measurements of cellular excitability and muscular performance under normal and hypoxic conditions will reveal possible negative effects or compensatory changes (homeostatic plasticity). One major and intriguing question is whether both channels act synergistically to regulate cellular excitability which seems possible since both are influenced by intracellular chloride. If this is the case, one may also expect that the levels of their cellular expression are regulated jointly.

## Homöostatische Regulation zellulärer Erregbarkeit

Dr. Uwe Rose, Institut für Neurobiologie, Universität Ulm

Arbeiten der letzten Jahren haben gezeigt, dass unsere aktuelle Vorstellung vom Nervensystem als Regulator von Verhalten zu sehr von statischen Annahmen ausging. Besonders eine der fundamentalen Eigenschaften von Nerven oder Muskelzellen, nämlich deren elektrische Erregbarkeit, unterliegt einer komplexen Kontrolle im Sinne einer homöostatischen Regulation. Die Aufgabe dieser Regulation ist es, die Erregbarkeit von Neuronen und Muskelzellen, vor dem Hintergrund wechselnder Umgebungsbedingungen und funktioneller Anforderungen, dynamisch in funktionalen Grenzen zu halten (Davis and Bezprozvanny, 2001; Turrigiano and Nelson, 2004). Die Notwendigkeit zu dieser Regulation ergibt sich aus Veränderungen der Erregbarkeit in Folge von Entwicklungsprozessen und Mechanismen, die die Effizienz synaptischer Verbindungen variieren (synaptische Plastizität) oder die elektrischen Eigenschaften (Grösse und Geometrie der Zellen, sowie Zusammensetzung und Eigenschaften von ionalen Leitfähigkeiten) der Zellen verändern.

Obwohl Muskelzellen hinsichtlich einer homöostatischen Regulation bisher wenig untersucht wurden, zeigen Befunde an Herzmuskelzellen und Muskelfasern von Invertebraten, dass auch hier Kompensationsmechanismen eine Rolle spielen. In Studien an Mäusen, bei denen eine cholinerge Regulation der Herzfrequenz durch eine "knock out" Mutante des ligandengesteuerten Kaliumstroms ( $I_{KAch}$ ) unterdrückt war, zeigten sich erstaunlicherweise keine Unterschiede in der Herzschlagfrequenz verglichen mit Wildtyp- Mäusen (Wickman et al., 1998). Diese Ergebnisse weisen auf kompensatorische Regulationsmechanismen hin, die in der Lage sind den fehlenden  $I_{KAch}$  auszugleichen.

Die Erkenntnisse aus den Studien zur homöostatischen Regulation erregbarer Zellen gehen vielfach nicht über eine Beschreibung der Umstände, die zur Auslösung der Regulation führen, hinaus. Nur wenig ist bekannt über die genauen Mechanismen, die für eine Auslösung (Induktion) notwendig und hinreichend sind, deren intrazelluläre Kommunikationswege, inklusive der beteiligten Moleküle und schließlich über Veränderungen der Effektoren und ihrer Untereinheiten (Ionenkanäle, Synapsen).

## **Introducing the larval Dipteran stomatogastric nervous system: What do we know so far?** **(Andreas Schoofs, Roland Spieß)**

Die Larven von *Calliphora vicina* (Schmeißfliege) und *Drosophila melanogaster* leben auf ihrer Nahrung und fressen praktisch ununterbrochen bis zu ihrer Verpuppung. Die an der Nahrungsaufnahme beteiligten Verhaltensmuster sind relativ einfach und stereotyp. Dies macht die Tiere zu idealen Versuchsobjekten um das Zusammenspiel der dem Verhalten zu Grunde liegenden muskulären, neuronalen und sensorischen Strukturen zu untersuchen. Dabei standen (bis jetzt) *Calliphora* Larven im Fokus unserer Untersuchungen da diese für elektrophysiologische Experimente gut zugänglich sind. Die große Ähnlichkeit erlaubt es darüber hinaus die bei *Calliphora* gewonnenen Daten als Anhaltspunkt für vergleichbare Experimente bei *Drosophila* zu verwenden, was wiederum eine Kombination aus elektrophysiologischen und genetischen Methoden ermöglichen soll. Es wurde gezeigt, dass der Vorderdarm und das damit assoziierte stomatogastrische Nervensystem (SNS) bei beiden Arten weitestgehend identisch aufgebaut sind. Der einzige Unterschied zwischen beiden Arten besteht darin, dass nur bei *Calliphora* ein innervierter Kropf existiert, während bei *Drosophila* dem Ösophagus ein Ganglion angelagert ist. Die bei beiden Arten vorkommenden Elemente des SNS sind das Proventrikular- und Hypocerebralganglion (HCG), die durch den Proventrikulärnerv miteinander verbunden sind. Vom HCG verläuft der recurrente Nerv zur frontalen Nervenverbindung. Hier entspringen seitlich die Frontalkonnektive die sich mit den Antennalnerven verbinden, welche zum Gehirn projizieren, und der Frontalnerv, welcher die cibariale Dilatormuskulatur (CDM) innerviert. Die CDM wird von Motorneuronen innerviert deren Zellkörper im Gehirn liegen und deren Axone durch die Antennalnerven projizieren. Durch Kontraktionen der CDM so wird Nahrung in den Ösophagus gesaugt. Zusätzliche Fressbewegungen bestehen aus einem Heben und Senken der Mundhaken und einem teleskopartigem Ein- und Ausstülpen des Schlundgerüsts. Die Muskelgruppen, die diesen Bewegungen zu Grunde liegen, sind Mundhaken Elevatoren und Depressoren, die vom Maxillarnerv, und Protraktoren welche vom Protraktornerv innerviert werden. Simultane extrazelluläre Ableitungen von Antennal-, Maxillar-, und Protraktornerv an einem vollständig isolierten Zentralnervensystem zeigen motorische Aktivität, aus der Bewegungen resultieren würden die den beobachteten Fressbewegungen ähnlich sind. Die Mustergeneratoren im ZNS sind also in der Lage auch ohne sensorische Rückmeldung „fiktives Fressen“ zu erzeugen. In weiteren Versuchen soll der Einfluss von sensorischen Rückmeldungen auf das fiktive Fressmuster untersucht werden.

## ***Drosophila* free flight kinematics – Current knowledge and new approaches**

Peter Schützner\* and Fritz-Olaf Lehmann<sup>†</sup>

BioFuture Research Group, University of Ulm, 89069 Ulm, Germany,  
\*peter.schuetzner@uni-ulm.de, <sup>†</sup>fritz.lehmann@uni-ulm.de

Understanding the aerodynamics of manoeuvring flight in insects requires (i) a theoretical framework that describes the mechanics and aerodynamics of wing and body motions, and (ii) experimental data on wing kinematics at different classes of flight manoeuvres. In the past, the majority of kinematic reconstructions were performed on tethered animals and only few studies addressed wing and body motion in a freely manoeuvring insect [1]. In general, those studies are time-consuming because motion analysis mostly requires to manually digitize the wing's position on single high-speed video frames. To build up a data base for wing and body motion in flies performing various classes of free flight manoeuvres, we here present a method based on fluorescence markers that permits automatic tracking of wing and body positions on high-speed video using motion analysis software.

To achieve this goal, we marked female *Drosophila melanogaster* with small dots of fluorescent dye at the wings and the body. The mass of a medium sized dot was 0.1 µg that is approximately 3% of the wing mass [2]. To evaluate the potential effects of the wing markers on wing kinematics, we have flown tethered flies in a closed-loop virtual-reality flight arena and scored their wing beat frequency and amplitude. The data suggest that the extra load of 6 fluorescence markers (3 on each wing side) slightly but not significantly changed wing beat frequency and amplitude.

We stimulated the fluorescence markers with high current pulses of ultraviolet light (UV) produced by light emitting diodes (LED). We used several optical filters to limit the range of wave lengths passing through the lens: (i) an UV- and infrared-cut filter and (ii) an orange filter that closely match the emitted light coming from the fluorescence markers. We tracked the position of fly's wings and body within a stroke cycle employing conventional black and white high-speed video cameras. To avoid motion blur on the images, flash duration of the UV-diodes amounted to 60 µs duration. To enhance image contrast and thus to extract the markers from the image, we used several numerical filters before performing motion analyses.

In sum, our video technique represents a simplified method to automatically record and analyse wing and body motion in tethered and freely flying insects. However, since UV light may be detected by the ocelli and the compound eye, we explored the UV-induced behavioural response of tethered flies flying inside a closed-loop flight arena. In these experiments, the animals actively tried to fly towards a black vertical stripe displayed in the frontal part of their visual field while we illuminated the fly from dorsal using a single UV diode (60 µs pulse duration at 5 KHz). The data show that fixation behaviour decreases significantly

but does not drop critically. Nevertheless, despite of this effect our marker-based video analyses offers several advantages compared to infrared-video techniques in which shape and orientation of wings and body is identified manually from the recorded images.

### **References**

- [1] Fry, S.N., Sayaman, R., and Dickinson, M.H. (2003) The Aerodynamics of Free-Flight Maneuvers in *Drosophila*. *Science*, 300: 495-498.
- [2] Lehmann, F.-O. and Dickinson, M.H. (1997) The Changes in Power Requirements and Muscle Efficiency during elevated Force Production in the Fly *Drosophila melanogaster*. *The Journal of Experimental Biology* 200, 1133-1143.

Born to Eat  
-The larval *Calliphora* (Blowfly) machinery for feeding-  
Ulrike Siebenaller

Basierend auf der Kenntnis in Bezug auf Anatomie, Funktion und Innervation der cibarialen Dilatormuskulatur, des Mundhakenelevators/ -depressors und des Lippenmuskels bei *Calliphora vicina* wurde die Körperwand- und pharyngiale Muskulatur näher untersucht. Die pharyngiale Muskulatur wurde in drei Gruppen eingeteilt: (1) die Muskulatur, die vom cephalopharyngialen Skelett (CPS) zum CPS zieht, welche direkt an der Nahrungsaufnahme beteiligt sind. (2) Die Muskulatur, vom CPS zur Kutikula, welche unterstützende Bewegung des CPS gewährleistet. (3) Und letztlich, die Körperwandmuskulatur. Diese dient der Bewegung des anterioren Bereiches der Made. Anatomischen Untersuchungen zeigen, dass die Innervation aller drei Muskulaturgruppen vorwiegend durch die Prothorakal- und Mesothorakalnerven erfolgt. Extrazelluläre Doppelableitungen des Prothorakal- bzw. Mesothorakalnervs mit gleichzeitiger intrazellulärer Ableitung der einzelnen Muskeln des Prothorax, Mesothorax und Metathorax zeigten eine eindeutige Korrelation zwischen den Aktionspotentialen und den postsynaptischen Potentialen der jeweiligen Muskeln. Zur Komplettierung der anatomischen Kenntnisse, werden in der näheren Zukunft retrograde Füllungen der Motoneurone mit Kobalt-Chlorid angestrebt, sodass der jeweilige Muskel mit dem innervierenden Nerv und dem dazugehörigem Motoneuron bekannt sind. Des weiteren konnten anatomische Analysen zeigen, dass die so genannten „X“- Nerven zum einen den Oesophagus ventral innervieren (XW- und XZ- Nerv) und zum anderen am ventralen Arm des CPS enden (XX- Nerv). Aufgrund dessen, dass in diesem Bereich keinerlei Muskulatur vorhanden ist, deutet dies auf sensorische Funktion hin. Anhand von Beobachtungen des Verhaltens der Larven, konnte festgestellt werden, dass die Made bis zu einem bestimmten Larvenstadium negativ phototaktisch reagiert. Auf der Grundlage dieser Beobachtungen wurde das Bolwigorgan, mit dem die Larve Licht wahrnehmen kann, mit dem zugehörigem Bolwignerv („Sehnerv“) näher untersucht. Dieser verläuft innerhalb der Augen- Antennalscheiben. Das Bolwigorgan selbst befindet sich innerhalb einer Mulde im anterioren Bereich des CPS. Anhand von Ableitungen sollen die Lichtantworten in Hinblick auf die Reizschwelle, das Antwortverhalten und die Reaktion auf einzelne Spektren charakterisiert werden. Ein zusätzliches Thema wird die Untersuchung der Nerven während einzelner Puppenstadien sein. Hierbei gilt es zu untersuchen, da während der Puppenstadien keinerlei Motorik benötigt wird, in wie weit die motorischen Nerven noch vorhanden sind und wenn ja, in welcher Form sie aktiv sind.

## **Convergent and divergent actions of neuromodulators on motor pattern activation**

Wolfgang Stein, Institut für Neurobiologie, Universität Ulm.

Co-transmission of transmitters is a common means of neuronal communication, but its functional consequences on motor pattern generation remain unknown in most systems. We are addressing this question in the crustacean stomatogastric nervous system. The receptor distribution for several co-released transmitters has been identified previously in this system and suggests that a combinatorial code of this distribution determines the response of the motor networks. While these experiments used focal application of transmitters to test the receptor distribution, only little data is available as to whether the response of the network to neuronal release of co-transmitters matches receptor distribution. We asked whether we can derive network activity from receptor distribution by characterizing how the identified modulatory commissural neuron (MCN)1 uses its co-transmitters to activate the gastric mill (chewing) rhythm in the stomatogastric ganglion (STG). MCN1 contains  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) plus the peptides proctolin and *Cancer borealis* tachykinin-related peptide Ia (CabTRP Ia), which it co-releases to activate the gastric mill network. By focally applying each MCN1 co-transmitter to synaptically isolated neurons and pharmacologically manipulating each co-transmitter action during neuronal release from MCN1 (MCN1 stimulation), we found that MCN1 has divergent co-transmitter actions on the gastric mill central pattern generator. The central pattern generator is built by the lateral gastric neuron, interneuron 1 and the axon terminals of MCN1. I) MCN1 used only CabTRP Ia to influence the lateral gastric neuron, although this neuron possessed receptors for GABA. II) MCN1 used only GABA to excite Interneuron 1 and III) it used only GABA to inhibit the axon terminal of the contralateral MCN1.

We thus conclude that the actions of focally applied transmitters differ to those during neuronal co-release. During neuronal release, transmitter actions diverge on postsynaptic targets due to a spatial distribution of receptors on the postsynaptic neuron and/or presynaptic terminals / varicosities. The combinatorial code of receptor distribution in the target network is thus not sufficient to explain the network response.

## Das komplexe Tibialorgan gehörloser Ensifera (Gryllacrididae und Stenopelmatidae) Johannes Strauß

Gehörorgane sind innerhalb der Langfühlerschrecken (Ensifera) bei verschiedenen Taxa gut untersucht (Grillen, Maulwurfsgrillen sowie Laubheuschrecken, Hagliden, Wetas). Die sensorischen Neurone des Ohrs sind in diesen Gruppen in einem Tibialorgan organisiert, das neben den auditorischen Rezeptoren auch vibrationssensitive Neurone des Subgenuallorgans und tw. Intermediärgans enthält. Die Homologie der Ohren ist unklar.

Andere Taxa der Ensifera zeigen keine Tympana. Von diesen ist tw. eine Kommunikation durch Vibrationssignale bekannt. Es wurden Vertreter der Gryllacrididae (*Ametrus tibialis*) und Stenopelmatidae (*Stenopelmatus sp.*) hinsichtlich der Struktur und Vibrationsschwelle des Tibialorgans untersucht. Dieses wurde in der Literatur als Sensor für Vibrationssignale vorgeschlagen.

Neuroanatomie: beide Taxa weisen ein dreigliedriges Tibialorgan auf. Der dritte Abschnitt kann aufgrund von Lage und Aufbau mit der Crista acoustica tympanater Gruppen (Laubheuschrecken, Haglidae, Weta) homologisiert werden.

Sinnesphysiologie: Die Vibrationsschwelle für sinoidale Schwingungen wurde für Frequenzen zwischen 100 Hz und 2 kHz durch Summenableitungen vom Subgenuallnerv (N5B1) ermittelt. Sie liegt zwischen  $0.01 - 0.2 \text{ ms}^{-2}$ . Diese Schwellen liegen im für andere Ensifera durch Summenableitungen bestimmten Empfindlichkeitsbereich. Die Funktion der Neurone, deren Homologie zu luftschallempfindlichen Neurone der tympanaten Laubheuschrecken, Wetas, und Hagliden vorgeschlagen wurde, kann durch die Summenableitung nicht bestimmt werden, ist aber wahrscheinlich Vibrationswahrnehmung. Evolutiv wird die Entstehung im Lichte aktueller Phylogenien der Ensifera diskutiert. Sie können als Vorläuferstruktur (morphologische Daten) oder als Rudimente reduzierter Gehörorgane extrapoliert werden.

# To eat or not to eat

## Does sensory input change larval (fictive) feeding behaviour

### Benjamin Usai

Bisher sind viele der am Fressen beteiligten Nerven und die von ihnen kontrollierten Muskeln bei *Calliphora vicina* beschrieben und untersucht worden. Um einen Eindruck von der Rhythmik des Fresszyklus zu bekommen fand ein Großteil der Untersuchungen am deafferentierten ZNS statt. Extrazelluläre Ableitungen haben gezeigt, dass auch das isolierte ZNS in der Lage ist einen Fressrhythmus zu produzieren, der als fiktives Fressen bezeichnet wird. Eine Fragestellung für zukünftige Arbeiten besteht darin, das (fiktive) Fressverhalten unter Einfluss sensorischer Rückkopplungen zu analysieren. Die *C. vicina* Larve verfügt über eine Reihe Sinnessysteme, deren Einfluss auf das Fressen untersucht werden soll. Besondere Bedeutung wird dabei dem Einfluss mechanischer Stimuli beigemessen. Im anterioren Bereich liegen auf den cephalen Loben das Dorsal-, Terminal-, und Ventral-Organ, welche vorrangig der Olfaktion und Gustation dienen. Zumindest vom Dorsal-Organ ist bekannt, dass es zudem mechanosensitiv ist. Ob die mechanische Stimulation einen Einfluss auf das Fressverhalten hat, wurde in Ansätzen bereits untersucht, muss aber noch weiteren Versuchen unterzogen werden. Zu Terminal-, bzw. Ventral-Organ lässt sich bisher nicht sagen, ob sie über mechanosensitive Strukturen verfügen. Des Weiteren soll untersucht werden, wie sich die Füllung des Kropfes auf das Fressverhalten auswirkt. Bekannt ist, dass der Kropf über Streckrezeptoren verfügt, allerdings ist unklar, auf welche Weise die Information in das ZNS gelangt und welche Auswirkung sie auf das Fressverhalten der Larven hat (Schoofs and Spieß 2007). Weiterhin soll das Bolwig-Organ und der dazugehörige Bolwig-Nerv der *Calliphora*-Larven untersucht werden, bei dem es sich um eine um ein Lichtsinnesorgan handelt. Eine negative Fototaxis ist gemeinhin bekannt. Gegenstand der zukünftigen Arbeit wird dabei die Analyse der Verhaltensänderung durch einen Lichtstimulus auf neuronaler Ebene sein. Ferner gibt es Hinweise aus der Literatur über cuticuläre Mechanorezeptoren bei *Drosophila*-Larven, denen im Hinblick auf *Calliphora vicina* nachgegangen werden soll. Zum jetzigen Zeitpunkt lassen sich nur Vermutungen über deren Anwesenheit bei *Calliphora* machen. Es gibt zwar konkrete Anzeichen für die Existenz solcher Strukturen, bisher ist aber nichts über Innervation bzw. Funktion jener Papillen bekannt.

Cell-autonomous homeostatic regulation in muscle cells of the fruit fly *Drosophila melanogaster*.

Mario Wanischek

In the last few years homeostatic plasticity has been recognised as an important mechanism for excitable cells to keep their activity within functional limits (Turrigiano and Nelson, 2004; Davis and Bezprozvanny, 2001). Such a mechanism is particularly important during development, when the size and morphology of these cells change considerably or during activity dependent forms of plasticity such as LTP or LTD, which could drive a neurons activity out of functional limits. The mechanisms underlying homeostatic plasticity, however, are diverse and not well understood but include changes in synaptic size, presynaptic release, postsynaptic transmitter sensitivity and balance of voltage gated channels. To investigate and understand the mechanisms of homeostatic regulation at the molecular and cellular level, a simple model system is needed. We took advantage of a *Drosophila* mutant (Electrical knock out, EKO, White et al., 2001) which carries a modified potassium channel gene. Muscle specific expression of the EKO gene with the Gal4-UAS binary system results in larvae expressing shaker potassium channels with lowered activation threshold and virtually absent inactivation. These larvae should have severely reduced excitability and thus contractions. Surprisingly, larvae were viable and muscle contractions were unchanged. In addition they did not exhibit changes in neuromuscular transmission (White et al., 2001) or pattern and frequency of motoneuronal input compared to control groups. On the level of muscle fibre properties we detected an increased calcium-current. The peak currents is elevated to about  $140 \pm 15\%$  (n=8, N=9) compared to wildtype (Canton S)  $100 \pm 10\%$  (n=7, N=8) and phenotypical wildtypes (UAS-EKO without Gal4 expression)  $85 \pm 13\%$  (n=7, N=8) and their activation threshold is lowered by about 10 mV. RT-PCR analysis revealed an increased calcium channel beta-subunit. We conclude that an increase of the calcium current is at least one of the mechanisms that compensate the effect of expressing EKO in muscle-cells. Further work will focus on the intracellular signalling pathways leading to compensations.

## Peptiderge Systeme in *Drosophila*

Christian Wegener

Emmy Noether Neuropeptidgruppe, Tierphysiologie, FB Biologie, Philipps-Universität Marburg

Neuropeptide bilden die grösste Stoffgruppe zur Zell-Zell-Kommunikation und spielen eine wichtige Rolle in verschiedensten physiologischen und entwicklungsbiologischen Prozessen, z.B. in der Kontrolle von Verhalten, Stoffwechsel oder Wachstum. Oft sind dabei Peptidsequenz wie Funktion evolutiv über die Stammesgrenzen erhalten geblieben.

Mit der Sequenzierung des Genoms der Taufliege *Drosophila melanogaster* schien es zum ersten Mal möglich, einen kompletten Überblick über die Gesamtheit aller Neuropeptide (dem Peptidom) in einem Insekt zu erlangen. Eine Schwierigkeit dabei stellt jedoch die enzymatische Prozessierung der Peptide aus grösseren Vorläufermolekülen sowie mögliche posttranslationale Modifikationen dar, die eine direkte Sequenzvoraussage der bioaktiven Peptide aus dem Genom nicht erlaubt. Um das komplette Set an Peptidhormonen in *Drosophila* chemisch zu identifizieren, haben wir daher durch direktes Profiling mittels MALDI-TOF Massenspektrometrie das Peptidom der wichtigsten Hormonspeicherorte in larvalen und adulten Taufliegen charakterisiert. Diese Charakterisierung lässt sich an einzelnen Individuen durchführen, und erlaubt über Fragmentierung im Tandem-Massenspektrometer auch eine Sequenzbestätigung.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass das Peptidom verschiedener Neurohämalorgane eine tagma-spezifische Zusammensetzung aufweist, und seit der Arttaufspaltung der Fliegen der Gruppe *Drosophila* vor über 40 Mio. Jahren bewahrt geblieben ist. Unsere Daten gewähren einen Einblick in die Prozessierung der bioaktiven Peptidhormone, und liefern den ersten chemischen Nachweis für eine differentielle Neuropeptidprozessierung in Insekten.

Durch direktes massenspektrometrisches Profiling in genetisch manipulierten Fliegen zeigen wir, dass dPC2 (*amon*) eine essentielle Rolle bei der Peptidprozessierung spielt. Wir demonstrieren, dass massenspektrometrisches Direktprofiling auch semiquantitativ möglich ist, was den Einsatz massenspektrometrischer Methoden für physiologische Fragestellungen in der genetisch ausgezeichnet zugänglichen Taufliege eröffnet.

Gefördert durch die DFG (WE 2652/2) und den Fonds der Chemischen Industrie

## **Scorpion pectine organs, chemosensors with glomerular primary projection areas**

Harald Wolf, Institute for Neurobiology, University of Ulm, D-89069 Ulm, Germany  
harald.wolf@uni-ulm.de

Glomeruli are dense, more or less globular neuropil areas in the central nervous system. They are characteristic structures of the primary projection areas of chemosensory, and particularly olfactory, sensory afferents. This has been shown in detail for the olfactory bulb of vertebrates, the antennal lobes of insects, and the olfactory lobes of decapod crustaceans (see list below for the latter two groups). In these animals it has been demonstrated that individual glomeruli receive specific input from usually just one type of chemosensors. Chemical cues – odors - are thus represented by particular patterns of excitation across an animal's glomeruli.

Here I showed that chelicerates, namely scorpions, possess glomeruli in the primary projection areas of their pectine appendages. The pectines are serially homologous to walking legs, much like insect and crustaceans antennae, but they are located behind the walking legs on the prosoma and oriented toward the substrate. The pectines of a new-world scorpion were studied as to their sensilla, nerve supply, and central nervous projections.

(i) Pectines and sensilla in *Vaejovis* are similar to those examined in old-world species previously, although *Vaejovis*' pectines are larger and equipped with more receptors. The specialized peg sensilla show ultrastructural features characteristic of arthropod chemo- and mechanoreceptors, with the chemosensory exceeding the mechanosensory neuron population about 11fold in number.

(ii) The motoneuron supply of the pectines resembles that of other limbs and apparently conforms to a general arthropod plan. Motoneuron somata occur in three ventral groups, the anterior and posterior ipsilateral, and the contralateral groups.

(iii) Pectine afferents terminate mainly in two ventromedial neuropil areas of the fused subesophageal ganglion mass. The larger posterior pectine neuropil shows a distinct glomerular and layered organization, reminiscent of insect antennal lobes and malacostracan olfactory lobes. Afferents enter the neuropil from its periphery, and output neurons leave through a central tract. Most projections show somatotopic organization, and several glomeruli exhibit GABA-like immunoreactivity, indicative of inhibitory synaptic interactions. The glomerular structure of the main pectine neuropil may indicate that such compartmentalisation is advantageous for the initial processing of chemosensory signals. The somatotopic projection of pectin receptors may be related to the use of the pectines in chemosensory orientation to substrate-bound chemicals, and in active sensing.

The list below summarizes features that are common and characteristic of insect and malacostracan antennal lobes, according to Schachtner and coworkers (Schachtner J, Schmidt M, Homberg U (2005) Organization and evolutionary trends of primary olfactory brain centers in Tetraconata (Crustacea + Hexapoda). *Arthropod Struct Dev* 34: 257-299). The features shown in bold are also present in the scorpion pectine neuropils, at least partly where set in italics. The rest are as yet unknown.

List of (syn-) apomorphies in olfactory or antennal lobes (OL/AL)

**(i) Primary olfactory centers are organized as spheroidal brain areas composed of glomerular modules embedded in coarse neuropil.**

**(ii) Olfactory receptor neurons** are cholinergic, have uniglomerular terminals, and **penetrate the OLs/ALs in a radial manner from the periphery.**

**(iii) Local interneurons are inhibitory; they are *GABAergic*** or histaminergic and contain neuropeptides as cotransmitters.

(iv) The olfactory centers (OL/AL) are innervated by a prominent single serotonergic neuron with multiglomerular arborisations.

(v) Projection neurons from the olfactory centers (IACT/OGT) pass the central body posteriorly and link the OL/AL with neuropils in the protocerebrum (lateral horn and MB/HB and medulla terminalis).