

4 DIE BEDEUTUNG DER CIRCADIANEN RHYTHMIK IN DER ZEITLICHEN ORGANISATION DES WINTERSCHLAFS

4.1 Einleitung

Wie im letzten Kapitel gezeigt wurde, kann das Winterschlafmuster einer Tierart sehr stark von den Haltungsbedingungen abhängen. In diesem Kapitel soll nun die zeitliche Organisation der WS und ZSN im Winterschlafmuster und die Modifikation dieses Timings durch die Haltungsbedingungen untersucht werden. In der Allgemeinen Einleitung (Kapitel 1.4.1) wurde bereits ausgeführt, daß die zeitliche Abfolge der WS und ZSN innerhalb des Winterschlafs einer Tierart zum einen durch die Haltungsbedingungen (exogene Faktoren), zum anderen durch endogene Faktoren bedingt sein kann. In Laboruntersuchungen unter konstanten Bedingungen konnte nachgewiesen werden, daß endogene Faktoren alleine eine periodische Abfolge von WS und ZSN kontrollieren können. Diese Erkenntnis führte zur Postulierung von zwei Hypothesen zur endogenen Steuerung des Timings im Winterschlafmusters: Die Dauer der WS bzw. die Frequenz der Austritte aus den WS kann (1.) durch einen homöostatischen Prozeß bestimmt sein, oder (2.) durch einen endogenen Rhythmus kontrolliert werden (siehe auch Allgemeine Einleitung, Kapitel 1.4.1). Beide Hypothesen werden durch eine Reihe von Befunden unterstützt, die hier kurz dargestellt werden sollen.

4.1.1 Hinweise auf eine metabolische Steuerung des Timings im Winterschlaf

Um Belege für das erste Modell zu finden, wurde nach Indizien für ein essentielles Nachführen von Nährstoffen bzw. eine Abgabe oder einen Abbau von akkumulierten toxischen Endprodukten gesucht. Lapidar ausgedrückt wurde untersucht, ob das Tier den Torporzustand unterbrechen muß, um zu fressen bzw. auszuscheiden. Der ersten Erklärung widerspricht die Tatsache, daß viele Winterschläfer, z.B. Murmeltiere, über Fettreserven verfügen und den ganzen Winter über keine Nahrung zu sich nehmen (Davis 1976), aber trotzdem periodisch aus dem Winterschlaf "erwachen" (Arnold 1993). Der Hypothese eines Nährstoffmangels widerspricht auch der Befund, daß während der WS amerikanischer Erdhörnchen der mit Hilfe eines chronischen Katheters gemessene Glukose-Spiegel im Blut

nur langsam absank und sich erst durch die massive Wärmebildung am Ende der WS erschöpfte (Galster & Morrison 1975).

Auch für die Exkretion ließen sich keine überzeugenden Befunde demonstrieren. So war das "Erwachen" winterschlafender Murmeltiere nicht vom Dehnungsgrad der Blase abhängig (Dubois 1896). Ferner fand sich bei Messungen des Harnstoff-Spiegels im Blut sogar eine Abnahme der Konzentration im Verlauf eines Winterschlafschubs (Pengelley et al. 1971).

Torke & Twente (1977) beobachteten, für welche Aktivitäten eine amerikanische Erdhörnchenart die zwischen den WS gelegenen normothermen Phasen (Zwischenschub-Normothermie, ZSN) nutzt. Sie fanden, daß die Tiere 93,4 % der Zeit eingerollt in der typischen Winterschlafhaltung verbrachten. Alle anderen Verhaltensweisen traten wesentlich weniger häufig auf: 3,7 % wurden zum Arrangement des Nistmaterials aufgebracht, darauf folgten 1,8 % für Körperpflege ("grooming"), 0,9 % Explorationsverhalten und nur 0,2 % für die Nahrungsaufnahme; Ausscheidungsverhalten (Urinieren und Defäkation) wurde noch seltener beobachtet. Da man erwarten sollte, aus der Häufigkeit der Aktivitäten während der ZSN den Grund für die Unterbrechung des WS erkennen zu können, liefern diese Befunde keine Indizien für eine metabolische Auslösung der Austritte aus WS. Das Zeitbudget legt statt dessen nahe, daß trotz der Beendigung des Torpor auch in den Phasen der ZSN versucht wird, Energie einzusparen (Torke & Twente 1977).

Dieser Schluß wird auch durch neuere Arbeiten unterstützt, wonach Winterschläfer die meiste Zeit der ZSN im Schlaf verbringen (Daan et al. 1991, Trachsel et al. 1991, Larkin & Heller 1996, Strijkstra & Daan 1997). Die Autoren gehen davon aus, daß es im Winterschlaf durch den Entzug normalen Schlafs zu einer Störung der Homöostase kommt, die die Rückkehr zur Normothermie in periodischen Abständen auslöst. Während der ZSN kommt es zu einem "Erholungsschlaf" ("sleep rebound") der diese Störung wieder ausgleicht. In einem Diskussionsbeitrag der Befunde von Daan et al. (1991) und Trachsel et al. (1991) weist Berger (1993) jedoch darauf hin, daß die Dominanz von Schlaf während der ZSN auch als ein Versuch gewertet werden kann, nach der aus anderen Gründen erfolgenden Rückkehr aus einem WS, weiter Energie einzusparen.

Zwischen der T_b eines Winterschläfers und der Dauer seiner WS besteht ein enger Zusammenhang (Twente & Twente 1965b). Diese enge Relation und die zunehmende Irritabilität der Tiere, je länger ein WS andauert, wurde von Twente & Twente (1965a) als

ein Indiz gewertet, daß Austritte aus den WS durch einen homöostatischen Mechanismus ausgelöst werden. Die enge Relation zwischen der T_b und der WS-Dauer bestand jedoch nur in den zusammengefaßten Daten aller Tiere eines Versuchs. So konnte Strumwasser et al. (1967) zeigen, daß die Relation zwischen beiden Größen eines einzelnen Tieres über den gesamten Winter hinweg weniger überzeugend war und daher weitere Faktoren beteiligt sein müssen.

Zusammenfassend muß festgestellt werden, daß die Indizien für eine ausschließlich metabolische Steuerung des Winterschlafverhaltens bislang nicht sehr überzeugend sind.

4.1.2 Hinweise auf eine Steuerung des Timings im Winterschlaf durch eine biologische Rhythmik

In vielen Untersuchungen unter Anwesenheit eines LD konnten tageszeitliche Präferenzen der Eintrittszeiten in bzw. Austrittszeiten aus Torporphasen nachgewiesen werden (Folk 1957, Pohl 1967, Daan 1973, French 1977, Twente & Twente 1987, Fowler & Racey 1990, Canguilhem et al. 1994, Wollnik & Schmidt 1995). Es wurde daher vorgeschlagen, daß die Tagesrhythmik der normothermen T_b in veränderter Weise Bestand hat (Willis 1982).

Zusätzliche Indizien für eine Steuerung des Winterschlafs durch das circadiane System ergaben sich aus neuroanatomischen Studien. Während eines WS zeigte der SCN, der als Schrittmacher der CR der Säugetiere bekannt ist, im Verhältnis zu anderen Gehirnteilen eine verhältnismäßig hohe Stoffwechselrate (Kilduff et al. 1986, Kilduff et al. 1989). Eine Beteiligung des SCN an der zeitlichen Organisation des Winterschlafs wird weiterhin durch Experimente unterstützt, in denen Läsionen dieses Kerngebiets vorgenommen wurden. Diese führten beim Dsungarischen Zwerghamster bzw. einer amerikanischen Erdhörnchenart zwar nicht zum Ausbleiben von Tagestorpor bzw. WS, veränderten aber die zeitliche Organisation beider Verhaltensweisen in hohem Maße (Zucker et al. 1983, Ruby et al. 1989, Dark et al. 1990, Ruby & Zucker 1992, Zucker et al. 1993).

Im Gegensatz zu den bisher zitierten Untersuchungen fanden sich jedoch auch Indizien für ein Verschwinden der circadianen Rhythmik im Winterschlaf. So ließ sich während der WS kein circadianer Rhythmus der Konzentration von Melatonin im Pinealorgan (Epiphyse bzw. Zirbeldrüse) bzw. im Blutplasma von Murmeltieren und Goldhamstern nachweisen (Florant

et al. 1984, Vanecek et al. 1985, Jansky et al. 1989). In diesen Untersuchungen wurden jedoch die Meßwerte vieler Tiere zusammengefaßt, die zu verschiedenen Zeiten des Experiments getötet wurden. Die Vermischung der von Tier zu Tier verschiedenen Reaktionen könnte daher eine eventuell vorhandene individuelle Rhythmizität verborgen haben (Pohl 1987). Nach Beendigung der WS stiegen die Melatoninkonzentrationen wieder spontan an und befanden sich in der gleichen Phasenlage zu dem durch den WS unterbrochenen Zyklus (Jansky et al. 1989). Daher gehen Heller et al. (1989) davon aus, daß es sich bei den WS um die verlängerte Ruhephase eines abgewandelten circadianen Rhythmus handelt.

Damit sind auch die Befunde für eine ausschließliche Steuerung des Timings der WS und ZSN im Winterschlaf durch eine innere Rhythmik bislang nur punktuell und nicht vollständig befriedigend.

4.1.3 Einfluß von exogenen Faktoren bzw. Zeitgebern auf das Timing im Winterschlaf

Twente & Twente (1967) fanden keinen Einfluß von Licht bzw. Dunkelheit auf die Dauer von WS, während sie einen deutlichen Effekt hinsichtlich der T_a feststellten. Dieser enge Zusammenhang zwischen der T_a bzw. der T_b und der WS-Dauer wurde von vielen Studien bestätigt (z.B. Twente & Twente 1977, Geiser & Kenagy 1988).

Analog zum Tagesrhythmus der T_b homothermer Tiere (Refinetti & Menaker 1992b), sind auch im Winterschlaf Modifikationen der gemessenen Parameter, vor allem durch die Lichtverhältnisse bzw. durch die T_a der Haltungsbedingungen, zu erwarten. Unter einem Licht-Dunkel-Wechsel (LD) wurde meist eine Synchronisation einiger Parameter des Winterschlafmusters gefunden (vergleiche Kapitel 4.6). In einigen Fällen wurde jedoch auch eine Desynchronisation vom Zeitgeber LD festgestellt (Pohl 1987). Bei einer Haltung unter Dauerlicht (LL) oder im Dauerdunkel (DD) traten hingegen freilaufende endogene Circadianperiodizitäten auf (Pohl 1967, Daan 1973, French 1977).

Auch die T_a kann auf mehrere Arten auf die Periodizität eines circadianen Rhythmus einwirken. Wie in der homothermen Jahreszeit kann ein ausgeprägter Tagesgang der T_a auch im Winterschlaf als Zeitgeber fungieren und den endogenen Rhythmus mit der Umwelt synchronisieren (Lindberg 1974). Außerdem ist es möglich, daß die Taktfrequenz der

endogenen Rhythmik wie alle biologischen Prozesse temperaturabhängig ist (vergleiche Allgemeine Einleitung, Kapitel 1.2.5).

4.1.4 Hypothesen zur Steuerung des Timings im Winterschlaf durch eine endogene Rhythmik

Um den im Vergleich zur Homothermie völlig verschiedenen Verlauf der T_b im Winterschlaf durch eine innere Rhythmik des Tieres zu erklären, wurden im Wesentlichen drei bereits kurz in der Allgemeinen Einleitung (Kapitel 1.4.1) erwähnte Hypothesen vorgeschlagen (Abbildung 29):

1. Nach der ersten Hypothese ist die Taktfrequenz der "inneren Uhr" des Winterschläfers temperaturabhängig: Sie "tickt" bei der Abkühlung der T_b langsamer (Willis 1982). Die Dauer eines Winterschlafschubs ergibt sich aus dem unterhalb des Mittelwerts liegenden Anteils der Oszillation, und stellt eine verlängerte und vertiefte Ruhe- bzw. Schlafphase dar (Heller et al. 1989). Hierfür spricht die beobachtete Temperaturabhängigkeit der Dauer von WS, die einem Q_{10} -Wert von 2,4 entspricht [Berechnungen von Heller et al. (1989) aufgrund der Daten von Twente & Twente (1965b)]. Ein weiteres Indiz ist das Fehlen einer circadianen Rhythmik der Melatoninkonzentration während der WS (Jansky et al. 1989), die durch eine Verlängerung der Periode gedeutet werden kann (Heller et al. 1989).
2. Der zweiten Hypothese zufolge, ist die Oszillation der "inneren Uhr" temperaturkompensiert. Ein Austritt aus der Torporphase tritt nicht unbedingt nach jedem Zyklus, sondern nach einem mehr oder weniger langen, ganzzahligen Vielfachen der Periode der Oszillation auf ($N \cdot \tau$) (z.B. Menaker 1959, Menaker 1961, Pohl 1967). Auch unter der Anwesenheit eines Zeitgebers (z.B. LD) wird der endogene Rhythmus nicht synchronisiert, sondern läuft über den gesamten Winter frei (Pohl 1987, Pohl 1996). Der Eintritt in WS wird nach diesem Modell durch einen anderen Mechanismus ausgelöst.
3. Eine dritte Möglichkeit der Determination des Winterschlafmusters durch das circadiane System ergibt sich aus einer Festlegung der Torpordauer, dem jedesmal ein Zurücksetzen der Uhr während der normothermen Phasen folgt (Strumwasser et al. 1967). Unter Anwesenheit eines Zeitgebers (LD) kann die Oszillation während der normothermen Phase synchronisiert werden. Der Eintritt in einen WS erfolgt daher zu einer bestimmten

Phasenlage der Photoperiode, woraufhin der endogene Rhythmus freiläuft und den WS nach einem Intervall von $N \cdot \tau$ abbricht (Canguilhem et al. 1994). Diese Hypothese der Festlegung der Dauer von WS bestätigte sich in einer Laborstudie an einer amerikanischen Erdhörnchenart unter schwachem Dauer-Rotlicht und vergleichsweise hoher T_a (11-13 °C) (Grahn et al. 1994). Hier konnten für jeden längeren WS stabile Oszillationen der T_b (Amplitude < 1 °C) festgestellt werden, die von WS zu WS verschiedene individuelle circadiane Periodizitäten aufwiesen. Austritte aus WS traten während eines spezifischen Phasenwinkels der circadianen Oszillationen auf und waren mit einer Genauigkeit von 1 h voraussagbar (Grahn et al. 1994). Auch Zucker et al. (1993) berichteten in ihrem Review von circadianen Oszillationen während der Plateauphase von WS bei einer amerikanischen Erdhörnchenart, die unter einem LD und einer konstanten T_a gehalten wurden.

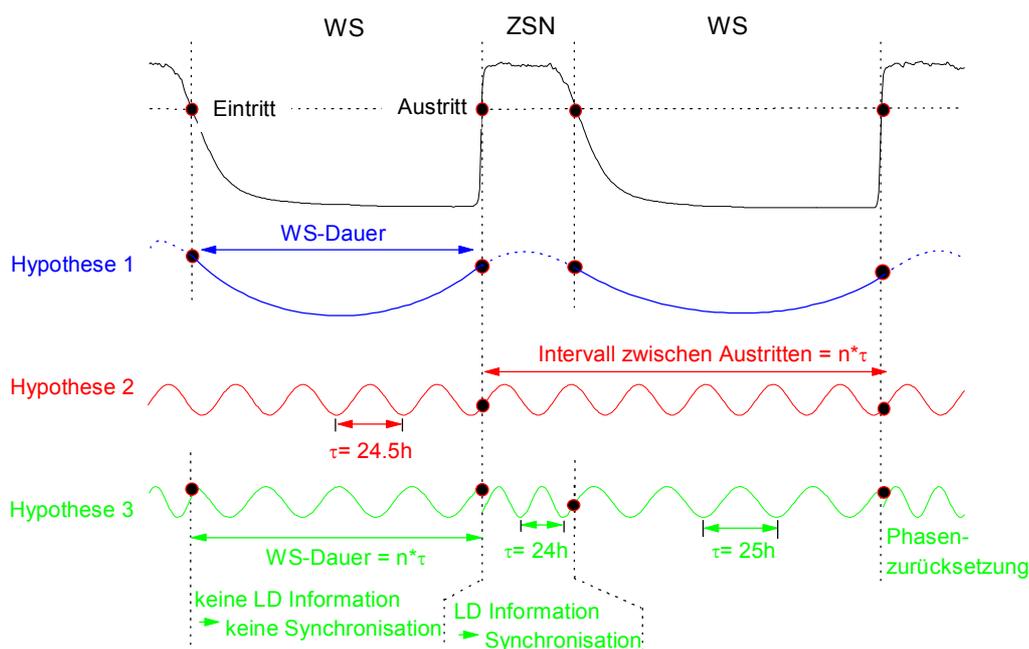


Abbildung 29: Die drei wichtigsten Hypothesen zur Steuerung des Winterschlafmusters durch das circadiane System

Nach der Hypothese 1 stellt ein Winterschlafschub (WS) den temperaturbedingt verlangsamten Schwingungsanteil unterhalb des Mittelwertes einer circadianen Oszillation dar (Ruhephase). Die Hypothese 2 geht von einem kontinuierlich freilaufenden und temperaturkompensierten circadianen Rhythmus aus, der die Intervalle zwischen den Austritten aus WS determiniert. Ein Austritt aus einem WS wird nicht nach jedem Zyklus ausgelöst, sondern nach einem ganzzahligen Vielfachen der Periodenlänge ($n \cdot \tau$). Der Hypothese 3 folgend wird die WS-Dauer durch einen freilaufenden, temperaturkompensierten Mechanismus gesteuert. Nach dem Eintritt in einen WS beginnt diese Uhr freizulaufen und terminiert den WS nach einem ganzzahligen Vielfachen der Periodenlänge ($n \cdot \tau$). In der Zwischenschub-Normothermie

(ZSN) wird der Rhythmus zurückgesetzt und unter Anwesenheit eines Zeitgebers eventuell synchronisiert.
Weitere Abkürzungen: (LD) Licht-Dunkelwechsel.

Die wenigen bislang vorliegenden Arbeiten zur zeitlichen Organisation des Winterschlafs beim Europäischen Feldhamster ergeben ein widersprüchliches Bild. In einer früher am Lehrstuhl Verhaltensbiologie der Universität Konstanz durchgeführten Diplomarbeit, die in einem Freigehege unter halbnatürlichen Bedingungen durchgeführt wurde (Schmidt 1992, Wollnik & Schmidt 1995), fand sich eine tagesperiodische Organisation nur für die Eintrittszeiten in WS, während sich für die Austrittszeiten Indizien für eine Determination durch einen freilaufenden, temperaturkompensierten Rhythmus fanden (Abbildung 29, Hypothese 2). Im Gegensatz hierzu ergab sich in der Laborstudie von Canguilhem et al. (1994) zwar ebenfalls eine Tagesperiodik der Eintritte in Winterschlafschübe, die Autoren fanden jedoch über einen speziell entwickelten Kontingenz-Test Indizien für eine Determination der WS-Dauer durch einen temperaturkompensierten circadianen Rhythmus (Abbildung 29, Hypothese 3).

4.1.5 Fragestellungen

Durch die Untersuchung der Winterschlafmuster von 28 Europäischen Feldhamstern und den Vergleich verschiedener Haltungsbedingungen, sollte zunächst nach Belegen für eine Steuerung des Timings im Winterschlaf durch eine innere Rhythmik, insbesondere durch die circadiane Rhythmik (CR) gesucht werden. Weiterhin sollte durch einen Vergleich der verschiedenen Haltungsbedingungen, die Bedeutung der Zeitgeber LD und T_a -Zyklus auf verschiedene Parameter des Winterschlafmusters abgeschätzt werden. Falls sich eine wesentliche Beteiligung der CR im Timing des Winterschlafs belegen ließe, sollte zuletzt versucht werden zu entscheiden, auf welche Weise die CR den Winterschlaf des Europäischen Feldhamsters strukturiert.

4.2 Spezielle Methoden

Eine in einer Zeitreihe verborgene Rhythmik kann durch zwei prinzipiell verschiedene Wege erfaßt werden. Zum einen kann die gesamte Zeitreihe in Autokorrelations- oder Periodogramm-Analysen eingegeben und auf rhythmische Komponenten geprüft werden (z.B. Enright 1965, Strumwasser et al. 1967, Daan 1973). Zum anderen kann das Timing (die zeitliche Organisation) diskreter Zeitpunkte untersucht werden, wenn sich innerhalb einer Zeitreihe distinkte Ereignisse, wie z.B. die minimale oder maximale T_b eines

Teilintervalls, oder das Unter- bzw. Überschreiten eines Schwellenwertes ausmachen lassen (z.B. der Schwellenwert von 30 °C für Eintritte in bzw. Austritte aus WS). Diese zweite Methode reduziert eine Zeitreihe jedoch erheblich und sollte nur angewendet werden, wenn die Analyse kontinuierlicher Zeitreihen nicht möglich ist (z.B. Pohl 1967, Gordon & Brown 1971, Lindberg 1974, French 1977, Pohl 1987, Wollnik & Schmidt 1995).

4.2.1 Untersuchungen kontinuierlicher Zeitreihen

Für die Untersuchung des kontinuierlichen Verlaufs der T_b wurde die Periodogramm-Analyse (Enright 1965) herangezogen, die sich als eine der genauesten Methoden zur Bestimmung der endogenen Periode (τ) in kontinuierlichen Temperaturregistrierungen erwiesen hat (Klemfuss & Clopton 1993). Das Prinzip einer Periodogramm-Analyse beruht darauf, die zu analysierende Zeitreihe zunächst in Teilintervalle zu zerlegen, die der hypothetischen Periodenlänge entsprechen (um z.B. eine Zeitreihe von 10 d auf eine Tagesperiodik zu untersuchen, wird sie in 10 jeweils 24,00 h lange Abschnitte untergliedert). Falls die Zeitreihe eine Rhythmicität besitzt und die Länge der Teilintervalle (Faltungsperiode) dieser Periodik entspricht, weisen alle Teilintervalle ein weitgehend übereinstimmendes Datenmuster auf, welches dem gemittelten Muster aller Teilintervalle entspricht. Entsprechen sich hingegen die Faltungsperiode und die in den Daten verborgene Periode nicht, so unterscheiden sich die Intervalle voneinander und ihrer Mittelung. Auf diese Weise können Unterschiede zwischen den Teilintervallen und deren Mittelung als Indikator gelten, ob die Länge der Teilintervalle der Periodik der gesamten Zeitreihe entspricht (Enright 1965). Dörrscheidt & Beck (1975) und Sokolove & Bushell (1978) erweiterten diese Methode (Abweichungsperiodogramm bzw. Chi-Quadrat-Periodogramm), um ein Signifikanzniveau für die Schätzung der einer Zeitreihe zugrundeliegenden Periode zu erhalten.

In der vorliegenden Arbeit wurde für die Bestimmung der Periodik kontinuierlicher Messungen der T_b das Chi-Quadrat-Periodogramm nach Sokolove & Bushell (1978) verwendet. Weisen hier die Teilintervalle eine hohe Übereinstimmung auf, so ergeben sich für die jeweilige Faltungsperiode hohe Amplituden, die sogenannten Q_p -Werte. Alle hypothetischen Perioden zwischen 1-32 h wurden entweder in einer Schrittweite von 5 min, die der zeitlichen Auflösung der Temperaturmessungen entspricht, oder Mittelwerten für

30 min bzw. 1 h getestet. In den Periodogrammen wird der Verlauf dieser Q_p -Werte dargestellt (z.B. Abbildung 30). Eine statistische Evaluierung der Q_p -Werte erfolgt durch das $p = 0,01$ Signifikanzniveau einer Chi-Quadrat-Verteilung mit $(\tau \cdot N_{\text{Mebintervalle/h}}) - 1$ Freiheitsgraden, die in den Periodogrammen meist als gepunktete Linie wiedergegeben ist.

Der Nachweis einer Periodik durch ein Periodogramm ist von der Länge der Zeitreihe abhängig. Theoretisch muß sie mindestens zweimal so lang wie die in der Zeitserie vermutete Periodizität sein ($2 \cdot \tau$). Wie ein Vergleich zwischen den Temperaturdaten eines normothermen Tages, die mehrfach hintereinander gesetzt wurden (simulierte Periodizität, Abbildung 30A) und einer ebenso langen realen normothermen Zeitreihe (Abbildung 30B) zeigte, reichen Zeitserien von $2 \cdot \tau$ meist nicht aus, um die einer Registrierung der T_b zugrundeliegende Periodik nachweisen zu können. Für einen sehr deutlichen Nachweis der 24 h-Periodik in den Zeitreihen waren zehn Tage bei der Simulation bzw. 30 Tage bei der realen Zeitreihe notwendig (Abbildung 30A, B).

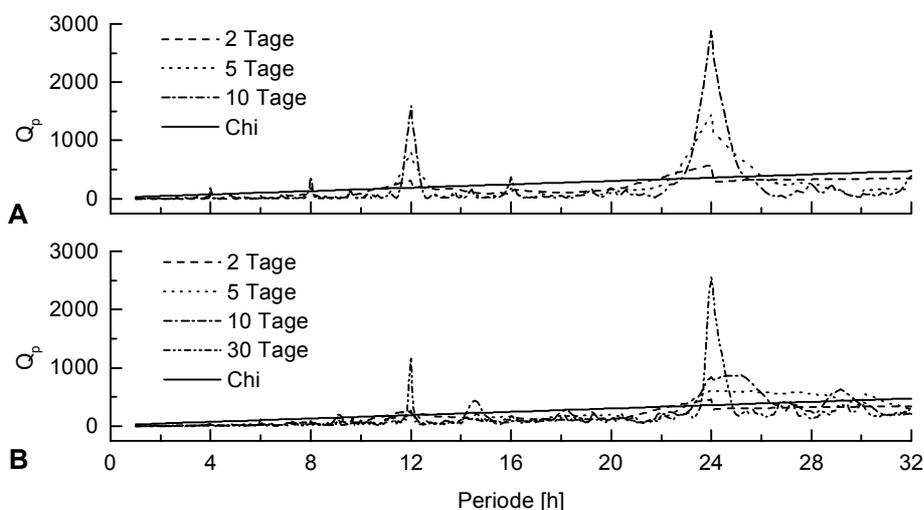


Abbildung 30: Test des Chi-Quadrat-Periodogramms für Registrierungen einer normothermen Körpertemperatur

In den Diagrammen sind jeweils auf der Abszisse die untersuchten Perioden (τ) von 1-32 h aufgetragen, während die Ordinate die für die einzelnen hypothetischen Perioden aus dem Periodogramm erhaltenen Amplituden (Q_p -Werte) darstellt. Die Legende erläutert die Linientypen der Kurven für die unterschiedlichen Längen der Zeitreihen (2 Tage, 5 Tage, 10 Tage und 30 Tage). Die mit Chi bezeichnete durchgezogene Linie zeigt das Signifikanzniveau von $p = 0,01$ einer Chi-Quadrat-Verteilung mit $\tau \cdot 12 - 1$ Freiheitsgraden.

A) Simulierte Zeitreihen: Eine Originalregistrierung des Verlaufs der Körpertemperatur eines Hamsters innerhalb eines Tages (Schrittweite der Registrierung 5 min) wurde 2, 5 und 10 fach hintereinandergelagert und mit dem Periodogramm auf Periodizität untersucht.

- B)** Reelle Zeitreihen: 2, 5, 10 und 30 Tage einer Originalregistrierung, beginnend mit dem gleichen Tag wie in (A). Da die Periodik auch mit einer 10 tägigen Zeitreihe nicht sehr scharf zu erkennen war, wurde eine 30 tägige Reihe hinzugefügt.

In den Autokorrelations-Analysen wird die auf eine Periodik zu überprüfende kontinuierliche Zeitreihe kopiert, der Ausgangsreihe überlagert und in einer dem Meßintervall entsprechenden Schrittweite verschoben. Befindet sich in der Zeitreihe eine Periodik, so ergeben sich hohe positive Autokorrelationskoeffizienten bei einer Verschiebung der überlagerten Zeitreihe um diese Periode bzw. ganzzahligen Vielfachen der Periode. Das gleiche Verfahren gilt für die Kreuzkorrelations-Analyse, in der jedoch zwei verschiedene Zeitreihen überlagert werden. Ergeben sich hier hohe Kreuzkorrelationen bei einer Verschiebung der überlagerten Zeitreihe um eine bestimmte Zeiteinheit bzw. ihre Vielfachen, dann ist dies ein Indiz auf eine übereinstimmende Periodik zwischen den beiden Datensätzen. Außerdem gibt die Verschiebungszeit ("time lag") Aufschluß darüber, welche Zeit vergeht, bis sich die Periodik des unabhängigen Datensatzes ("independent", "exogenous" oder "leading time serie") auf die dieser Periodik folgenden abhängigen Zeitreihe ("dependend", "endogenous" oder "lagged time serie") überträgt (Box & Jenkins 1976). Beide Korrelations-Analysen wurden mit dem Statistikprogramm Statistica (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA) berechnet.

Die Methoden für die Untersuchungen diskreter Zeitpunkte bzw. von diesen eingeschlossenen Intervallen werden in den Kapiteln 4.6.2 und 4.7.2 beschrieben.

4.2.2 Haltungsbedingungen

Um den Einfluß verschiedener Zeitgeber auf die zeitliche Organisation des Winterschlafs zu untersuchen, wurden die Tiere in dieser Doktorarbeit vier verschiedenen Haltungsbedingungen ausgesetzt (vergleiche Tabelle 1 im Kapitel 2.1):

1. Laborstudie unter einem standardisierten LD 8:16 (8 h Licht und 16 h Dunkelheit mit einem abrupten Übergang zwischen völliger Dunkelheit und voller Lichtstärke; Beginn der Lichtphase um 06:00 MEZ) und konstanter $T_a \approx 8 \text{ }^\circ\text{C}$ (LD1).
2. Laborstudie unter einem standardisierten LD 8:16 (Beginn der Lichtphase um 08:00 MEZ) und konstanter $T_a \approx 8 \text{ }^\circ\text{C}$ (LD2).
3. Laborstudie unter LL (konstantes schwaches Rotlicht), konstante $T_a \approx 8 \text{ }^\circ\text{C}$ (LL1).

4. Freigehegestudien: (a) an der Erdoberfläche unter einem natürlichen LD (natürlich wechselnde Tages- bzw. Nachtlänge mit einem kontinuierlicher Übergang von Tageslicht, Dämmerung und Dunkelheit) und einem deutlichen Tagesgang der T_a (nur Hamster #19 in der Teilstudie FG2); (b) im Erdbau in 0,6 m Bodentiefe, unter DD und natürlicher T_a ohne Tagesgang (alle anderen Hamster der Teilstudien FG1 und FG2).

In den Laborstudien LD1 und LD2 war nur der Zeitgeber LD vorhanden, während kein Tagesgang der T_a als Zeitgeber wirken konnte. Eine Synchronisation des Verlaufs der T_b der Tiere mit dem 24 h-Zyklus der Umwelt könnte daher entweder exogen durch den LD (Reiz-Reaktion) verursacht sein, oder die Wirksamkeit des LD als Zeitgeber nachweisen. Zwischen den beiden Studien bestand ein Phasenunterschied der Lichtphase von 2 h. Dies hatte den Zweck nachzuprüfen, ob eine feste Phasenlage zwischen der CR und dem LD bestand. In der Laborstudie LL1 wurde neben einem T_a -Zyklus auch der Zeitgeber LD ausgeschlossen. Falls keine unerkannten tagesperiodischen Umweltfaktoren auf die Tiere einwirkten, sollte hier keine Synchronisation der CR beobachtbar sein.

In den Freigehegestudien FG1 und FG2 waren die Tiere potentiell zwei Zeitgebern, dem natürlichen LD und einem z.T. extremen Tagesgang der T_a ausgesetzt. In 0,6 m Bodentiefe ließ sich jedoch keine Tagesperiodik der T_a nachweisen (vergleiche Abbildung 8A, B; Kapitel 2.1.3). Zudem ist anzunehmen, daß die Tiere in ihren Bauen keine Information über die natürliche Photoperiode (LD) hatten. Unter der Erdoberfläche waren die Hamster somit höchstwahrscheinlich keinem Zeitgeber ausgesetzt. Hamster #19 hingegen, der gezwungen war, an der Erdoberfläche zu überwintern, hatte Zugang zu beiden Zeitgebern (vergleiche Abbildung 43A, B; Kapitel 4.6.6.4).

4.3 Rhythmizität der Körpertemperatur im gesamten Winterschlaf

Die geordnete Abfolge aller WS und ZSN im Winterschlafmuster scheint bereits ein Indiz für eine Rhythmizität des Timings darzustellen. Daher sollte zunächst der gesamte Verlauf der T_b im Winterschlaf auf rhythmische Bestandteile untersucht werden. Hierfür wurde der Hamster #17 ausgewählt, der unter allen 28 untersuchten Hamster das regelmäßigste aller Winterschlafmuster aufwies (vergleiche Kapitel 3.3.3). Der Verlauf der T_b zwischen dem Eintritt in den ersten WS und dem Austritt aus dem letzten WS (8016 Meßwerte in einer

zeitlichen Auflösung von 30 min) wurde in einer Chi-Quadrat-Periodogramm-Analyse auf Periodizitäten zwischen 1-200 h bei einer Schrittweite von 30 min untersucht (Abbildung 31).

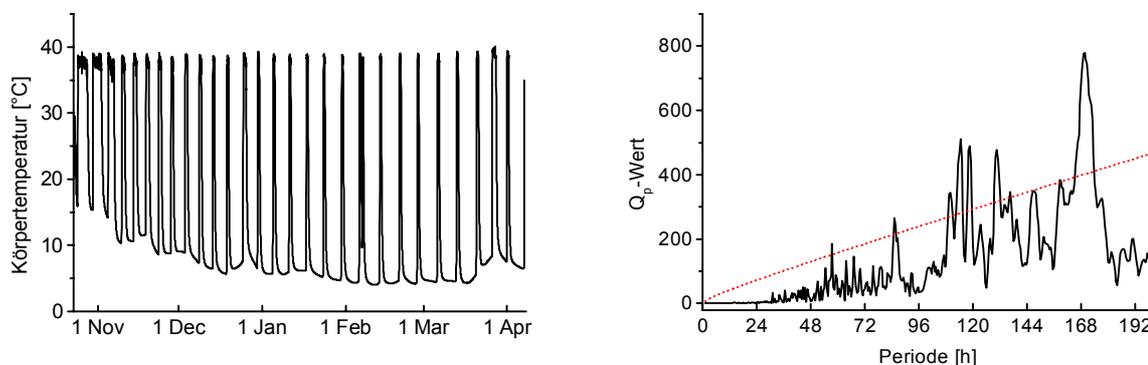


Abbildung 31: Periodogramm des gesamten Winterschlafmusters von Hamster #17 aus der Freigehegestudie FG2

Die linke Teilgrafik zeigt den Verlauf der Körpertemperatur (Winterschlafmuster) des Hamsters vom Eintritt in den ersten Winterschlafschub (WS) bis zum Austritt aus dem letzten WS. Die rechte Grafik stellt das Chi-Quadrat-Periodogramm dieser Zeitreihe (durchgezogene Linie) und das Signifikanzniveau von $p = 0,01$ einer Chi-Quadratverteilung mit τ^*2-1 Freiheitsgraden (gepunktete Linie) dar.

Das erste Maximum oberhalb des Signifikanzniveaus fand sich bei 57,5 h, es folgten signifikante Maxima bei 85; 114,5; 130,5 und das höchste Maximum bei 169,5 h. Anders als in den Resultaten von Canguilhem et al. (1994), die auf Binärform reduzierte Winterschlafmuster in die Periodogramm-Analyse eingaben (WS=1, ZSN=0), fand sich damit in der vorliegenden Untersuchung eine signifikante Periode unter 80 h. Dennoch gilt wie im Falle der Studie von Canguilhem et al. (1994) auch für das Ergebnis dieser Periodogramm-Analyse, daß keine einzelne circadiane Rhythmik für die zeitliche Organisation des gesamten Winterschlafs verantwortlich sein konnte.

Die für den Hamster #17 berechnete dominante Periode bei 169,5 h (Abbildung 31) entsprach keinem distinkten Intervall (vergleiche Tabelle 8 im Kapitel 4.7.8) des Winterschlafmusters, während die kleinste signifikante Periode (56,5 h) in etwa dem Median der WS-Dauer (56,58 h) und die Periode von 130,5 h dem Mittelwert der Intervalle zwischen Eintritt in (133,43 h) bzw. Austritten aus WS (137,25 h) entsprach. Damit zeigt sich in Analogie zu den Befunden von Canguilhem et al. (1994), daß sich die globalen Periodizitäten des WS-Musters durch die Periodogramm-Analyse nachweisen lassen, während sich keine Hinweise auf eine verborgene einheitliche CR ergibt. Da jedoch das

Gesamtmuster des Winterschlafs durch die extremen Veränderungen der T_b am Anfang und Ende der WS geprägt wird, sollen in den folgenden Kapiteln die kontinuierlichen Temperaturverläufe der ZSN und der WS getrennt analysiert werden.

4.4 Rhythmizität der Körpertemperatur in den normothermen Phasen des Winterschlafs

In einem "ungestörten" Winterschlafmuster sind die normothermen Phasen (Zwischenschub-Normothermie, ZSN) meist sehr kurz (z.B. Hamster #17: $24,58 \pm 18,87$ h; Abbildung 23). Sie zeigen eine mit dem Körpergewicht einhergehende inter- und intraspezifische Variabilität (French 1982, French 1985) und werden hauptsächlich ruhend bzw. schlafend verbracht (Torke & Twente 1977, Daan et al. 1991, Trachsel et al. 1991).

Bislang untersuchten nur wenige Studien das Vorhandensein einer CRT in den ZSN und demonstrierten konträre Ergebnisse. Während Jansky et al. (1989) und Wollnik & Schmidt (1995) keine Rhythmik im Verlauf der T_b während der ZSN des Gold- bzw. Feldhamsters im Labor bzw. Freigehege fanden, zeigte die T_b in den ZSN Europäischer Igel in einem Freigehege eine deutliche Tagesperiodik (Fowler & Racey 1990).

In der vorliegenden Arbeit wurde die Kontinuität der normothermen CRT ausgehend von der Homothermie vor dem ersten WS (prähibernale Normothermie), über die ZSN, bis hin zur ersten Normothermie nach der Beendigung des Winterschlafs (posthibernale Normothermie), beispielhaft an jeweils einen Hamster für jede der Haltungsbedingung untersucht. Die Beispiel-Tiere wurden danach ausgewählt, möglichst in jedem Monat ein für die Periodogramm-Analyse ausreichend langes normothermes Intervall aufzuweisen.

4.4.1 Rhythmizität im Licht-Dunkel-Wechsel und unter konstanter Umgebungstemperatur

Falls die CRT auch während der ZSN bestehen bleibt, sollte sich unter Anwesenheit eines LD eine Tagesperiodik zeigen lassen. Stellvertretend für die unter diesen Haltungsbedingungen beobachteten 7 Hamster zeigt die Abbildung 32A den Verlauf des Winterschlafs von Hamster #7 aus dem Versuchsteil LD2.

Im Dezember, Januar und Februar kamen ausschließlich sehr kurze ZSN vor, die die Anwendung des Chi-Quadrat-Periodogramms nicht ermöglichten. Um die ZSN dieser Monate dennoch untersuchen zu können, wurden die Einzelintervalle (z.B. d_1 , d_2 und d_3) durch Verbindungssegmente miteinander verknüpft, die aus dem letzten Wert des jeweils vorangegangenen Intervalls bestanden (Abbildung 32C). Die Länge dieser

Verbindungssegmente wurde derart gewählt, daß das Zeitraster zwischen den Intervallen erhalten blieb. Ein Beispiel soll dieses Verfahren veranschaulichen: d_1 endet am 10. Dezember um 23:35 MEZ, d_2 beginnt am 13. Dezember um 11:25 MEZ. Das Verbindungssegment, bestehend aus 5 min-Intervallen des letzten Meßwerts (35,53 °C), ist in diesem Falle 11 h 50 min lang.

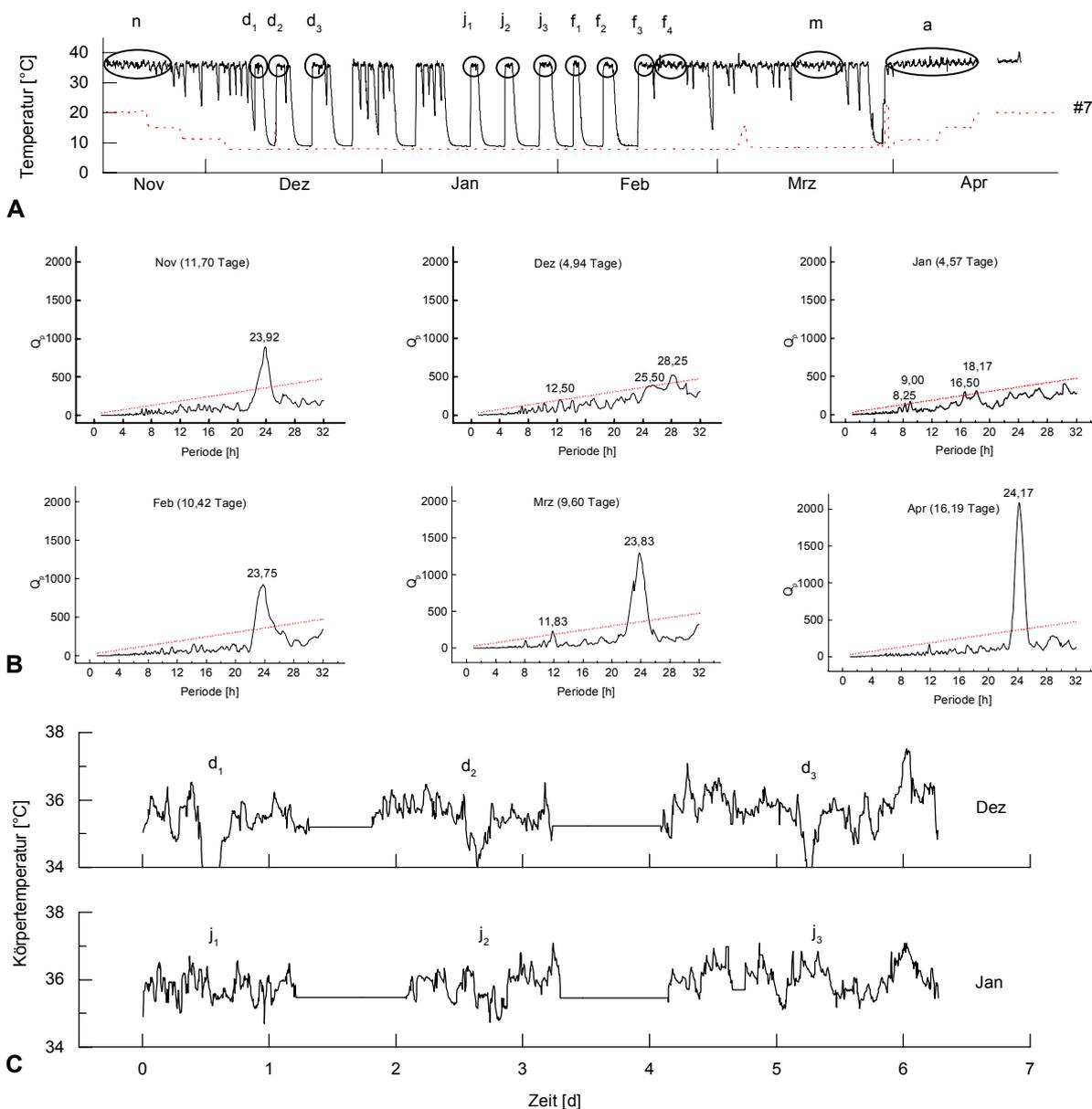


Abbildung 32: Test auf Periodizität des Körpertemperaturverlaufs in Normthermie eines Hamsters aus der Laborstudie unter einem Licht-Dunkelwechsel

- A)** Winterschlafmuster des Hamsters #7 (LD2). Die obere durchgezogene Kurve zeigt die Körpertemperatur - die untere gestrichelte Linie die Umgebungstemperatur. Die Ovale markieren die für die Periodogramme verwendeten Intervalle. Im Dezember ($d_1 - d_3$), Januar ($j_1 - j_3$) und Februar ($f_1 - f_4$) wurden mehrere kurze Intervalle zusammengesetzt. Abkürzungen: n (November), m (März), a (April).
- B)** Monatliche Periodogramme der ausgewählten Intervalle. Neben dem Kürzel für den Monat ist angegeben, wieviele Tage in die Berechnungen eingingen. Die durchgezogene Kurve zeigt die Amplituden (Q_p -Werte) der getesteten Perioden (τ) von 1-32 h in einer Schrittweite von 5 min. Die gepunktete Linie gibt das $p = 0,01$ Signifikanzniveau einer Chi-Quadrat-Verteilung mit $12 \cdot \tau - 1$ Freiheitsgraden wieder. Die Maximalwerte der über die Signifikanzgrenze ragenden Kurvenverläufe sind in den Diagrammen angegeben.
- C)** Verlauf der T_b im Dezember ($d_1 - d_3$) und Januar ($j_1 - j_3$). Da das Periodogramm kontinuierliche Datensätze benötigt, wurden die Einzelintervalle durch den letzten Wert des jeweils vorangegangenen Intervalls miteinander verknüpft. Die unter B) aufgeführte Dauer der Zeitreihen im Dezember und Januar versteht sich ohne diese Verbindungssegmente.

Im November (23,92 h), Februar (23,75 h), März (23,83 h) und April (24,17 h) zeigten sich in den Chi-Quadrat-Periodogrammen deutliche Maxima, die sehr nahe bei 24 h lagen (Abbildung 32B). Obwohl durch die Aneinanderreihung von Teilsegmenten längere Zeitserien entstanden, konnte in den Monaten, in denen zahlreiche WS auftraten (Dezember und Januar), keine deutliche Rhythmik nachgewiesen werden (Abbildung 32B). Lediglich im Februar, in dem eine längere Phase von ZSN vorkam (f_4 , Abbildung 32A), konnte ein deutliches Maximum bei 23,75 h festgestellt werden.

Die circadiane Regulation der normothermen T_b scheint also mit Ausnahme der Monate mit sehr kurzen ZSN durch den gesamten Winter hinweg aktiv und synchronisierbar zu sein. Da die T_a konstant gehalten wurde, liegt es nahe, daß die Synchronisation durch den LD verursacht wurde. Das Unvermögen, den Nachweis auf eine dem Verlauf der T_b unterliegende Rhythmik im Dezember und Januar zu führen, liegt höchstwahrscheinlich an der Kürze der Zeitreihen bzw. an der Aneinanderreihung von Einzelsegmenten. Es kann jedoch auch nicht ausgeschlossen werden, daß sich die vorher und nachher nachweisbare Rhythmik in diesen Monaten verlor. Daher wurden diese Zeitreihen zusätzlich einer Kreuzkorrelationsanalyse unterworfen.

Auch wenn in den sehr kurzen ZSN im Dezember und Januar mit der Periodogramm-Analyse keine Rhythmik nachzuweisen war, ergab sich dennoch der Eindruck, in den Registrierungen eine persistierende Periodik erkennen zu können (Abbildung 32C). In paarweisen Kreuzkorrelationen zwischen den einzelnen Zeitreihen (d_1, d_2, d_3 bzw. j_1, j_2, j_3) konnte dieser Eindruck statistisch erhärtet werden. Sowohl zwischen den Einzelintervallen eines Monats als auch zwischen den Intervallen verschiedener Monate fanden sich signifikante Kreuzkorrelationen ($r = 0,4 - 0,7$; $p < 0,01$). Damit ergaben sich unter einem LD, selbst in den kürzesten ZSN, Hinweise auf einen der Normothermie der aktiven Jahreszeit (Homothermie) völlig analoge synchronisierbare CRT.

4.4.2 Rhythmicität im Dauerlicht und unter konstanter Umgebungstemperatur

Der für die Laborstudie unter einem schwachen Dauerlicht (LL1) als Beispiel ausgewählte Hamster #10 zeigte bis auf eine längere Unterbrechung in der ersten Hälfte des Februars, von Dezember bis März nur sehr kurze ZSN (Abbildung 33A). Die Periodogramm-Analysen belegen im Oktober, November, Dezember und Februar freilaufende circadiane Perioden von 24,33 - 25 h (Abbildung 33B).

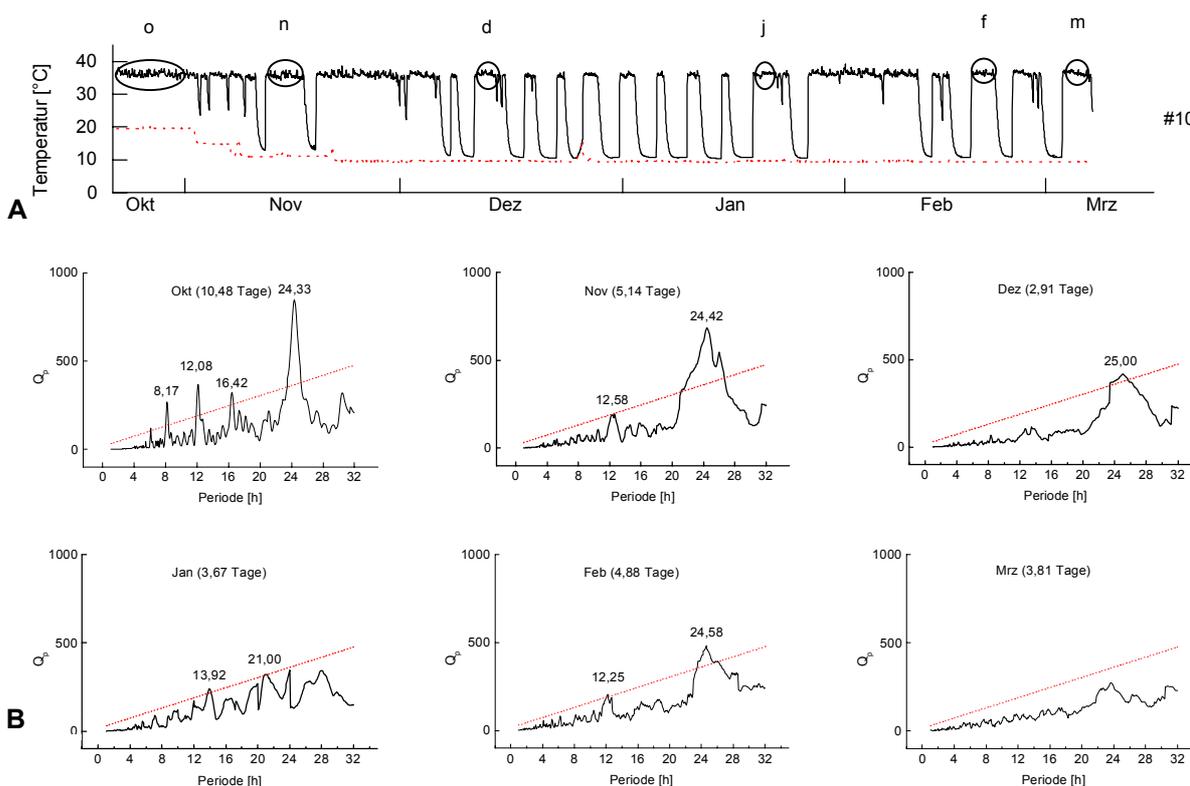


Abbildung 33: Test auf Periodizität des Körpertemperaturverlaufs in Normothermie eines Hamsters aus der Laborstudie unter Dauerlicht (LL)

- A)** Winterschlafmuster des Hamsters #10. Die obere durchgezogene Kurve zeigt den Verlauf der Körpertemperatur - die untere gestrichelte Linie zeigt den Verlauf der Umgebungstemperatur. Die Kreise und Ovale zeigen die Position der für die Periodogramm-Analyse verwendeten Intervalle. Abkürzungen: o (Oktober), n (November), d (Dezember), j (Januar), f (Februar), m (März).
- B)** Monatliche Chi-Quadrat-Periodogramme über die ausgewählten Zeitintervalle. Neben dem Kürzel für den Monat ist angegeben, wieviele Tage in die Berechnung der Periodogramme eingingen. Die durchgezogene Kurve zeigt die Amplituden (Q_p -Werte) der getesteten Perioden (τ) von 1-32 h in einer Schrittweite von 5 min. Die gepunktete Linie gibt das $p = 0,01$ Signifikanzniveau einer Chi-Quadrat-Verteilung mit $12 \cdot \tau - 1$ Freiheitsgraden an. Die Maximalwerte der über die Signifikanzgrenze ragenden Kurvenverläufe sind in den Diagrammen angegeben.

Da das Tier unter konstanten Licht- und Temperaturbedingungen gehalten wurde, kam eine Aneinanderreihung mehrerer ZSN wie unter einem LD nicht in Frage (vergleiche Abbildung 32), denn durch eine von 24 h abweichende, freilaufende circadiane Rhythmik, deren genaue Periodenlänge nicht bekannt ist, wäre bei einer Zusammensetzung des Zeitraster des subjektiven Tag-Nacht-Rhythmus des Tieres gestört worden.

Obwohl im Dezember und Februar nur 2,91 bzw. 4,88 Tage für das Periodogramm herangezogen werden konnten, fanden sich auch in diesen Monaten signifikante Perioden von 25,00 bzw. 12,25 und 24,58 h (Abbildung 33B). In den Monaten mit ausschließlich sehr kurzen ZSN (Januar und März) konnte keine Rhythmik nachgewiesen werden. Dennoch fanden sich auch unter LL signifikante paarweise Kreuzkorrelationen zwischen den ZSN verschiedener Monate (0,21 - 0,39; $p < 0,01$).

Damit ließ sich unter Abwesenheit der Zeitgeber LD und T_a in den meisten Zeitreihen des Beispiel-Hamsters für die Laborstudie LL1, eine CRT innerhalb der ZSN nachweisen. Wie es nach den Ergebnissen zahlreicher Studien für normotherme Tiere (Review: Refinetti & Menaker 1992b) zu erwarten war, zeigten unter Abwesenheit eines systematischen Zeitgebers auch die CRT innerhalb der ZSN eine freilaufende Periodik.

4.4.3 Rhythmizität im Freigehege

Im Freigehege waren die Tiere je nach dem ob sie sich in ihrem Bau aufhielten oder an die Oberfläche kamen entweder einem konstanten DD ohne T_a -Zyklus oder den sich unterstützenden Zeitgebern LD und T_a ausgesetzt (vergleiche Abbildung 43, Kapitel 4.6.6.4). Durch das 2-Antennensystem konnte ich feststellen, wann und für wie lange ein Tier seinen Bau verließ und sich an der Erdoberfläche aufhielt (Abbildung 34A, vergleiche auch Abbildung 53, Kapitel 4.7.7). Hiermit war es auch im Freigehege möglich, abzuschätzen unter welchen Haltungsbedingungen sich eine synchronisierte bzw. freilaufende Rhythmik einstellte oder fehlte. Als Beispiel für die geschilderten Versuchsbedingungen zeigt die Abbildung 34A das Winterschlafmuster eines der 18 Hamster aus den Freigehegestudien FG1 und FG2.

Im Oktober zeigte Hamster #25 ein Hauptmaximum bei 23,92 h und ein Nebenmaximum, das nahezu genau der halben Periode entsprach (12,00 h, Abbildung 34B). Da sich das Tier

innerhalb der 13 Tage dieses Intervalls regelmäßig an der Erdoberfläche aufhielt, zeigte sich eine nur um 5 min von 24,00 h abweichende Periode als dominanter Anteil des Periodogramms. Das Nebenmaximum das nahezu genau der Hälfte der Tagesperiodik entsprach, erklärt sich durch das für Feldhamster typische Vorhandensein zweier Aktivitätsmaxima pro Tag (vergleiche Abbildung 3, Kapitel 1.2.5).

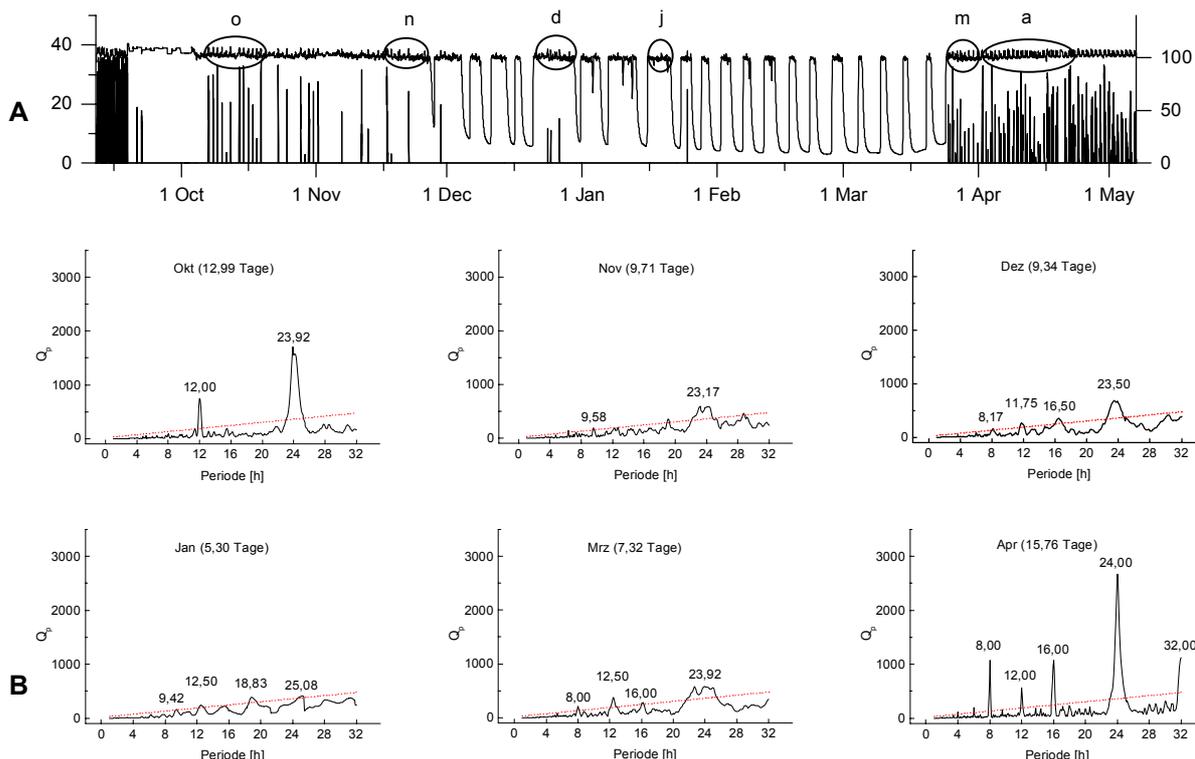


Abbildung 34: Test auf Periodizität des Körpertemperaturverlaufs in Normthermie eines Hamsters aus der Freilandstudie FG2

- A)** Winterschlafmuster des Hamsters #25. Das Liniendiagramm zeigt den Verlauf der Körpertemperatur (T_b ; linke Ordinate; Einheit: $^{\circ}\text{C}$). Zu Beginn der Messungen war die Antenne im Boden des Käfigs defekt, daher konnte die T_b des Hamsters nur an der Erdoberfläche registriert werden. Die Säulen stellen die Aufenthaltszeiten des Tieres an der Erdoberfläche dar (rechte Ordinate; Einheit: % eines Meßintervalls von 30 min). Die Ovale zeigen die Position der für die Periodogramm-Analyse verwendeten Intervalle. Im Februar konnten ausschließlich sehr kurze normotherme Intervalle registriert werden, die die Anwendung des Chi-Quadrat-Periodogramms nicht zuließen. Abkürzungen: o (Oktober), n (November), d (Dezember), j (Januar), m (März), a (April).
- B)** Monatliche Chi-Quadrat-Periodogramme der ausgewählten Zeitintervalle. Neben dem Kürzel für den Monat ist angegeben, wieviel Tage in die Berechnung der Periodogramme eingingen. Die durchgezogene Kurve zeigt die Amplituden (Q_p -Werte) der getesteten Perioden (τ) von 1-32 h in einer Schrittwerte von 5 min. Die gestrichelte Linie gibt das Signifikanzniveau von $p = 0,01$ einer Chi-Quadrat-Verteilung mit $12 \cdot \tau - 1$ Freiheitsgraden an (12 Meßintervalle / h). Die Maximalwerte der über die Signifikanzgrenze ragenden Kurvenverläufe sind in den Diagrammen angegeben. Im Oktober, März und April war das Tier häufig und regelmäßig - in den Monaten November und Dezember nur spärlich und unregelmäßig an der Erdoberfläche. Im Januar befand sich der Hamster weitgehend im Dauerdunkel, da er nur einmal für kurze Zeit an die Erdoberfläche kam.

Im November, unmittelbar vor dem Einsetzen des ersten WS, konnte während eines Zeitraums von nahezu 10 Tagen nur eine undeutliche CRT nachgewiesen werden. Im Bereich circadianer Rhythmen fand sich lediglich ein breites Maximum, das bei 23,17 h einen wenig herausragenden Maximalwert aufwies. Durch die Registrierung der Aufenthaltszeiten des Tieres an der Erdoberfläche (Abbildung 34A) konnte gezeigt werden, daß sich Hamster #25 in der letzten Woche vor dem Einsetzen des Winterschlafs nur sehr spärlich und unregelmäßig aus seinem Bau hinaus bewegte und somit nur selten den natürlichen LD oder die tagesperiodisch schwankende T_a an der Erdoberfläche wahrnehmen konnte. Unter der Annahme einer im Winterschlaf persistierenden CRT, wäre unter Ausschluß beider Zeitgeber eine freilaufende CRT zu erwarten gewesen. Es erscheint daher möglich, daß die T_b bereits vor dem Einsetzen des ersten WS ihre normale Koppelung an die CR verliert oder daß die CR insgesamt ausgesetzt ist. Andererseits zeigt auch die 10-tägige Testreihe eines realen normothermen Intervalls aus der homothermen Jahreszeit eines Hamsters in der Abbildung 30B (Kapitel 4.2.1) ein ähnlich undeutliches Maximum im circadianen Bereich. Daher läßt das Unvermögen, eine deutliche CRT im Vorfeld des Winterschlafs nachzuweisen, keine eindeutige Interpretation zu.

Nachdem das Tier bereits 5 WS gezeigt hatte, kam es im Dezember zu einer ca. 10 Tage langen ZSN. Innerhalb dieses Zeitraums kam der Hamster #25 viermal (jeweils zweimal am 24. und 26.12.) für insgesamt ca. 35 min an die Erdoberfläche (Abbildung 34A). Das Periodogramm ergab eine deutlichere CRT als im November mit einem breiten Maximum bei 23,50 h. Durch die geringe Amplitude des breiten Maximums, weicht dieser Wert nicht deutlich von 24 h ab. Es ist anzunehmen, daß die kurze Zeit an der Erdoberfläche zu einer Resynchronisation der CRT mit den Umweltzyklen führte. Bislang muß aber offen bleiben, ob die Aktivität des Tieres den zuvor von der T_b entkoppelten oder ganz ausgesetzten CR wieder aktiviert hat.

Im Januar stand lediglich eine ca. 5 Tage lange ZSN für die Periodogramm-Analyse zur Verfügung (15.1. - 20.1.1996). Das Tier befand sich während dieses Intervalls ausschließlich in seinem Bau, den es seit seinem letzten Aufenthalt an der Erdoberfläche am 26.12.1996 nicht mehr verlassen hatte (Abbildung 34A). Das Periodogramm zeigte keine

erkennbare Rhythmik (Abbildung 34B), was jedoch auch durch die Kürze des Intervalls bedingt sein konnte.

Im Februar konnte kein Periodogramm berechnet werden, da die ZSN ausschließlich kürzer als 2 Tage waren (Abbildung 34A). Ein Zusammensetzen mehrerer ZSN war nicht möglich, da beim Fehlen eines periodisch einwirkenden Zeitgebers, analog der Laborstudie LL1, eine freilaufende CRT erwartet werden konnte, dessen Periodik nicht bekannt ist.

Nach Beendigung des Winterschlafs zeigte sich im März zunächst eine undeutliche Periodik (Abbildung 34B), die sich jedoch auf verschiedene Weise erklären läßt. Zum einen zeigte das Tier ein sehr vielschichtiges Verhalten: In den ersten normothermen Tagen nach dem letzten WS blieb das Tier zunächst in seinem Bau. Anschließend kam es sehr häufig an die Erdoberfläche, um seine Futterspeicher aufzufüllen und seinen Bau zu erneuern (Abbildung 34A). In der ca. 7 Tage langen Zeitreihe mischten sich daher eventuell Intervalle mit einer freilaufenden CRT mit Zeiten, in denen wahrscheinlich eine Tagesperiodik vorlag. Andererseits könnte die CRT bis zum ersten Erscheinen des Tieres an der Erdoberfläche ausgesetzt oder entkoppelt gewesen sein und sich erst durch die Aktivität des Tieres und die Wahrnehmung der Zeitgeber wieder eingestellt haben. Nach dieser Übergangsphase zwischen Winterschlaf und Homothermie im März, stellte sich mit einem regelmäßigen Aufenthalt des Tieres an der Erdoberfläche im April (Abbildung 34A) wieder eine sehr deutliche Tagesperiodik der T_b ein (Abbildung 34B).

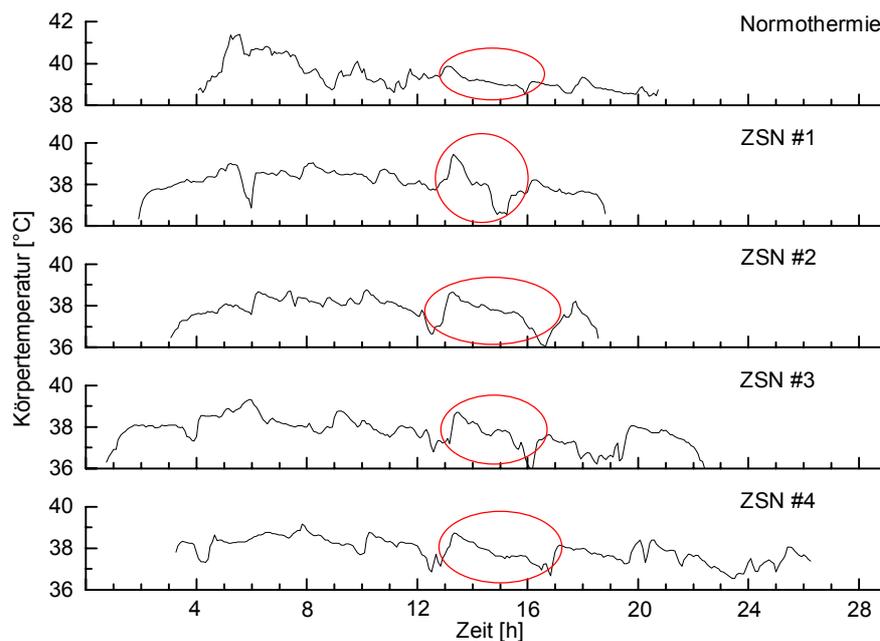


Abbildung 35: Stabilität des Körpertemperaturmusters in kurzen ZSN

Wie bereits in Abbildung 32C gezeigt wurde, weist der Verlauf der Körpertemperatur (T_b) in nahezu allen Intervallen der Zwischenschub-Normothermie (ZSN) eine hohe Übereinstimmung auf. Der hier als Beispiel gewählte Hamster #17 zeigte den ganzen Winter über ausschließlich sehr kurze Intervalle der ZSN (Vergleiche Abbildung 23), die nicht mit dem Chi-Quadrat-Periodogramm auf eine dem Muster der T_b zugrunde liegende Periodizität untersucht werden konnten. Paarweise Kreuzkorrelationen zwischen dem ganz oben dargestellten Muster aus der Normothermie vor dem ersten Winterschlafschub (prähibernale Normothermie) und den einzelnen Intervallen der ZSN ergaben Werte zwischen $r = 0,37$ und $0,58$; zwischen den einzelnen Phasen der ZSN von $r = 0,45$ bis $0,61$. Alle Korrelationen sind auf dem Niveau von $p < 0,001$ signifikant. Durch die Fähigkeit zur Mustererkennung gelingt es dem menschlichen Auge z.B. in den durch die Ovale umgrenzten Mustern eine Ähnlichkeit zu erkennen, deren quantitative Analyse durch eine Frequenz- und Amplitudenmodulation erschwert wird.

Einige Tiere der Freilandstudie zeigten den ganzen Winter über ausschließlich kurze ZSN wie sie bei Hamster #25 im Februar vorkamen (z.B. Hamster #17, #20 und #21; Abbildung 23). In diesen Fällen fanden sich über den gesamten Winter keine Zeitreihen, die die Anwendung des Chi-Quadrat-Periodogramms erlaubt hätten. Quantitative Untersuchungen auf eine Rhythmik in diesen kurzen ZSN konnten daher nur durch einen paarweisen Vergleich der Muster des T_b -Verlaufs erfolgen. Wie bereits zuvor für die Laborstudien unter einem LD, ergaben sich auch hier recht hohe paarweise Kreuzkorrelationen zwischen den einzelnen Zeitreihen. Damit zeigt sich, daß der Verlauf der T_b auch in diesen kurzen ZSN, über den gesamten Winter hinweg eine hohe Konstanz aufweist (Abbildung 35).

Der Vergleich zwischen den T_b -Mustern der ZSN und der Normothermie vor Beginn des Winterschlafs erbrachte ebenfalls hohe Kreuzkorrelationen und belegt die Kontinuität eines

endogenen Rhythmus der normothermen T_b von der prähibernalen Normothermie in die kurzen Phasen der ZSN hinein (Abbildung 35). Außer dieser quantitativ faßbaren Ähnlichkeit zwischen den untersuchten Temperaturverläufen erscheint es auch eine qualitative Ähnlichkeit zwischen den Mustern der ZSN und der prähibernalen Normothermie zu geben. Als Orientierungshilfe wurde in der Abbildung 35 ein kurzer Abschnitt in jedem der fünf Muster durch ein Oval markiert. Für das menschliche Auge scheint es eine Übereinstimmung dieser Kurvenverläufe zu geben, obwohl das Temperaturmuster in beiden Dimensionen (Frequenz und Amplitude) gedehnt oder gestaucht sein kann.

4.4.4 Diskussion und Schlußfolgerungen

In allen Teilstudien dieser Doktorarbeit fanden sich Indizien für eine circadiane Periodik der T_b in den ZSN. Unter Anwesenheit eines oder mehrerer Zeitgeber zeigte sich eine Tagesperiodik, ohne Zeitgeber dagegen eine freilaufende circadiane Rhythmik. Die Kontinuität der CRT in den ZSN ist ein erster Hinweis darauf, daß die Thermoregulation auch im Winter von der CR beeinflußt wird.

In den wenigen Studien, die bislang die Rhythmik der T_b in den ZSN untersuchten, fanden sich widersprüchliche Ergebnisse. Jansky et al. (1989) berichteten von einer Auflösung der CRT in ultradiane Oszillationen mit einer Periodenlänge von 2-3 h, nachdem Goldhamster für mehr als 10 Wochen der Kälte ausgesetzt worden waren. Zur Darstellung dieses Befundes zeigten die Autoren zwei ca. 4 d lange Registrierungen der T_b zweier Goldhamster, die unter LD 16:8 in der Wärme bzw. LD 16:8 in der Kälte gehältert wurden. Eine nähere Inspektion dieser Abbildungen zeigte neben den dominanten ultradianen Anteilen der Temperaturaufzeichnungen auch eine undeutlichere circadiane oder tagesperiodische Komponente. Leider verwiesen die Autoren nicht darauf, wieviele Zeitreihen sie mit der Hilfe welcher Analyse-Methode verglichen hatten, um zu dem Schluß zu gelangen, daß keine CRT feststellbar wäre. Auch die Befunde von Grahn et al. (1994), die in einer Laborstudie des Winterschlafs einer amerikanischen Erdhörnchenart (*Spermophilus*) eine Auflösung bzw. Periodenverkürzung der CRT unmittelbar vor Beginn und nach der Beendigung des Winterschlafs feststellten, sind für die Diskussion der

vorliegenden Ergebnisse nicht direkt vergleichbar, da sie nicht die Rhythmik innerhalb der ZSN untersuchten.

In Einklang mit den Resultaten der vorliegenden Arbeit fand Pohl (1967) in seiner Laborstudie am Siebenschläfer (*Myoxus glis*) eine durch den LD synchronisierte Aktivität der Tiere während der ZSN. Im Unterschied zu den hier diskutierten Ergebnissen, wurde in dieser Studie jedoch ausschließlich die tageszeitliche Position eines einzelnen Zeitpunktes der Aktivitätsmessungen (Mittelpunkt der Aktivität, "midpoint of activity") untersucht. Im Gegensatz hierzu zeigte sich in einer späteren Arbeit des Autors ab November eine Auflösung der zuvor deutlich erkennbaren Periodik der lokomotorischen Aktivität Türkischer Hamster bei einer T_a von 19 °C (Pohl 1987). Da jedoch jeweils 2 Wochen lange Aufzeichnungen der Aktivität in eine Chi-Quadrat-Periodogramm-Analyse eingegeben wurden und in dieser Zeit bereits einige kurze WS aufgetreten waren, die die normothermen Phasen unterbrachen, steht dies nicht im Widerspruch zu den Befunden der vorliegenden Arbeit. In der genannten Studie von Pohl (1987) bestätigte sich das Fortbestehen einer Periodik bei einer weiteren Abkühlung der Laborräume auf 10 °C, infolge dessen eine Periodizität distinkter Punkte (Anfang und Ende der Aktivität, vergleiche Kapitel 4.6) innerhalb der ZSN aufgefunden wurde.

Eine systematische Analyse der Rhythmik innerhalb des Gesamtverlaufs der T_b während der ZSN wurde nur in den Freigehegestudien von Fowler & Racey (1990) für den Europäischen Igel und Wollnik & Schmidt (1995) für den Europäischen Feldhamster vorgenommen. Ohne einen akkuraten Periodizitätstest angewendet zu haben, schloßen Fowler & Racey (1990) über einen Vergleich des Verlaufs der monatlichen T_b -Mittel und der zeitlichen Verteilung der Temperaturmaxima auf eine das ganze Jahr über bestehen bleibende CRT der normothermen T_b . Lediglich im Dezember und Januar fanden sie keinen Tagesrhythmus der T_b .

Die Studie von Wollnik & Schmidt (1995) untersuchte hingegen, wie die hier vorliegende Arbeit, den Verlauf der T_b in den ZSN Europäischer Feldhamster unter Verwendung des Chi-Quadrat-Periodogramms zur Evaluierung einer Rhythmik. Von November bis Januar konnten die Autoren keine CRT nachweisen. Da der von Wollnik & Schmidt (1995) untersuchte Hamster #3 ausschließlich sehr kurze ZSN zeigte, wurden mehrere ZSN aneinandergereiht, um ausreichend lange Zeitreihen für die Anwendung des Chi-Quadrat-Periodogramms zu erzeugen (Wollnik, persönliche Mitteilung). Dennoch gingen wesentlich

weniger Tage in die Berechnung der Periodogramme dieser Monate ein, als in den Monaten vor und nach dem Winterschlaf. Da der Nachweis einer verborgenen Rhythmik jedoch von der Länge einer Zeitreihe abhängig ist (vergleiche Abbildung 30; Kapitel 4.2.1), kann das Fehlen einer CRT innerhalb der ZSN in der Studie von Wollnik & Schmidt (1995) durch die Kürze der Zeitreihen bedingt sein. Eine weitere Fehlerquelle könnte im Aneinanderreihen der ZSN eines Monats zu suchen sein. Obwohl die Tiere keine tiefen Erdbauten beziehen konnten, sondern in relativ oberflächlichen Nestboxen überwintert hatten, legt das ungestörte Winterschlafmuster nahe, daß die Tiere diese nie verließen. Es ist daher möglich, daß die CRT in den ZSN freilief und somit nicht fehlerfrei verknüpfbar war. Eine schon wegen der kurzen Zeitreihe schwer nachweisbare Periodik könnte dadurch weiter verschleiert worden sein.

Die Befunde der hier vorgestellten Arbeit können jedoch auch anders interpretiert werden. Nur in den Freigehegestudien der vorliegenden Untersuchung konnte mit Sicherheit überprüft werden, wann die Tiere ihr Hibernaculum verließen und damit einem oder mehreren Zeitgebern ausgesetzt waren. Zusätzlich wurde damit eine grobe Abschätzung der lokomotorischen Aktivität der Tiere möglich. Unter Berücksichtigung dieser Faktoren könnten die Befunde für den Hamster #25 auch als ein Hinweis interpretiert werden, daß die CRT in Analogie zur CRA in der Studie von Pohl (1987) im Winterschlaf ausgesetzt ist oder derartig modifiziert vorliegt, daß sie kaum eine Ähnlichkeit mit der typischen CRT der Homothermie aufweist (Abbildung 34B; November, Januar und März). Im Dezember könnte die lokomotorische Aktivität des Tieres und der Einfluß von Zeitgebern die Auflösung oder Maskierung der CRT kurzfristig unterbrochen haben. Da in den anderen Versuchsteilen weder eine Abschätzung der lokomotorischen Aktivität, noch der Aufenthaltszeiten außerhalb des Hibernaculums möglich waren, muß offen bleiben, ob auch die in diesen Teilstudien vorgefundenen Hinweise auf eine in den ZSN weiterbestehende CRT von der Aktivität der Tiere außerhalb des Hibernaculums abhängen.

Auch wenn man dieser Interpretation folgt, bedeutet dies nicht zwangsläufig, daß eine Auflösung der CRT angenommen werden muß. In vielen Studien zeigte sich eine starke Koppelung der CRT zur CRA (vergleiche Abbildung 3; Kapitel 1.2.5), der auch unter konstanten Haltungsbedingungen (DD bzw. LL und konstante T_a) fortbestand (z.B. Honma & Hiroshige 1978). Andere Studien belegten, daß Goldhamster ohne Zugang zu einem

Laufzeit eine CRT geringerer Amplitude aufweisen (Refinetti & Menaker 1992c). Da Winterschläfer die ZSN vor allem ruhend (Torke & Twente 1977) bzw. schlafend (Daan et al. 1991) verbringen, ist es möglich, daß es nur in den ZSN, die durch eine echte lokomotorische Aktivität gekennzeichnet sind, zu einer nachweisbaren Ausbildung der CRT kommt.

Ein weiteres Indiz dafür, daß eine, wenn auch verglichen zur Homothermie undeutlichere CRT in den ZSN der Heterothermie Bestand hält, sind die quantitativ und qualitativ faßbaren Ähnlichkeiten zwischen den T_b -Verläufen der ZSN eines für mehrere Monate permanent in seinem Hibernaculum winterschlafenden Hamsters (Abbildung 35).

Nach dem Vergleich mit der wenigen, bislang zur Rhythmik der ZSN vorliegenden Literatur, verbleiben in der vorliegenden Studie ausreichend Indizien, um ein Fortbestehen der CR im Winterschlaf annehmen zu dürfen. Da sich diese Vermutung aber bislang nur auf die normothermen Intervalle zwischen den Hypothermie-Schüben stützt, soll in den nächsten Kapiteln auf verschiedenen Wegen nach einer Rhythmik innerhalb der WS bzw. innerhalb des gesamten Winterschlafmusters gesucht werden.

4.5 Rhythmizität der Körpertemperatur in den hypothermen Phasen des Winterschlafs

Wenn man die in Kapitel 4.2.1 beschriebene Periodogramm-Analyse auf die hypothermen Phasen (Winterschlafschübe, WS) anwendet, finden sich keine Anzeichen einer Rhythmizität, da die extremen Veränderungen der T_b zu Beginn und am Ende eines WS alle internen Modulationen überlagern. Daher ist es sinnvoll, nicht den Gesamtverlauf der T_b eines WS auf eine unterliegende Periodizität zu untersuchen, sondern die verschiedenen Phasen eines WS getrennt zu betrachten.

Wie die Abbildung 18 im Kapitel 2.4.2 zeigt, kann ein WS in drei Phasen untergliedert werden: (1) Während des **Eintritts in einen WS** sinkt die T_b des Tieres langsam entlang des Temperaturgradienten $\Delta T = T_b - T_a$ ab. Im Wesentlichen erfolgt diese Abkühlung rein passiv; das Tier kann jedoch zu rasche Abkühlungen durch temporäre Thermogenese abmildern (Heller et al. 1977). (2) An die Eintrittsphase schließt sich die **Plateauphase** an, in der die T_b Werte nahe der Umgebungstemperatur erreicht. Ohne große Fluktuationen der T_a ist die Plateauphase durch eine nahezu konstante T_b gekennzeichnet. (3) Der **Austritt aus einem WS** erfolgt durch eine sehr schnelle Erwärmung des Tieres auf eine normotherme T_b . Bei einer gegebenen T_a zeigen sowohl die Eintritte in WS, als auch die Austritte aus WS nur eine geringe Variabilität. Die Dauer eines WS wird daher im Wesentlichen durch die Dauer der Plateauphase bestimmt.

Der T_b -Verlauf der Eintritte in bzw. Austritte aus Winterschlafschüben ist durch einen dominanten Trend nach unten bzw. oben charakterisiert, der eventuell vorhandene innere Modulationen vollständig überlagert. Daher beschränkte sich die Suche nach einer rhythmischen Komponente in diesen Phasen der WS auf die Analyse der Anfangs-, bzw. Endpunkte in den Transitionen (circadianer Marker, ϕR ; Lindberg et al. 1971), die als das Unterschreiten von 30 °C in der Eintrittsphase bzw. das Überschreiten von 30 °C in der Austrittsphase definiert wurden (Vergleiche Kapitel 2.4.2). Während der Plateauphase findet sich kein übermächtiger Trend, weshalb hier in Analogie zu den ZSN der Gesamtverlauf der Datenreihen in Autokorrelations-, Kreuzkorrelations- und Periodogramm-Analysen untersucht werden konnte.

4.5.1 Untersuchungen des Körpertemperaturverlaufs in den Plateauphasen der Winterschlafschübe

4.5.1.1 Die Plateauphasen in den Laborstudien unter einem Licht-Dunkelwechsel

In den Laborstudien unter einem LD zeigten sich in den Plateauphasen einiger LWS Oszillationen der T_b mit einer Amplitude von ca. $0,1\text{ }^\circ\text{C}$ (z.B. Abbildung 36A - mittlere Kurve). Aufgrund der Kürze der Plateauphasen (maximal 3,08 d) war es meist nicht sinnvoll, das Chi-Quadrat-Periodogramm anzuwenden, um die Periode dieser Oszillation zu bestimmen. Es ergaben sich weit unter dem Signifikanzniveau liegende Maxima bei ca. 24,00 h. War dies nun als ein Nachweis einer endogenen Rhythmik von genau 24 h (Twente & Twente 1987), bzw. als Indiz für eine Synchronisation der "inneren Uhr" mit dem LD (French 1977) zu werten?

Auch Fowler & Racey (1990) bzw. Wollnik & Schmidt (1995) beobachteten in Freigehegestudien signifikante Kreuzkorrelationen zwischen der T_a und der Intraplateau- T_b von 0,60-0,70 bei einer Zeitverzögerung von 4-6 h beim Europäischen Igel, bzw. 0,56 bei einer Zeitverzögerung um 3 h 50 min beim Europäischen Feldhamster. Das Auftreten einer Tagesperiodik in den Plateauphasen von LWS ließ sich in diesen Studien befriedigend durch eine zeitverzögerte Spiegelung der 24 h-Periodik im Verlauf der T_a an der Erdoberfläche der Freigehege erklären. Die unterschiedlich lange Zeitverzögerung, mit der die T_b dem 24 h-Rhythmus der T_a folgte, erklärt sich durch Unterschiede in der Körpergröße der Versuchstiere bzw. der Isolierwirkung von Fell und Nistmaterial.

Da im Gegensatz zu den Studien von Fowler & Racey (1990) und Wollnik & Schmidt (1995) die T_a der Klimakammer in den Laborstudien der vorliegenden Arbeit jedoch konstant auf $8 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ gehalten wurde, schienen die vorgefundenen Oszillationen zunächst auf einen endogenen Rhythmus hinzuweisen. Weil diese Oszillationen jedoch eine Tagesperiodik aufwiesen und allgemein angenommen wird, daß ein winterschlafendes Tier den LD nicht wahrnehmen kann (Pohl 1967, Daan 1973), wurde die T_a der Klimakammer in den Teilstudien LD1 und LD2 einer genaueren Analyse in hoher Auflösung unterzogen. Hier zeigte sich, daß die T_a tatsächlich eine auffällige Oszillation mit einer Amplitude von ca. $0,1\text{ }^\circ\text{C}$ aufwies (Abbildung 36A - untere Kurve). Da diese Oszillation über den ganzen Registrierungszeitraum zu beobachten war, konnte zur Bestimmung der Periode das Chi-

Quadrat-Periodogramm eingesetzt werden. In einer 10-tägigen Zeitreihe wurde eine deutliche 24,00 h-Periodizität der T_a nachgewiesen.

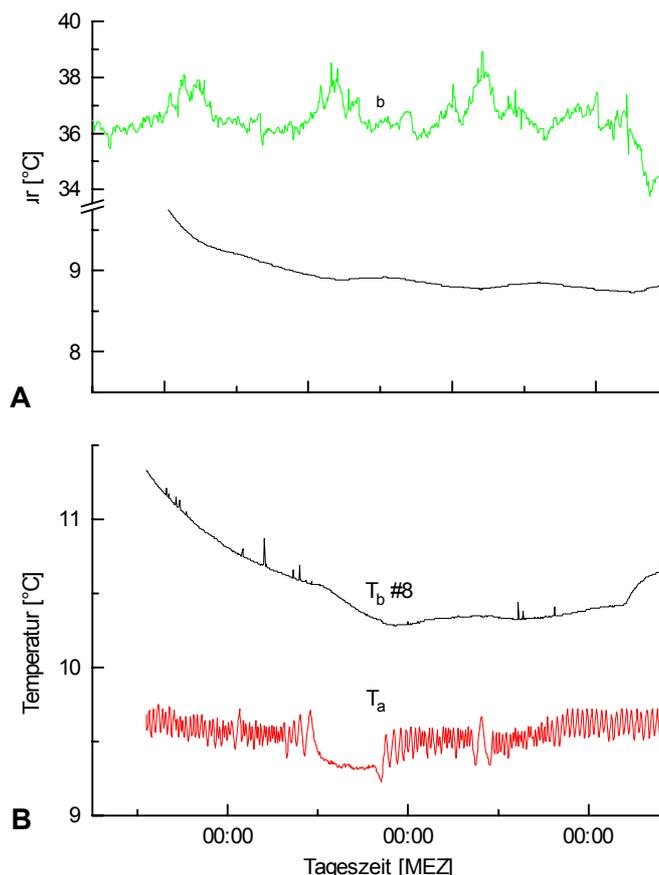


Abbildung 36: Fluktuationen und Oszillationen der Körpertemperatur (T_b) und der Umgebungstemperatur (T_a) in den Laborstudien

- A) In dieser viertägigen Registrierungsperiode aus der Laborstudie LD1, die unter einem Licht-Dunkelwechsel durchgeführt wurde, befand sich Hamster #3 (obere Kurve) in Zwischenschub-Normothermie, während Hamster #1 (mittlere Kurve) das Plateau eines langen Winterschlafschubs (LWS) erreichte. Die unterste Kurve zeigt den korrespondierenden Verlauf der T_a in der Klimakammer. Die Ordinate wurde zwischen 9,75 C und 33,50 °C unterbrochen, wobei nach der Unterbrechung ein größerer Maßstab gewählt wurde. Die Oszillation der T_a zeigt eine Amplitude von weniger als 0,2 °C. Die im Verlauf der T_b von Hamster #1 erkennbare Oszillation folgte der T_a mit einer Zeitverzögerung von 2h 30min (Kreuzkorrelation: $r = 0,672$; $p < 0,01$).
- B) Dreitägige Registrierung der T_a und der T_b eines Hamsters aus der Laborstudie unter Dauerlicht (LL). Während der Plateauphase eines LWS folgt der Verlauf der T_b (obere Kurve) von Hamster #8 größeren aperiodischen Schwankungen der T_a (untere Kurve). Im Unterschied zum Verlauf der T_a unter einem LD (A) zeigte sich im LL keine 24 h-Rhythmik. An ihre Stelle traten Oszillationen der T_a mit einer sehr kurzen Periode (ca. 0,5 h), die die Regulation der T_a in der Klimakammer widerspiegeln. Diese kurzen Oszillationen fanden keinen Niederschlag im Verlauf der T_b von Hamster #8, während größere Fluktuationen der T_a , wie etwa gegen 12:00 MEZ des zweiten Registrierungstags, zeitverzögert im Verlauf der T_b erscheinen (Zeitverschiebung: 3,47 h; $r = 0,40$; $p < 0,001$).

Zur Analyse der Ähnlichkeit zwischen den Oszillationen der T_a und der Intraplateau- T_b der Hamster wurden Kreuzkorrelation berechnet. Es ergaben sich signifikante Werte zwischen 0,4 und 0,8 ($p < 0,001$), die je nach Tier eine Zeitverzögerung von 2 - 3 h aufwiesen. Da sich die Oszillationen der T_a und der Intraplateau- T_b in der Amplitude entsprachen und zwischen ihnen eine stabile Phasenlage nachgewiesen werden konnte, liegt es nahe

anzunehmen, daß die beobachteten Oszillationen der T_b wie in den Untersuchungen von Fowler & Racey (1990) und Wollnik & Schmidt (1995) eine rein passive Spiegelung der Tagesperiodik des T_a -Verlaufs darstellen und nicht als ein Indiz für eine endogene Rhythmik gelten dürfen. Es ist erstaunlich und zeichnet die Genauigkeit der Temperaturmessungen aus, daß sich die Übertragung einer äußeren Temperaturoszillation mit Amplituden im Bereich von nur $\pm 0,1$ C auf die T_b lethargischer Hamster nachweisen ließ.

In Normothermie zeigten die Tiere robuste CRT, die in keinem Zusammenhang mit der Oszillation der T_a standen, da sie sich in einer anderen Phasenlage zur ihr befanden und eine wesentlich größere Amplitude (> 2 °C) aufwiesen (Abbildung 36A - obere Kurve).

4.5.1.2 Die Plateauphasen in den Laborstudien unter Dauerlicht

In der Laborstudie, die unter LL durchgeführt wurde (LL1), fand sich keine 24 h-Rhythmik in der T_a der Klimakammer (Abbildung 36B - untere Kurve). Die in den Laborstudien LD1 und LD2 aufgetretene Oszillation war daher höchstwahrscheinlich durch die Wärmeabstrahlung der Neonröhren während der Lichtphase verursacht worden.

Die Intraplateau- T_b der drei Hamster des Untersuchungsteils LL1 zeigte keine auffälligen Oszillationen (Abbildung 36B - obere Kurve). Analog zu den Befunden aus dem LD folgte die T_b jedoch einzelnen aperiodischen Schwankungen der T_a mit einer Zeitverzögerung von 2 - 3 h. Unter Wegfall einer äußeren Oszillation zeigten sich die Plateauphasen also quasi leer - sie boten keinen Anlaß, nach einer zu Tage tretenden inneren Schwingung zu suchen. Dies steht in krassem Widerspruch zu den Ergebnissen einer vergleichbaren Laborstudie an einer amerikanischen Erdhörnchenart, die unter schwachem Dauerrotlicht und konstanter $T_a = 10$ °C durchgeführt wurde (Grahn et al. 1994). Die Autoren beobachteten in 107 von 157 LWS, die länger als 58 h dauerten, diskrete Oszillationen mit einer Periode zwischen 19-28 h und einer Amplitude < 1 °C, die nicht von Oszillationen der T_a herrühren konnten. Auch eine ältere Studie über den Winterschlaf von Fledermäusen zeigte unter DD und konstanter $T_a = 8-10$ °C derartige Intraplateau-Fluktuationen, die zum Teil circadianen, aber auch ultradianen Charakter hatten (Menaker 1959, Menaker 1961). Neben möglichen Artunterschieden kann die relativ niedrige T_a der hier diskutierten Teilstudie [T_a (LL1) ≤ 8 °C] eventuell auftretende Fluktuationen eliminiert haben.

4.5.1.3 Die Plateauphasen in den Freigehegestudien

Die im Freigehege untersuchten Hamster wiesen analog zu den Ergebnissen von Fowler & Racey (1990) und Wollnik & Schmidt (1995) in den meisten Plateau-Phasen der LWS zeitverzögerte Korrelationen zwischen der T_a und der T_b auf (Abbildung 37A). Während die Intraplateau- T_b der in ihren Bauen überwinternden Hamster gemäß der gedämpften Bodentemperatur (vergleiche Abbildung 8, Kapitel 2.1.3) nur geringe Amplituden und keine erkennbare Tagesperiodik zeigten, folgte die T_b des an der Erdoberfläche überwinternden Hamsters #19 auch extremen Fluktuationen der T_a und zeigte zum Teil eine deutliche Tagesperiodik (Abbildung 37A).

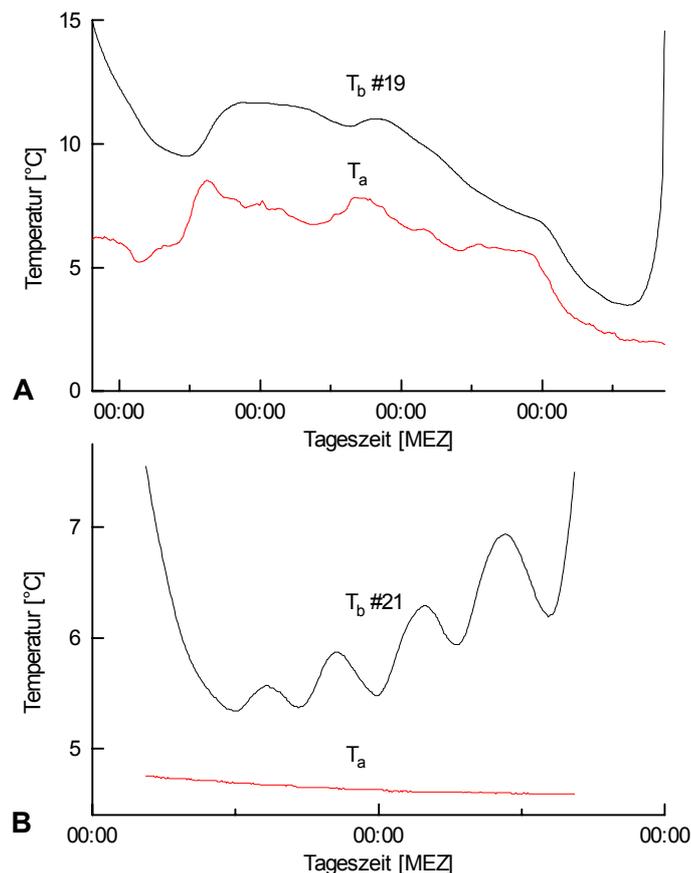


Abbildung 37: Fluktuationen und Oszillationen der Körpertemperatur (T_b) und der Umgebungstemperatur (T_a) in den Freigehegestudien

A) Dieses Beispiel zeigt die typische zeitverzögerte Korrelation zwischen der T_a (untere Kurve) und der T_b eines Hamsters während der Plateau-Phase eines langen Winterschlafschubs (LWS) in der Freigehegestudie (obere Kurve). Da Hamster #19 den extremen winterlichen Fluktuationen der T_a an der Erdoberfläche ausgesetzt war, zeigte der Verlauf der T_b extremere Amplituden als dies bei Hamstern, die im Boden überwinterten, der Fall war.

B) Ein Tier (Hamster #21) zeigte Oszillationen der T_b (obere Kurve), die nicht durch den Verlauf der T_a (untere Kurve) zu erklären waren. Die Oszillation zeigt eine große Regelmäßigkeit (Autokorrelation bei einer Verschiebung des Kurvenverlaufs um 6,75 h: 0,44; $p < 0,001$) mit Perioden von 5,25-7,83 h und einer gegen das Ende des WS zunehmender Periode und Amplitude.

Im Gegensatz zu diesem typischen Zusammenhang zwischen den beiden Temperaturen fanden sich jedoch bei einem Tier, das in beiden Untersuchungsteilen (FG1 und FG2) registriert worden war (Hamster #12, bzw. #21), in beiden Wintern auffällige ultradiane Oszillationen der T_b innerhalb der Plateau-Phase langer WS (Abbildung 38), die in keinem Zusammenhang zum Verlauf der T_a standen (Abbildung 37B). Der Austritt aus solchen WS erfolgte unmittelbar auf die ansteigende Phase der letzten Oszillation (Abbildung 38).

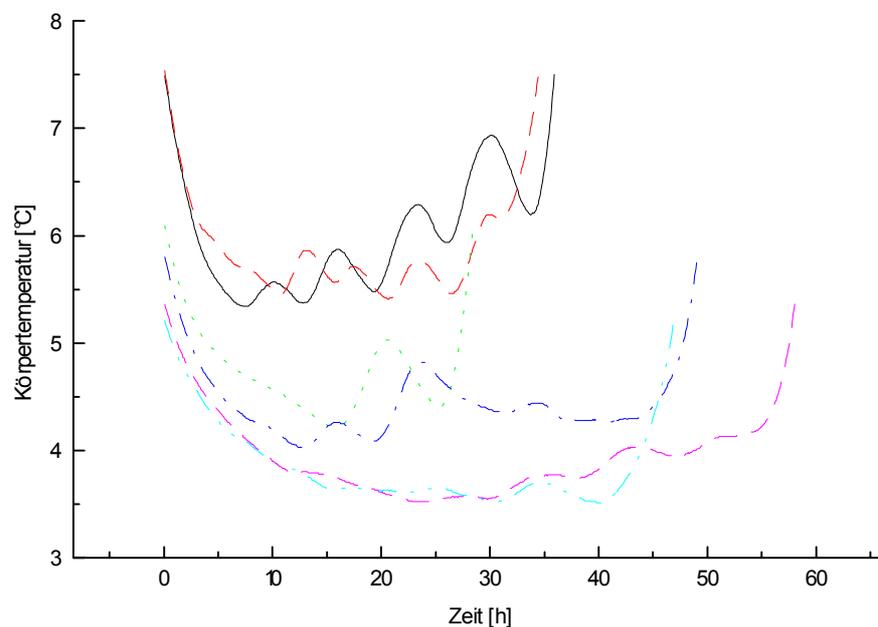


Abbildung 38: Ultradiane Oszillationen in den Plateaus von langen Winterschlafschüben (LWS) von Hamster #12/21 aus der Freigehegestudie FG2

In einem Drittel der LWS dieses Tieres traten in den Plateau-Phasen ultradiane Oszillationen (Periode 3-13 h) der Körpertemperatur auf, die nicht von Oszillationen der Umgebungstemperatur verursacht sein konnten (Abbildung 37B). Zur besseren Übersicht werden hier nur sechs derartige LWS gezeigt. Aufgrund der unregelmäßigen Trends des T_b -Verlaufs in diesen Plateaus konnte die Periodizität der Oszillationen weder durch Autokorrelationen (Ausnahme WS #17; durchgezogene Kurve und Abbildung 37B), noch durch das Chi-Quadrat-Periodogramm abgesichert werden. Für das Auge scheint zum Teil eine qualitative Übereinstimmung der Perioden der Oszillationen verschiedener LWS gegeben zu sein.

Die Periodenlänge der ultradianen Rhythmik konnte nur in einem Fall durch das Chi-Quadrat-Periodogramm, sowie eine Autokorrelationsanalyse bestimmt werden (Abbildung 37B; $\tau = 6,83$; bzw. 6,75 h). In den anderen WS desselben Tieres war ein einfaches Extrahieren eines Trends aus dem komplexen Kurvenverlauf nicht möglich (Abbildung 38) und verhinderte eine befriedigende Anwendung beider Analyseverfahren.

4.5.1.4 Diskussion und Schlußfolgerungen

Stellen die ultradianen Oszillationen des Hamsters #12/21 (Abbildung 38) einen sichtbaren Beleg für die Determination der Dauer eines WS durch das circadiane System dar (Hypothese 3 für die Steuerung des Winterschlafs durch eine innere Rhythmik des Tieres; Kapitel 4.1.4), wie sie von Menaker (1959) und Grahn et al. (1994) beschrieben wurden?

Die Regulation der T_b in den Plateauphasen der WS erfolgt durch einen Proportionalitätsregler (P-Regler; Heller & Colliver 1974). Bei diesem Reglertyp erfolgt die Regulation der Regelgröße (hier der T_b) durch die wiederholte Eingabe der Regelabweichung (Δ Sollwert-Istwert). Hierdurch nähert sich das System im Idealfall immer näher dem Sollwert an, wodurch eine Oszillation mit stetig abfallender Amplitude entsteht (Hassenstein 1965). Bei Hamster #12/21 scheint dieser Regler weniger exakt zu funktionieren und führte zu einem zeitweiligen Überschießen des Systems, infolge dessen eine sichtbare Oszillation mit zum Teil ansteigender Amplitude entstand (Abbildung 37B), wie sie für einen sogenannten "aufgeschnittenen Regelkreis" typisch ist (Hassenstein 1965). Die vorgefundenen Oszillationen könnten also lediglich auf der verzögerten Reaktion der zentralen Steuerung der T_b dieses Hamsters beruhen und die sogenannte "Totzeit" seiner Thermoregulation widerspiegeln.

Andererseits belegt eine große Anzahl von Untersuchungen den Einfluß des circadianen Systems auf die Thermoregulation (Review: Refinetti & Menaker 1992b). Es ist daher möglich, daß die ungenau arbeitende Thermoregulation bei Hamster #12/21 (Abbildungen 37B und 38) den zyklischen Einfluß eines endogenen Schrittmachers auf die zentrale Steuerung der T_b während der Plateauphase von WS sichtbar werden ließ, der bei den anderen Tieren verborgen blieb. Eine solche ultradiane Intensivierung des Stoffwechsels und die damit verbundene Wärmeproduktion wurden von Heller & Colliver (1974) beschrieben (vergleiche Kapitel 1.3.2).

Können diese ultradianen Schwingungen auch als ein Indiz für eine Beteiligung des circadianen Systems gelten, das üblicherweise Periodenlängen von 19-32 h aufweist?

Neben circadianen Rhythmen zeigte eine Inspektion der Abbildungen des Verlaufs der Intraplateau- T_b von Fledermäusen bzw. Amerikanischen Erdhörnchen (Menaker 1959 bzw.

Grahn et al. 1994), die unter DD und einer konstanten T_a gehalten wurden, auch ultradiane Anteile. Die Haltungsbedingungen beider Studien sind mit denen von Hamster #12/21 vergleichbar, da sich das Tier in beiden Jahren der hier diskutierten Freigehegestudien ausschließlich in seinem Bau befand und somit analogen Bedingungen ausgesetzt war.

Im Unterschied zum Europäischen Feldhamster zeigen sowohl Fledermäuse als auch Amerikanische Erdhörnchen wesentlich längere WS, wodurch in den genannten Untersuchungen auch circadiane Anteile im Verlauf der Intraplateau- T_b erkennbar wurden. Die Periodogramm-Analyse im einzigen auswertbaren WS von Hamster #12/21 (Abbildung 37B) zeigte ein zweites signifikantes Maximum bei 13,83 h. Es ist daher möglich, daß bei einer längeren Dauer des WS auch ein circadianer Anteil erkennbar gewesen wäre.

Ein deutlicheres Hervortreten ultradianer Rhythmen in der T_b konnten auch beim Dsungarischen Zwerghamster bei einem Wechsel von einer langen zu einer kurzen Photoperiode beobachtet werden (Heldmaier et al. 1989b). Den gleichen Effekt beobachteten die Autoren bei einem Wechsel der T_a von 23 °C auf 5 °C unter Beibehaltung der langen Photoperiode. Daher wurde die Veränderung des internen Rhythmus der T_b als ein Bestandteil der Steuerung des Energiehaushaltes gewertet, der in der Natur dem verlässlichen jahreszeitlichen Wechsel der Photoperiode folgt (Heldmaier et al. 1989b).

Auch bei Tieren, die keinen Torpor zeigen, wie z.B. Ratten, fand sich unter hellem Dauerlicht und konstanter T_a (konstante Umweltbedingungen) nach ca. zwei Monaten eine Dekomposition der CRT in ultradiane Schwingungen einer Periode von 4-6 h (Honma & Hiroshige 1978). Die Autoren werteten ihre Ergebnisse als ein Indiz dafür, daß ultradiane Rhythmen eine fundamentale Einheit der CR darstellen, die unter den extremen Belichtungsbedingungen zu Tage treten.

Die bei Hamster #12/21 beobachteten ultradianen Oszillationen könnten daher auch als ein ungewöhnliches Sichtbarwerden der im Winter eintretenden Dekomposition der CRT unter verlängerten konstanten Umweltbedingungen und einer effizienteren Thermoregulation im Winter betrachtet werden. Folgt man dieser Interpretation, erscheint es gerechtfertigt, eine Beteiligung des circadianen Schrittmachers in der Determination der Dauer von WS anzunehmen (Hypothese 3 für die Steuerung des Winterschlafs durch eine innere Rhythmik des Tieres; Kapitel 4.1.4). Diese Interpretation wird auch dadurch unterstützt, daß die beobachteten Oszillationen innerhalb der Plateaus verschiedener LWS des gleichen Tieres

eine große Ähnlichkeit aufwiesen und ein Austritt aus solchen LWS meist nahtlos auf die ansteigende Flanke der letzten Oszillation erfolgte (Abbildung 38).

4.6 Tagesperiodik diskreter Zeitpunkte in den Winterschlafschüben

4.6.1 Einleitung

Für viele winterschlafende Säugetierarten liegen Untersuchungen des tageszeitlichen Timings der Eintrittszeiten in und Austrittszeiten aus WS unter verschiedenen Haltungsbedingungen vor (Tabelle 6). Unter der Anwesenheit des Zeitgebers LD fand sich meist eine Tagesperiodik der Eintritte in, nicht aber der Austritte aus WS. Statt dessen folgen die Austritte aus WS z.T. einer circadianen Spontanrhythmik. In einer Untersuchung wurde eine Desynchronisation beider Zeitpunkte vom Zeitgeber LD festgestellt (Pohl 1987). Lediglich eine Studie untersuchte das Timing der Austritte aus WS ohne einen LD (DD) aber mit einer periodisch wechselnden T_a (Lindberg 1974). Hier erwies sich auch die T_a als wirksamer Zeitgeber und bewirkte eine tageszeitliche Organisation der Austritte aus WS (Tabelle 6).

Unter konstanten Haltungsbedingungen (konstantes LL oder DD und konstante T_a) fand sich in den Eckpunkten der WS keine Tagesperiodik (Tabelle 6). Stattdessen gelang es einigen Studien, eine freilaufende CR festzustellen. Im Gegensatz zu allen anderen für diese Haltungsbedingungen in der Tabelle 6 aufgeführten Studien ergab sich für die große braune Fledermaus (*Eptesicus fuscus*) eine exakte 24 h-Periodik der Eintritte und Austritte (Twente & Twente 1987). Das Vorhandensein einer exakten Tagesperiodik unter Abwesenheit eines Zeitgebers ist jedoch sehr unwahrscheinlich und legt nahe, daß in dieser Untersuchung ein anderer äußerer Stimulus zur Synchronisation geführt haben muß. Diese Einschätzung wird durch eine Folgeuntersuchung an Fledermäusen der gleichen Art in freier Wildbahn unterstützt, in der keine signifikante tageszeitliche Organisation der Aktivität der Tiere gefunden werden konnte (Thomas 1993).

Tabelle 6: Literaturübersicht zur Tagesperiodik der Eintrittszeiten in bzw. Austrittszeiten aus WS unter verschiedenen Haltungsbedingungen

In der ersten Spalte sind die Versuchsbedingungen wiedergegeben. Abkürzungen: sLD (standardisierter Licht-Dunkelwechsel); nLD (natürlicher LD); LL (konstantes Dauerlicht); DD (konstantes Dauerdunkel); kT_a (konstante Umgebungstemperatur); nT_a (natürlicher Tagesgang der T_a); sT_a (standardisierter Tagesgang der T_a). Die zweite und dritte Spalte gibt die referierten Literaturstellen und ihre Befunde zu einer Tagesperiodik für die Eintritte in, bzw. Austritte aus WS wieder. Symbole: + (positiver Befund für eine 24 h-Rhythmik); - (Negativbefund); τ (Nachweis einer freilaufenden Periodik).

Versuchsbedingungen	Eintritte	Austritte
sLD + kT_a	+ Daan (1973), French (1977), Pohl (1961), Pohl (1979), Pohl (1987), Canguilhem et al. (1994), Pohl (1996). - Pohl (1987). τ Pohl (1987).	+ Daan (1973), French (1977), Pohl (1967), Pohl (1987). - Pohl (1961), Pohl (1979), Pohl (1987), Canguilhem et al. (1994), Pohl (1996). τ Pohl (1961), Pohl (1979), Pohl (1987), Pohl (1996).
nLD + kT_a	+ Daan (1973).	+ Daan (1973).
sLD + nT_a	+ Daan (1973).	+ Daan (1973).
nLD + nT_a	+ Pohl (1961), Fowler & Racey (1990), Wollnik & Schmidt (1995), Körtner & Geiser (1996).	+ Fowler & Racey (1990), Körtner & Geiser (1996). - Pohl (1961), Wollnik & Schmidt (1995). τ Wollnik & Schmidt (1995).
LL + kT_a		- Pohl (1967). τ Pohl (1967).
DD + kT_a	+ Twente & Twente (1987). - Kristoffersson & Soivio (1964a), Twente & Twente (1965a), Daan (1973), French (1977).	+ Twente & Twente (1987). - Kristoffersson & Soivio (1964a), Twente & Twente (1965a), Daan (1973), French (1977), Pohl (1979), Barnes & Ritter (1993), Thomas (1993), Pohl (1996). τ Menaker (1959), Menaker (1961), Daan (1973), Lindberg (1974), French (1977), Pohl (1979), Pohl (1996).
DD + sT_a		+ Lindberg (1974).
DD + nT_a		- Barnes & Ritter (1993)

4.6.2 Spezielle Methoden

Untersuchungen der zeitlichen Organisation einzelner Zeitpunkte auf eine endogene Rhythmik unbekannter Periodenlänge stellen ein großes Problem dar, da eine Vielzahl hypothetischer Perioden getestet werden müssen. Viel einfacher gestalten sich hingegen Untersuchungen auf eine einzelne, fest definierte Periodenlänge. Da die Frage der Synchronizität eventuell vorhandener innerer Rhythmen mit periodisch auftretenden exogenen Faktoren (Zeitgebern) geklärt werden sollte (vergleiche die Fragestellungen im Kapitel 4.1.5), wurde zunächst versucht, eine Tagesperiodik ($\tau = 24,00$ h) diskreter Zeitpunkte im Winterschlaf nachzuweisen.

Zur Klärung dieser Frage wurden die Tageszeiten der Eintritte in und der Austritte aus WS in Polarkoordinaten (Grade eines 360 Kreises) konvertiert, deren Nullpunkt bei 24:00 MEZ angesetzt wurde (vergleiche Tabelle 7; Kapitel 4.7.2). Daraufhin konnten die Mittelwinkel ($\bar{\varphi}$), zirkulären Standardabweichungen (CSD) und Mittelvektoren (r) berechnet werden. Der Rayleigh-Test lieferte das Signifikanzniveau der Mittelvektoren. Ergaben sich zwischen den zirkulären Verteilungen der Eintrittszeiten in, bzw. Austrittszeiten aus WS der Hamster eines Versuchsteils nach dem Mardia-Watson-Wheeler Test (MWW) keine signifikanten Unterschiede, so konnten sie als eine gemeinsame Stichprobe verrechnet werden. Alle Anwendungen der Kreisstatistik beruhen auf Batschelet (1981).

4.6.3 Tagesperiodik in den Laborstudien unter einem Licht-Dunkel-Wechsel

Unter einem LD fand sich bei allen drei unterschiedenen Typen von WS eine ausgeprägte tagesperiodische Organisation der Eintrittszeiten (Abbildung 39). Während LWS und KWS etwa zur gleichen Tageszeit eingeleitet wurden (MWW, n.s.; Abbildung 39A, C), begannen KFWS ca. 4-5 Stunden später (MWW, $p < 0,001$; Abbildung 39C). Der Unterschied im Lichtregime zwischen den Versuchsteilen LD1 und LD2 (Licht-an: 06:00 MEZ vs. 08:00 MEZ) spiegelte sich in signifikant verschiedenen mittleren Eintrittszeiten der LWS (23:49 MEZ vs. 02:00 MEZ; MWW, $p < 0,01$; Abbildung 39A) wider. Da im Versuchsteil LD1 keine KWS und lediglich sechs KFWS auftraten, konnte diesbezüglich kein entsprechender Unterschied festgestellt werden.

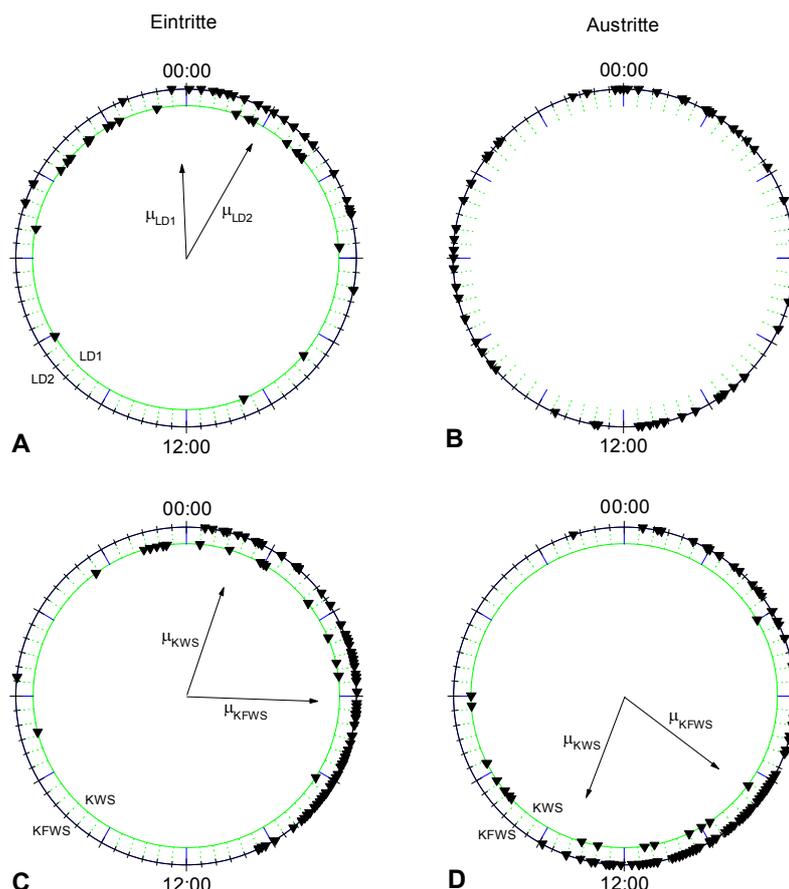


Abbildung 39: Polardiagramme der Eintrittszeiten in und Austrittszeiten aus Winterschlafschüben (WS) in den Versuchsteilen LD1 und LD2

Der Maßstab des Vollkreises von 360 ° entspricht 24 h Mitteleuropäischer Zeit (MEZ). Voneinander nicht abweichende Kreisverteilungen [Mardia-Watson-Wheeler Test (MWW); $p > 0,05$] von Einzeltieren beider Versuchsteile (bzw. eines Versuchsteils) wurden zusammengefaßt. Nur signifikante Mittelvektoren (Rayleigh-Test; $p < 0,05$) wurden abgebildet. Der Maßstab der Mittelvektoren bezieht sich auf den äußeren Kreis ($r = 1$).

- A)** Eintrittszeiten in lange Winterschlafschübe (LWS). Die zirkulären Verteilungen der Eintrittszeiten in LWS der drei Tiere aus dem Versuchsteil LD1 (Hamster #1-3) waren nicht signifikant verschieden voneinander und konnten daher zusammengefaßt werden (innerer Kreis, LD1). Ebenso verhielt es sich mit den vier Tieren des Versuchsteils LD2 (Hamster #4-7, äußerer Kreis, LD2). Die Verteilungen der gepoolten Daten der beiden Versuchsteile waren signifikant verschieden (MWW; $p < 0,01$). Der Mittelvektor der Kreisverteilung für den Versuchsteil LD1 (μ_{LD1} ; $r = 0,55$; $p < 0,001$) befand sich auf dem Mittelwinkel 357,4 °, was einer Uhrzeit von 23:49 MEZ entspricht und zeigte eine zirkuläre Standardabweichung (CSD) von 55,16 ° (3,42 h). Der Mittelvektor für LD2 (μ_{LD2} ; $r = 0,79$; $p < 0,001$) wies auf 02:01 MEZ mit einer CSD von 2,46 h.
- B)** Austrittszeiten aus LWS. Da sich die zusammengefaßten Austrittszeiten aus den LWS aller Tiere in beiden Versuchsteilen nahezu gleichmäßig über den gesamten Tag-Nacht-Zyklus verteilten, ergab sich kein signifikanter Mittelvektor.
- C)** Eintrittszeiten in kurze Winterschlafschübe (KWS, innerer Kreis) und kurze und flache Winterschlafschübe (KFWS, äußerer Kreis). Die Verteilung der Eintrittszeiten in KWS war signifikant verschieden von der Verteilung der Eintrittszeiten der KFWS (MWW; $p < 0,001$). Eintritte in KWS traten vorwiegend gegen 01:18 MEZ auf (CSD 3,08 h; $r = 0,68$; $p < 0,001$), während sich die Eintrittszeiten in KFWS gegen 06:08 MEZ häuften (CSD 2,33; $r = 0,76$; $p < 0,001$).
- D)** Austrittszeiten aus KWS und KFWS. Die mittlere Austrittszeit aus KWS war 13:24 MEZ (CSD 3,26 h; $r = 0,64$; $p < 0,001$) und 08:40 MEZ (CSD 2,57; $r = 0,71$; $p < 0,001$) für die Austritte aus KFWS. Beide Kreisverteilungen waren signifikant verschieden (MWW; $p < 0,005$).

Im Gegensatz zur Tagesperiodik der Eintrittszeiten in alle Typen von WS, fand sich keine 24 h-Rhythmik für die Austrittszeiten aus LWS (Abbildung 39B). Aufgrund ihrer kurzen Dauer (≤ 24 h) zeigten ausschließlich die kurzen WS (KWS und KFWS) eine deutliche Tagesperiodik (Abbildung 39D), die als eine Folge der Periodizität der Eintrittszeiten gewertet werden kann. Genau wie bei den Eintrittszeiten fand sich ein Unterschied von ca. 5 h zwischen den früher endenden KFWS und den KWS (MWW, $p < 0,005$).

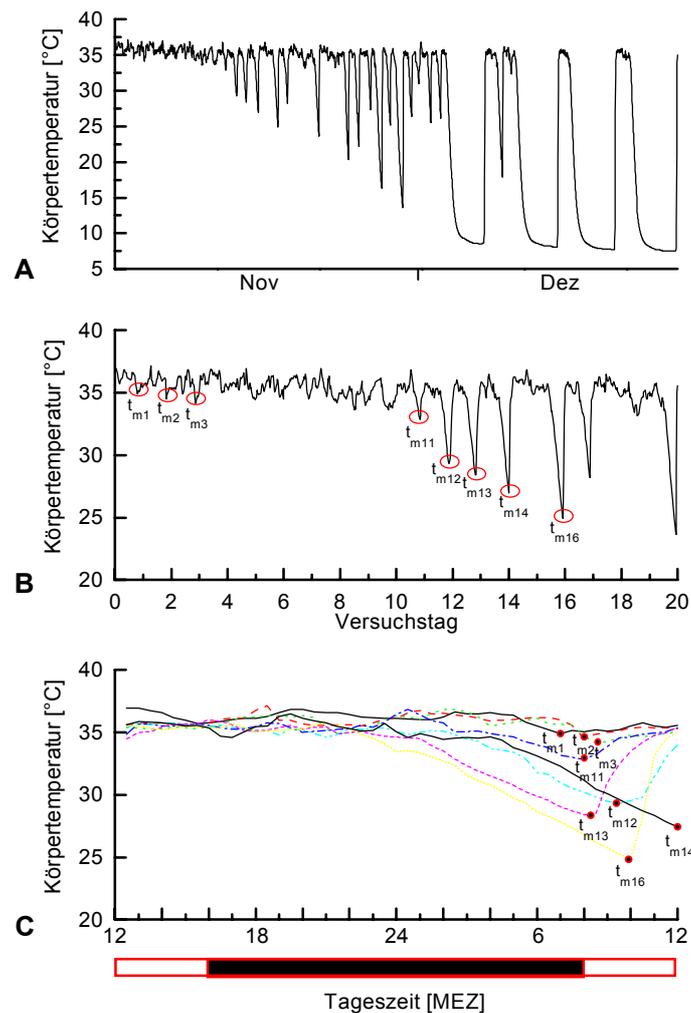


Abbildung 40: Timing von "test drops" zu Beginn des Winterschlafs in einer der Laborstudien unter einem standardisierten Licht-Dunkelwechsel (LD2)

- A) Verlauf der Körpertemperatur (T_b) von Hamster #4 in den ersten beiden Monaten der Registrierung. In der ersten Hälfte des Novembers bleibt das Tier normotherm. Darauf folgen kurze und flache Winterschlafschübe (KFWS) und kurze Winterschlafschübe in der zweiten Novemberhälfte, die im Dezember in lange (und tiefe) Winterschlafschübe übergehen.
- B) Verlauf der T_b desselben Hamsters während der Versuchstage 1-20. Die schrittweise Absenkung der minimalen Körpertemperatur (T_m) während der zunächst normothermen Tage (t_{m1} bis t_{m3} ; t_{m11}) und während der darauf folgenden KFWS (t_{m12} bis t_{m16}) lässt sich gut erkennen.
- C) Übereinandergelegte Verläufe der T_b an den in (B) selektierten Tagen. Die Zeitpunkte (t_m) zu denen die T_b des Hamsters ihr Tagesminimum erreicht (schwarze Kreise), konzentrieren sich innerhalb eines

Zeitfensters von 07:00 bis 12:00 MEZ. Der unter der Abszisse angebrachte Balken zeigt den Licht-Dunkelwechsel im Versuchsteil LD2: schwarz (Dunkelphase), weiß (Lichtphase). Für die ersten KFWS des Winterschlafs ("test drops", vergleiche Kapitel 3.3.2) wurde zusätzlich die tageszeitliche Organisation der minimalen T_b (T_m) untersucht (Abbildung 40). Sie wird in etwa zur gleichen Tageszeit erreicht, in die die T_m während normothermer Tage fällt (Abbildung 40C). Durch den Rayleigh-Test konnte nachgewiesen werden, daß das Zeitfenster, in das die T_m der ersten KFWS des Winterschlafs fällt, während des gesamten Winterschlafs beibehalten wird ($08:50 \text{ MEZ} \pm 2,56 \text{ h}$; $r = 0,78$; $p < 0,005$), und sich nicht von der Lage des Zeitfensters, in das die normotherme T_m vor Einsetzen des Winterschlafs fällt ($08:33 \text{ MEZ} \pm 1,73 \text{ h}$; $r = 0,90$; $p < 0,001$), unterscheidet (MWW, $p > 0,5$). Dieser Befund weist auf einen engen Zusammenhang zwischen den KFWS und dem tagesperiodischen Minimum der T_b in der Normothermie hin.

4.6.4 Tagesperiodik in den Laborstudien unter Dauerlicht

Nachdem in den Laborstudien unter einem LD eine deutliche Tagesperiodik der Eintrittszeiten in WS trotz konstanter T_a nachgewiesen werden konnte, sollte in einem weiteren Laborexperiment das Timing der Anfangs- und Endzeitpunkte der WS ohne die Zeitgeber Licht und T_a -Zyklus untersucht werden. Hierzu wurde der Tierraum über den gesamten 24 h-Zyklus einem konstanten schwachen Rotlicht ausgesetzt ($\lambda \approx 680 \text{ nm}$; Intensität $< 1 \text{ lux}$). Die T_a wurde wiederum auf $8 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ konstant gehalten.

Unter den genannten Haltungsbedingungen zeigten weder die Eintrittszeiten in alle drei Typen der WS noch die Austrittszeiten aus allen WS-Typen eine tagesperiodische Organisation (Abbildung 41A-D).

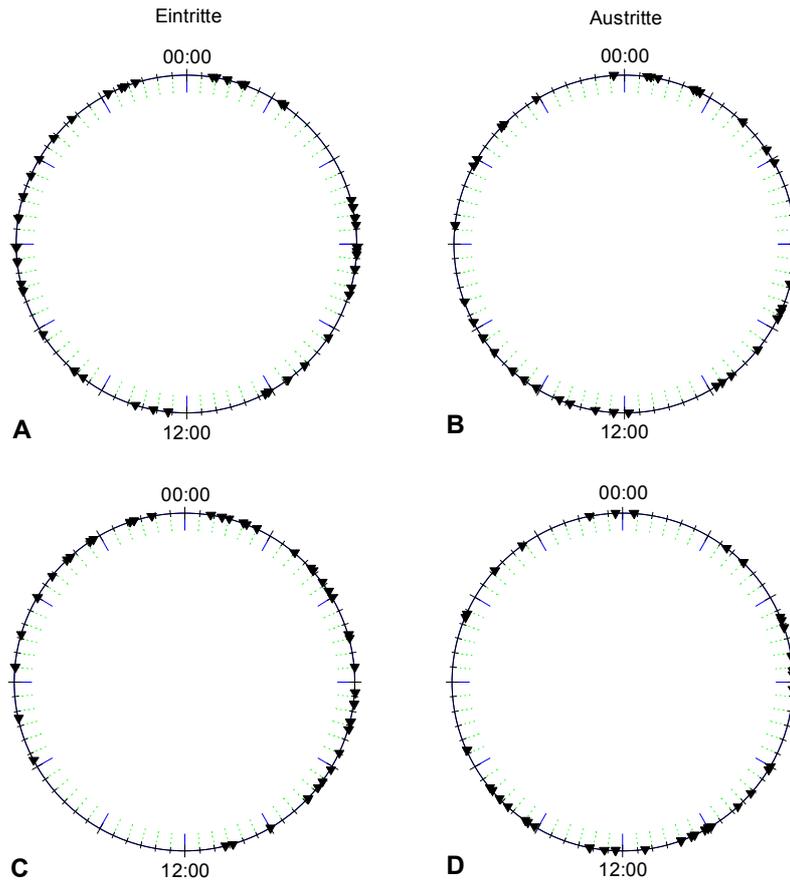


Abbildung 41: Polardiagramme der Eintrittszeiten in und Austrittszeiten aus Winterschlafschüben (WS) im Versuchsteil LL

Der Maßstab des Vollkreises von 360° entspricht 24 h Mitteleuropäischer Zeit (MEZ). Voneinander nicht abweichende Kreisverteilungen [Mardia-Watson-Wheeler Test (MWW); $p > 0,05$] von Einzeltieren eines oder mehrerer WS-Typen wurden zusammengefaßt. Nur signifikante Mittelvektoren (Rayleigh-Test; $p < 0,05$) wurden abgebildet.

- A) Eintrittszeiten in lange Winterschlafschübe (LWS). Da sich die Eintrittszeiten nahezu gleichmäßig über die 24 h verteilten, ergab sich kein signifikanter Mittelvektor.
- B) Austrittszeiten aus LWS. Auch hier verteilten sich die Zeitpunkte nahezu gleichmäßig über den gesamten 24 h-Zyklus, wodurch sich kein signifikanter Mittelvektor berechnen ließ.
- C) Eintrittszeiten in kurze (KWS) und kurze und flache Winterschlafschübe (KFWS). Die Eintrittszeiten in KFWS der drei Tiere bzw. in KWS der Hamster #8 und #9 ($N = 5$) waren gleichmäßig über den 24 h-Zyklus verteilt und konnten zusammengefaßt werden.
- D) Austrittszeiten aus KWS und KFWS. Die Austrittszeiten aus KFWS der drei Tiere sowie aus KWS der Hamster #8 und 9 ($N = 5$) waren gleichmäßig über den 24 h-Zyklus verteilt und konnten zusammengefaßt werden.

4.6.5 Tagesperiodik in den Freigehegestudien

Prinzipiell waren die Hamster in den Freigehegestudien sowohl dem natürlichen Tagesgang der T_a , als auch dem natürlichen LD ausgesetzt. Somit konnten zwei Zeitgeber auf den Winterschlaf und damit die Anfangs- und Endpunkte der WS einwirken. Durch die Registrierung der Aufenthaltszeiten der Tiere an der Oberfläche zeigte sich jedoch, daß während des Winters nur wenige Tiere für jeweils kurze Zeit ihren Bau verließen (vergleiche Abbildung 34, Kapitel 4.4.3). Die wenigen Tiere, die ihre Baue regelmäßig und für längere Zeit verließen, zeigten entweder überhaupt keine oder nur wenige WS, zwischen denen sich ausgedehnte Phasen der ZSN befanden (vergleiche Abbildung 24, Kapitel 3.3). Umgekehrt bezogen die Tiere mit den regelmäßigsten Winterschlafmustern (vergleiche Kapitel 3.3.3) ihren Bau spätestens kurz vor dem ersten WS und verließen ihn erst wieder nach dem letzten WS (vergleiche Abbildung 53, Kapitel 4.7.7). Sie waren daher den gesamten Winterschlaf über einem konstanten DD und einer nahezu konstanten T_a ohne Tagesgang ausgesetzt (vergleiche Abbildung 8, Kapitel 2.1.3).

Der Ende November 1995 in der Teilstudie FG2 zum Ersatz eines verstorbenen Hamsters eingebrachte Hamster #19 war hingegen beiden Zeitgebern ausgesetzt, da er keinen Zugang zum Bau seines Vorgängers erhielt und den gesamten Winter in seinem Laborkäfig an der Erdoberfläche verbrachte.

13 von 18 Hamstern der Freigehegestudien FG1 und FG2 zeigten ausreichend viele WS, um die Eintrittszeiten in, bzw. Austrittszeiten aus WS auf eine Tagesperiodik zu untersuchen (Tabelle 4, Kapitel 3.3.1). Von diesen 13 Tieren zeigte nur der an der Erdoberfläche überwinterte Hamster #19 eine Tagesperiodik der Eintrittszeiten in LWS (Abbildung 42A) sowie der Initiation und Termination der KWS (Abbildung 42C, D). Die zusammengefaßten Zeitpunkte aller WS-Typen der anderen 12 Hamster zeigten keine Tagesperiodik (Abbildung 42).

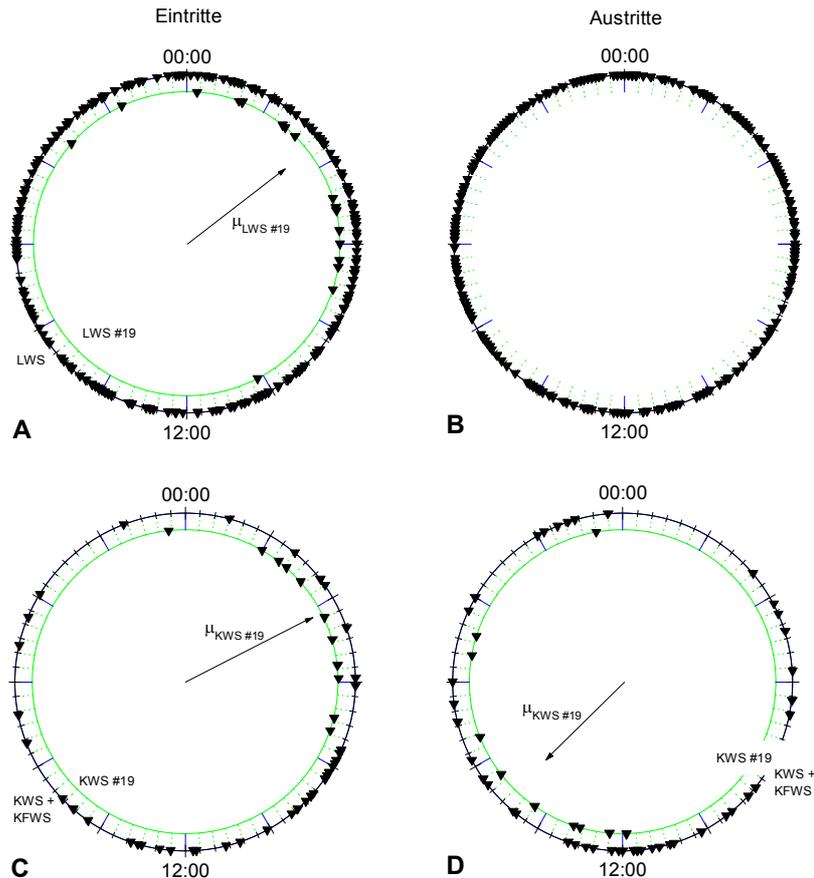


Abbildung 42: Polardiagramme der Eintrittszeiten in und Austrittszeiten aus Winterschlafschüben (WS) in den Freigehegestudien

Der Maßstab des Vollkreises von 360° entspricht 24 h Mitteleuropäischer Zeit (MEZ). Voneinander nicht abweichende Kreisverteilungen [Mardia-Watson-Wheeler Test (MWW); $p > 0,05$] von Einzeltieren eines oder mehrerer WS-Typen wurden zusammengefaßt. Nur signifikante Mittelvektoren (Rayleigh-Test; $p < 0,05$) wurden abgebildet. Der Maßstab der Mittelvektoren bezieht sich auf den äußeren Kreis ($r = 1$).

- A)** Eintrittszeiten in lange Winterschlafschübe (LWS). Die Eintrittszeiten in LWS von Hamster #19 zeigten eine Tagesperiodik (LWS #19; innerer Kreis) mit einem Mittelvektor ($\mu_{LWS \#19}$) bei 03:31 MEZ [zirkuläre Standardabweichung (CSD) 2,84 h; $r = 0,71$; $p < 0,0001$]. Die Eintrittszeiten in LWS der zwölf anderen Tiere waren gleichmäßig über den 24 h-Zyklus verteilt und konnten zusammengefaßt werden (LWS; äußerer Kreis).
- B)** Austrittszeiten aus LWS. Da sich die zusammengefaßten Austrittszeiten aller 13 Hamster nahezu gleichmäßig über den 24 h-Zyklus verteilten, ergab sich kein signifikanter Mittelvektor.
- C)** Eintrittszeiten in kurze (KWS) und kurze und flache Winterschlafschübe (KFWS). Die Eintrittszeiten in KWS von Hamster #19 zeigten eine Tagesperiodik (KWS #19; innerer Kreis) mit einem Mittelvektor ($\mu_{KFWS \#19}$) bei 04:08 MEZ (CSD 2,23 h; $r = 0,84$; $p < 0,0001$). Die zusammengefaßten Eintrittszeiten in KWS und KFWS der zwölf anderen Tiere ergaben keinen signifikanten Mittelvektor.
- D)** Austrittszeiten aus KWS und KFWS. Wie die Eintrittszeiten, so zeigten auch die Austrittszeiten aus KWS von Hamster #19 eine Tagesperiodik (KWS #19; innerer Kreis) mit einem Mittelvektor ($\mu_{KWS \#19}$) bei 14:56 MEZ (CSD 3,08 h; $r = 0,66$; $p < 0,0001$). Die zusammengefaßten Austrittszeiten aus KWS und KFWS der zwölf anderen Hamster waren nahezu gleichmäßig über den 24 h-Zyklus verteilt.

Wie unter einem LD traten die langen und kurzen WS von Hamster #19 in etwa zur gleichen Tageszeit ein (vergleiche Abbildung 39, Kapitel 4.6.3). Zudem traten KWS bei diesem Tier viel häufiger als bei den anderen Hamstern auf, was mit der Störung des natürlichen Winterschlafmusters durch die extremeren Klimabedingungen im oberirdischen Hibernaculum zusammenhängen kann. Beide Befunde unterstützen die Vermutung, daß es sich bei den KWS um abgebrochene LWS handelt. Die zusammengefaßten LWS und KWS des Hamster #19 begannen zur gleichen Zeit wie bei den Tieren, die unter einem LD im Labor überwinterten. Auch bei Hamster #19 zeigten die Austrittszeiten aus KWS eine Tagesperiodik (Abbildung 42D). Ihr Verteilungsmuster über den Tag hinweg war nicht signifikant verschieden von der entsprechenden Verteilung in den Versuchsteilen LD1 und LD2.

4.6.6 Diskussion

4.6.6.1 Tagesperiodik in den Laborstudien unter einem Licht-Dunkelwechsel

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Laborstudien LD1 und LD2 (Abbildung 39) zeigten auch in der einzigen vergleichbaren Laborstudie zum Timing des Winterschlafs beim Europäischen Feldhamster nur die Eintrittszeiten in WS eine Tagesperiodik, während die Austritte nahezu gleichmäßig über die 24 h des Tag-Nachtzyklus verteilt waren (Canguilhem et al. 1994). Ebenso wurde sowohl beim Goldhamster, als auch beim Türkischen Hamster eine Tagesperiodik der Eintritte in WS festgestellt, während diese den Austritten aus WS fehlte (Pohl 1961, Pohl 1996; vergleiche Tabelle 6).

Im Gegensatz hierzu fand sich in den Laboruntersuchungen von Daan (1973) und French (1977) neben einer tagesperiodischen Organisation der Eintrittszeiten auch eine Tagesperiodik der Austrittszeiten aus WS des Gartenschläfers, bzw. einer Taschenmaus (Tabelle 6).

In der Studie von (Daan 1973) wurde die Tagesperiodik der Austritte aus WS in den zusammengefaßten Daten aller WS-Typen festgestellt, von denen jedoch die weitaus meisten kurze WS waren. Weiterhin zeigte ein Vergleich des Timings unterschiedlich langer WS (ein Tag, zwei Tage, drei Tage, usw.) für die Austritte aus mehrtägigen WS eine größere Streuung als für die entsprechenden Eintritte. Es ist daher möglich, daß die Tagesperiodik der zusammengefaßten Austritte in der Studie von Daan (1973), in

Übereinstimmung mit den Resultaten der vorliegenden Arbeit, vor allem von den kürzeren WS herrührte.

Auch French (1977) führte eine differenzierte Analyse des Timings verschieden langer WS-Typen durch. Im Unterschied zu den hier vorgestellten Untersuchungen und zu den Ergebnissen von Daan (1973) stellte French (1977) für die längeren WS eine, verglichen mit den Austrittszeiten, dreifach höhere Streuung der Eintrittszeiten fest.

Falls keine zusätzlichen tagesperiodischen Einflüsse die 24 h-Rhythmik der Austritte aus WS in den Studien von Daan (1973) und French (1977) bewirkt hat, muß entweder eine endogene Rhythmik nahe bei 24,00 h vorliegen (Twente & Twente 1987), oder der LD muß während der WS wahrgenommen worden sein und eine Synchronisation der Austritte bewirkt haben.

Obwohl Pohl (1967) Nestboxen mit transparenten Plexiglasdecken benutzte, stellte er unter einem LD keine Tagesperiodik der Anfangszeitpunkte der lokomotorischen Aktivität nach WS (entspricht einem Austritt aus WS) fest, wohingegen die Aktivitätsphasen eine klare 24 h-Periodik aufwiesen. Es erscheint daher unwahrscheinlich, daß ein Tier innerhalb eines WS den LD wahrnehmen kann.

Wie es für die Ergebnisse von Twente & Twente (1987) naheliegt, die unter DD und einer konstanten T_a eine exakte 24 h-Rhythmik der Austritte aus WS von Fledermäusen feststellten, so scheint auch in den Untersuchungen von Daan (1973) und French (1977) eher ein anderer exogener Faktor die Tagesperiodik der Austritte aus den WS verursacht zu haben (Grahn et al. 1994).

Andererseits kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, daß Artunterschiede die Diskrepanz zwischen den Studien von Daan (1973) bzw. French (1977) und den für alle Hamsterarten gleichartigen Resultaten verursachen. Derartige Artunterschiede wurden auch von Pohl (1967) vermutet, der beim Siebenschläfer unter einem LD meist keine Tagesperiodik der Austritte aus WS nachweisen konnte, während er in einer früheren Studie an einer nordamerikanischen Erdhörnchenart (*Spermophilus lateralis*) unter analogen Haltungsbedingungen eine Tagesperiodik der Austritte feststellte.

4.6.6.2 Fehlende Tagesperiodik in der Laborstudie unter Dauerlicht

Bislang liegt nur eine Untersuchung am Siebenschläfer vor, die unter vergleichbaren Bedingungen wie die vorliegende Laborstudie unter konstanten LL und konstanter T_a durchgeführt wurde (Pohl 1967). Ferner waren die amerikanischen Erdhörnchen in den Studien von Grahn et al. (1994) einer Lichtstärke von < 20 lx ausgesetzt, was allerdings von den Autoren als Dauerdunkel (DD) bezeichnet wurde. Daher diskutiere ich im Folgenden die Befunde aller Laborstudien unter konstanter Belichtung (LL und DD), sowie einer konstanten T_a (vergleiche Tabelle 6).

Nahezu alle Studien, die das Timing der Eintritte in bzw. Austritte aus WS unter Ausschluß der Zeitgeber LD und T_a -Zyklus untersuchten, fanden für beide Zeitpunkten keine Tagesperiodik (Tabelle 6). Lediglich Twente & Twente (1987) berichteten von einer exakten 24 h-Periodik des Beginns und der Termination von WS bei der großen braunen Fledermaus. Die Autoren werteten diese Ergebnisse als ein Nachweis einer nahezu exakten endogenen 24 h-Periodik, die sie als einen "biologischen Wecker" bezeichneten.

In einer Folgeuntersuchung wurde der Winterschlaf verschiedener Fledermausarten untersucht, die zur Überwinterung Höhlen aufsuchen (Thomas 1993). In diesen Hibernacula lag ebenfalls DD und eine relativ konstante T_a ohne ersichtlichen Tagesgang vor. Durch Ultraschalldetektoren konnte nachgewiesen werden, daß der Beginn der Aktivität (entspricht in etwa einem Austritt aus WS) zu keiner bevorzugten Tageszeit eintrat.

Die Befunde dieser zweiten Fledermausstudie und die große Anzahl konträrer Ergebnisse an Fledermäusen (Menaker 1959, Menaker 1961) und anderen Tierarten (vergleiche Tabelle 6) legen nahe, daß die von Twente & Twente (1987) beobachtete Tagesperiodik unter konstanten Licht- und Temperaturbedingungen durch einen nicht erkannten äußeren Einfluß verursacht wurde.

4.6.6.3 Tagesperiodik in den Freigehegestudien

Die Ergebnisse der Analyse der tageszeitlichen Organisation der Eintritte in bzw. Austritte aus WS für den im Freigehege oberirdisch überwinternden Hamster #19 (Abbildung 42) zeigten eine weitgehende Übereinstimmung mit den Ergebnissen für die Laborstudien unter einem LD und konstanter T_a (Abbildung 39). Alle anderen Tiere der Freigehegestudien (Abbildung 42) verhielten sich hingegen analog zu den Tieren aus der Laborstudie unter konstantem LL und konstanter T_a (Abbildung 41).

Die sechs Europäischen Feldhamster der Freigehegestudie von Wollnik & Schmidt (1995) zeigten alle eine Tagesperiodik der Eintrittszeiten in WS, während die Austrittszeiten keine 24 h-Rhythmik aufwiesen. Diese Ergebnisse entsprechen den Resultaten für den oberirdisch überwinternden Hamster #19 der vorliegenden Arbeit, während alle anderen Tiere der Freigehegestudien FG1 und FG2 keine Tagesperiodik zeigten. Wollnik & Schmidt (1995) hielten ihre Hamster in den gleichen Boxen, die später für die Laborstudien der vorliegenden Arbeit verwendet wurden (vergleiche Kapitel 2.1.2). Sie waren nur bis etwa 20 cm hoch mit Erdreich angefüllt, wodurch die Tiere keine Baue anlegen konnten sondern die bereitgestellten Nestboxen als Hibernacula nutzten. Es lagen daher ähnliche Bedingungen wie für den Hamster #19 der Freigehegestudie FG2 vor: eine tagesperiodisch wechselnde T_a , sowie ein natürlicher LD, die eine Synchronisation der Eintrittszeiten bewirken konnten.

In anderen Freigehegeuntersuchungen, bzw. Studien in freier Wildbahn, fanden sich widersprüchliche Ergebnisse. Fowler & Racey (1990) und Körtner & Geiser (1996) beobachteten nicht nur eine Tagesperiodik der Initiation, sondern auch der Termination von WS beim Europäischen Igel bzw. einer australischen Beutlerart.

Zur Überwinterung beziehen beide Arten nur relativ ungeschützte Hibernacula, in welchen die Tiere sowohl den natürlichen LD wahrnehmen können als auch der tagesperiodischen T_a ausgesetzt sind. Beide Arten sind den Winter über regelmäßig aktiv, foragieren nach Nahrung und wechseln die Hibernacula. Diese winterliche Aktivität steht wahrscheinlich in Zusammenhang mit einer extremen Witterung, der die Tiere durch ihre schlecht isolierenden Hibernacula voll ausgesetzt sind. Hinzu kommt, daß beide Arten vor Beginn des Winterschlafs kaum Körperfett speichern und keine Futterspeicher anlegen.

Für solche winteraktiven Winterschläfer erscheint eine zusätzliche Synchronisierbarkeit der Termination von WS durch tagesperiodische Umweltsignale durchaus sinnvoll, da sie zu einer Optimierung des winterlichen Foragierens nach Nahrung führt.

Im Gegensatz hierzu besteht für Tiere, die vor Beginn des Winterschlafs intensiv Körperfett speichern, wie z.B. Murmeltiere und Erdhörnchen, bzw. ausreichend Wintervorräte in ihren Hibernacula speichern, wie z.B. die Hamsterarten, keine Veranlassung, das Ende der WS mit Umweltzyklen zu synchronisieren, da sie den gesamten Winter über in ihren Hibernacula verbleiben und ihren Bau erst nach dem Eintreten günstiger Umweltbedingungen im Frühling verlassen.

Für Winterschläfer, die eine dieser beiden Strategien zeigen, erscheint nur eine Synchronisierbarkeit der Eintritte in WS sinnvoll, mit der die Tiere nach einer Störung des Winterschlafs, die sie an die Erdoberfläche zwingt, wieder in einer bestimmten Phasenlage zu den Umweltzyklen in den Winterschlaf zurückkehren. Dadurch ist gewährleistet, daß sie nach einer kurz darauf auftretenden erneuten Störung nicht völlig aus der Phase der Umweltzyklen geraten sind. Eine zusätzliche Synchronisierbarkeit der Austritte für diesen "Notfall-Mechanismus" erscheint hingegen wenig sinnvoll, da die WS ohne äußere Störungen, auf die ein Tier auch im tiefen Winterschlaf reagieren kann (Lyman 1982e), solange als möglich andauern sollten, um zu einer maximalen Einsparung von Energie zu führen. Es ist daher möglich, daß derartige Artunterschiede die Tagesperiodik der Austritte aus WS beim Gartenschläfer (Daan 1973) und der Taschenmaus (French 1977) in Laboruntersuchungen unter einem LD erklären.

4.6.6.4 Zeitgeber

In den Ergebnissen der Laborstudie unter einem LD und konstanter T_a (Abbildung 39) zeigte sich in Übereinstimmung mit den Resultaten anderer Untersuchungen mit entsprechenden Haltungsbedingungen der Tiere (Tabelle 6), daß das Timing der Eintritte in WS nicht als eine passive Reaktion auf externe Stimuli, wie z.B. eine absinkende T_a , verstanden werden darf. Statt dessen scheint die Initiation von WS ursächlich mit dem LD-Zyklus verbunden zu sein. Am Ende der ZSN erfolgte der Eintritt in einen WS in einer bestimmten Phasenlage zum LD (ca. 10 h nach Licht-Aus für LWS/KWS, bzw. nach 14 h für KFWS; Abbildungen 39 und 42).

Wird neben dem natürlichen Tagesgang der T_a auch der LD als Zeitgeber eliminiert, treten auch die Eintritte aus WS zu allen Tages- und Nachtzeiten des 24 h-Zyklus auf (Abbildung 41). Hierdurch erhärtet sich die Annahme eines engen Zusammenhangs zwischen dem Beginn eines WS und dem LD.

Auch in anderen Untersuchungen fanden sich definierte Phasenlagen zwischen den Eintritten in WS und dem Licht-Aus (Daan 1973), oder dem Licht-An Phasenreferenzpunkt innerhalb des LD (French 1977). Im Gegensatz hierzu erfolgten die Austritte aus WS in der vorliegenden Arbeit über den gesamten LD verteilt (Abbildungen 39 und 42). Es ist daher anzunehmen, daß die Fähigkeit den LD wahrzunehmen bzw. auf ihn zu synchronisieren, auf die Phasen der ZSN beschränkt ist (Pohl 1967, Canguilhem et al. 1994) bzw. daß es während der WS zu einer Desynchronisation von dem wahrgenommenen LD-Zyklus kommt (Daan 1973, Pohl 1987).

Der enge Zusammenhang zwischen der Phasenlage des LD und der Vorzugszeit der Initiation von WS wird auch durch die Ähnlichkeit des Timings zwischen den Teilstudien LD2 einerseits (Abbildung 39) und für den Hamster #19 aus dem Untersuchungsteil FG2 andererseits (Abbildung 42) belegt. Der Hamster #19 trat in etwa zur gleichen Tageszeit in LWS/KWS ein, zu der die Tiere der Laborstudien unter einem LD diese WS-Typen initiierten. Im Freigehege lag zur Zeit der Wintersonnwende ein natürlicher LD von 8:16 h vor (Sonnenaufgang um ca. 8:08 MEZ, Sonnenuntergang um ca. 16:35 MEZ; Abbildung 43B), der recht gut mit dem LD der Studie LD2 (8:16 h; Licht-An: 8:00 MEZ, Licht-Aus: 16:00 MEZ; vergleiche Tabelle 1; Kapitel 2.1) übereinstimmt.

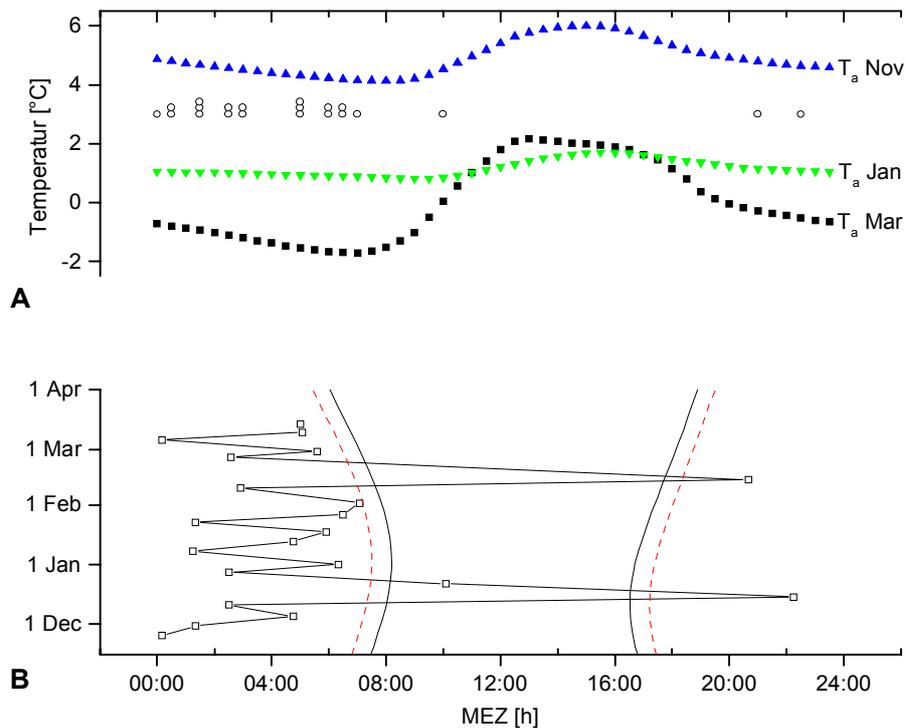


Abbildung 43: Verteilung der Eintrittszeiten in LWS des Hamsters #19 in der Freigehegestudie FG2 relativ zum Licht-Dunkelwechsel und zur Umgebungstemperatur an der Erdoberfläche

- A) Die ausgefüllten aufrechten und umgedrehten Dreiecke, bzw. Quadrate zeigen die halbstündlichen Mittelwerte der Umgebungstemperatur (T_a) an der Erdoberfläche für den Zeitraum 1.11.-24.11.1995 (T_a Nov), 1.01.-24.1.1996 (T_a Jan), bzw. 1.3.-24.3.1996 (T_a Mar). Die offenen Kreise zeigen die für jeweils 30 min gruppierten tageszeitlichen Positionen der Eintritte in LWS von Hamster #19. Die meisten Eintritte fallen in die abkühlende Flanke des Tagesgangs der T_a .
- B) Der Bereich zwischen den durchgezogenen Linien gibt die Tageslänge von Sonnenaufgang bis -untergang wieder, während der Bereich zwischen den gestrichelten Linien die bürgerliche Dämmerung miteinbezieht. Die offenen Kreise zeigen die Eintrittszeiten in LWS. Sie sind in der Sequenz ihres Auftretens durch Linien verbunden. Die meisten LWS beginnen in der Nacht.

Außer dem natürlich wechselnden LD (Abbildung 43B) wirkte gleichzeitig die tagesperiodisch oszillierende T_a auf die WS des Hamsters #19 ein (Abbildung 43A). Die Laborversuche von Lindberg (1974) belegten, daß ein tagesperiodische Wechsel der T_a eine 24 h-Rhythmik der Austritte aus WS bei der Taschenmaus *Perognathus longimembris* bewirken können. Daher kann nicht entschieden werden, welcher Zeitgeber im Falle von Hamster #19 die Tagesperiodik der Eintritte in WS herbeigeführt hat. Da jedoch die Dauer der natürlichen Lichtphase im Freigehege eine erhebliche Schwankung aufwies (8-13 h; Abbildung 43B), das Timing der Eintritte in WS im Freigehege jedoch verglichen mit den Resultaten der Laborstudien unter einem LD keine wesentlich größere Streuung aufwies (Abbildungen 42A, C; bzw. 39A, C), liegt es nahe, daß der von der Jahreszeit weit weniger

abhängige Tageszyklus der T_a (Abbildung 43A) von Hamster #19 als ein zusätzliches Umweltsignal zur genaueren Synchronisation der WS genutzt wurde.

4.6.6.5 WS-Typen

Die willkürliche Unterscheidung von drei Typen der WS erweist sich im Lichte der bislang dargestellten Ergebnisse nur als teilweise gerechtfertigt, da LWS und KWS große Ähnlichkeiten zeigen. So werden KWS in etwa zur gleichen Phasenlage des LD eingeleitet wie LWS (Abbildungen 39A, C und 42A, C). KWS zeigen zwar im Unterschied zu LWS eine Tagesperiodik der Austritte, dieser Befund läßt sich jedoch zufriedenstellend durch ihre Kürze von maximal 24 h und das Fehlen einer Plateauphase erklären, durch die es zu einer Spiegelung der Tagesperiodik der Eintrittszeiten auf das Ende eines KWS kommt.

Ein weiteres Indiz für die Ähnlichkeit von KWS und LWS ist ihr gehäuftes Auftreten inmitten der Winterschlafmuster (vergleiche Abbildungen 19-24; Kapitel 3.3). Im Freigehege wurden sie am häufigsten bei dem an der Erdoberfläche unter z.T. extremer T_a (minimale T_a im Februar und März 1997: $-5,1\text{ }^\circ\text{C}$) überwinterten Hamster #19 beobachtet (Abbildung 23, Kapitel 3.3). Aufgrund dieser Beobachtungen und des gemeinsamen Timings der Eintrittszeiten liegt es nahe, KWS als abgebrochene LWS zu verstehen und von den ebenso maximal eintägigen KFWS abzutrennen.

In der Abbildung 25 im Kapitel 3.3.1 ließe sich zwar für die Laborstudien jeweils eine gutangepaßte Gerade durch die maximal eintägigen WS (KFWS und KWS) einerseits bzw. die LWS andererseits legen, die Ähnlichkeit zwischen den KWS und KFWS wird aber wiederum durch das Abgrenzungskriterium $\leq 24\text{ h}$ und die konstante T_a in den Laborstudien verursacht und verschwindet, berücksichtigt man auch die Datenpunkte aus den Freigehegestudien, in denen eine natürlich wechselnde T_a vorlag.

Im Gegensatz zur Abtrennung der KWS von den LWS erwies sich die Trennung zwischen LWS / KWS einerseits und KFWS andererseits als sehr sinnvoll. Unter einem LD wurden KFWS einheitlich ca. 5 h später als LWS und KWS eingeleitet (Abbildungen 39A, C). Zu Beginn eines WS stand damit bereits fest, ob sich aus der Abkühlung der T_b ein LWS / KWS oder ein KFWS entwickelt. Entsprechende Unterschiede im Timing von eintägigen, bzw. mehrtägigen WS fanden sich auch beim Europäische Igel (Fowler & Racey 1990), beim Gartenschläfer (Daan 1973) und bei einer Taschenmausart (French 1977). In

Übereinstimmung mit den Resultaten der vorliegenden Arbeit begannen eintägige WS auch bei den genannten Arten 4-6 h später als mehrtägige WS.

Das tageszeitliche Timing der KFWS nicht nur in der in der Abbildung 40 gezeigten "test drop"-Phase, sondern auch der im weiteren Verlauf des Winterschlafs zwischen den LWS auftretenden KFWS, zeigte eine stabile Phasenlage zum LD, die sich nicht vom Timing der normothermen Minima der T_b unterschied. Es erscheint daher wahrscheinlich, daß die KFWS eine Abwandlung des normothermen Tagesminimums darstellen (Heller et al. 1989). Diese Interpretation wird auch durch Untersuchungen der Gehirnströme (EEG = Elektroenzephalogramm) in beiden Zuständen unterstützt, die nachweisen konnten, daß sich winterschlafende Tiere sowohl zu Zeiten der normothermen T_m , als auch in den KFWS in einem bestimmten Schlafzustand, dem sogenannten "slow-wave-sleep" (SWS) bzw. "non-REM-sleep" (nREM) befinden (Walker et al. 1981, Kilduff et al. 1993).

Es kann daher davon ausgegangen werden, daß beim Europäischen Feldhamster zwei hinreichend voneinander verschiedene Torpor-Typen auftreten: KFWS und LWS.

KFWS sind als Tages-Torpor der Nicht-Winterschläfer bekannt (Geiser & Ruf 1995) und stellen im Winterschlaf des Europäischen Feldhamster eher einen Artefakt dar. Die mehrtägigen LWS entsprechen hingegen dem Torpor anderer echter Winterschläfer (Geiser & Ruf 1995) und sind durch ein anderes Timing ausgezeichnet.

4.6.6.6 *Schlußfolgerungen*

Nachdem eine Beteiligung des circadianen Systems an der Regulation der T_b während der ZSN nachgewiesen wurde (Kapitel 4.4), fanden sich unter der Anwesenheit eines tagesperiodisch schwankenden Faktors nun auch Indizien für eine Beteiligung der "inneren Uhr" beim Timing des Beginns der WS.

Die nachgewiesene Tagesperiodik der Minimaltemperaturen im Verlauf von KFWS (Abbildung 40), sowie der Eintrittszeiten in alle WS-Typen (Abbildungen 39A, C und 42A, C) könnte aber auch durch ein rein passives Auslösen der WS durch den LD erklärt werden (Reiz-Reaktion). Diese Erklärung ist zwar recht unwahrscheinlich, da WS auch unter dem Ausschluß eines LD auftreten. Um jedoch die "Beweiskette" für einen entscheidenden Einfluß der endogenen Rhythmik auf das Winterschlafmuster zu vervollständigen, steht eine Analyse des Verteilungsmusters der Phasenreferenzpunkte (Eintritte in bzw. Austritte aus WS) bzw. der Länge der WS und ZSN unter Ausschluß von tagesperiodischen Umweltsignalen, also unter LL bzw. DD und konstanter T_a , aus.

Im Falle der Austritte aus LWS, für die auch unter Anwesenheit tagesperiodischer Umweltsignale keine 24 h-Rhythmik gezeigt werden konnte (Abbildungen 39B und 42B), bleibt ebenfalls die Frage zu klären, ob die Verteilung der Ereignisse die Annahme einer nicht mit der Umwelt synchron gehenden, also freilaufenden endogenen Spontanrhythmik erlaubt.

4.7 Statistische Analyse von Intervallen innerhalb des Winterschlafmusters

4.7.1 Einleitung

In sehr wenigen Studien gelang bisher ein direkter Nachweis des Einflusses einer endogenen Rhythmik auf den Winterschlaf, in Form einer circadianen Oszillation der T_b in der Plateauphase ausgedehnter WS (Menaker 1959, Menaker 1961, Grahn et al. 1994). Ob die in Kapitel 4.5.1.3 dargestellten ultradianen Oszillationen der T_b in den Plateauphasen von LWS, die nur bei einem einzigen Feldhamster auftraten, ebenso als direkter Nachweis einer endogenen Rhythmik innerhalb der WS interpretiert werden können, erscheint zweifelhaft, da zumindest eine weitere plausible Deutung möglich ist.

Ein zweiter wesentlich unbefriedigender Ansatz zur Überprüfung der Hypothese, daß das Winterschlafmuster durch eine endogene Rhythmik kontrolliert wird, ist die statistische Analyse der Intervalle zwischen den Eintritten in bzw. Austritten aus WS, und der Dauer von WS bzw. der ZSN (vergleiche Tabelle 7 und Abbildung 48 im Kapitel 4.7.4).

4.7.2 Spezielle Methoden

Der indirekte statistische Nachweis einer unbekanntem Periodik im zeitlichen Auftreten eines Phänomens ist nicht einfach. Im Unterschied zur Überprüfung einer Tagesperiodik sucht man nicht nach einer wohl definierten Periode, die exakt 24,00 h beträgt, sondern nach einer unbekanntem Größe, die nach vorsichtigen Schätzungen für ultradiane Rhythmen zwischen 1-19 h bzw. für circadiane Rhythmen zwischen 19-32 h anzusiedeln ist. Bei einer zeitlichen Auflösung der Daten (Registrierungsintervall) von 5 min ergeben sich für den ultradianen Bereich 228 hypothetische Perioden - für den circadianen Bereich 156 hypothetische Perioden, auf die getestet werden muß. Da hier sehr viele Einzeltest durchgeführt werden, ist zudem das Signifikanzniveau dieser Tests schwierig zu bestimmen.

4.7.2.1 Intervalle

Ein Winterschlafmuster kann in mehrere Intervalle zerlegt werden. Zum Einen lassen sich hypotherme Phasen (Winterschlafschübe, WS) von dazwischenliegenden normothermen Phasen (Zwischenschub-Normothermie, ZSN) unterscheiden, zum Anderen kann man das

Gesamtmuster in Intervalle zwischen Eintritten in WS bzw. zwischen Austritten aus WS zergliedern (vergleiche Abbildung 48A, Kapitel 4.7.4). Die Intervalle zwischen den Eintritten beinhalten immer die Dauer eines WS und die Dauer der darauffolgenden ZSN, während die Intervalle zwischen den Austritten aus WS die Dauer einer ZSN und des darauffolgenden WS beinhalten. Folgende Intervalle des Winterschlafmusters Europäischer Feldhamster wurden den weiter unten beschriebenen statistischen Methoden unterzogen (Tabelle 7):

1. Die Dauer der Winterschlafschübe (WS-Dauer): Intervalle zwischen den Eintritten in (Spalten 2-4) und den Austritten aus jedem WS (Spalten 5-7). Während in die Analysen, die auf der Häufigkeitsverteilung beruhen, die Dauer der einzelnen WS einging (Spalten 8 und 9), wurde für die Kreisstatistik jeweils ein künstlicher Datensatz aus dem Meßpunkt für den Eintritt in den ersten WS (Spalte 2, Zeile 1) und den darauf folgenden Intervallen der WS-Dauer (Spalte 9) gebildet. Im Beispiel von Hamster #17 (Tabelle 7): 12082, 12406 (=12082 + WS-Dauer für den WS #1: 324), 12955 (=12406 + WS-Dauer für den WS #2: 549), usw..
2. Die Dauer der Zwischenschub-Normothermie (ZSN-Dauer): Intervalle zwischen den Austritten aus und den jeweils darauf folgenden Eintritten in WS. Analog zur WS-Dauer wurde für die Kreisstatistik ein künstlicher Datensatz aus dem ersten Austritt aus einem WS (Spalte 5, Zeile 1) und den einzelnen Intervallen der ZSN-Dauer (Spalte 11) des Tieres gebildet.
3. Die Intervalle zwischen aufeinander folgenden Eintritten in Winterschlafschübe (Eintritte in WS): In die Analysen der Häufigkeitsverteilung ging die Dauer der einzelnen Intervalle zwischen jeweils aufeinander folgenden Eintritten in WS ein (Spalte 12). Der für die Kreisstatistik verwendete Datensatz bestand aus den Meßpunkten der Eintritte in WS (Spalte 2).
4. Die Intervalle zwischen aufeinander folgenden Austritten aus Winterschlafschüben (Austritte aus WS): Die Häufigkeitsverteilung ergab sich aus der Dauer der einzelnen Intervalle zwischen aufeinander folgenden Austritten (Spalte 13). Der Datensatz, der in die Kreisstatistik einging, bestand aus den Meßpunkten für den ersten und die folgenden Austritte eines Tieres aus WS (Spalte 5).

Tabelle 7: Untersuchte Zeitpunkte und Intervalle des Hamsters #17 aus der Teilstudie FG2

In der ersten Spalte sind die Winterschlafschübe (WS) des Tieres in ihrer Abfolge angegeben. Die 2.-4. Spalte zeigt den fortlaufenden Meßpunkt (MP), Datum und Uhrzeit, und die auf Polarkoordinaten (Grad) übertragene Uhrzeit der Eintritte in die WS. In der 5.-7. Spalte sind die entsprechenden Werte für die Austritte aus WS wiedergegeben. Die WS-Dauer ergibt sich aus der Zeit zwischen dem Eintritt in und Austritt aus einem WS (Spalte 8 in Stunden; Spalte 9 Anzahl der Meßpunkte [MPe]). Die Dauer der Zwischenschub-Normothermie (ZSN-Dauer) ist die Zeit zwischen einem Austritt aus einem WS und dem Eintritt in den darauf folgenden WS (Spalten 10 und 11). In den Spalten 12 und 13 sind die Intervalle zwischen zwei aufeinander folgenden Eintritten in (E_N-E_{N+1}) bzw. Austritten aus WS (A_N-A_{N+1}) gezeigt.

WS	Eintritt			Austritt			WS-Dauer [h]	WS-Dauer [MPe]	ZSN-Dauer [h]	ZSN-Dauer [MPe]	E_N-E_{N+1} [h]	A_N-A_{N+1} [h]
	MP	Datum Uhrzeit [MEZ]	Grad	MP	Datum Uhr [MEZ]	Grad						
#1	12082	23.10.1995 09:05	136.25	12406	24.10.1995 12:05	181.25	27.00	324				
#2	13475	28.10.1995 05:10	77.5	14024	30.10.1995 02:55	43.75	45.75	549	89.08	1069	116.08	134.83
#3	14971	02.11.1995 09:50	147.5	15650	04.11.1995 18:25	276.25	56.58	679	78.92	947	124.67	135.50
#4	16300	07.11.1995 00:35	8.75	17111	09.11.1995 20:10	302.5	67.58	811	54.17	650	110.75	121.75
#5	17443	10.11.1995 23:50	357.5	18373	14.11.1995 05:20	80	77.50	930	27.67	332	95.25	105.17
#6	18746	15.11.1995 12:25	186.25	19698	18.11.1995 19:45	296.25	79.33	952	31.08	373	108.58	110.42
#7	20050	20.11.1995 01:05	16.25	21056	23.11.1995 12:55	193.75	83.83	1006	29.33	352	108.67	113.17
#8	21356	24.11.1995 13:55	208.75	22396	28.11.1995 04:35	68.75	86.67	1040	25.00	300	108.83	111.67
#9	22624	28.11.1995 23:35	353.75	23896	03.12.1995 09:35	143.75	106.00	1272	19.00	228	105.67	125.00
#10	24148	04.12.1995 06:35	98.75	25408	08.12.1995 15:35	233.75	105.00	1260	21.00	252	127.00	126.00
#11	25646	09.12.1995 11:25	171.25	26861	13.12.1995 16:40	250	101.25	1215	19.83	238	124.83	121.08
#12	27035	14.12.1995 07:10	107.5	28363	18.12.1995 21:50	327.5	110.67	1328	14.50	174	115.75	125.17
#13	28536	19.12.1995 12:15	183.75	30108	24.12.1995 23:15	348.75	131.00	1572	14.42	173	125.08	145.42
#14	30443	26.12.1995 03:10	47.5	31643	30.12.1995 07:10	107.5	100.00	1200	27.92	335	158.92	127.92
#15	31851	31.12.1995 00:30	7.5	33298	05.01.1996 01:05	16.25	120.58	1447	17.33	208	117.33	137.92
#16	33499	05.01.1996 17:50	267.5	35010	10.01.1996 23:45	356.25	125.92	1511	16.75	201	137.33	142.67
#17	35208	11.01.1996 16:15	243.75	36864	17.01.1996 10:15	153.75	138.00	1656	16.50	198	142.42	154.50
#18	37043	18.01.1996 01:10	17.5	38690	23.01.1996 18:25	276.25	137.25	1647	14.92	179	152.92	152.17
#19	38852	24.01.1996 07:55	118.75	40624	30.01.1996 11:35	173.75	147.67	1772	13.50	162	150.75	161.17
#20	40797	31.01.1996 02:00	30	42533	06.02.1996 02:40	40	144.67	1736	14.42	173	162.08	159.08
#21	42708	06.02.1996 17:15	258.75	42858	07.02.1996 05:45	86.25	12.50	150	14.58	175	159.25	27.08
#22	42948	07.02.1996 13:15	198.75	44721	13.02.1996 17:00	255	147.75	1773	7.50	90	20.00	155.25
#23	44889	14.02.1996 07:00	105	46804	20.02.1996 22:35	338.75	159.58	1915	14.00	168	161.75	173.58
#24	46980	21.02.1996 13:15	198.75	48732	27.02.1996 15:15	228.75	146.00	1752	14.67	176	174.25	160.67
#25	48894	28.02.1996 04:45	71.25	50876	06.03.1996 01:55	28.75	165.17	1982	13.50	162	159.50	178.67
#26	51070	06.03.1996 18:05	271.25	52930	13.03.1996 05:05	76.25	155.00	1860	16.17	194	181.33	171.17
#27	53117	13.03.1996 20:40	310	55057	20.03.1996 14:20	215	161.67	1940	15.58	187	170.58	177.25
#28	55291	21.03.1996 09:50	147.5	56735	26.03.1996 10:10	152.5	120.33	1444	19.50	234	181.17	139.83
#29	57173	27.03.1996 22:40	340	58327	31.03.1996 22:50	342.5	96.17	1154	36.50	438	156.83	132.67

#30	58514	01.04.1996 14:25	216.25	60169	07.04.1996 08:20	125	137.92	1655	15.58	187	111.75	153.50
-----	-------	---------------------	--------	-------	---------------------	-----	--------	------	-------	-----	--------	--------

4.7.2.2 Autokorrelationen und Dichtespektren

Bevor eine Analyse der Periodenlänge der hypothetischen Oszillation durchgeführt wurde, die der Verteilung der Eintritte in bzw. der Austritte aus WS einerseits, und der Dauer der WS bzw. der ZSN andererseits, zugrunde liegen könnte, wurden mit einem einfachen Test die Häufigkeitsverteilungen der genannten Intervalle untersucht.

Falls eine Periodik das Winterschlafmuster bedingen würde, sollten die Intervalle entweder alle gleich lang sein bzw. eine auffällige Konzentration zu einer bestimmten Intervalldauer zeigen (unimodale Verteilung), oder sich mehrfach bei ganzzahligen Vielfachen einer bestimmten Dauer konzentrieren (multimodale Verteilung).

Multimodale Häufigkeitsverteilungen lassen sich ähnlich wie kontinuierliche Zeitreihen autokorrelieren (vergleiche Kapitel 4.2.1). Bei einer Verschiebung des überlagerten Histogramms um ein ganzzahliges Vielfaches der Periodik, die der Häufigkeitsverteilung zugrundeliegt, resultieren hohe Autokorrelationskoeffizienten. Diese Maxima der Autokorrelation sind durch ebenso prominente Minima negativer Autokorrelation voneinander getrennt (Strumwasser et al. 1967, Daan 1973).

Im Gegensatz zu Multimodalverteilungen sind bei konzentrierten unimodalen Verteilungen keine hohen positiven Autokorrelationen zu erwarten, da bei einer Verschiebung der überlagerten Häufigkeitsverteilung keine Übereinstimmung zum Vergleichsdatensatz auftreten kann.

Die Abschätzung der aus den Autokorrelogrammen erhaltenen Periodenlänge kann nicht genauer sein als es die Gruppenbildung der Histogramme war. In der Regel wurden Gruppen von 1 h gebildet, womit auch die Periode nicht genauer bestimmt werden konnte. Eine Abschätzung der Signifikanz der Autokorrelationen läßt sich durch den Vergleich der Koeffizienten mit den Standardfehlern der Schätzung erreichen.

Zusätzlich wurden Spektralanalysen der Autokorrelationen vorgenommen [Datenfenster der Schätzung der spektralen Dichte: 3 Werte; Gewichtung nach Tukey (Blackman & Tukey 1958)], um ein zusätzliches Instrument für die Abschätzung der Deutlichkeit einer Periodizität zu erhalten. Durch den Berechnungsalgorithmus der Spektralanalyse war eine Unterscheidung der Periodenlänge im Bereich circadianer Periodik (19-32 h) nur zwischen 16,67; 20,00; 25,00 und 33,33 h möglich. Für die Spektralanalyse gibt es derzeit keine

sichere Abschätzung der Signifikanz der Maxima. Die Autokorrelogramme sowie die Dichtespektren wurden mit Hilfe des Computerprogramms Statistica (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA) berechnet.

4.7.2.3 *Kreisstatistik*

Nachdem das Vorhandensein einer Rhythmik nach dem beschriebenen Verfahren überprüft worden war, konnten zwei abgewandelte Verfahren der Kreisstatistik angewandt werden, um die Periodenlänge der Rhythmik genauer einzugrenzen.

Die in den Häufigkeitsverteilungen untersuchten Intervalle wurden dem von Canguilhem et al. (1994) entwickelten und hier leicht abgewandelten Delta-Quadrat-Test, sowie einem neuen Verfahren, das eine Modifikation des Rayleigh-Tests (Batschelet 1981) darstellt, unterzogen. Für beide Verfahren der Kreisstatistik wurden zunächst zwei verschiedene Berechnungsverfahren der Intervalle benutzt:

1. **kumulativ:** Die Intervalle wurden zwischen dem ersten und den jeweils folgenden Ereignissen (Eintritte in bzw. Austritte aus WS) gebildet (Ereignis₁-Ereignis₂; Ereignis₁-Ereignis₃; ...; Ereignis₁-Ereignis_N).
2. **differenziell:** Die Zeiträume zwischen jeweils aufeinander folgenden Ereignissen (Ereignis₁-Ereignis₂; Ereignis₂-Ereignis₃; ...; Ereignis_{N-1}-Ereignis_N).

Sowohl im Delta-Quadrat- als auch im Rayleigh-Test werden die zu untersuchenden Intervalle zunächst durch jede hypothetische Periodenlänge (τ) zwischen 19-32 h (in einer Schrittweite von 5 min, basierend auf der zeitlichen Auflösung der Temperaturmessung) geteilt, wodurch sich ein ganzzahliges Vielfaches der Periode (Modulo τ oder $N \cdot \tau$) ergab, zu dem meist ein Rest (δ) hinzutrat (Modulo $\tau + \delta$).

Der Delta-Quadrat-Test teilt die aus der Division erhaltenen Reste in fünf Klassen ein, die den Obergrenzen der Abweichung von einem ganzzahligen Vielfachen der getesteten Periodenlänge entsprechen:

- Klasse #1 (bis $\pm 0,1$; 0-0,1 bzw. 0,9-1).
- Klasse #2 (bis $\pm 0,2$; 0,1-0,2 bzw. 0,8-0,9).
- Klasse #3 (bis $\pm 0,3$; 0,2-0,3 bzw. 0,7-0,8).
- Klasse #4 (bis $\pm 0,4$; 0,3-0,4 bzw. 0,6-0,7).
- Klasse #5 (bis $\pm 0,5$; 0,4-0,5 bzw. 0,5-0,6).

Ein Beispiel soll diese Gruppeneinteilung erläutern:

Dauer des WS #25 von Hamster #17: 165,17 h; getestete Periodenlänge: 24,75 h; Intervall/Periodenlänge ($165,17 \text{ h} / 24,75 \text{ h} \approx 6,67$); in Bezug auf die Ganzzahl (Modulo) 6 würde der Rest (δ) 0,67 betragen, rundet man jedoch zur nächst höheren Ganzzahl 7 auf, beträgt δ 0,33. Unabhängig von dem Rundungsverfahren würde das δ dieses Beispiels der Klasse #4 zugeordnet.

Die Verteilung der Reste der Divisionen aller Intervalle einer Gruppe auf die fünf Klassen wurde mit einer Zufallsverteilung (Chi-Quadratverteilung) verglichen und daraus ein Signifikanzniveau berechnet (Canguilhem et al. 1994).

Für den abgewandelten Rayleigh-Test wurden im Unterschied zum Test auf eine Tagesperiodik (vergleiche Kapitel 4.6.2), nicht 24 h, sondern die jeweilige hypothetische Periodenlänge auf einem 360° Kreis abgebildet (im oben benutzten Beispiel $24,75 \text{ h} = 360^\circ$). Das erste Ereignis (z.B. der erste Eintritt eines Tieres in einen WS) wurde bei 0° eingetragen und das Zeitintervall zum nachfolgenden Ereignis durch die hypothetische Periodenlänge geteilt (im oben benutzten Beispiel: $165,17 \text{ h} / 24,75 \text{ h} \approx 6,67$). Der Rest der Division wird auf den Kreis übertragen (im Beispiel $0,67 = 241,2^\circ$). Nachdem man in dieser Weise alle Ereignisse während des Winterschlafs eines individuellen Tieres aufgetragen hat, erhält man eine zirkuläre Verteilung für die man einen Mittelvektor und das entsprechende Signifikanzniveau bestimmen kann (Rayleigh-Test), vergleiche (Batschelet 1981). Testet man auf die Periodenlänge, die der zeitlichen Organisation der Ereignisse zugrundeliegt, so weichen die Reste der Divisionen nur geringfügig oder idealerweise überhaupt nicht von einer Ganzzahl ab. Daher ergibt sich im Idealfall ein Zusammenfallen aller Punkte bei 0° und damit ein hochsignifikanter Mittelvektor der Länge 1.

Die Nullhypothese für beide Testverfahren geht davon aus, daß entweder keine Periodizität in den Intervallen vorliegt, oder diese außerhalb des getesteten Bereichs von 19-32 h liegt. Die zur Ablehnung der Nullhypothese notwendigen Signifikanzschranken konnten nicht aus den bekannten Signifikanzschwellen des Delta-Quadrat-Tests (Canguilhem et al. 1994) bzw. des Rayleigh-Tests (Batschelet 1981) bestehen, da diese für einen einzelnen Test entwickelt wurden. Werden jedoch eine Vielzahl hypothetischer Periodenlängen hintereinander überprüft, gelten andere Signifikanzniveaus.

Eine in dem leistungsfähigen Statistikpaket SAS programmierte Prozedur (PROC IML, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) erzeugte für jeden Datensatz 200 Simulationen (Zufallsreihen) einer dem Datensatz entsprechenden Länge. Für beide Berechnungsverfahren (kumulativ und differenziell) wurden die fünf höchsten Maxima des Delta-Quadrat- bzw. des abgewandelten Rayleigh-Tests der Simulationen innerhalb des Testbereichs hypothetischer Circadian-Perioden zwischen 19 und 32 h mit den entsprechenden fünf Maximalwerten des realen Datensatzes verglichen und auf diese Weise multiple Signifikanzniveaus errechnet. Abweichend von der üblicherweise als Grenzsignifikanz geltenden Irrtumswahrscheinlichkeit für die Ablehnung der Nullhypothese von 5 % ($p \leq 0,05$) wird für die Kreisstatistik eine Signifikanzschwelle von $p \leq 0,1$ akzeptiert, da der multiple Vergleich zwischen den Simulationen und den realen Daten sehr konservativ ausfällt.

4.7.2.4 Doppelplots und Modulo τ -Plots

Um eine qualitative Überprüfung der Ergebnisse der Intervallanalysen zumindest für die diskreten Zeitpunkte der Eintritte in bzw. Austritte aus WS zu erreichen, wurden Doppelplots der tageszeitlichen Organisation und Modulo τ -Plots der aus den Analysen erhaltenen hypothetischen Periodizität der Zeitpunkte erstellt (z.B. Abbildung 50).

In einem Doppelplot gibt die Abszisse die Tageszeiten - die Ordinate die Versuchstage aller Eintritte in bzw. Austritte aus WS des Winterschlafmusters eines Tieres wieder. Dabei werden zwei aufeinander folgende Tage nebeneinander angeordnet, um ein Herausdriften der Ereignisse, wie es bei einem freilaufenden circadianen Rhythmus von mehr oder weniger als 24 h der Fall ist, erkennen zu können. Da die tageszeitliche Organisation der unterschiedenen Winterschlafschub-Typen (WS-Typen) zumindest unter einem LD verschieden war (Kapitel 4.6.3), wurden zunächst Doppelplots für alle WS-Typen erstellt und anschließend nur die langen Winterschlafschübe (LWS) untersucht.

Für die in der Analyse der Häufigkeitsverteilung bzw. der Kreisstatistik vorgefundenen hypothetischen Perioden wurden Modulo τ -Plots erstellt. In diesen sind die Eintritte in bzw. Austritte aus allen WS (bzw LWS) des Winterschlafs entsprechend der hypothetischen Periode (τ) aufgetragen. Die Abszisse stellt daher relative (subjektive) Tageszeiten und die Ordinate relative Tage dar. Läßt sich durch die Ereignisse eine senkrechte Gerade anpassen, so ist dies ein Indiz dafür, daß die den Ereignissen unterliegende Periode erkannt wurde.

Ergaben sich in den verschiedenen Analyseverfahren oder ein und derselben Analyse unterschiedliche hypothetische Perioden, so wurde versucht, über einen Vergleich der Standardfehler der linearen Anpassung eine quantitative Bewertung der Resultate vorzunehmen.

4.7.3 Überprüfung der statistischen Verfahren durch simulierte Intervalle

Die Analyse der Häufigkeitsverteilungen, sowie die beiden modifizierten Verfahren der Kreisstatistik sollten zunächst auf ihre Zuverlässigkeit überprüft werden (Abbildungen 44 und 45). Hierfür wurden zunächst jeweils zwei verschieden lange Datensätze aus Intervallen von 24 h bzw. aus gemischten Intervallen von 22 und 26 h generiert. Die Intervalle wurden als Produkt der simulierten Periode (24 h bzw. 22 und 26 h) und einer ganzzahligen Zufallszahl zwischen 1 und 8 gebildet. Die Perioden der gemischten Simulationen (22 und 26 h) waren derart ausgewählt, daß eine Mittelung der "reinen" Perioden, eine "scheinbare" Periode von ca. 24 h ergeben würde. Die Anzahl der Intervalle entsprach in etwa der Anzahl von zwei später zu überprüfenden Datensätzen (LWS von Hamster #7 mit 10 Intervallen bzw. alle WS-Typen von Hamster #9 mit 21 Intervallen; vergleiche Tabelle 8).

4.7.3.1 Test der Analyse der Häufigkeitsverteilungen

Die Autokorrelationen der Häufigkeitsverteilungen der reinen 24 h-Intervalle zeigten scharfe Maxima bei einer Zeitverschiebung um 24 h bzw. bei ganzzahligen Vielfachen von 24 h, die weit über den Pegel der Standardfehler der Autokorrelationsfunktion ragten. Die Dichtespektren der Autokorrelationen wiesen ebenfalls deutliche Maxima bei 25 h auf (Abbildung 44, erste Zeile). Es zeigte sich kein Unterschied in der Höhe der Maxima beider Analysen bei der Verdoppelung der Anzahl der Intervalle (Abbildung 44, zweite Zeile).

Die Analyse der aus 22 und 26 h gemischten Intervalle zeigte in den Autokorrelogrammen Maxima bei 2, 6, 20, 22, 24 und 26 h sowie bei Vielfachen dieser Werte (Abbildung 44, dritte Zeile). Bei der längeren Simulation tauchten zusätzlich Maxima bei 16 und 28 h auf (Abbildung 44, vierte Zeile). Während die zahlreicher vertretene Periode (22 h) sicher gefunden wurde, versagte die Autokorrelation in der Detektion der zweiten Periode (26 h). Die Maxima für die "Mischperiode" von 24 h waren durchweg deutlicher als für 26 h.

Die Dichtespektren zeigten im kürzeren Datensatz ein schmales Maximum bei 11,11 und ein breites Maximum zwischen 20-25 h (Abbildung 44, dritte Zeile), in der längeren Simulation nur ein breites Maximum zwischen 20-25 h (Abbildung 44, vierte Zeile). Im ersten Fall erscheint also ein deutliches Maximum bei der Hälfte der häufigeren Periode (22 h; $N = 6$), wobei die beiden gemischten Perioden (22 und 26 h) in einem zweiten breiten Maximum verborgen bleiben. Die längere Datenreihe belegt nur das zweite breite Maximum.

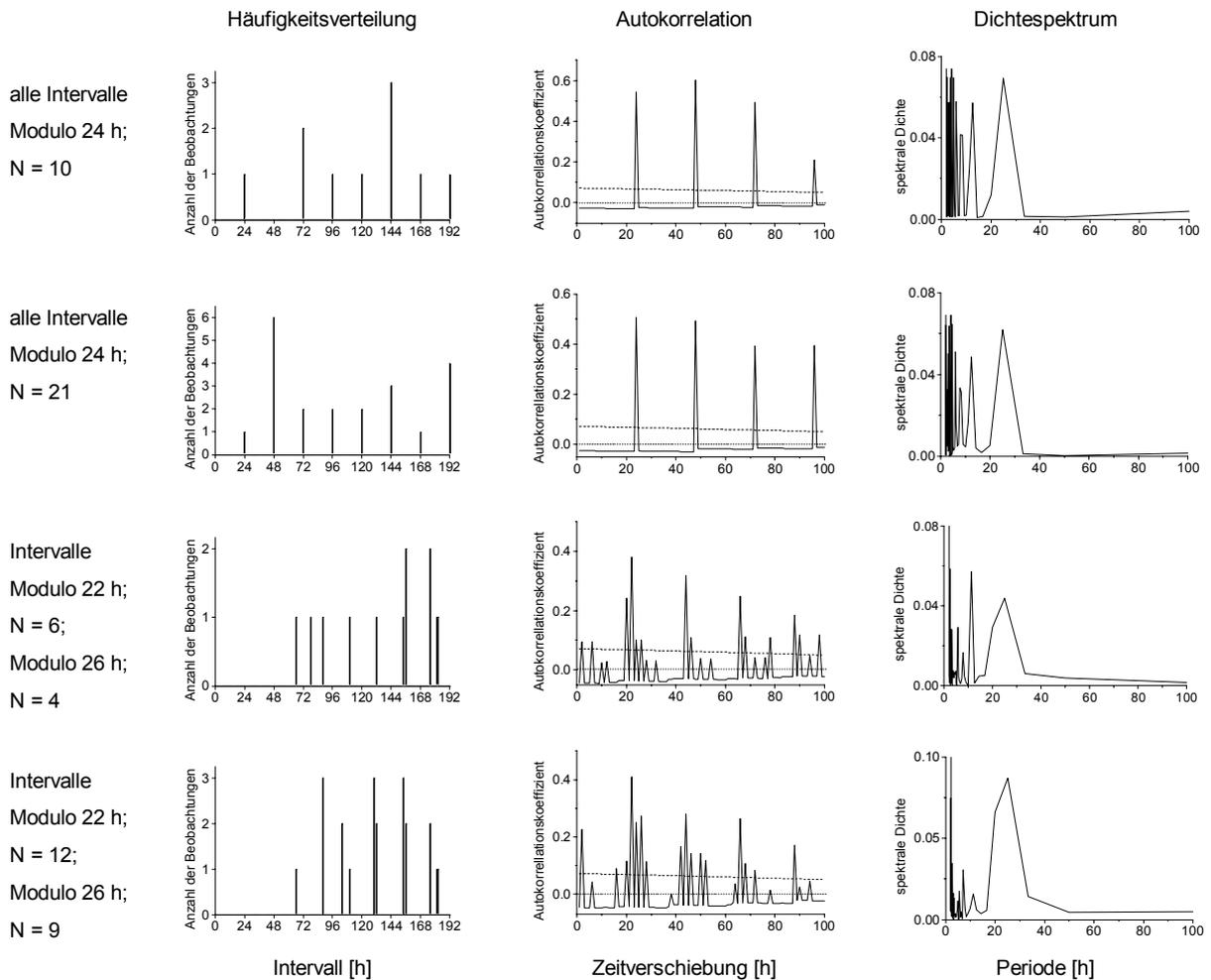


Abbildung 44: Häufigkeitsverteilungen, Autokorrelationen und Dichtespektren der simulierten Intervalle

In den Histogrammen wurden die Intervalle in Klassen von jeweils 1 h eingeordnet, deren Mittelpunkte die Werte der Abszissen bilden. Es wurden ausschließlich Intervalle bis 8 d berücksichtigt. Die Autokorrelogramme zeigen die Koeffizienten der Autokorrelationen der Häufigkeitsverteilungen bei einer Verschiebung des überlagerten Histogramms (Schrittweite 1 h). Die gestrichelte Linie gibt die Standardfehler der Autokorrelationen wieder; die gepunktete Linie markiert die Autokorrelation 0. Die Dichtespektren stellen die spektrale Dichte der in den Autokorrelogrammen vorherrschenden Perioden dar. Hierfür wurde ein Zeitfenster von jeweils 3 Werten nach Blackman & Tukey (1958) gewichtet.

Damit zeigt sich die Methode der Autokorrelation durchaus fähig, eine einzelne Periode, die sehr scharf vertreten ist, in einer Genauigkeit von ± 1 h nachzuweisen. Die Ungenauigkeit hinsichtlich mehrerer simulierter Perioden läßt vermuten, daß die Methode sehr schnell an ihre Grenzen kommt, wenn die Intervalle nicht äußerst gleichmäßig ausfallen, wie es bei reellen Datenreihen zu erwarten ist.

4.7.3.2 Test der Kreisstatistik

Die Abbildung 45 zeigt die Resultate der Anwendung der Kreisstatistik auf die vier simulierten Datensätze. Bei der simulierten Tagesperiodik konnte die 24 h-Periodik bereits mit dem kürzeren Datensatz (10 Intervalle) sicher nachgewiesen werden ($\delta^2 = 40$ bzw. $r = 1$; $p < 0,01$), wobei die kumulativ berechneten Intervalle eine genauere Bestimmung ermöglichten, da sie schmalere Maxima aufwiesen (Abbildung 45, erste Zeile). Der mehr als doppelt so lange Datensatz ($N = 21$) lieferte schmalere Maxima, die hinsichtlich der kumulativ berechneten Intervalle im Falle des δ^2 -Tests doppelt so hoch ausfielen, während die Länge des Mittelvektors bereits bei 10 Intervallen das Maximum von 1,0 erreicht hatte. Bei den differenziell berechneten Intervallen verschwanden die Nebenmaxima, aber das zentrale Hauptmaximum wurde breiter (zweite Zeile).

Die Analyse des kürzeren gemischten Datensatzes ($N = 10$; Modulo 22 und Modulo 26 h) erbrachte nach der kumulativen Berechnung trotz klarer Maxima keine signifikanten Werte (Abbildung 45, dritte Zeile). Der Rayleigh-Test zeigte zwar bei 26,17 h ein deutliches Maximum, das jedoch mit $p > 0,1$ nicht signifikant war. Der δ^2 -Test zeigte sowohl bei 22 als auch bei 26 h ein Maximum, die jedoch ebenfalls nicht die Signifikanzschwelle erreichten.

Hinsichtlich der differenziell berechneten Intervalle lieferte der δ^2 -Test ein signifikantes Maximum bei 22,25 h ($p < 0,05$), während das wenig seltenere Intervall von 26 h nur durch ein niedriges und nicht signifikantes Maximum angedeutet wurde. In derselben Größenordnung fand sich zusätzlich ein Maximum bei 24 h, einer Periode, die in etwa dem Mittelwert zwischen den 10 Intervallen entsprach (23,67 h), aber im Datensatz nicht vorhanden war. Der Rayleigh-Test lieferte hier wieder ein sehr breites Maximum, dessen Spitzenwert bei 22,83 h lag und mit $p < 0,05$ Grenzsignifikanz erreichte (dritte Zeile).

Die Analyse des längeren Datensatzes aus gemischten Intervallen (Abbildung 45, vierte Zeile) erbrachte hinsichtlich der kumulativen Berechnung nach beiden Testverfahren signifikante Maxima bei 22 und 26 h ($p < 0,01$). Nach den differenziell berechneten

Intervallen erbrachte der δ^2 -Test drei Maxima bei 22, 24 und 26 h, von denen die ersten beiden signifikant waren ($p < 0,01$) - der Rayleigh-Test lieferte wiederum ein sehr breites Maximum um 23 h ($p < 0,01$).

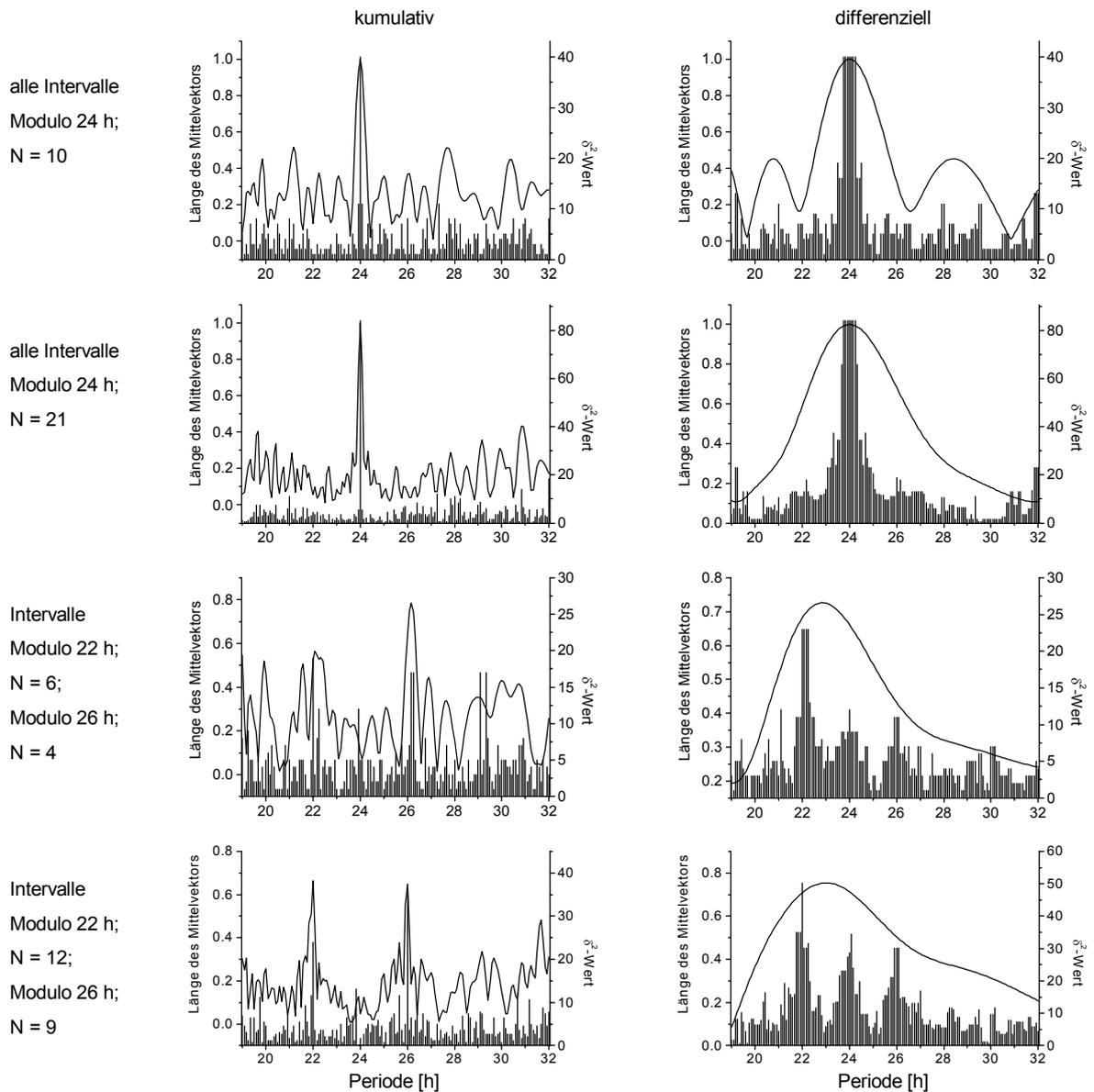


Abbildung 45: Resultate der multiplen Kreisstatistik für simulierte Datensätze mit Intervallen von Modulo 24 bzw. Modulo 22 und Modulo 26 h

Die zu testenden Intervalle wurden nach zwei verschiedenen Arten berechnet. Kumulative Intervalle wurden jeweils zwischen dem ersten und den folgenden Ereignissen gebildet, während beim differenziellen Verfahren die Intervalle zwischen jeweils zwei aufeinander folgenden Ereignissen in die Tests gingen. Die Liniendiagramme zeigen die Verteilung der Länge der Mittelvektoren (Rayleigh-Test; linke Ordinate), während die Säulendiagramme die Verteilung der δ^2 -Werte wiedergeben (δ^2 -Test; rechte Ordinate). In den beiden obersten Reihen sind die Ergebnisse der beiden Testverfahren für zwei unterschiedlich lange simulierte Datensätze ($N = 10$ bzw. $N = 21$) wiedergegeben, die aus Intervallen eines ganzzahligen Vielfachen von 24 h (Modulo 24) bestanden. Die beiden unteren Reihen zeigen die Resultate für zwei ebensolange Simulationen aus gemischten Intervallen von Modulo 22 und Modulo 26 h.

Aus den Simulationen zur Kreisstatistik lassen sich folgende Schlüsse über die Tauglichkeit der verschiedenen Berechnungen und Testverfahren ziehen:

1. Während zum Nachweis einer einzigen Periode zehn Intervalle ausreichten, genügte diese Stichprobengröße nicht, um das Vorhandensein von zwei Perioden feststellen zu können (Abbildung 45, erste und dritte Zeile).
2. Die kumulativ berechneten Intervalle ergaben im Vergleich zu den differenziell bestimmten Intervallen nach beiden Testverfahren schmalere und damit genauer bestimmbare Maxima (Abbildung 45).
3. Beim Vorliegen mehrerer Perioden wurden durch den δ^2 -Test vor allem in den differenziell berechneten Intervallen Maxima vorgetäuscht, die dem Mittelwert der Perioden entsprechen, aber nicht real in den Datensätzen vorhanden waren (Abbildung 45, dritte und vierte Zeile).
4. Bei den kumulativ berechneten Intervallen lieferten beide Testverfahren weitgehend übereinstimmende und zuverlässige Ergebnisse, wobei auch hier bei den gemischten Intervallen im δ^2 -Test Maxima bei 24 h auftraten, die jedoch weit unter dem Signifikanzniveau blieben. Im Falle der gemischten Perioden gelang damit der Nachweis beider Perioden sicherer durch den Rayleigh-Test (Abbildung 45, dritte und vierte Zeile).

Aufgrund dieser Befunde und zur Vereinfachung der Darstellung wurde in den nun folgenden Analysen ausschließlich der auf den kumulativen Intervallen basierende modifizierte Rayleigh-Test eingesetzt und infolge als Kreisstatistik bezeichnet.

Zum Abschluß dieser Methodenstudie wurden die in den bisherigen Simulationen erfolgreich erprobten Methoden (Autokorrelation, Dichtespektrum und Kreisstatistik) an drei weiteren künstlichen Datensätzen getestet.

4.7.3.3 Test aller Verfahren mit einem simulierten Rauschpegel

Der erste Datensatz bestand aus Intervallen einer simulierten Tagesperiodik, die durch eine rationale Zufallszahl zwischen 0-1 modifiziert wurde (Modulo 24 ± 0.1 h). Dadurch sollte ein in reellen Intervallen zu erwartender minimaler Rauschpegel von ca. 4 % simuliert werden. Wie in den vorangegangenen Methodentests wurde wieder ein kleinerer (N=11) und ein größerer Datensatz (N=21) den auf der Häufigkeitsverteilung beruhenden Analysen (Autokorrelationen, Dichtespektren) bzw. der Kreisstatistik unterworfen (Abbildung 46).

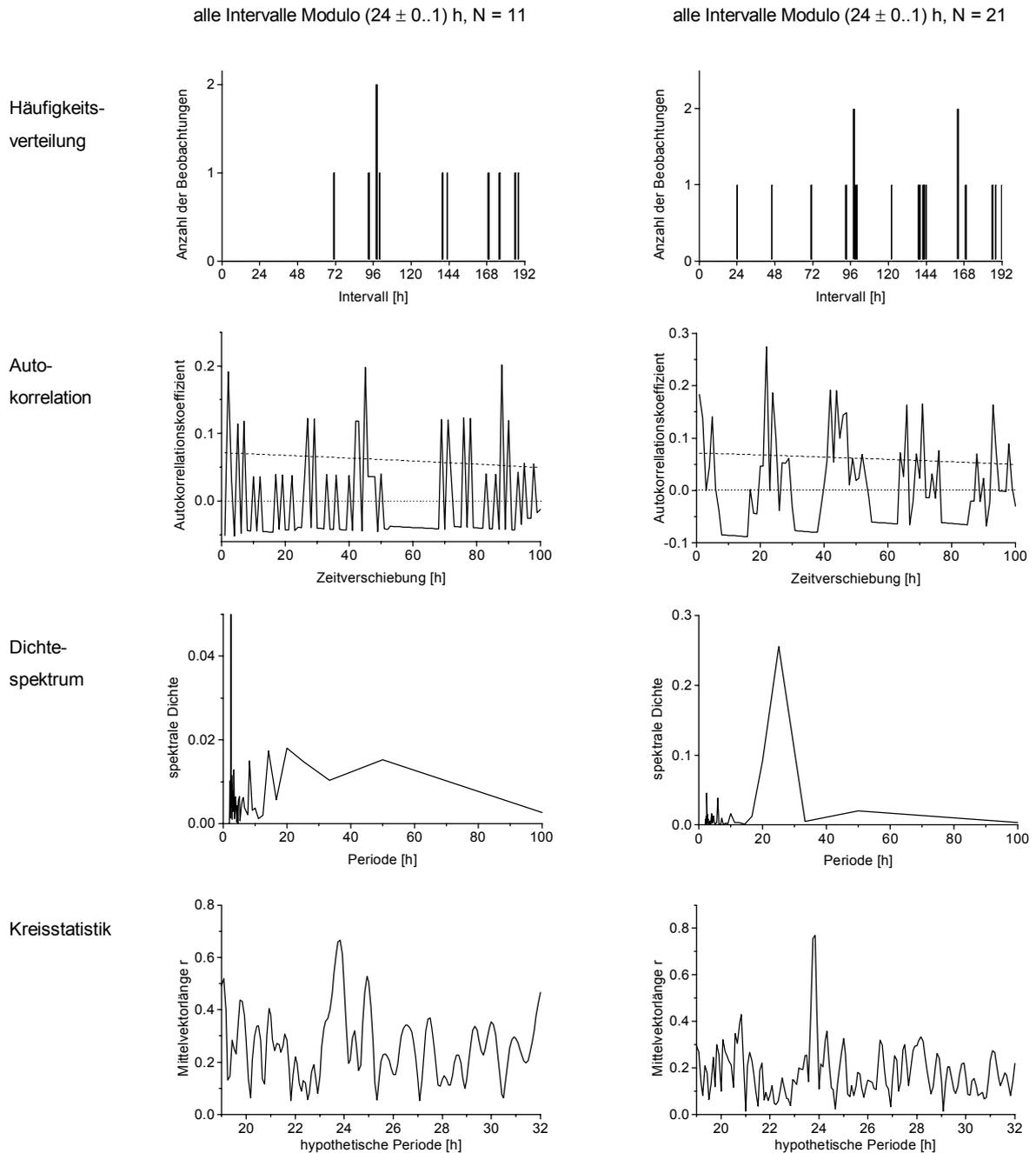


Abbildung 46: Test der statistischen Methoden durch Intervalle mit einer simulierten Tagesperiodik und einem Rauschpegel

In den beiden Spalten sind die Ergebnisse der verwendeten Testverfahren (Histogramme, Autokorrelogramme, Dichtespektren und Kreisstatistik (modifizierter Rayleigh-Test aufgrund der kumulativen Intervalle)) für zwei unterschiedlich lange simulierte Datensätze ($N = 11$ bzw. $N = 21$) wiedergegeben. Die Intervalle bestanden aus zwischen 0-8 gelegenen ganzzahligen Vielfachen einer um eine rationale Zufallszahl zwischen 0-1 von 24 h abweichenden Periode (Modulo $1-8 \cdot 24 \pm 0.1$ h). In die Analyse beider Datenreihen wurden ausschließlich Intervalle von bis zu 8 d einbezogen.

Die kürzere Simulation erbrachte nach allen Analysen unbefriedigende Ergebnisse (Abbildung 46, erste Spalte):

In der Autokorrelation trat eine große Zahl von Maxima auf, wobei ein Maximum um 24 h fehlte. Das einer Tagesperiodik nächste Maximum trat bei einer Zeitverschiebung um 27 h auf, einem Intervall, das nicht im Datensatz vertreten war. Daher konnte auch das Dichtespektrum keine einzelne circadiane Periode als dominanten Anteil der Autokorrelationsfunktion identifizieren.

Im Gegensatz hierzu zeigte die Kreisstatistik ein deutliches Maximum bei 23,83 h, einem Wert, der dem Mittelwert der 11 durch die Zufallszahlen modifizierten Perioden sehr nahe kam (23,82 h). Die Länge des Mittelvektors erreichte bei diesem Wert [$r(23,83 \text{ h})$] jedoch nur 0,67 und verfehlte damit die einem Signifikanzniveau von $p < 0,1$ entsprechende Mittelvektorlänge von 0,72 für das höchste Maximum im Bereich zwischen 19-32 h.

Hinsichtlich des größeren Datensatzes lieferten alle Analysen zufriedenstellende Ergebnisse (Abbildung 46, zweite Spalte). Die Autokorrelation zeigte zwar das höchste Maximum bei 22 h und weitere Maxima bei den Vielfachen dieser Periode (44, 66 h), es war jedoch auch eine zweite deutliche Periodik bei 24 h zu erkennen, die sich in etwa auch bei den Vielfachen (47, 71, 93 h) wiederfand. Das Dichtespektrum der in der Autokorrelation dominanten Perioden zeigte daher auch ein sehr deutliches einzelnes Maximum bei 25 h.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Autokorrelationsanalyse wies die Kreisstatistik ein eindeutiges Maximum bei 23,83 h (Mittelwert der 21 Intervalle aus einer modifizierten Tagesperiodik: 23,86 h) auf. Die Länge des Mittelvektors betrug 0,77 ($p < 0,01$).

4.7.3.4 Test aller Verfahren mit unimodalen und zufälligen Intervallen

In der zweiten Simulation wurden unimodale Intervalle erzeugt, die dem Dreifachen einer um eine rationale Zufallszahl zwischen 0-1 veränderten Tagesperiodik entsprachen ($3 \cdot 24 \pm 0,1 \text{ h}$), wodurch wiederum ein minimaler Rauschpegel simuliert wurde. Wie zu erwarten war, konnten die Verfahren, die die Häufigkeitsverteilung analysierten, die simulierte Periodik nicht erkennen, während die Kreisstatistik ein signifikantes Maximum ($r = 0,89$; $p < 0,01$) bei der mittleren Periodenlänge der simulierten Intervalle (23,67 h) nachwies (Abbildung 47, erste Spalte).

Die letzte Simulation erzeugte ganzzahlige Zufallsintervalle zwischen 1-192 h (Abbildung 47, zweite Spalte). In der Autokorrelationsanalyse fanden sich deutliche Maxima über dem Niveau der Standardfehler der Autokorrelationsfunktion bei 20, 41 und 88 h Zeitverschiebung. Das Dichtespektrum zeigte jedoch nur bei 6,67 und 11,11 h deutliche Maxima und trug damit den hochfrequenten Oszillationen zwischen den Hauptmaxima der Autokorrelation Rechnung. Im Gegensatz zu der wennauch undeutlichen Detektion einer Periodik durch die Analyse der Häufigkeitsverteilung im Zufallsdatensatz, zeigte der Verlauf der Mittelvektorenlänge kein signifikantes Maximum.

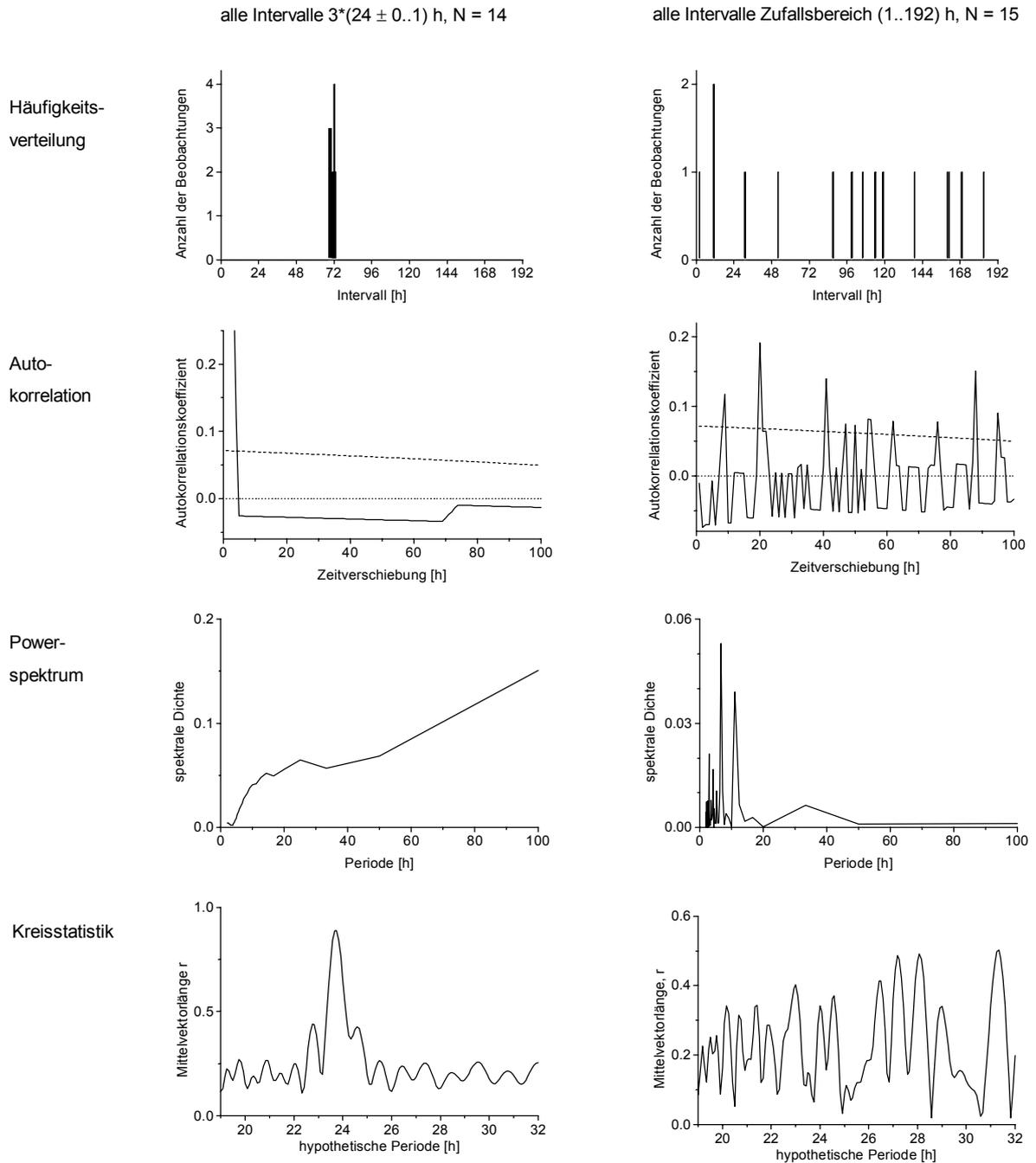


Abbildung 47: Test der statistischen Methoden durch unimodale und zufällige Intervalle

In den beiden Spalten sind die Ergebnisse der verwendeten Testverfahren (Histogramme, Autokorrelogramme, Dichtespektren und Kreisstatistik für zwei simulierte Datensätze (N = 14 bzw. N = 15) wiedergegeben. Der erste Datensatz besteht aus unimodalen Intervallen des Dreifachen einer um eine rationale Zufallszahl zwischen 0-1 von 24 h abweichenden Periode ($3 \cdot 24 \pm 0.1$ h). Der zweite Datensatz besteht aus ganzzahligen Zufallsintervallen zwischen 1-192 h (1..192).

4.7.3.5 *Schlußfolgerungen*

Zusammenfassend wiesen die Ergebnisse der Autokorrelationsanalysen und des Dichtespektrums bei einem genügend großen Datensatz das Vorhandensein einer Periodik in der Verteilung von Intervallen sicher nach, auch wenn diese durch unsystematische "Störungen" überlagert waren (Abbildung 46, zweite Spalte). Die Periodenlänge der aufgefundenen Periodik war jedoch nicht sehr genau bestimmbar. Wegen der für ein Histogramm notwendigen Gruppenbildung, konnte eine Schätzung der Periodenlänge aus der Autokorrelationsfunktion bestenfalls auf eine Stunde genau sein. Außer im Falle einer einzelnen reinen Periodik (Abbildung 44, erste und zweite Zeile) traten pro Zyklus mehrere Maxima auf, wodurch die Schätzung der Periodenlänge noch ungenauer ausfiel.

Das Dichtespektrum der Autokorrelation zeigte sich zwar ebenfalls als ein geeignetes Instrument, um eine Periodik qualitativ zu belegen, um jedoch die Periodenlänge abzuschätzen, war es aufgrund der Berechnungsmodalitäten einer Fouriertransformation nur auf ca. 5 h genau.

In der Analyse der unimodal verteilten Intervalle (Abbildung 47, erste Spalte) konnten beide die Häufigkeitsverteilung analysierenden Verfahren die simulierte Periodizität nicht nachweisen. Darüber hinaus erwiesen sich beide Verfahren als unsicher, was die Unterscheidung von periodischen bzw. zufälligen Intervallen zumindest in kleinen Datensätzen angeht (vergleiche Abbildungen 46, erste Spalte und 47, zweite Spalte).

Die Ergebnisse der Kreisstatistik lieferten eine genaue und verlässliche Abschätzung für die einer Reihe von Intervallen zugrundeliegende Periodenlänge (Abbildungen 45-47). Die aus der Verteilung der Mittelvektorenlänge erhaltene Periodenlänge stimmte bei den durch ein Rauschen modifizierten Intervalle mit der mittleren Periode überein (Abbildung 46), trotzdem konnten zwei gleichzeitig simulierte Perioden sicher auseinandergehalten werden und wurden nicht einfach gemittelt (Abbildung 45).

Der abgewandelte Rayleigh-Test konnte auch die Periodik unimodal verteilter Intervalle nachweisen (Abbildung 47, erste Spalte) und erwies sich als wenig anfällig in der "Fehldetektion" von Periodizitäten in Zufallsintervallen (vergleiche Abbildungen 46, erste Spalte und 47, zweite Spalte).

4.7.4 Zusammenhang zwischen den Intervallen in einem Winterschlafmuster

Unter bestimmten Voraussetzungen können die vier unterschiedenen Intervalle eine sehr enge Beziehung aufweisen. Ergibt sich etwa die Dauer der WS und der ZSN aufgrund derselben Periodik, dann sollte sich diese auch in den Intervallen zwischen den Eintritten in bzw. den Austritten aus WS finden. Selbst in dem Fall, daß die Dauer der WS und ZSN von zwei verschiedenen Oszillationen bedingt wären, diese Perioden jedoch den gesamten Winter über konstant bleiben, würden sowohl die Intervalle zwischen Eintritten in als auch zwischen Austritten aus WS eine gemeinsame Periodik zeigen, die der gemittelten Periodik der WS- und der ZSN-Dauer entspricht (Abbildung 48, 1. Zeile).

Die Simulation einer Periodik in den Intervallen zwischen den Eintritten in und den Austritten aus WS zeigte hingegen keine Auswirkung auf die Periodik der eingeschlossenen Intervalle der WS- bzw. ZSN-Dauer (Abbildung 48, 2. Zeile).

Wären die Voraussetzungen der ersten Simulation gegeben, wäre es daher unnötig, alle vier Intervalle getrennt zu untersuchen.

In den Laborexperimenten unter einem LD, sowie für den oberirdisch überwinterten Hamster #19 im Freigehege zeigte sich eine Tagesperiodik der Eintrittszeiten in WS - eine entsprechende Periodik in den Intervallen zwischen den Austritten aus WS fehlte jedoch (Kapitel 4.6). Daher scheinen die Verhältnisse zwischen den vier unterschiedenen Intervallgruppen reeller Winterschlafmuster Europäischer Feldhamster nicht so einfach wie in den in der Abbildung 48 gezeigten Simulationen zu sein. Die vorgestellten statistischen Methoden wurden in Folge dessen auf alle vier Intervalle angewendet. Für jede Haltungsbedingung (LD, LL und FG) wird dies an einem bzw. einigen wenigen besonders deutlichen Beispielen dargestellt.

Unter der Anwesenheit eines Zeitgebers wurde eine signifikant unterschiedliche Tagesperiodik der Eintrittszeiten in LWS und KWS einerseits bzw. in KFWS andererseits nachgewiesen. Zudem fand sich eine Tagesperiodik für die Austrittszeiten aus KWS und KFWS (vergleiche Kapitel 4.6). Um eine eventuell vorhandene Periodizität in den entsprechenden Intervallen nicht durch das Zusammenfassen aller WS-Typen zu überdecken, wurde nach einer Analyse der Intervalle zwischen den Eintritten in bzw.

Austritten aus allen WS-Typen eine weitere Analyse der Intervalle zwischen den Eckpunkten der LWS durchgeführt.

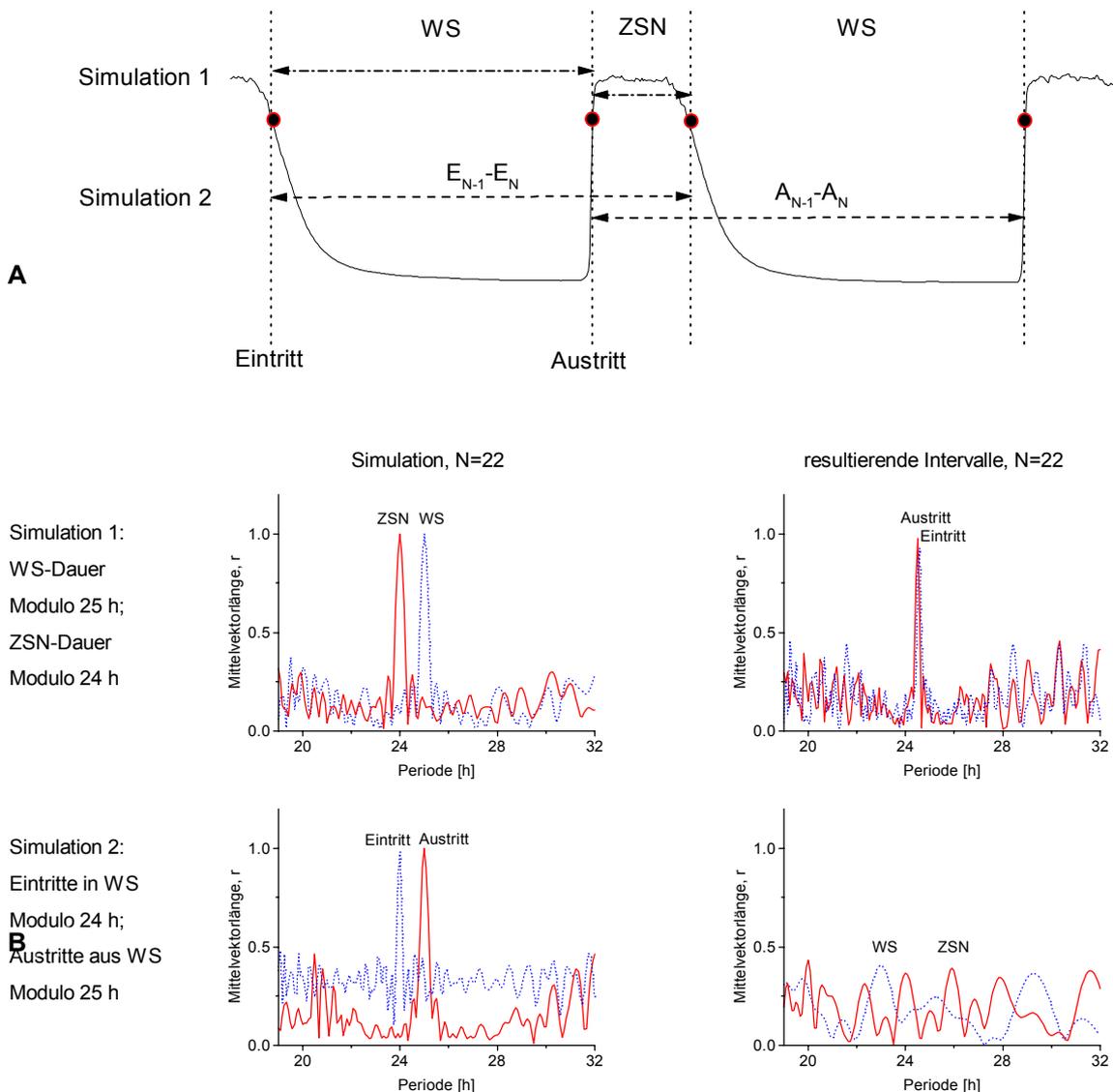


Abbildung 48: Periodik simulierter und resultierender Intervalle im Winterschlafmusters

A) Schematische Darstellung der simulierten Intervalle.

In der Simulation 1 wurde die Dauer der Winterschlafschübe (WS) als ein ganzzahliges Vielfaches von 25 h (Modulo 25 h) und die Dauer der Zwischenschub-Normothermie (ZSN) als Modulo 24 h erzeugt. Die Intervalle zwischen den Eintritten in WS ($E_{N-1}-E_N$) und Austritten aus WS ($A_{N-1}-A_N$) ergeben sich aus einer Kombination der simulierten Intervalle. In der zweiten Simulation wurde umgekehrt die Dauer der Intervalle zwischen Eintritten in WS und Austritten aus WS als Modulo 24 h bzw. Modulo 25 h vorgegeben, woraus sich die Dauer der beiden anderen Intervalle ergibt.

B) Berechnung der simulierten und der jeweils resultierenden Intervalle.

In der ersten Spalte sind die Ergebnisse der Kreisstatistik für die beiden jeweils simulierten Intervallgruppen für eine Datenreihe von $N=22$ wiedergegeben. In der zweiten Spalte finden sich die Ergebnisse der Kreisstatistik auf die aus der Simulation zwangsläufig folgenden anderen Intervallgruppen. In der ersten Zeile wurde die Dauer der WS als Modulo 25 h (gepunktete Linie) bzw. die Dauer der ZSN als Modulo 24 h simuliert (durchgezogene Linie) und die Periodik der resultierenden Intervalle zwischen den Eintritten in (Eintritt, gepunktete Linie) bzw. Austritten aus WS (Austritt, durchgezogene Linie) untersucht. Für beide resultierenden Intervalle ergab sich eine Periode von 24,5 h.

In der zweiten Zeile wurde umgekehrt eine Periodik in den Intervallen zwischen den Eintritten in WS (Modulo 24 h) bzw. zwischen den Austritten aus WS (Modulo 25 h, durchgezogene Linie) simuliert und die resultierende Dauer der WS und ZSN (durchgezogene Linie) untersucht. Hier konnte für keines der resultierenden Intervalle eine Periodik ausgemacht werden.

4.7.5 Statistische Analyse der Intervalle in den Laborstudien unter einem Licht-Dunkelwechsel

Die Abbildung 49 zeigt die Ergebnisse der statistischen Analyse der Intervalle für den Hamster #7 aus der Laborstudie LD2. Dieses Tier wurde aus einer Gruppe von vier Hamstern der Laborstudien LD1 und LD2 ausgewählt, deren Winterschlafmuster ausreichend viele LWS aufwiesen (Tabelle 4; Kapitel 3.3.1), da sich bei diesem Hamster die deutlichste Periodizität in der tageszeitlichen Organisation der Eintrittszeiten zeigte (Kapitel 4.6.3).

4.7.5.1 Dauer der Winterschlafschübe und der Zwischenschub-Normothermie

Die Häufigkeitsverteilung der WS-Dauer zeigte ein unimodales Muster mit einer Konzentration der WS zwischen 0-18 h (Abbildung 49, Zeile 1). Sowohl das Autokorrelogramm, als auch das Powerspektrum wiesen daher nur undeutliche Maxima auf. In der Kreisstatistik fand sich ebenfalls keine dominante hypothetische Periodik.

Im Gegensatz zur Dauer der WS, zeigte sich im Histogramm der ZSN-Dauer eine eher multimodale Verteilung, die sich in zwei Gruppen von 12-46 h bzw. 56-68 h gliederte (Abbildung 49, Zeile 2). Auf diese beiden Gruppen folgten zwei einzelne ZSN bei 95 bzw. 139 h.

Die Autokorrelation der Häufigkeitsverteilung zeigte daher eine deutliche Oszillation mit einem ersten Maximum bei 21 h. Es folgten Hauptmaxima bei einer Zeitverschiebung des autokorrelierten Histogramms um 44 h und 73 h.

Trotz dieses nicht sehr ausgeprägten Verlaufs in der Autokorrelation zeigte das Powerspektrum ein distinktes Maximum zwischen 20 und 25 h, das allerdings eine geringe spektrale Dichte aufwies. Auch in der Kreisstatistik fanden sich deutlich abgesetzte Maxima der Mittelvektorenlänge bei einer hypothetischen Periode von 20,92 bzw. 22,42 h; die mit $p < 0,01$ die Signifikanzschwelle für das erste bzw. zweite Maximum des multiplen Rayleigh-Tests erreichten.

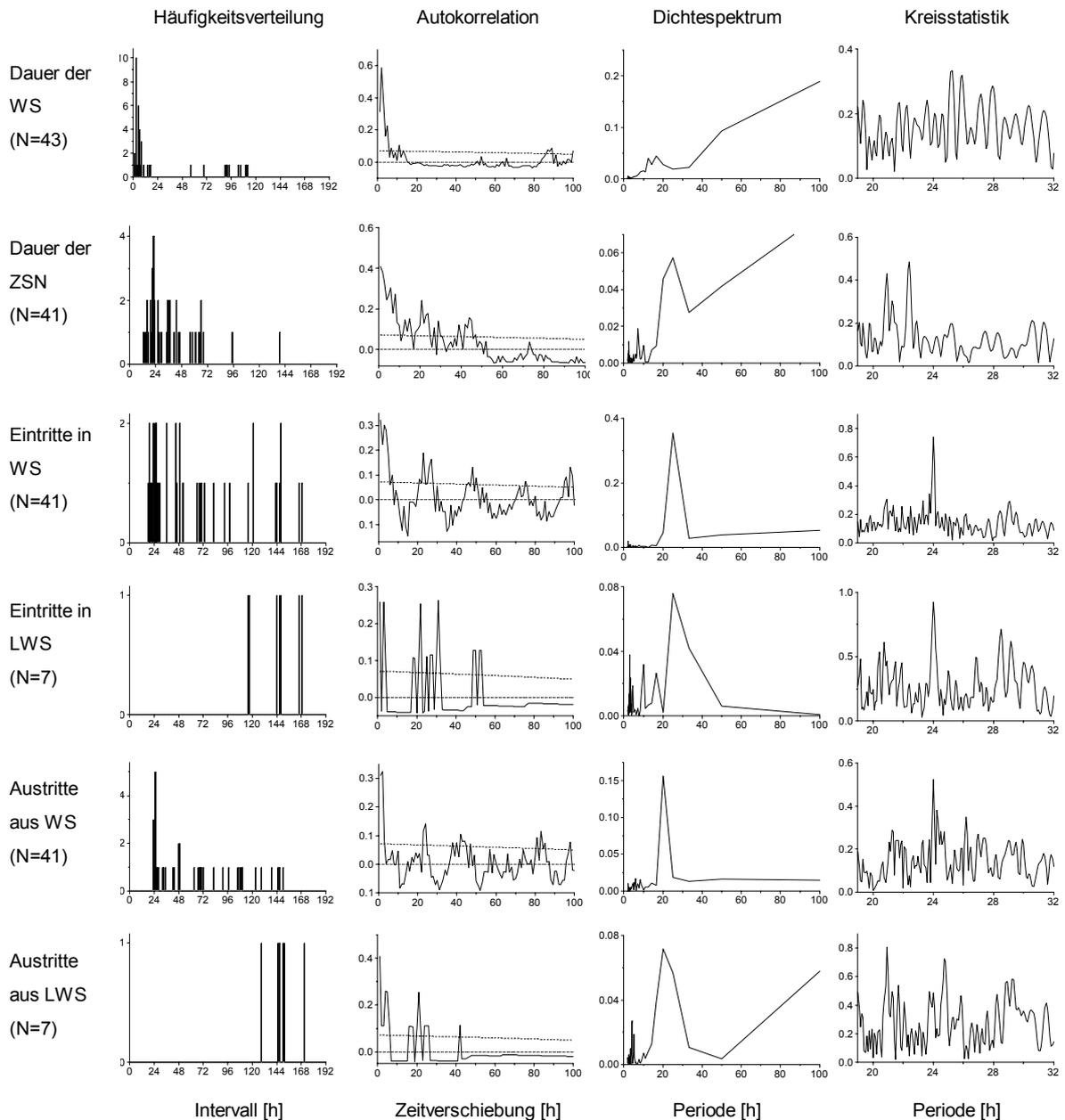


Abbildung 49: Statistische Analyse der untersuchten Intervalle des Winterschlafmusters von Hamster #7 aus dem Versuchsteil LD2

In den Histogrammen der ersten Spalte wurden die Intervalle in Klassen von jeweils 1 h eingeordnet. Die Ordinate gibt an, wieviele Intervalle der betreffenden Klasse vorkamen. Es wurden ausschließlich Intervalle bis 8 d berücksichtigt. Die Ordinate der Autokorrelogramme (2. Spalte) stellt die Autokorrelationskoeffizienten der Häufigkeitsverteilungen bei einer Verschiebung des überlagerten Histogramms um jeweils 1 h dar. Die gestrichelte bzw. gepunktete Linie zeigt die Standardfehler bzw. die Autokorrelation 0. In den Dichtespektren (3. Spalte) zeigt die Ordinate die spektrale Dichte der in den Autokorrelogrammen vorherrschenden Perioden. Die Ordinate der Kreisstatistik (4. Spalte) zeigt die Mittelvektorklänge für die hypothetischen Perioden. Die ersten beiden Zeilen geben die Ergebnisse der statistischen Verfahren für die Dauer der Winterschlafschübe (WS) bzw. der normothermen Phasen zwischen den WS (ZSN) wieder. In den Zeilen drei bis sechs sind die Analysen der Intervalle zwischen Eintritten in bzw. Austritten aus WS wiedergegeben. Da sich in der Analyse der tageszeitlichen Verteilung der Eintritte in und Austritte aus WS ein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen WS-Typen zeigte, wurden in der vierten bzw. sechsten Zeile zusätzlich die Intervalle zwischen Eintritten in bzw. Austritten aus langen WS (LWS) untersucht.

4.7.5.2 *Intervalle zwischen Eintritten in Winterschlafschübe*

Das Histogramm für die Intervalle zwischen den Eintritten in alle drei Typen von WS des Hamsters #7 zeigte ein deutlich multimodales Muster, das sich in mehrere Cluster um die Vielfachen von 24 h gruppierte (Abbildung 49, Zeile 3). Im Autokorrelogramm fand sich daher eine mustergültige Oszillation zwischen positiven und negativen Werten mit einem ersten Maximum bei einer Verschiebung des überlagerten Histogramms um 23 h. Weitere Maxima folgten bei 48, 75 und 98 h. Diese Abstände entsprechen in etwa Vielfachen von 24 h. Daher wies die Spektralanalyse ein einzelnes deutliches Maximum bei 25 h auf. Schließlich belegte auch die Kreisstatistik die Tagesperiodik mit einem hochsignifikanten Maximum ($p \ll 0,01$).

Alle angewandten Methoden bestätigten damit die tagesperiodische Organisation der Eintritte in WS unter einem LD und konstanter T_a , die bereits durch die Polardiagramme im Kapitel 4.6.3 nachgewiesen wurde. Obwohl sich dort ein unterschiedliches Timing für die LWS und KWS (N=16) einerseits sowie für die KFWS (N=27) andererseits fand, ergab sich in den statistischen Analysen eine deutliche Tagesperiodik in den Intervallen zwischen den Eintritten in alle Typen von WS. Dies mag zum Einen aus der nahezu doppelt so großen Anzahl von KFWS resultieren, zum anderen jedoch auch von der unmittelbaren Nachbarschaft der meisten LWS / KWS in der Sequenz des Winterschlafmusters herrühren, die selten von KFWS getrennt werden (Abbildung 20, Hamster #7). Trotzdem wurden auch in diesem Fall die Intervalle zwischen Eintritten in LWS separat getestet (Abbildung 49, 4. Zeile).

Von den 10 Intervallen zwischen den 11 Eintritten in LWS waren 3 länger als 8 d (192 h) und wurden daher nicht berücksichtigt. Das Histogramm zeigte ein recht regelmäßiges Auftreten von Intervallen beim 5, 6 und 7-fachen von 24 h, was jedoch aufgrund der geringen Anzahl an Beobachtungen eine Zufallsverteilung nicht ausschließt (Abbildung 49, Zeile 4). Infolge dessen konnte das Autokorrelogramm keine deutliche 24 h-Periodik nachweisen, sondern zeigte zwei Maxima bei 22 und 31 h, denen weitere Maxima bei 49/50 und 52/53 h folgten. Trotz dieser Variabilität zeigte sich die Tagesperiodik recht deutlich im Powerspektrum und mit einem signifikanten Maximum der Mittelvektorlänge von 0,93 bei der hypothetischen Periode 24,00 h ($p < 0,05$) in der Kreisstatistik.

4.7.5.3 Intervalle zwischen Austritten aus Winterschlafschüben

Obwohl keine größeren Lücken zwischen Clustern der Häufigkeitsverteilung der Intervalle zwischen Austritten aus WS auftraten, zeigte sich dennoch eine Konzentration der Intervalllänge um die Vielfachen von 24 h (Abbildung 49, Zeile 5). Die Analysen der Häufigkeitsverteilung wiesen daher eine Tagesperiodik der Austritte aus allen WS-Typen nach, die auch von der Kreisstatistik unterstützt wurde.

Da für die Tagesperiodik in den Intervallen zwischen allen Typen von WS die große Anzahl der tageszeitlich organisierten kurzen WS (KWS und KFWS, $N = 32$; verglichen mit 11 LWS; Tabelle 4, Kapitel 3.3.1) verantwortlich sein konnten, wurden zusätzlich die Intervalle zwischen den Austritten aus LWS untersucht (Zeile 6).

Wiederum konnten nur 7 Intervalle untersucht werden, da drei der Intervalle zwischen aufeinanderfolgenden LWS länger als 8 d dauerten. Das Autokorrelogramm bezüglich der Häufigkeitsverteilung zeigte dennoch eine deutliche Oszillation mit einem ersten Maximum nach Unterschreiten der Autokorrelation 0 bei 21 h und einem zweiten Maximum bei 42 h. Diese Periodik zeigte sich auch in einem deutlichen Maximum der Spektralanalyse bei 20 h. In der Kreisstatistik fand sich außer einem entsprechenden Maximum der Mittelvektorlänge bei 20,92 h ($r = 0,80$) ein weiteres Maximum bei 24,75 h ($r = 0,72$). Aufgrund der geringen Stichprobe blieben jedoch beide Maxima unter der sehr konservativen Signifikanzschwelle ($p = 0,1$ erfordert eine Mittelvektorlänge von 0,88 für das erste und 0,83 für das zweite Maximum). Unter Mitnahme der beiden ausgesonderten längeren Intervalle (267 h und 1042 h) verblieben beide Maxima in etwa bei den ermittelten Perioden und erreichten die Signifikanzschwelle ($p = 0,1$; $r = 0,75$ bzw. 0,71).

4.7.5.4 Zusammenfassung und Überprüfung der Ergebnisse

Mit der Ausnahme der WS-Dauer zeigten sich damit für alle untersuchten Intervalle deutliche Hinweise auf eine diurnale bzw. circadiane Periodik. Die Resultate der verschiedenen Methoden stimmten dabei weitgehend überein (vergleiche Tabelle 8).

Doppelplots und Modulo- τ -Plots der Eintritte in bzw. Austritte aus WS und LWS von Hamster #7 zeigten, daß die aus den statistischen Analysen der Intervalle erhaltenen Perioden den Ereignissen unterliegen könnten (Abbildung 50). Für die Austritte aus LWS wurden für beide dominanten hypothetischen Perioden von 20,92 h bzw. 24,75 h Modulo- τ -

Plots erstellt. Die Anpassung an die dominante Periode von 20,92 h wies mit einer Standardabweichung von 2,64 eine geringere Streuung auf, verglichen mit der Anpassung an die subdominante Periode von 24,75 h (SD = 3,11). Dieser Unterschied entsprach in etwa dem Unterschied in der Mittelvektorlänge.

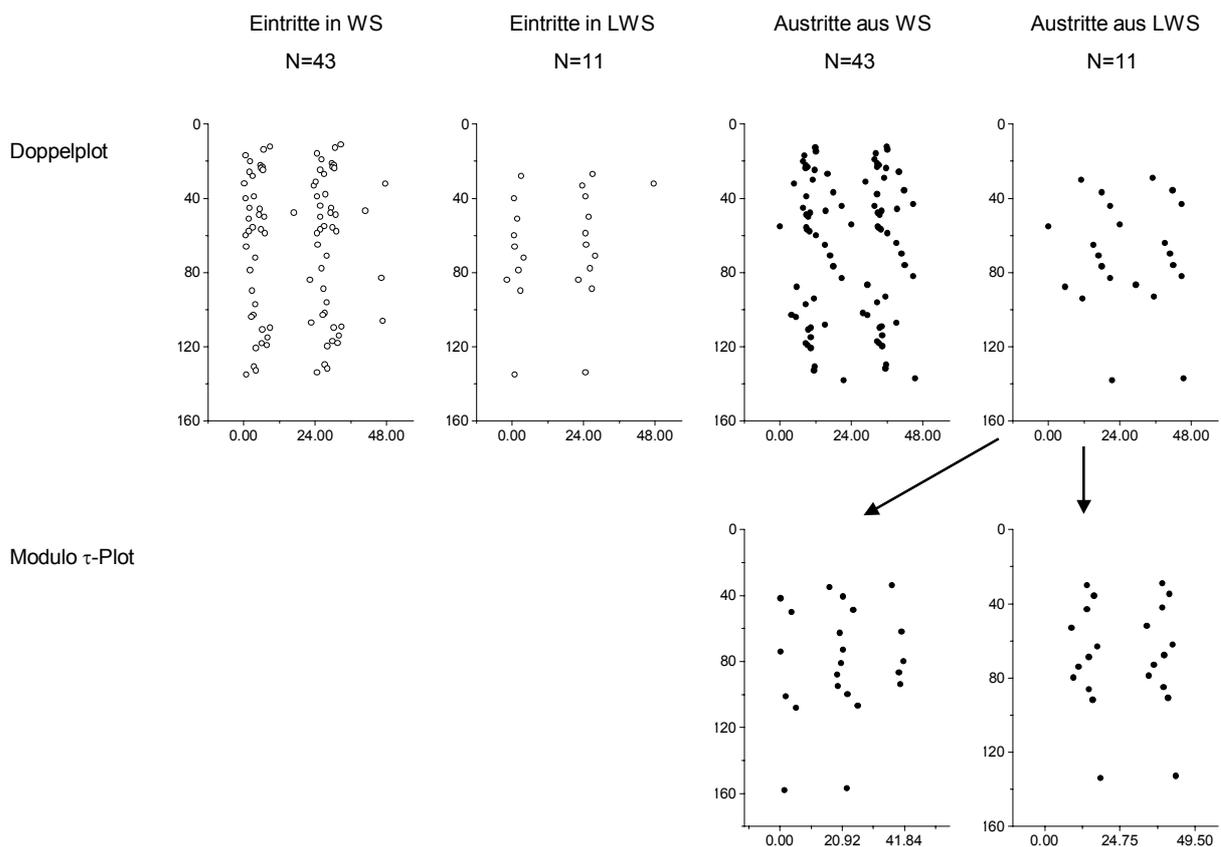


Abbildung 50: Doppelplots und Modulo τ -Plots der Eintritte in und der Austritte aus allen Typen von Winterschlafschüben (WS) bzw. langen WS (LWS) von Hamster #7 aus dem Versuchsteil LD2

In den Doppelplots gibt die Abszisse die Tageszeit - die Ordinate den Versuchstag wieder. Da die tageszeitliche Organisation der unterschiedenen Winterschlafschub-Typen (WS-Typen) unter einem LD verschieden war (Kapitel 4.6.3), wurden die statistischen Analysen für die langen Winterschlafschübe (LWS) getrennt durchgeführt.

Für die in den statistischen Analysen der Intervalle gefundenen hypothetischen Perioden wurden Modulo τ -Plots erstellt. Hier stellt die Abszisse relative (subjektive) Tageszeiten und die Ordinate relative Tage dar. Für die Eintritte in WS und LWS, sowie für die Austritte aus allen WS-Typen ergab sich in der Kreisstatistik eine Periode von 24,00 h. Die Modulo τ -Plots sind daher mit den Doppelplots identisch und wurden nicht dargestellt. Statt dessen sind die beiden herausragenden Perioden der Kreisstatistik der Intervalle zwischen Austritten aus LWS dargestellt. Die Anpassung an die Periode von 20,92 h war geringfügig besser als an die Periode von 24,75 h (Standardabweichung der Punkte von der linearen Anpassung: 2,64 vs. 3,11).