

# Über die Struktur der Pilzkörper des Insektenhirns

## I. Synapsen im Pedunculus \* \*\*

F.-W. SCHÜRMAN

Max-Planck-Institut für Hirnforschung Köln-Merheim, Abteilung für  
Allgemeine Neurologie (Direktor Prof. Dr. K. J. Zülch)  
Arbeitsgruppe für experimentelle Neuropathologie und vergleichende Neuroanatomie  
(Leiter: Privatdozent Dr. W. Wechsler)

Eingegangen am 10. Oktober 1969

### *On the Structure of the Mushroom-Bodies in the Brain of Insects*

*Summary.* 1. The stalk of the mushroom-bodies (*Corpora pedunculata*) of the cricket *Acheta domestica* L. is composed of nerve fibers from different types of globuli cells. These fibers are arranged into four groups.

2. Extrinsic nerve fibers run through the pedunculus neuropil in different directions.

3. Synapses occur primarily in stalk zone III and in basic stalk parts of zone IV. Intrinsic nerve fibers of globuli cells contain synaptic vesicles, which stain with ZIO-impregnation (Akert and Sandri, 1968), and dense core vesicles.

4. Intrinsic and extrinsic nerve fibers make synaptic contacts. There is some evidence, that globuli cell fibers interact by chemical synapses too.

5. Special synaptic structures such as electron dense projections and accumulations of vesicles are situated predominantly in the angles of two neighbouring axons. The question of synaptic polarization can not always be resolved.

6. The different fiber types and their synaptic contacts are discussed with respect to the function of the corpora pedunculata. The results support the general view, that mushroom bodies represent an important brain center for association.

*Key Words:* Insects — Brain — Corpora pedunculata — Mushroom bodies — Synapses.

*Zusammenfassung.* 1. Die Stiele der Corpora pedunculata im Gehirn von *Acheta domestica* L. weisen eine Zonierung auf, die auf einer bestimmten Gruppierung von Globulizellfasertypen in der Stielsäule beruht.

2. Pilzkörperfremde Fasern durchziehen das Stielneuropil in allen Richtungen. Sie sind besonders klar zu erkennen, wenn sie senkrecht zu den Globulizellfasern verlaufen.

3. Sog. chemische Synapsen treten hauptsächlich in der Zone III, die den größten Teil des Stielvolumens einnimmt, und im basalen Stiel in der Zone IV auf. Außer synaptischen Vesikeln, die sich mit Zinkjodid-Osmiumsäure imprägnieren lassen, finden sich in den Pilzkörperfasern zahlreiche osmiophile Grana vom Typ der „dense core vesicles“.

4. Globulizellfasern sind mit pilzkörperfremden Fasern im Stiel synaptisch verknüpft. Sehr wahrscheinlich konvergieren im unteren Stielteil Globulizellfasern auf postsynaptische extrinsische Fortsätze. Wahrscheinlich haben auch Globulizellfasern untereinander synaptischen Kontakt.

5. Synaptische Spezialstrukturen (elektronendichte Auflagerungen, Massierungen von synaptischen Vesikeln) finden sich größtenteils in den anliegenden Winkeln von zwei benachbarten Axonen. Oftmals kann eine Entscheidung über die Polarisierung der Synapsen nicht getroffen werden.

6. Die verschiedenen Fasertypen und ihre Kontakte über Synapsen werden im Hinblick auf die Funktion der Corpora pedunculata diskutiert, die nach verbreiteter Ansicht assoziative Hirnzentren verkörpern.

\* Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. B. Rensch, Münster, zum 70. Geburtstag gewidmet.

\*\* Herrn Prof. Dr. F. Huber, Köln, danke ich für Diskussion und Durchsicht des Manuskripts.

Seit Dujardin (1850) werden die Pilzkörper (*Corpora pedunculata*) im Gehirn der Insekten als wichtige übergeordnete, assoziative Zentren betrachtet. Mit reizphysiologischen Verfahren wurde nachgewiesen, daß den Corpora pedunculata eine zentrale Funktion bei der Steuerung von Verhaltensweisen zukommt (Huber, 1960, 1965; Rowell, 1963; Vowles, 1964; Otto, 1969).

Die Pilzkörper liegen als paarige Gebilde im ersten Hirnabschnitt und sind von dem umliegenden protocerebralen Neuropilem klar abgegrenzt. Sie bestehen aus kleinen Neuronen, den sog. Globulizellen, deren Perikaryen eine geschlossene Schicht an der Peripherie des Protocerebrum einnehmen. Ihre Nervenfasern bilden den Kelch (Calyx) und den Stiel (Pedunculus) aus, ferner einen rückläufigen Stiel ( $\alpha$ -Lobus oder Cauliculus) und einen Balken ( $\beta$ -Lobus) (Hanström, 1928; Vowles, 1955).

Über die Morphologie der Corpora pedunculata und ihre Verbindungen zu anderen Hirnregionen existieren zahlreiche Arbeiten (vgl. Hanström, 1928; Bullock und Horridge, 1965). Die Pilzkörper von sozialen Hymenopteren haben besonderes Interesse erfahren (Vowles, 1955; Steiger, 1967; Goll, 1967). Kelch, rückläufiger Stiel und Balken sind als Zonen synaptischer Verknüpfung bekannt. Während die Glomeruli im Kelch Strukturen darstellen, in denen afferente Fasern über synaptische Endkolben mit Globulizellfortsätzen der Corpora pedunculata verbunden sind, ist bisher unklar, ob auch der  $\alpha$ -Lobus afferente Erregungen empfängt oder mit efferenten Neuronen Verbindungen eingeht (Vowles, 1964). Der Balken ( $\beta$ -Lobus) gilt als Zone für die Übertragung pilzkörpereigener Erregungen an efferente Neuronen (Vowles, 1955). Manzini und Frontali (1967) konnten mit Hilfe der Elektronenmikroskopie an der Schabe *Periplaneta americana* keinen Aufschluß über eine synaptische Polarisierung im  $\alpha$ - und  $\beta$ -Lobus gewinnen.

Morphologische Indizien für Synapsen im Pilzkörperstiel hat bisher lediglich Goll (1967) gefunden, der im Gehirn von *Formica* anhand von Golgi-Imprägnationen „stummelförmige Fortsätze“ an Pilzkörperfasern im Stiel feststellt, die er als synaptische Endknöpfchen wertet. Die Pilzkörperstiele im Gehirn der Hausgrille *Acheta domesticus* sind Gegenstand der vorliegenden Arbeit. Zur Orientierung über die Morphologie des Gehirns von Orthopteren sei auf die Arbeiten von Hanström (1940), Jawlowski (1953), Satija (1958) und Huber (1960) verwiesen. Wir befassen uns besonders mit der Struktur von Synapsen. Eine genaue Charakterisierung der Stielzonen und eine Zählung der Nervenfasern verschiedener Typen wird an anderer Stelle gegeben werden (Schürmann, in Vorbereitung).

### Material und Methoden<sup>1</sup>

1. *Versuchstiere.* Männliche und weibliche Imagines des Heimchens *Acheta domesticus* L.

2. *Lichtmikroskopie.* Quer- und Längsschnitte der Pilzkörperstiele, Stufenschnitte aus für die Elektronenmikroskopie eingebettetem Material, Schnittdicke 1–3  $\mu$ m. Färbung Toluidinblau.

3. *Elektronenmikroskopie.* Präparation des Gehirns unter einem Stereomikroskop, kalte Fixation in:

a) 2,5%igem Glutaraldehyd. Hierzu wurde entweder Paladepuffer, modifiziert nach Zetterquist (s. Pease, 1964) oder 0,1 molarer Phosphatpuffer verwandt. Die Osmolarität

<sup>1</sup> Für technische Hilfe danke ich Frau E. Kurz, Max-Planck-Institut für Hirnforschung, Köln-Merheim.

der 2,5%igen Glutaraldehydlösung in Paladepuffer betrug 750—800 Milliosmol, in Phosphatpuffer 550 Milliosmol (gemessen mit einem Osmometer der Fa. Knauer), pH-Wert 7,5. Dauer der Fixation in Glutaraldehyd 4—20 Std.

b) 2%iger Osmiumsäure, Paladepuffer (wie oben), pH 7,5—7,7.

Die Zinkjodid-Osmiumsäure-Imprägnierung zur Darstellung synaptischer Vesikel nach der Methode von Akert und Sandri (1968) wurde nach Glutaraldehydfixation mit Erfolg durchgeführt. Imprägnierungslösung: Verhältnis der Volumina von Zinkjodidlösung zu Osmiumsäurelösung (gepuffert wie oben) 2:1. Dauer der Imprägnierung ca. 15 Std. Entwässerung über Alkoholstufen, Einbettung in Epon über Propylen. Kontrastierung mit Bleihydroxyd, Bleicitrat oder zusätzlich mit Uranylacetat. EM-Aufnahmen von Längs- und Querschnitten der Stiele mit Zeiss EM 9 und Philips EM 200 (Strahlspannung 60 oder 80 kV). Vom mittleren Stielbereich wurde ein Querschnitt bei 2900facher Primärvergrößerung in Serie fotografiert. Zur Auswertung wurden die Serienfotos dreifach nachvergrößert und zusammenmontiert.

## Ergebnisse

### *1. Allgemeiner Aufbau der Pilzkörperstiele*

Schon lichtmikroskopisch kann man an Quer- und Längsschnitten sehen, daß die Stielsäule (Durchmesser 90—100  $\mu\text{m}$ ) nicht homogen ist, sondern helle und dunkle Zonen erkennen läßt, die in Querschnitten als nahezu konzentrische Ringe mehr oder weniger deutlich hervortreten. In weiten Bereichen des Stiels haben diese Zonen ungefähr die gleiche Lage und Ausdehnung. Wir unterscheiden 4 Zonen (I—IV) (Abb. 1).

Aus elektronenmikroskopischen Bildern wird klar ersichtlich, daß die in Querschnitten auffällige konzentrische Zonierung des Stiels auf Gruppen von Nervenfasern zurückzuführen ist, die parallel verlaufend den Stiel der Länge nach durchziehen. Diese Axongruppen sind nicht allein durch die verschiedenen durchschnittlichen Kaliber ihrer Fasern voneinander unterschieden, sondern interessanterweise auch durch die Anzahl und Verteilung von Vesikeln und synaptischen Kontakten. Neben osmiophilen Grana vom Typ der „dense core vesicles“ fallen besonders helle Bläschen auf (Abb. 4—8). Sie haben einen Durchmesser von 200—400  $\text{\AA}$  und lassen sich mit Zinkjodidosmiumsäure imprägnieren, sie sind als synaptische Vesikel aufzufassen. Die von uns als Zone III bezeichnete Stielregion (Abb. 1—3), die den größten Teil des Stielvolumens einnimmt, ist in ihrer ganzen Länge durch eine Fülle von derartigen Vesikeln und von Synapsen ausgezeichnet und hebt sich dadurch von den vesikelarmen Zonen I, II und IV deutlich ab, die bis auf den unteren Stielteil ebenfalls synapsenarm ist. Im unteren Stielbereich, noch vor Abgang des  $\alpha$ -Lobus, findet sich besonders medial in der Zone IV eine netzartige Anordnung feiner, nervöser Fortsätze, die eine Fülle von Synapsen und synaptischen Vesikeln enthalten (Abb. 2, 4, 5a, b, 6a). Die Fasergruppen sind nicht durch Gliahüllen voneinander getrennt. Außer den feinen, parallel gelagerten Nervenfasern von Globulizellen, deren kompakte Axonmassen den Hauptteil des Stielneuropils darstellen, finden sich besonders im unteren Stielbereich, aber auch in mehr zellulipetal gelegenen Abschnitten helle Fasern, die oftmals quer zur Stielsäule orientiert sind (Abb. 1c, 6b). Mindestens z.T. handelt es sich hier um nervöse Elemente, die offensichtlich pilzkörperfremden, aber noch nicht im einzelnen lokalisierten Neuronen angehören. Einige Nervenfasern dringen im unteren Teil in das Stielneuropil ein und durchziehen es mit feinen Fortsätzen.

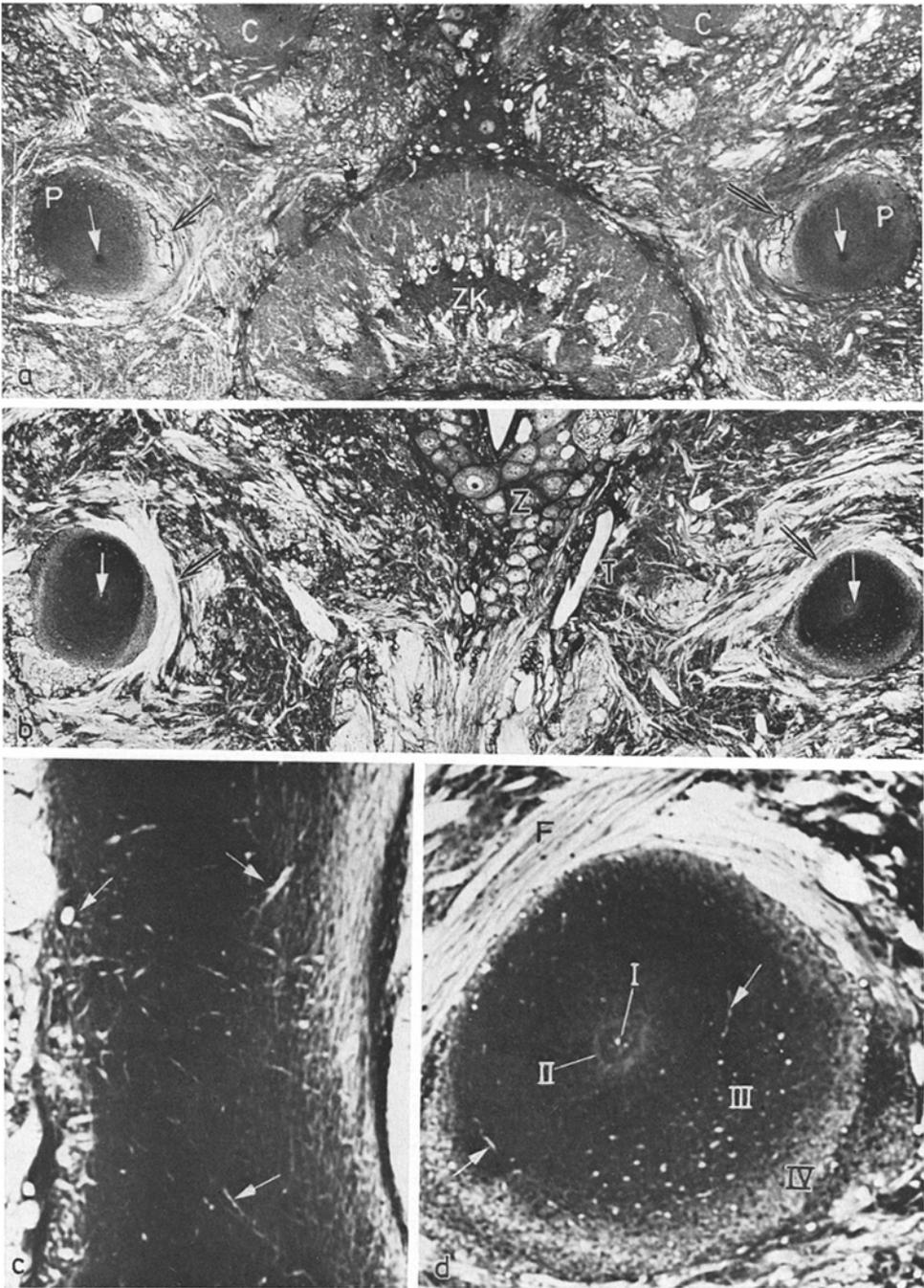


Abb. 1a—d. Protocerebrum, Quer- und Längsschnitte durch den Pilzkörperstiel. Toluidin-gefärbte Schnitte, Dicke  $2\ \mu\text{m}$ . a Querschnitt durch die Pedunculi (*P*) beider Hemisphären, unterer Stielbereich kurz vor der Abzweigung der  $\alpha$ -Lobi, deren anterior gelegene Spitzen angeschnitten sind (*C*). *Zk* Zentralkörper. Die Doppelpfeile weisen auf netzförmige, dunkle

Das Cytoplasma der Gliazellen nimmt im Verhältnis zu den Nervenfasern einen unverhältnismäßig geringen Raum im Stiel ein. Wir schätzen seinen Volumenanteil auf höchstens 1—5%. Gliazellkerne liegen am Rande, selten innerhalb des Stiels. Von hier aus durchziehen schmale, wandartige Gliazellfortsätze das Neuropil des Pedunculus. Sie sind durch parallel orientierte Tubuli und große, rundliche Mitochondrien charakterisiert und oftmals schwer von nervösen Elementen zu unterscheiden.

Die Nervenfasern im Stiel sind durch Tubuli, geringfügig ausgeprägtes agranuläres endoplasmatisches Retikulum und durch langgestreckte Mitochondrien gekennzeichnet, die oftmals nahezu den ganzen Durchmesser einer dünnen Faser einnehmen. Das Axoplasma ist von sehr feiner Konsistenz und außerordentlich empfindlich gegen inadäquate Fixierung. Der Interzellularraum zwischen den Axonmembranen ist in unseren Präparaten unterschiedlich weit. Er beträgt streckenweise 100 Å. Häufig liegen die Axonmembranen ganz dicht aufeinander (Abb. 8e). Selten sind benachbarte Axone durch Cytoplasma von Gliazellen getrennt. Der Durchmesser der Globulizellfasern im Stiel bewegt sich zwischen 0,05 und 1  $\mu\text{m}$ . Die dicksten Fasern liegen peripher in der Zone IV, die dünnsten zentral in der Zone I. Ein Fortsatz einer Globulizelle im Stiel ist gewöhnlich von 6 anderen intrinsischen Fasern umgeben (Abb. 7a).

## 2. Synapsen im Pedunculus

Das Auftreten zahlreicher synaptischer Vesikel im Stiel der Pilzkörper von *Acheta*, die sich mit Zinkjodid-Osmiumsäure darstellen lassen, weist auf chemische Synapsen hin, ist aber hierfür noch kein entscheidendes Kriterium. Intrazelluläre Auflagerungen auf begrenzte Membranbereiche, Auftreten eines Synapsenspaltes und Akkumulation von synaptischen Bläschen gelten als Merkmale für chemische Synapsen (Gray, 1966; Gray und Guillery, 1966).

Interessanterweise treten Massierungen von synaptischen Vesikeln im Pedunculus hauptsächlich dort auf, wo drei Nervenfasern in Kontakt treten. Aus Faserquerschnitten wird ersichtlich, daß in zwei, seltener in drei Axonwinkeln oder in einem Zwickel der drei aneinanderstoßenden Fasern elektronendichtes Material den Axonmembranen aufgelagert ist (Abb. 6—8). Diese elektronendichten Projektionen bilden räumlich ungefähr eine wallförmige Figur, um die die imprägnierbaren synaptischen Vesikel gruppiert sind. Der Interzellularraum zwischen den Axonen ist an dieser Stelle deutlich erweitert und tritt in Querschnitten als Dreieck hervor (Abb. 8e, f). Er enthält ebenfalls elektronendichte

Strukturen (s. auch Abb. 2 und 4) in den Pilzkörpern, die spiegelbildlich zueinander angeordnet sind. Die Stiele lassen Zonen verschiedener Helligkeit erkennen. Vergr. 190:1. b Querschnitt durch die Pedunculi (*P*), mittlerer Stielbereich. Während hier eine dunkle Stielregion (Pfeile) nahezu in der Stielmitte liegt, ist die gleiche Zone in a exzentrisch gelagert. An die Pedunculi grenzen dicke, helle Fasern (Doppelpfeile). *T* Trachee, *Z* Zellkörper von anterior gelegenen Pars-intercerebralis-Neuronen. Vergr. 190:1. c Längsschnitt durch den Mittelteil des Stiels. Zonen III und IV sind angeschnitten. Helle Fasern verschiedenen Durchmessers (Pfeile) durchdringen das Stielneuropil. Vergr. 640:1. d Stärkere Vergrößerung des rechten Stiels aus b. Verschieden helle Stielzonen sind deutlich sichtbar. I—IV Stielbereiche verschiedenen Ausmaßes. Helle Faserelemente durchziehen den Stiel (Pfeile). *F* dicke Nervenfasern am Rand des Stiels. Vergr. 640:1

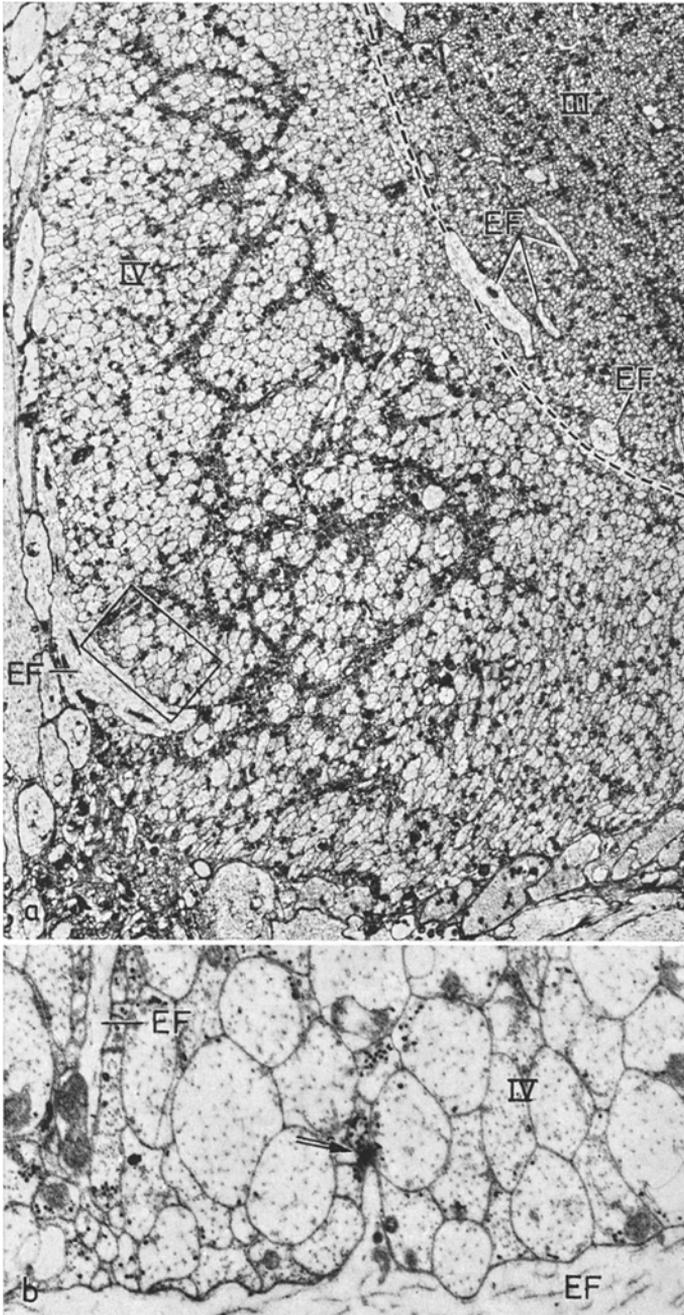


Abb. 2. a Querschnitt durch die Stielbasis, kurz vor Abzweigung des  $\alpha$ -Lobus, Ausschnitt. An den median gelegenen Stielrand (im Bild links) grenzen dicke Nervenfasern. Eine pilzkörperfremde Faser (*EF*) dringt in das Stielneuropil ein. Es wird deutlich, daß ein äußerer Ring von dicken Globulizellfasern (Zone IV) eine innere Masse von Fasern kleineren Kalibers (Zone III) umgibt. Die gestrichelte Linie gibt ungefähr die Grenze zwischen Zone III und IV an. Das dunkle netzartige Muster aus synaptischen Fortsätzen ist auf die Zone IV beschränkt.

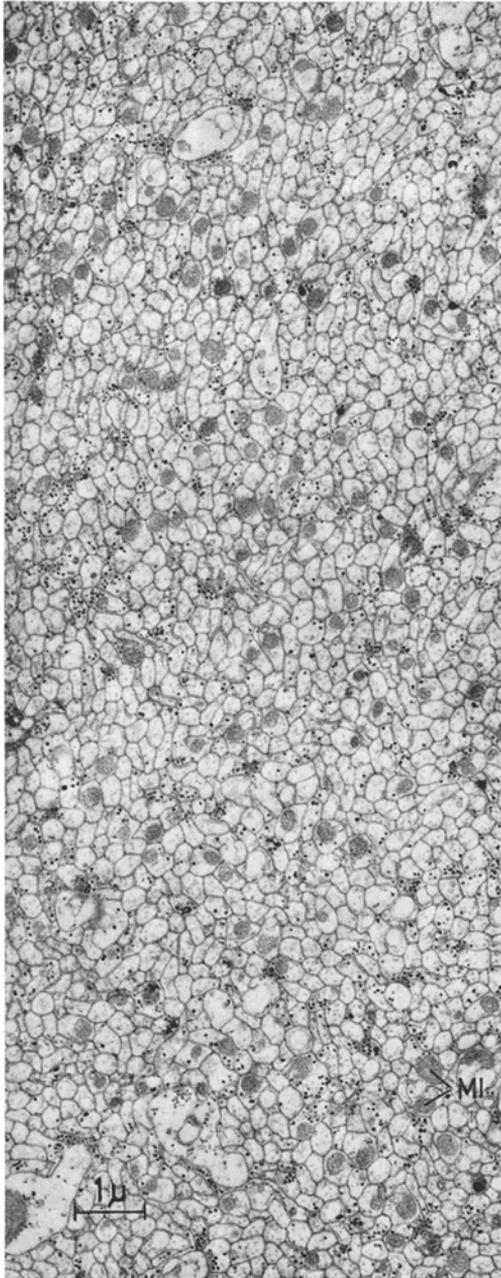


Abb. 3. Querschnittene Globulifaser der Stielzone III. Eine Fülle von synaptischen Vesikeln, angefärbt mit Zinkjodid-Osmiumsäure, findet sich in unterschiedlicher Verteilung in den Axonen. Zahlreiche Mitochondrien (*MI*) sind sichtbar. Vergr. 9800:1

Vergr. 2900:1. b Ausschnitt aus a (Rechteck). Ein feiner Zweig der extrinsischen Faser (*EF*) läuft in das Stielneuropil der Zone IV. Der Doppelpfeil weist auf Synapsen. Zinkjodid-Osmiumsäure-Imprägnierung. Vergr.: 14400:1

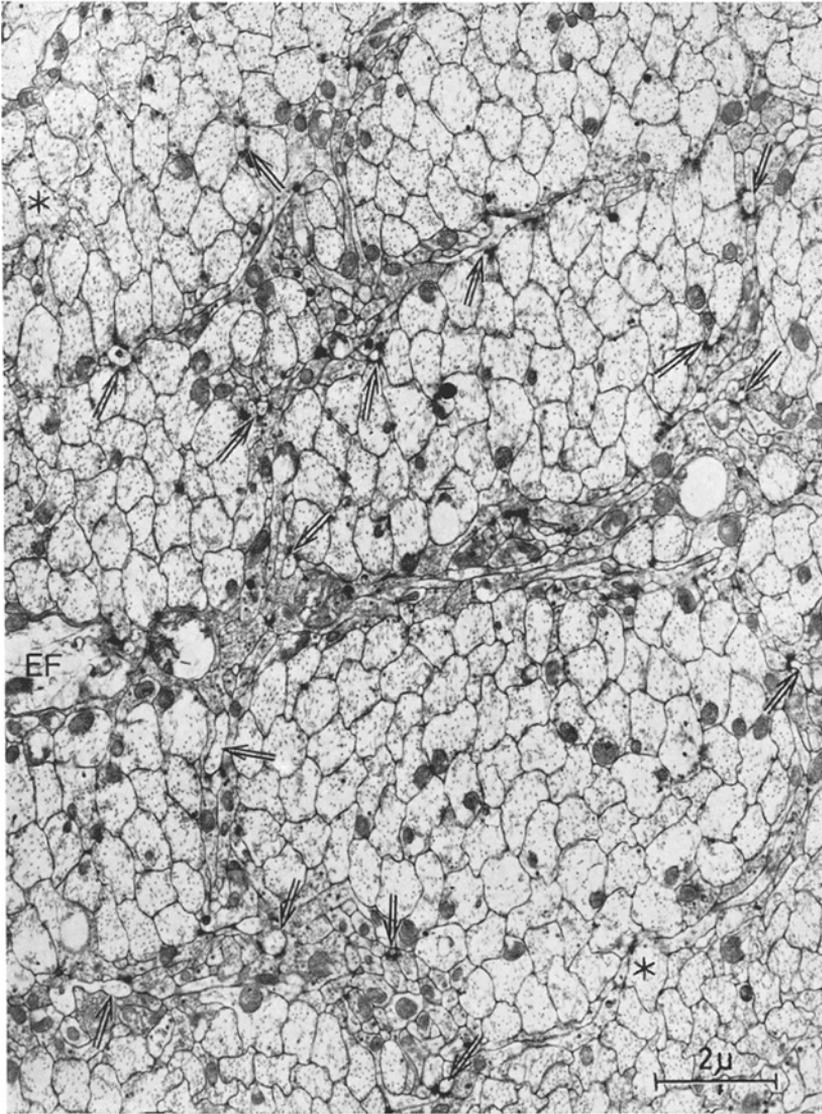


Abb. 4. Querschnittene Nervenfasern der Stielzone IV, unterer Stielteil. Mit Vesikeln gefüllte Faserstränge sind netzartig angeordnet. Zwischen ihnen liegen feine, postsynaptische Fortsätze (Doppelpfeile). Einige Fasern (Stern) bilden Ausläufer aus. *EF* extrinsischer Fortsatz. Vergr. 8700:1

Substanz. In vesikelfreien Axonwinkeln läßt sich in einigen Fällen eine schwache elektronendichte Membranauflagerung erkennen. Diese mit Vesikeln assoziierten Membranspezialisierungen erweisen sich in Längsschnitten als abgegrenzte Einheiten von ca. 0,1—0,5  $\mu\text{m}$  Länge (Abb. 7 c, d). Die synaptischen Vesikel sind entlang der Membranverdickungen aufgereiht (Abb. 7 c, d). Wir betrachten die Vesikel-Membran Komplexe als chemische Synapsen.

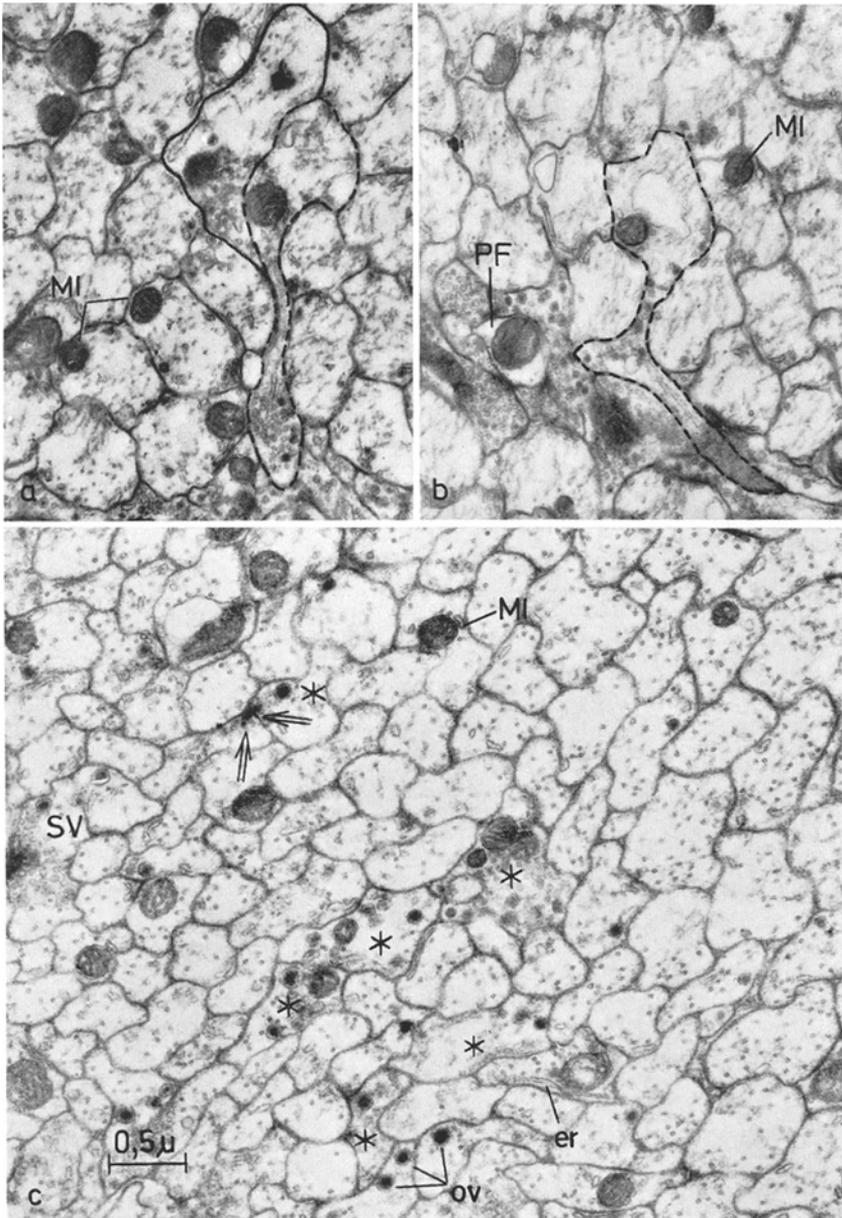


Abb. 5. a u. b Quergetroffene Fasern der Stielzone IV. Fasern mit Fortsätzen umrandet. Diese präsynaptischen Projektionen enthalten synaptische Vesikel und „dense core vesicles“. *MI* Mitochondrien, *PF* postsynaptischer Fortsatz. Vergr. 18000:1. c Grenzbereich von Stielzone IV (im rechten oberen Bildteil) und Zone III (im linken unteren Bildteil), hier eine Häufung von Fasern mit synaptischen Vesikeln (*SV*). Doppelpfeile weisen auf Synapsen, *er* agranuläres endoplasmatisches Reticulum. Einige Fasern (Sternchen) enthalten außer synaptischen Vesikeln auch osmiophile Vesikel (*OV*) vom Typ der „dense core vesicles“. Vergr. 21600:1

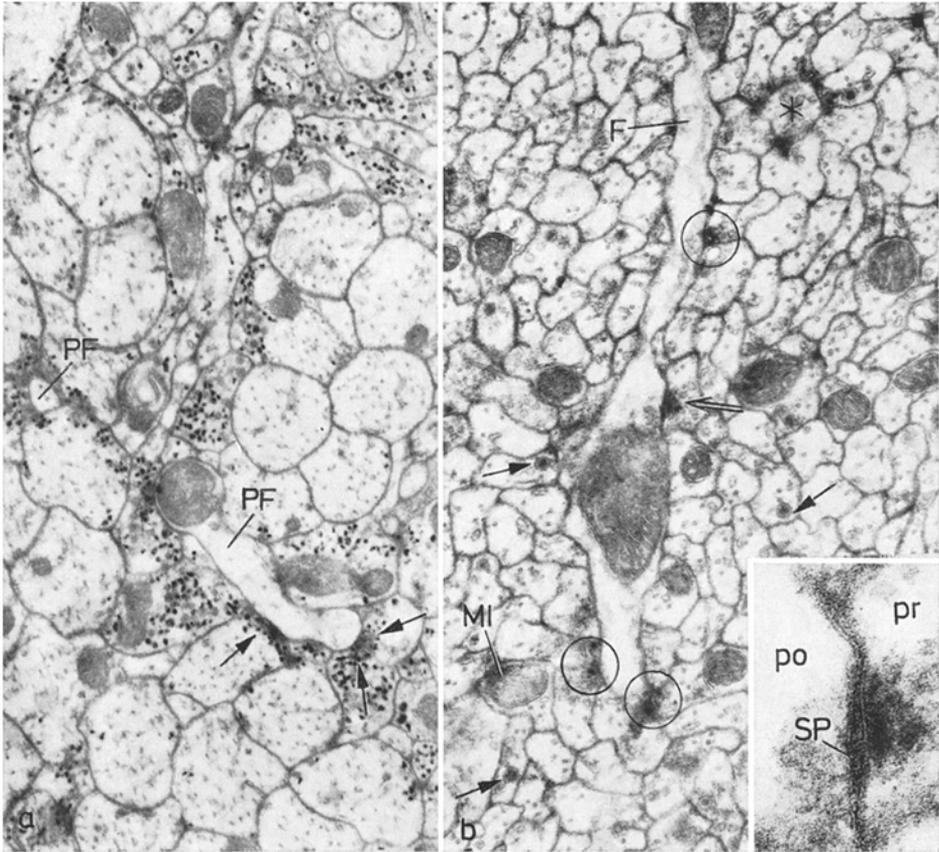


Abb. 6. a Stielzone IV, Querschnitt, Ausschnitt vom Netz synaptischer Fortsätze. *PF* post-synaptische Fasern, die synaptischen Kontakt (Pfeile) mit Globulizellfasern haben. Vergr. 18000:1. b Stielzone III, synaptische Kontakte (Kreise) zwischen querschnittenen Globulizellfasern und einem längsgetroffenen Faserelement (*F*). Eine morphologische Polarisierung der Synapsen ist klar ersichtlich. Das Inset ist eine vergrößerte Abbildung der Synapse, auf die der Doppelpfeil hinweist. Deutliche Erweiterung des Synapsenspaltes (*SP*); präsynaptisch (*pr*) synaptische Vesikel und elektronendichtes Material. *po* postsynaptischer Faserteil. Eine Faser (Sternchen) hat synaptischen Kontakt mit sechs umliegenden Axonen, osmiophile Grana vom Typ der „dense core vesicles“ (Pfeile) *MI* Mitochondrien. Vergr. 21600:1. Insetvergr. 117000:1

Osmiophile Grana vom Typ der „dense core vesicles“ (Durchmesser 600 bis 1200  $\mu\text{m}$ ) finden sich im gesamten Stiel in pilzkörperartigen Fasern. Wir konnten sie auch in unmittelbarer Nähe der Perikaryen der Globulizellen im Axonstumpf feststellen. Oftmals sind sie in den Axonen kettenförmig hintereinandergereiht. Nach unseren Beobachtungen liegen sie niemals synaptischen Membranen auf, sondern sind höchstens am Rand von synaptischen Vesikelmassierungen anzutreffen. Eine auffällige Häufung von „dense core vesicles“ zeigen die Globulizellfasern der Gruppe IV im unteren Stielbereich dort, wo sie synaptische Kontakte haben (Abb. 4, 5).

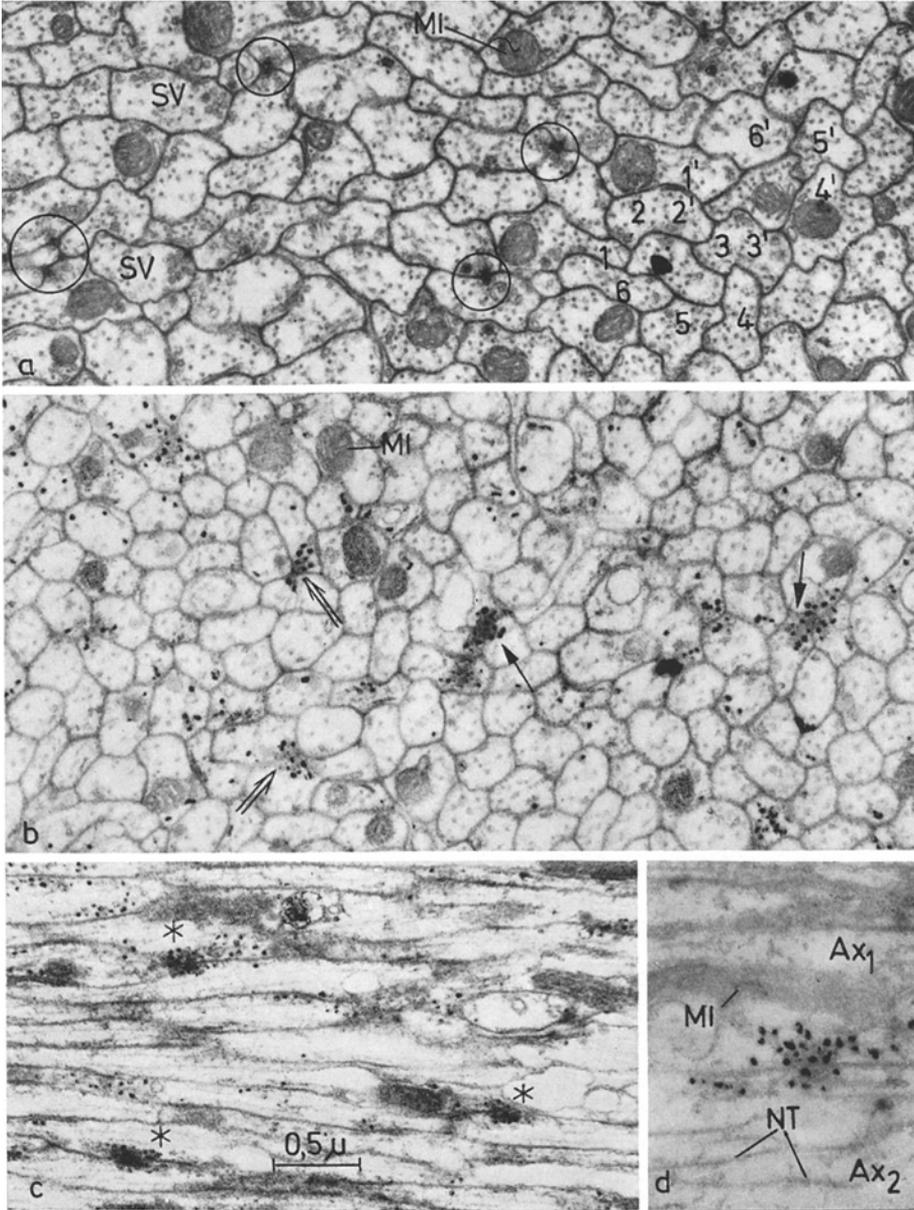


Abb. 7. a Stielzone III, Querschnitt. Synaptische Kontakte (Kreise). *MI* Mitochondrium, *SV* synaptische Vesikel. Eine Globulizellfaser grenzt im Stiel gewöhnlich an sechs umliegende (Ziffer 1—6 bzw. 1'—6'). Vergr. 21 600:1. b Querschnittene Fasern der Stielzone III, Zinkjodid-Osmiumsäure-Imprägnierung. Synapsen sind zumeist in den Winkeln aneander-grenzender Axone angeordnet. Biaxonale synaptische Komplexe (Doppelpfeile) sind häufiger als triaxonale synaptische Verbindungen (Pfeile). Vergr. 21 600:1. c Längsgeschnittene Fasern der Stielzone III, Zinkjodid-Osmiumsäure-Imprägnierung. Synapsen (Sternchen), zweiseitige Auflagerung elektronendichten Materials und synaptischer Vesikel. Synaptische Vesikel finden sich teilweise im Axoplasma verstreut. Vergrößerung 17 300:1. d Synaptischer Komplex von zwei Axonen (*Ax 1* und *Ax 2*). *MI* Mitochondrium, *NT* Neurotubuli. Vergr. 68 400:1

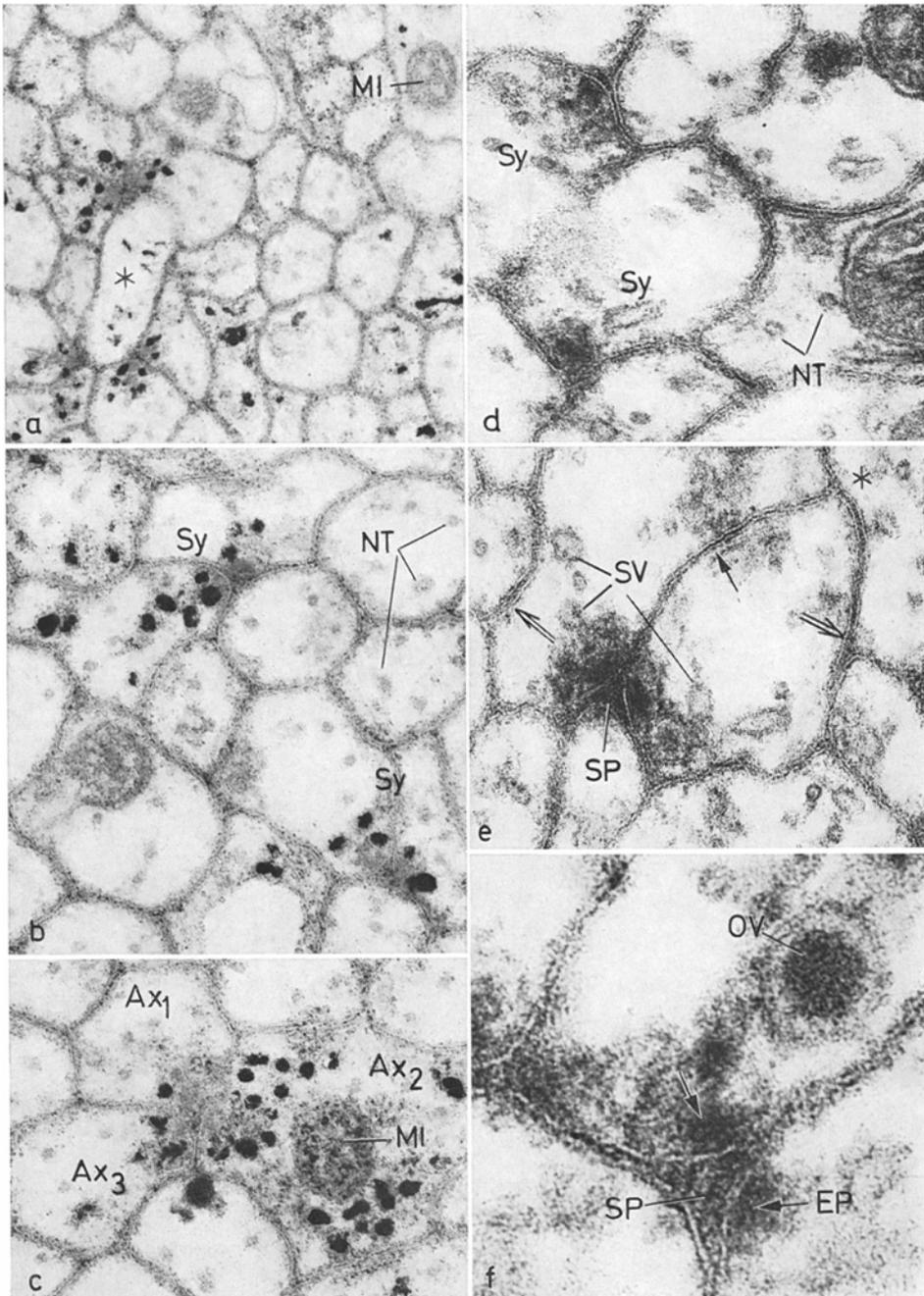


Abb. 8a—f. Stielzone III, Querschnitte. Die Anordnung der Synapsen in den Zwickeln der Nervenfasern ist deutlich. a—c Synaptische Vesikel erscheinen aufgrund der Zinkjodid-Osmiumsäure-Imprägnierung schwarz. a Eine Faser (Sternchen), die Zinkjodid-Osmiumsäure-positive Einschlüsse enthält, grenzt an mehrere präsynaptische Fortsätze. *MI* Mitochondrium. Vergr. 45000:1. b Zwei synaptische Komplexe (*SY*), *NT* Neurotubuli. Vergr.

Die Frage nach der Art der synaptischen Integration der Nervenfasern ist schwierig zu beantworten. Mit Sicherheit gibt es synaptische Kontakte zwischen Globulizellfasern und extrinsischen Zellfasern, die teilweise an der Basis des Stiels, noch vor dem Ursprung des  $\alpha$ -Lobus, in das Neuropil eindringen und dicke und feine Fortsätze in verschiedene Richtungen senden. Diese Synapsen zwischen extrinsischen und intrinsischen Fasern sind dabei nicht ausschließlich in Axonwinkeln angeordnet, sondern auch dort, wo nur zwei Axone aneinandergrenzen (Abb. 6 b). Eine einseitige Vesikelmassierung, elektronendichte Membranauflagerung und ein erweiterter Synapsenspalt (200 Å) sind deutlich.

Bisher haben wir im Stiel lediglich solche pilzkörperfremde Fasern beobachtet, die auf Grund der morphologischen Polarisierung ihrer Synapsen als postsynaptisch anzusehen sind. Es liegt mit großer Wahrscheinlichkeit eine Konvergenz vieler Globulizellfasern auf wenige extrinsische Fortsätze vor (Abb. 4, 6). Es erscheint nicht gerechtfertigt, diese postsynaptischen Fortsätze als Dendriten anzusprechen, da feinstrukturelle Kriterien, wie sie für das Nervensystem von Wirbeltieren gelten, fehlen. Auch die Anwendung des Begriffs „Axon“ wird demnach problematisch.

In der Zone IV bietet sich im unteren Stielbereich ein von den anderen Zonen abweichendes Bild. Hier haben die intrinsischen Fasern entweder schmale präsynaptische Projektionen (Abb. 5 a, b) oder direkten synaptischen Kontakt vom Faserstamm zum extrinsischen Fortsatz (Abb. 4, 6 a). Diese präsynaptischen Ausläufer der Globulizellfasern suchen die extrinsischen Fasern und bilden zusammen mit ihnen ein netzartiges Muster, das schon lichtmikroskopisch erkennbar ist (Abb. 1 a, 2, 4). Die präsynaptischen intrinsischen Fortsätze können sich verzweigen und eine Globulizellfaser mit mindestens zwei extrinsischen Fortsätzen verbinden. Während also in der Zone IV im unteren Stielbereich zunächst medial und dann auch weiter zellulifugal lateral die Synapsen auf ein gitterartiges Gebilde konzentriert sind, findet man auf der gleichen Stielhöhe der Zone III und im gesamten Stiel eine mehr oder minder diffuse Verteilung der Synapsen vorliegen. Die inneren Zonen I und II scheinen gleichfalls mit extrinsischen Fasern verknüpft zu sein, doch sind relativ wenig Synapsen zu beobachten.

Wir können z.Zt. nicht mit Sicherheit entscheiden, ob Globulizellfasern untereinander Kontakt über chemische Synapsen haben, haben jedoch starke Hinweise für „axo-axonale“ Synapsen von intrinsischen Fasern in der Stielzone III gefunden.

78000:1. c Synapsenkomplex, an dem drei Axone beteiligt sind (*Ax 1*, *Ax 2* und *Ax 3*). Eine morphologische Polarisierung der Synapsen ist nicht ersichtlich. *MI* Mitochondrium. Vergr. 78000:1. d Synapsen (*SY*) im Winkel von jeweils nur einem Axon. *NT* Neurotubuli. Vergr. 117000:1. e Synapse mit biaxonalen elektronendichten Projektionen und Vesikelmassierungen. *SV* synaptische Vesikel. Der Interzellularraum ist zu einem Synapsenspalt (*SP*) deutlich erweitert. Man vergleiche hierzu den Zwickel von drei aneinanderstoßenden Axonmembranen (Sternchen) und die unterschiedliche Ausbildung des Interzellularraumes zwischen zwei Axonen: enge Appositionen der Membranen (Pfeil), deutlich sichtbarer Interzellularraum (Doppelpfeil). Vergr. 117000:1. f Synapsenkomplex, Synapsenspalt (*SP*), elektronendichte Projektion (*EP*), osmiophiles Vesikel (*OV*) vom Typ der „dense core vesicles“. Vergr. 213000:1

### Diskussion

Im Stiel der Pilzkörper von *Acheta domesticus* lassen sich spezielle Membrankomplexe aufzeigen, die wegen ihrer Feinstruktur dem Typ der sog. chemischen Synapsen zugeordnet werden müssen. Sie zeichnen sich durch begrenzte Erweiterungen des Interzellularraumes (Synapsenspalt), durch Auflagerung elektronendichten Materials auf die Membranen und durch Anhäufung von synaptischen Vesikeln aus. Diese Synapsen weisen also eine wesentliche Übereinstimmung mit synaptischen Kontaktstellen auf, wie sie bei verschiedenen Arthropoden beobachtet worden sind (Trujillo-Cenoz, 1965; Trujillo-Cenoz und Melamed, 1967; Smith, 1967; Steiger, 1967; Lamparter, Steiger, Sandri und Akert, 1969). Bemerkenswert erscheint uns die Lage der Synapsen im Winkel von Axonen, also an Orten, wo mehrere Fasern zusammentreffen. Eine vergleichbare Lage von Synapsen teilen besonders Trujillo-Cenoz (1965) und Trujillo-Cenoz und Melamed (1967) für die optischen Ganglien von Insekten und Spinnen mit, sie konnte von uns auch im deutocerebralen Lobus olfactorius der Wanderheuschrecke *Locusta migratoria* beobachtet werden (Schürmann und Wechsler, in Vorbereitung, 1969). Die von uns festgestellten Massierungen synaptischer Vesikel in Pilzkörperfasern liegen hauptsächlich entlang der Fasermembranen. Synaptische Endknöpfchen pilzkörpereigener Fasern (Goll, 1967, *Formica*) haben wir im Stiel bisher nur in der Zone IV im unteren Stielbereich entdecken können.

Da häufig in anliegenden Winkeln von zwei, seltener drei benachbarten Axonen synaptische Spezialstrukturen erkennbar sind, ist die Frage, ob und in welcher Weise die Synapsen polarisiert sind, nur teilweise zu beantworten. Man kennt bei verschiedenen Evertibraten Synapsen oder synaptische Gebilde, die symmetrisch auf den beteiligten Axonmembranen angeordnet liegen, also morphologisch nicht polarisiert sind (Hama, 1959, 1961, 1966; Martin, 1969), und man weiß aus elektrophysiologischen Untersuchungen, daß es Synapsen gibt, die eine Erregungsübermittlung in beide Richtungen zulassen (Wiersma, 1947; Furshpan und Potter, 1959). Die Synapsen zwischen pilzkörperfremden und pilzkörpereigenen Fasern im unteren Stielbereich zeigen eine klare morphologische Polarisation in der Weise, daß Globulizellfasern als präsynaptisch, extrinsische Fasern als postsynaptisch anzusehen sind. Für die Komplexe der Globulizellfasern, bei denen nur in einem Axonwinkel synaptische Strukturen erkennbar sind, ist gleichfalls anzunehmen, daß eine Polarität vorliegt. Das Axon mit Vesikelmassierung und elektronendichter Auflagerung darf als präsynaptisch zu einer oder zwei benachbarten Fasern betrachtet werden. Wenn eine Anordnung synaptischen Materials in zwei von drei aneinandergrenzenden Axonwinkeln vorliegt, kann man vermuten, daß der Faserteil mit Vesikelmassierung dem präsynaptischen, der anliegende vesikelfreie Axonabschnitt dem postsynaptischen Element zugehört. An diesen Orten könnte damit ein Axon auf engbegrenztem Raum Erregungen von zwei präsynaptischen Fasern empfangen. Wenn in drei anliegenden Axonwinkeln synaptische Spezialstrukturen vorhanden sind, ist zu vermuten, daß die drei Axone mit einer in einer anderen Schnittebene liegenden Faser synaptisch verbunden sind.

Während sich die osmiophilen Grana vom Typ der „dense core vesicles“ gegenüber einer Zinkjodid-Osmiumsäure-Imprägnierung negativ verhalten, lassen

sich die kleinen, hellen synaptischen Bläschen mit dieser Methode anfärben. Beide Vesikeltypen reagieren also genauso wie die entsprechenden bei Wirbeltieren (Akert und Sandri, 1968).

Steiger (1967) hat eine elektrotonische Erregungsübertragung über „tight junctions“ für die postsynaptischen Globulizellfasern im Kelchneuropil von *Formica* postuliert. Da bei unseren Untersuchungen die Weite des Interzellularraumes zwischen den Axonen in gleichen Hirngebieten und besonders in den Corpora pedunculata bei mehreren Tieren nach gleicher Fixation wechselte, ist fraglich, ob die enge Apposition der Membranen als äquivalentes Bild des natürlichen Zustandes anzusehen ist. Karlsson und Schultz (1964, 1965) fanden nach Glutaraldehydperfusion im Gehirn von Säugern eine Okklusion von Membranen, die in osmiumfixiertem Material nicht auftrat. Maynard (1967) vermutet aufgrund elektrophysiologischer Untersuchungen am Pilzkörper der Schabe *Periplaneta americana* ebenfalls elektrotonische Erregungsausbreitung. Er hält diesen Modus der Erregungsübertragung für die Globulizellen im oberen Stielbereich für wahrscheinlich. Aufgrund der vorliegenden Befunde ist im Pilzkörperstiel von *Acheta* zum mindesten teilweise eine Interaktion von Fasern mittels chemischer Synapsen möglich. Es bestehen Hinweise für eine synaptische Verknüpfung von Pilzkörperfasern untereinander. Eine Entscheidung in diesem Sinne ist im Einzelfall sehr schwierig und dürfte nur mit Hilfe von Degenerationsexperimenten zuverlässig möglich sein. Mit Sicherheit sind jedoch, besonders im unteren Stielteil, intrinsische mit extrinsischen Faserelementen verknüpft, wie sie Goll (1967) im Pedunculus von *Formica* nachgewiesen hat. Hier sind extrinsische Faserelemente postsynaptisch. Eine Konvergenz der Globulizellfortsätze auf extrinsische, sich stark verzweigende Fasern, die z. T. noch vor der Wurzel des  $\alpha$ -Lobus in den Stiel eindringen, ist ziemlich sicher. Eine Erregungsefferenz aus dem Pilzkörper ist also nicht nur im  $\alpha$ -Lobus und  $\beta$ -Lobus zu suchen, sondern ist wegen der morphologischen Hinweise auch für den Pedunculus zu erwarten. Ob eine funktionelle Interaktion zwischen Nervenfasern im Stiel der Pilzkörper bei Insekten ausschließlich über chemische Synapsen erfolgt oder ob zusätzlich auch eine Informationsübertragung auf elektrotonischem Wege stattfindet, bedarf noch weiterer Klärung.

Besondere Beachtung verdient die Tatsache, daß im Pilzkörperstiel verschiedene Axongruppen vorhanden sind, die sich nicht nur aufgrund ihrer Axondurchmesser, sondern auch durch das Vorkommen und die Verteilung von synaptischen Vesikeln und chemischen Synapsen voneinander unterscheiden. Es liegt nahe, diesen morphologisch unterscheidbaren Fasertypen auch verschiedene Funktionen zuzuschreiben, womit eine gewisse funktionelle Spezifität der Pilzkörper gegeben wäre (vgl. Huber, 1965).

Morphologische Indizien für Synapsen im Pilzkörperstiel sind unseres Wissens bisher nur von Goll (1967) erbracht worden. Die Pilzkörper enthalten also nicht nur im Kelch, dem  $\alpha$ -Lobus und  $\beta$ -Lobus Synapsen (Vowles, 1955; Steiger, 1967; Manzini und Frontali, 1967, und eigene Beobachtungen), sondern, wie unsere Ergebnisse zeigen, auch im Stiel, also in allen ihren Teilen. Durch die Fülle ihrer Synapsen erscheinen die Globulizellfasern, die die Pilzkörper nicht verlassen, dazu prädestiniert, Erregungen zu verarbeiten. Wir sehen in unseren Befunden eine weitere Stütze für die Auffassung, daß die Corpora pedunculata

ein äußerst komplexes, zentrales, assoziatives Hirngewebe darstellen. Aufgrund ihrer morphologischen Eigenschaften können sie als synaptisches System auf engstem Raum angesehen werden.

### Literatur

- Akert, K., Sandri, C.: An electron-microscopic study of zinc-jodide-osmium impregnation of neurons. I. Staining of synaptic vesicles of cholinergic junctions. *Brain Res.* **7**, 286—295 (1968).
- Bullock, T. H., Horridge, G. A.: Structure and function in the nervous system of invertebrates, vol. I and II. San Francisco and London 1965.
- Dujardin, F.: Mémoire sur le système nerveux des insectes. *Ann. Sci. Nat. (Zool.) Paris*, (3) **14**, 195—205 (1850).
- Furshpan, E. J., Potter, D. D.: Transmission at the giant motor synapses of the crayfish. *J. Physiol. (Lond.)* **145**, 289—325 (1959).
- Goll, W.: Strukturuntersuchungen am Gehirn von *Formica*. *Z. Morph. Ökol. Tiere* **59**, 143—210 (1967).
- Gray, E. G.: Problems of interpreting the fine structure of vertebrate and invertebrate synapses. *Int. Rev. Gen. exp. zool.* **2**, 139—170 (1966).
- Guillery, R. W.: Synaptic morphology in the normal and degenerating nervous system. *Int. Rev. Cytol.* **19**, 111—182 (1966).
- Hama, K.: Some observations on the fine structure of the giant nerve fibres of the earthworm *Eisenia foetida*. *J. biophys. biochem. Cytol.* **6**, 61—66 (1959).
- Some observations on the fine structure of the giant fibres of the crayfishes (*Cambarus virilus* and *Cambarus clarkii*) with special reference to the submicroscopic organization of the synapses. *Anat. Rec.* **141**, 275—294 (1961).
- Studies on fine structure and function of synapses. *Progr. Brain Res.* **21A**, 251—267 (1966).
- Hanström, B.: Vergleichende Anatomie des Nervensystems der wirbellosen Tiere. Berlin: Springer 1928.
- Inkretorische Organe, Sinnesorgane und Nervensystem des Kopfes einiger niederer Insektenordnungen. Berlin: Springer 1940.
- Huber, F.: Untersuchungen über die Funktion des Zentralnervensystems und insbesondere des Gehirnes bei der Fortbewegung und Lauterzeugung der Grillen. *Z. vergl. Physiol.* **44**, 60—132 (1960).
- Aktuelle Probleme in der Physiologie des Nervensystems der Insekten. *Naturw. Rdsch.* **18**, 143—156 (1965).
- Jawłowski, H.: Über die Struktur des Gehirns bei *Saltatoria*. *Ann. Univ. M. C. S. Lublin* **8 C**, 403—434 (1953).
- Karlsson, H., Schultz, R. L.: Plasma membrane apposition in the central nervous system after aldehyde perfusion. *Nature (Lond.)* **201**, 1230—1231 (1964).
- Fixation of the central nervous system for electron microscopy by aldehyde perfusion. I. Preservation with aldehyde perfusates versus direct perfusion with osmium tetroxide with special reference to membranes and the extracellular space. *J. Ultrastruct. Res.* **12**, 160—186 (1965).
- Lamparter, H. E., Steiger, U., Sandri, C., Akert, K.: Zum Feinbau der Synapsen im Zentralnervensystem der Insekten. *Z. Zellforsch.* **99**, 435—442 (1969).
- Manzini, G., Frontali, N.: Fine structure of the mushroom body neuropile of the brain of the roach, *Periplaneta americana*. *Z. Zellforsch.* **83**, 334—343 (1967).
- Martin, R.: The structural organization of the intracerebral giant fiber system of cephalopods. The chiasma of the first order giant axons. *Z. Zellforsch.* **97**, 50—68 (1969).
- Maynard, D. M.: Organization of central ganglia. In: C. A. G. Wiersma (ed.), *Invertebrate nervous systems*, p. 231—255. Chicago 1967.
- Otto, D.: Untersuchungen zur zentralnervösen Kontrolle einiger Verhaltensweisen von Grillen. Diss. an der Univ. zu Köln, 1969.
- Pease, D. L.: *Histological techniques for electron microscopy*. New York and London: Academic Press 1964.

- Rowell, L. H. F.: A method for chronically implanting stimulating electrodes into the brains of locust, and some results of stimulation. *J. exp. Biol.* **40**, 271—284 (1963).
- Satiya, R. L.: A histological and experimental study of nervous pathways in the brain and thoracic nerve cord of *Locusta migratoria migratorioides* Res. Bull. Panjab. Univ. **137**, 13—22 (1958).
- Schürmann, F. W., Wechsler, W.: Synapsen im Antennallobus von *Locusta migratoria*. (In Vorbereitung, 1969.)
- Smith, D. S.: The organisation of the insect neuropile. In: C. A. G. Wiersma (ed.), *Invertebrate nervous systems*, p. 79—85. Chicago 1967.
- Steiger, U.: Über den Feinbau des Neuropils im Corpus pedunculatum der Waldameise. Elektronenoptische Untersuchungen. *Z. Zellforsch.* **81**, 511—536 (1967).
- Trujillo-Cenoz, O.: Some aspects of the structural organization of the intermediate retina of Dipterans. *J. Ultrastruct. Res.* **13**, 1—33 (1965).
- Melamed, J.: The fine structure of the visual system of *Lycosa Aranae: Lycosidae*. Part. II. Primary visual centers. *Z. Zellforsch.* **76**, 377—388 (1967).
- Vowles, D. M.: The structure and connexions of the corpora pedunculata in bees and ants. *Quart. J. micr. Sci.* **96**, 239—255 (1955).
- Models in the insects brain. In: *Neural theory and modeling* (ed. R. F. Reiss). Stanford, California: Stanford University Press 1964.
- Wiersma, C. A. G.: Giant nerve fibre system of the crayfish. A contribution to comparative physiology of synapse. *J. Neurophysiol.* **10**, 23—28 (1947).

Dr. F.-W. Schürmann  
Max-Planck-Institut für Hirnforschung  
Abteilung für Allgemeine Neurologie  
5 Köln-Merheim  
Ostmerheimer Str. 200