

Über den Feinbau des Neuropils im Corpus pedunculatum der Waldameise

Elektronenoptische Untersuchungen *

ULRICH STEIGER **

Institut für Hirnforschung der Universität Zürich

Eingegangen am 20. Februar 1967

Summary. 1. The neuropil of the corpora pedunculata was examined with phase- and electronmicroscope in two species of ants: *Formica rufa* and *Camponotus ligniperdus*. It consists of a fine feltwork of fibers with interspersed synaptic glomeruli.

2. The glomeruli contain a large presynaptic end knob with dozens of small postsynaptic endfeet attached to its surface. This is characteristic of the *diverging* type of glomerular organization. The presynaptic endknob contains clear vesicles (300—600 Å) and dense-cored vesicles (1000—1500 Å), mitochondria and glycogen granules.

3. Two types of junctions can be differentiated between pre- and postsynaptic membranes: a) "active regions" (synapses) and b) "tight junctions". The synapses have all the features of chemical junctions seen in the vertebrate nervous system. They are confined to the external surface of the presynaptic end knob. The "tight junctions" are located at the external and at the *internal* surface as well. In the latter case, they are formed by invagination of postsynaptic dendritic branches, whose membranes are fused throughout with the presynaptic membrane ("intrinsic" tight junction). Dendro-dendritic tight junctions are found frequently between postsynaptic processes.

4. "Light" and "dark" glomeruli may be differentiated depending on the vesicular, mitochondrial and glycogen content of the presynaptic end knob.

5. The glial elements within the neuropil arise from perikarya which are located at the border between perikaryon layer and neuropil; they are rather sparsely found in the vicinity of the glomeruli.

Zusammenfassung. 1. Mittels Phasenkontrast- und Elektronenmikroskop wurde das Kelch-neuropil der Corpora pedunculata von zwei Ameisenarten: *Formica rufa* und *Camponotus ligniperdus* untersucht. Bei beiden besteht das Neuropil aus einem feinmaschigen Faserfilz mit dicht eingestreuten synaptischen Glomeruli.

2. Die Glomeruli kommen dadurch zustande, daß sich um einen zentral gelegenen prä-synaptischen Endkolben viele postsynaptische Fasern rosettenförmig gruppieren. Es handelt sich also um Glomeruli mit Divergenz-Schaltung. Der Endkolben enthält neben Mitochondrien und Glykogenkörnern sowohl helle Bläschen (300—600 Å) als auch granuliert (1000 bis 1500 Å).

3. Zwischen prä- und postsynaptischen Faserendigungen gibt es zwei besondere Arten von Membrankontakten: a) „aktive Stellen“ (Synapsen im engeren Sinne) und b) „tight junctions“. Die Synapsen zeigen alle Merkmale chemischer Haftstellen bei Wirbeltieren und beschränken sich auf die äußere Oberfläche des präsynaptischen Endkolbens. Die „tight junctions“ finden sich sowohl an der Außenfläche, wie im Inneren des Endkolbens. Im letzteren Falle werden sie durch invaginierte postsynaptische Dendritenaufzweigungen gebildet, deren Membranen *durchwegs* mit der präsynaptischen Axonmembran verschmolzen sind (sog. *intrinsische* „tight junctions“). Auch dendro-dendritische „tight junctions“ im Bereiche der postsynaptischen Faserendigungen kommen häufig vor.

* Mit Unterstützung des Schweizerischen Nationalfonds für wissenschaftliche Forschung (Kredit Nr. 3807).

** Für die unentbehrliche technische Hilfe möchte ich Fräulein C. SANDRI meinen besten Dank aussprechen.

4. Nach dem Inhalte der Endkolben können zwei Varianten von Glomeruli unterschieden werden: „Helle“ und „Dunkle“. Sie unterscheiden sich durch den verschiedenen Gehalt an synaptischen Bläschen, die verschiedene Größe und Zahl der Mitochondrien, sowie im Glykogengehalt.

5. Die gliöse Durchwirkung des Neuropils geht von randständigen Perikaryen aus; im Bereiche der Glomeruli ist sie eher spärlich.

Einleitung

Die *Corpora pedunculata* der Ameise sind paarig angelegte, kuppelartige Vorwölbungen des Oberschlundganglions und gelten seit DUJARDIN (1850) als höchste Stufe der zentralnervösen Integration der gesellig lebenden Insekten. LEYDIG (1864) setzte die vergleichenden Studien dieser schon damals als „Gehirn“ bezeichneten Gebilde bei Biene, Hummel, Wespe und Ameise fort und verwies ebenfalls auf die Korrelation zwischen „geistiger Begabung“ und cerebraler Entwicklungsstufe. Sein Schüler FOREL sagte 1901: „Komplizierte Instinkte und deutlich nachweisbare geistige Fähigkeiten (Gedächtnis, Plastizität etc.) haben vor allem die Arbeiter, viel weniger die Weibchen. Unglaublich dumm sind die Männchen . . . Diese Tatsachen erleichtern sehr die Vergleichung des Denkorgans, d.h. des Gehirns (*Corpora pedunculata*) bei den drei Geschlechtern. Dasselbe ist sehr groß beim Arbeiter, viel kleiner beim Weibchen, fast ganz verkümmert beim Männchen.“ Diese Hypothese wurde durch morphometrische Untersuchungen von v. ALTEN (1910), PIETSCHKER (1911), ZIEGLER (1912), THOMPSON (1913), BRUN (1923), PANDAZIS (1930) und JAWLOWSKI (1934/35 und 1959) bestätigt, wobei die Beziehungen zwischen „Gehirn“ und Verhalten nicht nur bei den Mitgliedern verschiedener Kasten des Ameisenstaates, sondern auch bei zahlreichen anderen Ordnungen und Gattungen von Insekten analysiert wurden. HANSTROEM (1926) konnte zeigen, daß die Ameisenarbeiterinnen unter allen Insekten die größten *Corpora pedunculata* aufweisen (relativ zum Gesamtvolumen des *Protocerebrums*). Doch warnte HOLMGREN schon im Jahre 1916, auf Grund sehr ausgedehnter Hirnstudien bei Arthropoden, vor einer allzu oberflächlichen (im wörtlichen Sinne) Betrachtungsweise und gab den Differenzierungsmerkmalen im histologischen Feinbau den Vorzug.

Auch die histologischen Untersuchungen der *Corpora pedunculata* bei Ameisen gehen auf DUJARDIN (1850) und LEYDIG (1864) zurück. Aber erst FLOEGEL (1878) gelangen vollständige Schnittserien durch das Gehirn der Ameise, die zufolge ihrer technischen Vollkommenheit noch heute unsere Bewunderung verdienen. KENYON (1896) konnte auf Grund brauchbarer Silberimprägnationsmethoden Näheres über den Aufbau der Leydigschen Punktsubstanz (bei Bienen) aussagen. Seine Analyse, die von SANCHEZ (1940) und erst kürzlich von VOWLES (1955) auch experimentell bestätigt wurde, ergab, daß die Stammfortsätze der sog. Globulizellen der *Corpora pedunculata* kurz nach dem Austritt aus dem Zellager ein Dendritensystem in die Punktsubstanz ausstrahlen. Diese Dendritenbäumchen füllen einen winzigen kugelförmigen Raum aus, in welchem sie mit afferenten Nervenfasern synaptische Verbindungen eingehen. Seit HANSTROEM (1926) wurden die Agglomerationen im Neuropil immer konsequenter als „Glomeruli“ bezeichnet. Er äußerte sich darüber wie folgt: „Wir wissen zwar nicht viel über die anatomische Grundlage der höheren Tätigkeit der Gehirnzentren, aber bei den Arthropoden ist es charakteristisch, daß je höher die letztgenannten differenziert sind, um so mehr tritt die

Glomerulstruktur des Neuropils zutage. Die Glomeruli kommen dadurch zustande, daß die Nervenfasern sich innerhalb eines bestimmten Gebietes allmählich feiner und feiner verzweigen, um sich zuletzt mit den Endbäumchen gegenseitig zu verbinden.“ Er schließt daraus, daß die assoziative Leistungsfähigkeit von der Anzahl der Glomeruli abhängt.

Die Schwierigkeiten, die sich der Lichtmikroskopie bei der Untersuchung des Insekten-Neuropils entgegenstellen, wurden von CAJAL und SANCHEZ (1915) im folgenden Satze veranschaulicht: „En los insectos, los axones y sus ramificaciones en los plexos terminales de la „Punktsubstanz“ son de una delicadeza incomparable.“ Von TRUJILLO-CENOS und MELAMED (1962) stammen die ersten elektronenmikroskopischen Bilder vom Neuropil der *Corpora pedunculata* bei zwei Insektenarten (*Archophileurus vervex* und *Acromyrmex lundii*). In der vergleichenden Untersuchung werden diese Bemühungen mit Hilfe einer verbesserten Fixationstechnik fortgesetzt. Dabei interessieren vor allem die synaptischen Spezialstrukturen und die funktionelle Polarität der am Glomerulus beteiligten Synapsen, welche in den früheren Untersuchungen noch nicht eindeutig erfaßt werden konnten. Auch die Beziehungen zwischen gliösen und nervösen Elementen sollen gebührend berücksichtigt werden.

Material und Methoden

Zur Untersuchung gelangten Arbeiterinnen von zwei verschiedenen Ameisenarten¹: *Formica rufa* var. *lugubris* ZETT. und *Camponotus ligniperdus*. Zur Entnahme des Gehirns wurden die Ameisen mit CO₂ anaesthetisiert und mit Klebestreifen auf einer Kartonplatte fixiert. Nach Abschneiden des gesamten Kieferapparates unmittelbar hinter den Antennenabgängen mittels Rasierklinge, wurde jeweils mit Augenschere und Uhrmacherpinzette unter dem Stereomikroskop das Gehirn durch Wegschneiden der oberen Hälfte der Chitinkapsel von oben freigelegt. Nach Abtrennung von den umliegenden Geweben wurde das Gehirn enukleiert und sofort in die Fixationslösung gebracht.

Die besten Resultate für die Elektronenmikroskopie ergab die kombinierte Aldehydfixation nach SABATINI, BENSCH und BARNETT (1963) in folgender Modifikation:

a) Fixation in einer 6,5%igen Lösung von Glutar(di)-aldehyd in 0,1 M Phosphatpuffer, auf ein pH von 7,4 eingestellt, während ca. 2 Std bei Zimmertemperatur.

b) Auswaschen bei ca. 4°C in einer Lösung von 0,2 M Phosphatpuffer mit 0,22 M Saccharose, pH 7,4, die anfänglich mehrmals gewechselt wird. Die Gewebestücke werden in dieser Lösung 6—8 Std im Kühlschrank belassen.

c) Nachfixation während 2 Std bei 4°C in 2%iger OsO₄-Lösung in Paladepuffer (pH 7,4).

d) Entwässerung in aufsteigender Alkoholreihe und über Propylenoxyd Einbettung in Epikote 812 (LUFT, 1961).

Die Dünnschnitte wurden mit einem mit Glasmesser ausgerüsteten Porter Blum-Ultramikrotom hergestellt. Für elektronenmikroskopische Übersichtsstudien wurden die Dünnschnitte mittels mit Formvar beschichteten Metallösen aufgefangen und auf Einlochobjektträger gebracht, kontrastiert und anschließend mit Kohle bedampft. Für Detailstudien wurden die Schnitte z.T. auf Objektträgernetzchen mit kohlebedampftem Formvarfilm aufgefangen, z.T. auf unbedeckte, feinmaschige Objektträgernetzchen. Die Schnitte auf den Netzchen wurden kontrastiert, wobei die Schnitte auf den nackten Netzchen nach der Kontrastierung noch mit Kohle bedampft wurden. Sämtliche Dünnschnitte wurden 2 Std auf wäßriger, gesättigter Uranylacetatlösung (WATSON, 1958) und nachfolgend 1/2 Std auf einer Bleihydroxydlösung (KARNOVSKY, 1961; Methode B) kontrastiert. Geeignete Dünnschnitte wurden im Elektronenmikroskop (Siemens Elmiskop I) untersucht. Für die hergestellten Aufnahmen wurden Primärvergrößerungen zwischen 3000—40000fach verwendet. Die Anodenspannung

¹ Die Ameisenspezies wurden liebenswürdigerweise von Dr. H. KUTTER, Männedorf/ZH, bestimmt.

war meistens 80 kV. Die Durchmesser der verwendeten Kondensoraperturbleden betragen 400 und 200 μ , diejenigen der Objektivaperturbleden 50 und 30 μ . Bei stärkeren Vergrößerungen wurde zwecks Vermeidung von Kontaminationserscheinungen an den Dünnschnitten die Objekttraumkühlung von Siemens verwendet, mit flüssiger Luft als Kühlmittel.

Ein wichtiges technisches Anliegen besteht in der genauen Orientierung der Gewebestücke und in der Auswahl und Lokalisation der gewünschten Stelle. Unser Vorgehen war folgendes: Aus einem das intakte Gehirn enthaltenden, Eponblock wurden Schnitte hergestellt, die im Phasenkontrastmikroskop kontrolliert wurden, und darauf der Eponblock im Mikrotom so orientiert, daß möglichst exakte Frontalschnitte resultierten. Aus einem in dieser Weise orientierten Block, von dem Abb. 2 (Phasenkontrast) her stammt, wurde das Gebiet des Unterschlundganglions und die linke Hirnhemisphäre weggetrimmt. Von der restlichen, im Block verbliebenen Gewebefläche wurden Dünnschnitte hergestellt, die nur noch die beiden rechten Pilzkörper mit den Neuropilkelchen und einen Teil der optischen Zentren enthielten. Diese Dünnschnitte wurden auf Einlochobjektträger aufgebracht. Von einem dieser Schnitte konnten ca. 300 Aufnahmen bei 3000facher Primärvergrößerung angefertigt werden. Die erstellten Papiervergrößerungen wurden zu einem „Puzzle“ von ungefähr $4\frac{1}{2}$ m² bei 7500facher Endvergrößerung zusammengesetzt, auf dem beide Neuropilkelche der rechten Hirnhälfte praktisch vollständig sichtbar sind. Abb. 3 zeigt einen kleinen Ausschnitt dieses großen Mosaikbildes, einen aus 17 Einzelbildern zusammengesetzten Teil des medialen Neuropilkelches. Außer dieser Übersichtsorientierung, welche die Grundlage der genauen Identifikation aller elektronenmikroskopischen Aufnahmen aus dem *Corpus pedunculatum* bildete, wurden innerhalb jeder Schnittserie unmittelbar nach den Dünnschnitten ca. 1 μ dicke Schnitte zur lokalisatorischen Kontrolle im Phasenkontrastmikroskop angefertigt.

Resultate

1. Allgemeiner Aufbau des Neuropils in den Kelchen

Die *Corpora pedunculata* bestehen jederseits aus zwei Pilzkörpern, einem medialen und einem lateralen, die gleichartig gebaut zu sein scheinen. Sie enthalten oberflächlich eine pilzhutähnliche Perikaryenschicht und darunter kelchförmige Neuropilzonen, wobei ein mittelständiger Zellzapfen tief in den Neuropilkelch eindringt (Abb. 1 a und b). Zwischen der Perikaryenschicht und dem Neuropil der Kelche erstreckt sich eine dünne, flächenhafte Grenzschicht von Faserhüllgliazellen, die von den sog. Stammfortsätzen der unipolaren Ganglienzellen bündelweise durchbrochen wird. Die Neuropilkelche münden hinten in die nach ventral und medial gerichteten Pedunculi, deren Neuropil eine vorwiegend faszikuläre Struktur aufweist. In den Pedunculi sind vermutlich die Afferenzen und Efferenzen der Neuropilkelche enthalten.

In der Phasenkontrast-Übersichtsaufnahme (Abb. 2) eines Frontalabschnittes durch die rechte Hemisphäre des Ameisenhirns ist die Unterteilung der *Corpora pedunculata* in *Perikaryenschicht* und *Neuropil* unverkennbar.

Abb. 3 ist der medialen Randzone des medialen Kelches entnommen. In einigermaßen regelmäßiger Verteilung finden sich rundliche, kolbenartig aufgetriebene Nervenfasereindigungen mit einem Durchmesser von 2–3 μ . Die zuführenden Fasern sind dünn (Durchmesser 0,2–0,4 μ). Die Endkolben sind an der Oberfläche rosettenförmig von schlanken Faserendigungen umgeben (Durchmesser 0,05 bis 0,4 μ). In der Regel gruppieren sich in den Schnittbildern 6–14 solcher Endigungen um die Querschnitte der einzelnen Endkolben und besetzen deren Oberfläche scheinbar fast lückenlos. In Ermangelung von Serienschnitten konnte die Totalzahl der Haftstellen eines Endkolbens nicht exakt bestimmt werden. Nach unserer Schätzung dürften es über 100 sein. Die Einheit, bestehend aus dem

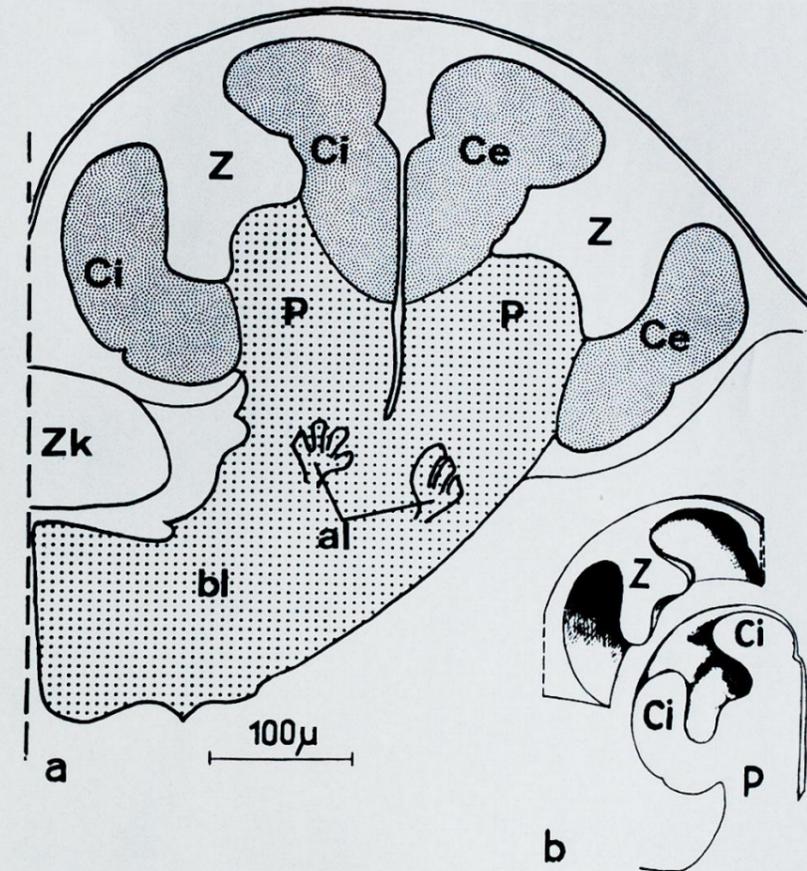


Abb. 1. a Skizze der Corpora pedunculata aus einem Frontalschnitt durch eine Hirnhemisphäre von *Formica rufa*. Ce Neuropil des äußeren, Ci Neuropil des inneren Bechers einer Hemisphäre. Z Zellzapfen, enthaltend die „Globuli“- oder Becherzellen (= Perikaryenschicht von LANDOLT, 1965). P Pedunculus, al alpha-lobe = rückläufiger Stiel, bl beta-lobe = Balken, Zk Zentralkörper. Verg. ca. 220 \times . b Darstellung der räumlichen Beziehung zwischen Perikaryenschicht und Neuropil der Kelche in den Corpora pedunculata. Das Bild zeigt das Resultat einer Rekonstruktion aus einer vollständigen phasenoptischen Schnittserie. Z Zellzapfen = Perikaryenschicht (Pilzkörper), Ci innerer Neuropilbecher (Calyx internus)

Endkolben und den damit in Kontakt tretenden Fasern, wurde von TRUJILLO-CENOZ und MELAMED (1962) als „Glomerulus“ bezeichnet.

Die Verteilung der Glomeruli im Kelchneuropil ist mehr oder weniger regelmäßig (Abb. 4 und 5). Die Distanz gemessen zwischen den Zentren der Endkolben variiert von 4–7 μ . Anhand des vollständigen elektronenmikroskopischen Mosaikbildes durch einen Neuropilbecher, von dem Abb. 3 einen Ausschnitt zeigt, wurde die Anzahl der Endkolben ausgezählt. Die Fläche des Neuropilbeckers wurde ausgemessen: Sie beträgt ca. 23000 μ^2 . Darin werden 1120 Endkolben gefunden. Unter der Annahme einer regelmäßigen Verteilung der Endkolben ergibt sich eine Anzahl von ca. 10×10^6 Glomeruli pro mm³. Trotz der relativen Gleichmäßigkeit in der Verteilung und Anordnung der Glomeruli, weist das Kelchneuropil deutliche regionale Unterschiede auf. Diese lassen sich vor allem auf die Struktur des Nervenfasernetzes und des gliösen Grundgerüsts zurückführen. Die Stammfortsätze treten an umschriebenen Stellen in massiven Bündeln aus der Perikaryenschicht heraus. Eine starke Konzentration derselben findet sich in der basalen Zirkumferenz der Zellzapfen, also am inneren ventralen Becherrand. Von

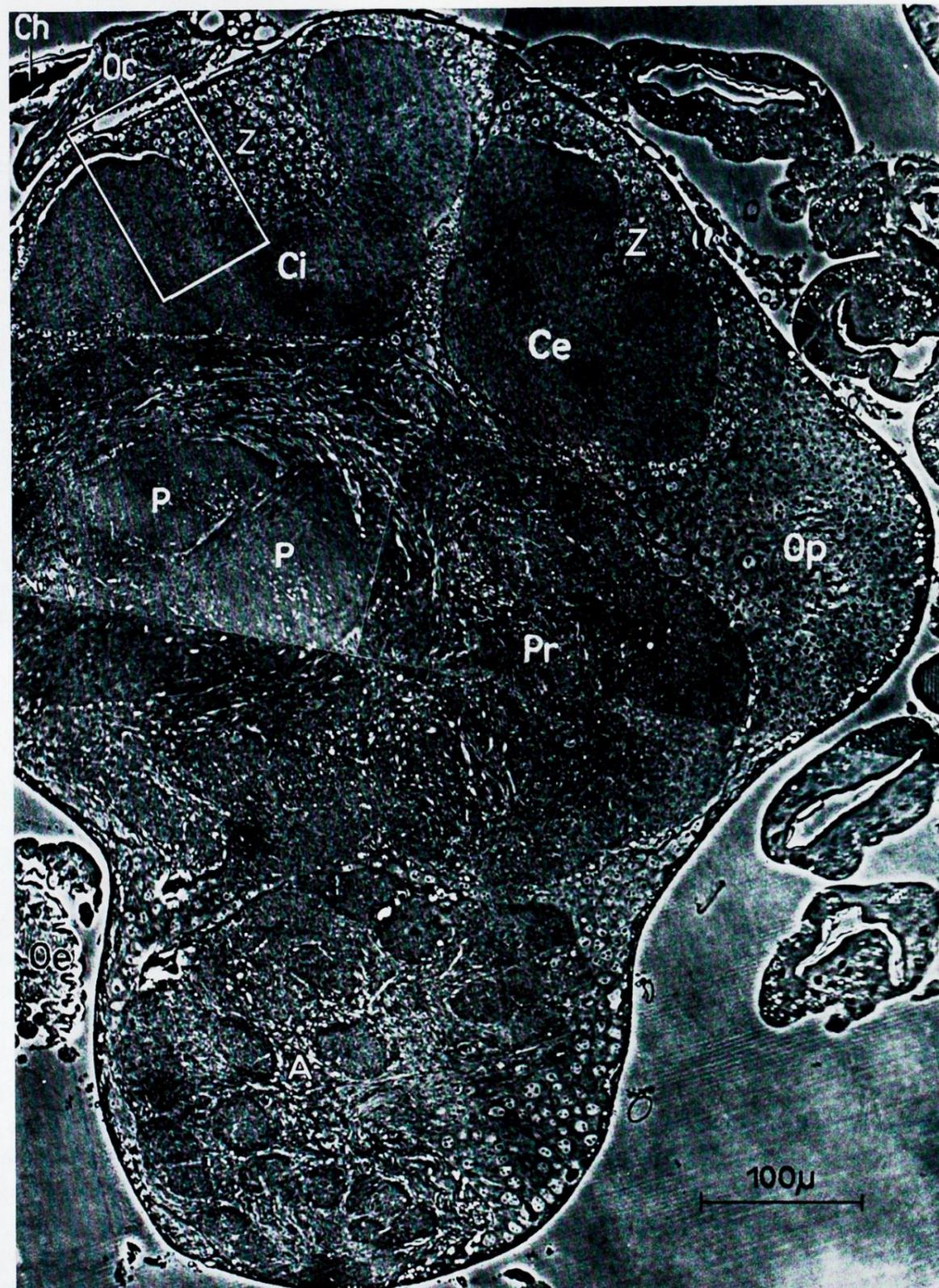


Abb. 2. Frontalschnitt durch eine Hirnhemisphäre der Waldameise im rostralen Bereiche. *Ci* innerer Neuropilbecher (Calyx internus), *Ce* äußerer Neuropilbecher (Calyx externus), *Z* Zellzapfen (Perikaryenschicht), *P* Pedunculus, *Pr* Neuropil des Protocerebrums, *A* Antennenhügel, *Oe* Ocellennerv, *Ch* Chitinfragment, *Oe* Anschnitt des Oesophagus, *Op* optisches Zentrum (optic lobe). Phasenkontrastaufnahme, Vergr. 220 \times . Das eingezeichnete Rechteck entspricht dem in Abb. 3 dargestellten elektronenmikroskopischen Mosaikbild

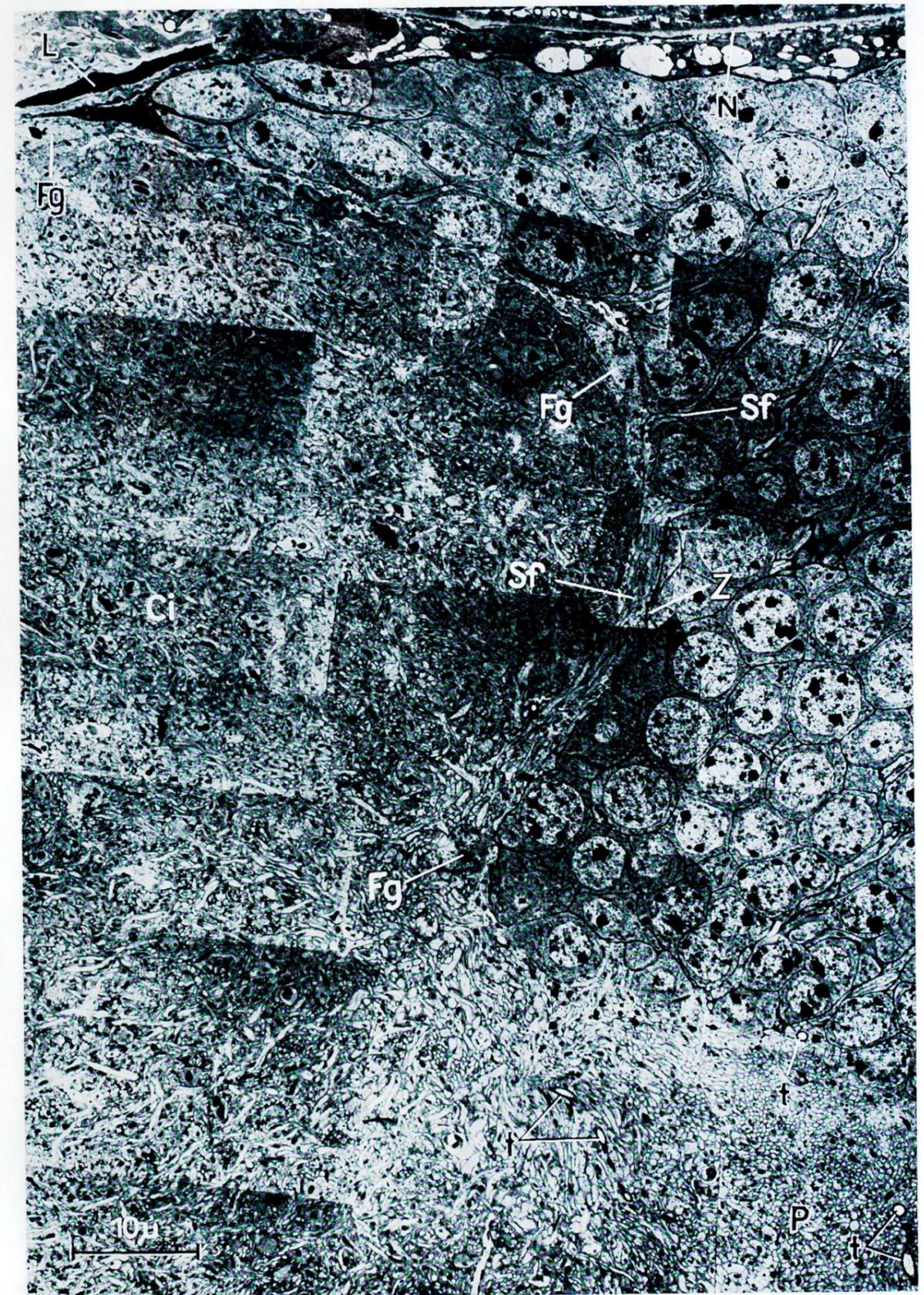


Abb. 3. Elektronenmikroskopisches Mosaikbild, dessen Lokalisation dem in Abb. 2 eingezeichneten Rechteck entspricht. Man beachte, wie sich die Stammfortsätze (*Sf*) aus der Perikaryenschicht bündeln, dem Zellzapfenrand (*Z*) entlang nach basal verlaufen und von dort aus, unter reichlicher Verzweigung in alle Richtungen des Neuropils ausstrahlen. *Fg* Faserhüllgliazellen, *t* Tracheolen, *N* Neurallamelle, *L* Lakune, *Ci* Neuropil des Calyx internus, *P* zum Pedunculus gehörendes Neuropil. Fixation: Glutaraldehyd-Osmium; Kontrastierung: Uranylacetat + Bleihydroxyd. In allen folgenden Abbildungen wurde dieselbe Fixation und Kontrastierung angewendet. Vergr. ca. 1800 \times . (*Formica rufa*)

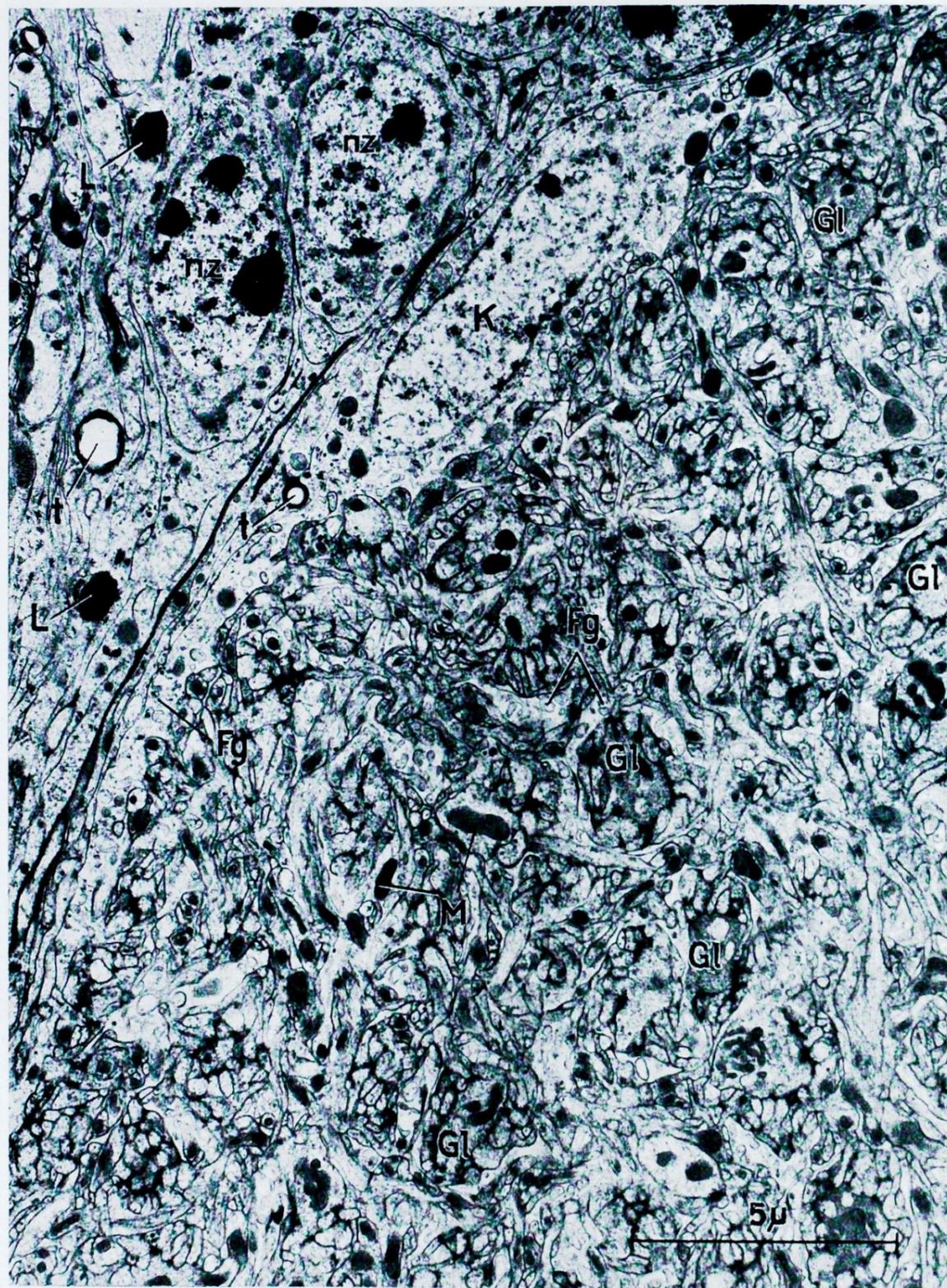


Abb. 4. Neuropil aus der medialen Randzone des medialen Kelches. Am Rande des Neuropils ist der Zellkern (*K*) einer Faserhüllgliazelle zu erkennen, deren Plasmafortsätze (*Fg*) einerseits eine Grenzschicht zu den Nervenzellperikaryen (*nz*) bilden und andererseits ins Neuropil eindringen, wo sie die „Glomeruli“ (*Gl*) umschneiden. *M* Mitochondrium, *t* Tracheolen, *L* Lakunen. Vergr. ca. 7000 \times . (*Formica rufa*)

hier aus strahlen kräftige Fasern nach allen Richtungen des Neuropilkelches aus, wobei sie sich sukzessive verzweigen und verfeinern. Abb. 5 ist nahe der Basis

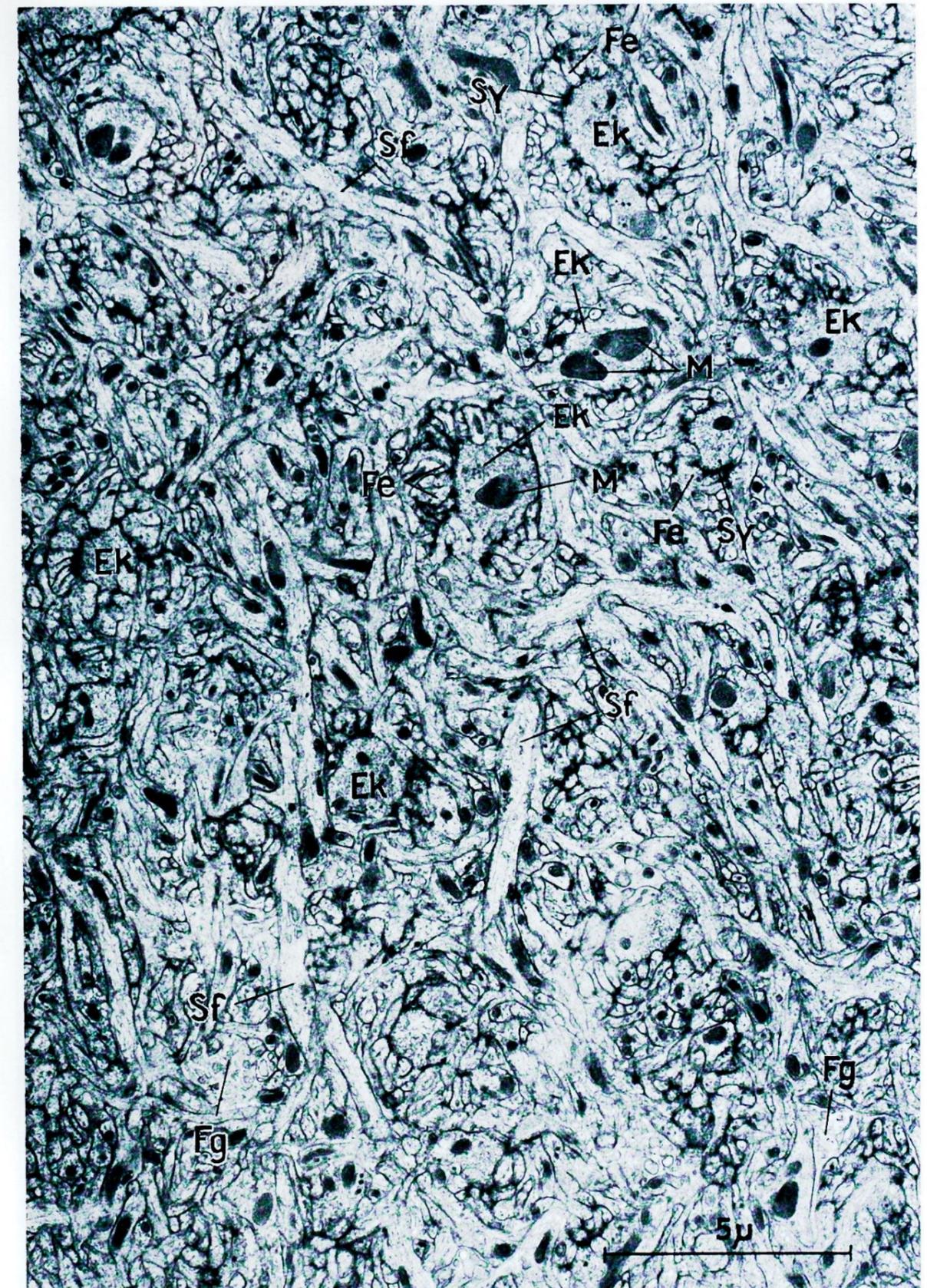


Abb. 5. Neuropilausschnitt nahe der Basis des medialen Zellzapfens. Die Glomeruli finden sich in einem Flechtwerk von kräftigen, sich z.T. verzweigenden Stammfortsätzen (*Sf*). Die präsynaptischen Endkolben (*Ek*) enthalten z.T. Mitochondrien (*M*) und sind von zahlreichen postsynaptischen Faserendigungen (*Fe*) rosettenartig umgeben. Man erkennt die synaptischen Stellen (*Sy*) an deren Elektronendichte. Gegenüber dem randständigen Neuropilareal (Abb. 4) sind viel weniger Gliafortsätze (*Fg*) vorhanden. Vergr. ca. 7000 \times . (*Formica rufa*)

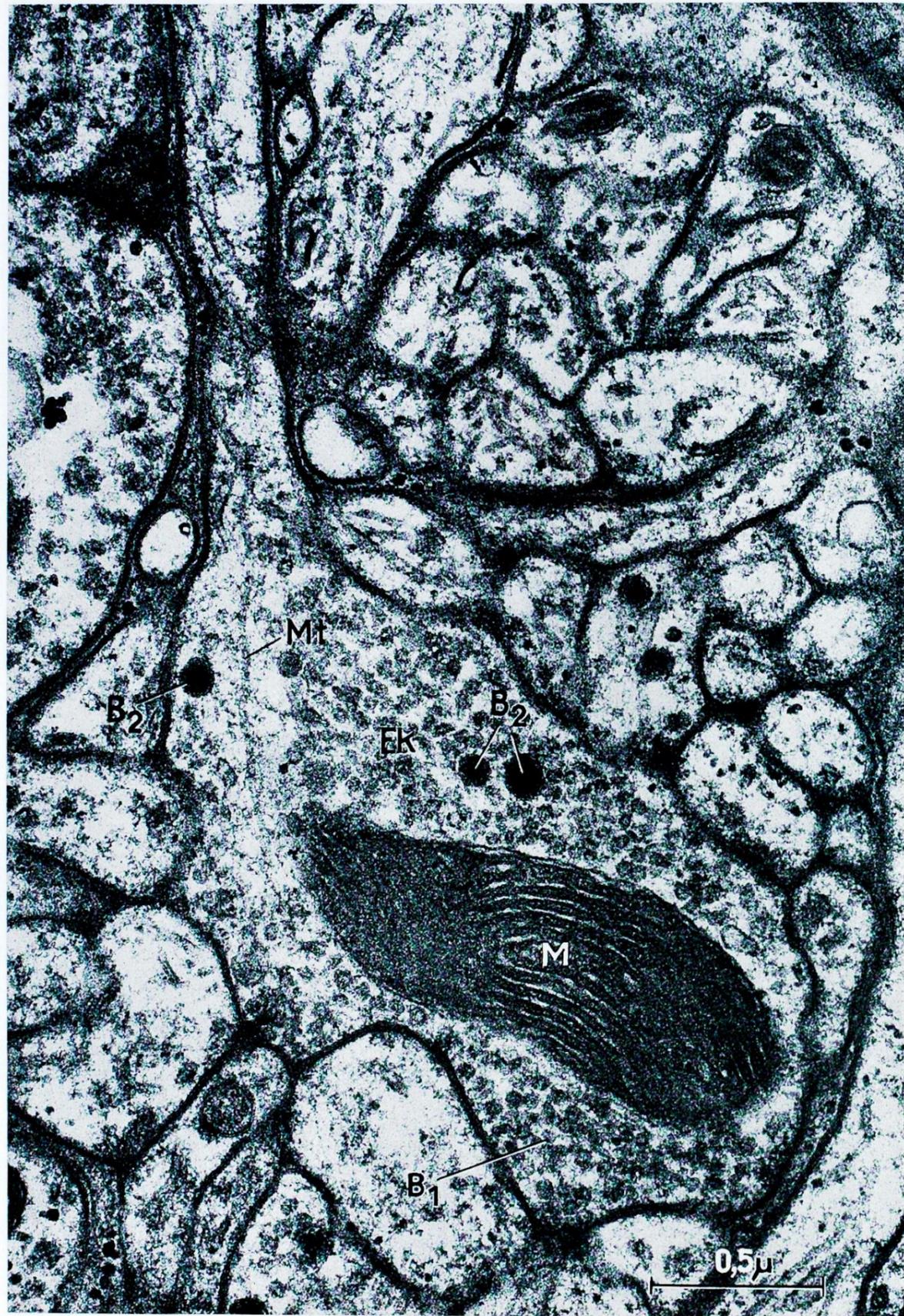


Abb. 6. Der Endkolben (*Ek*) eines Glomerulus mit zugehöriger präterminaler Faser. Man erkennt in den Endkolben hineinverlaufende Mikrotubuli (*Mt*) mit einem Durchmesser von ca. 200 Å. Der Endkolben enthält ein typisches Mitochondrium (*M*), mäßig viele helle synaptische Bläschen der Größenordnung von 300–600 Å (*B*₁) und vereinzelte größere Bläschen mit dunklem Kern der Größenordnung 1000–1500 Å (*B*₂). Vergr. ca. 48000 ×. (*Formica rufa*)

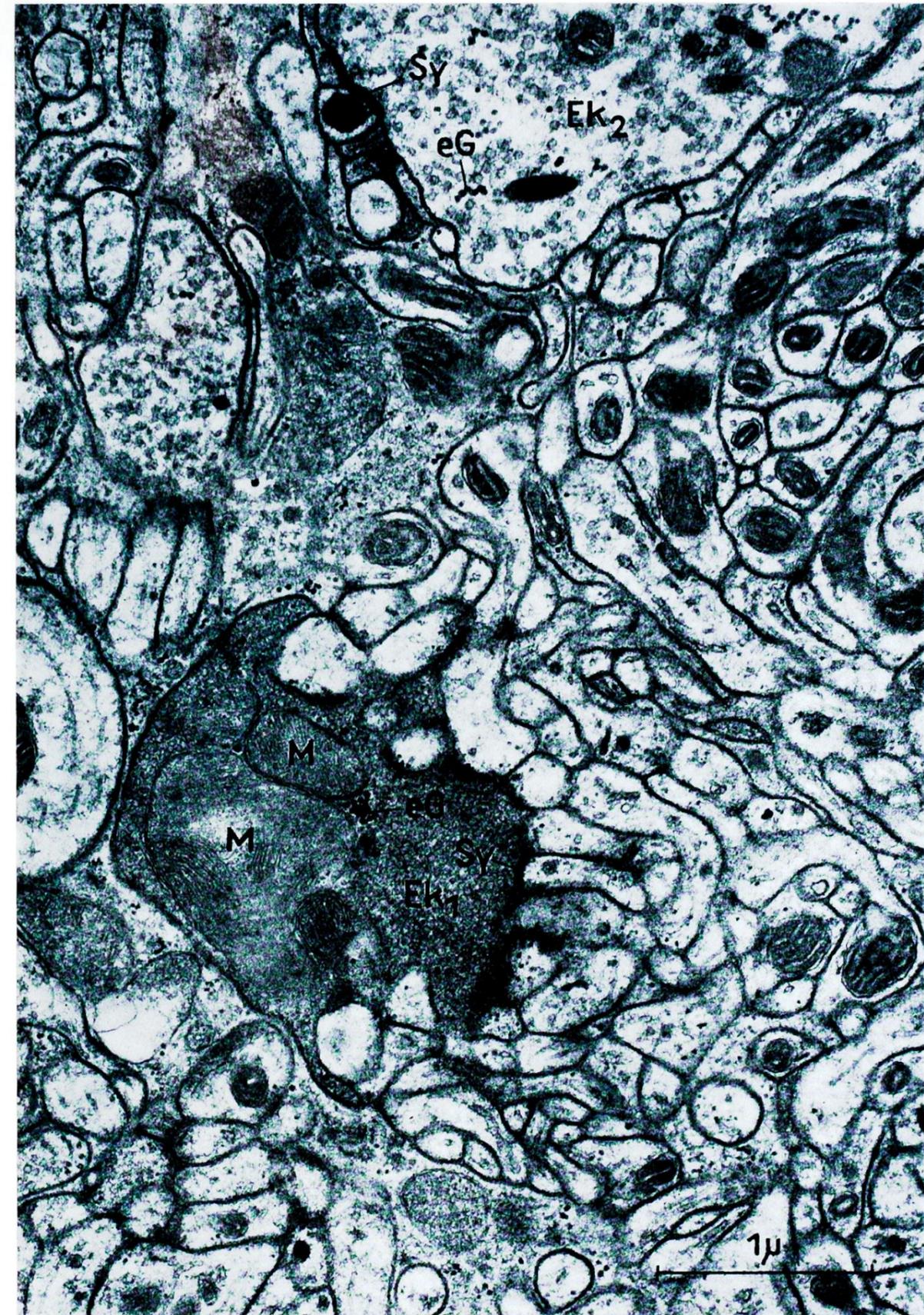


Abb. 7. Ein dunkler Endkolben (*Ek*₁) und ein heller (*Ek*₂) im Anschnitt. Der dunkle Endkolben ist dicht gefüllt mit synaptischen Bläschen, enthält große Mitochondrien (*M*), in deren unmittelbarer Nähe sich elektronendichte Granula (*eG*) befinden (Glykogen?). Der helle Endkolben ist nur mäßig mit synaptischen Bläschen besetzt, enthält einige zerstreute elektronendichte Granula, und an seiner Oberfläche sieht man deutlich eine aktive synaptische Stelle (*Sy*). Vergr. ca. 30000 ×. (*Formica rufa*)

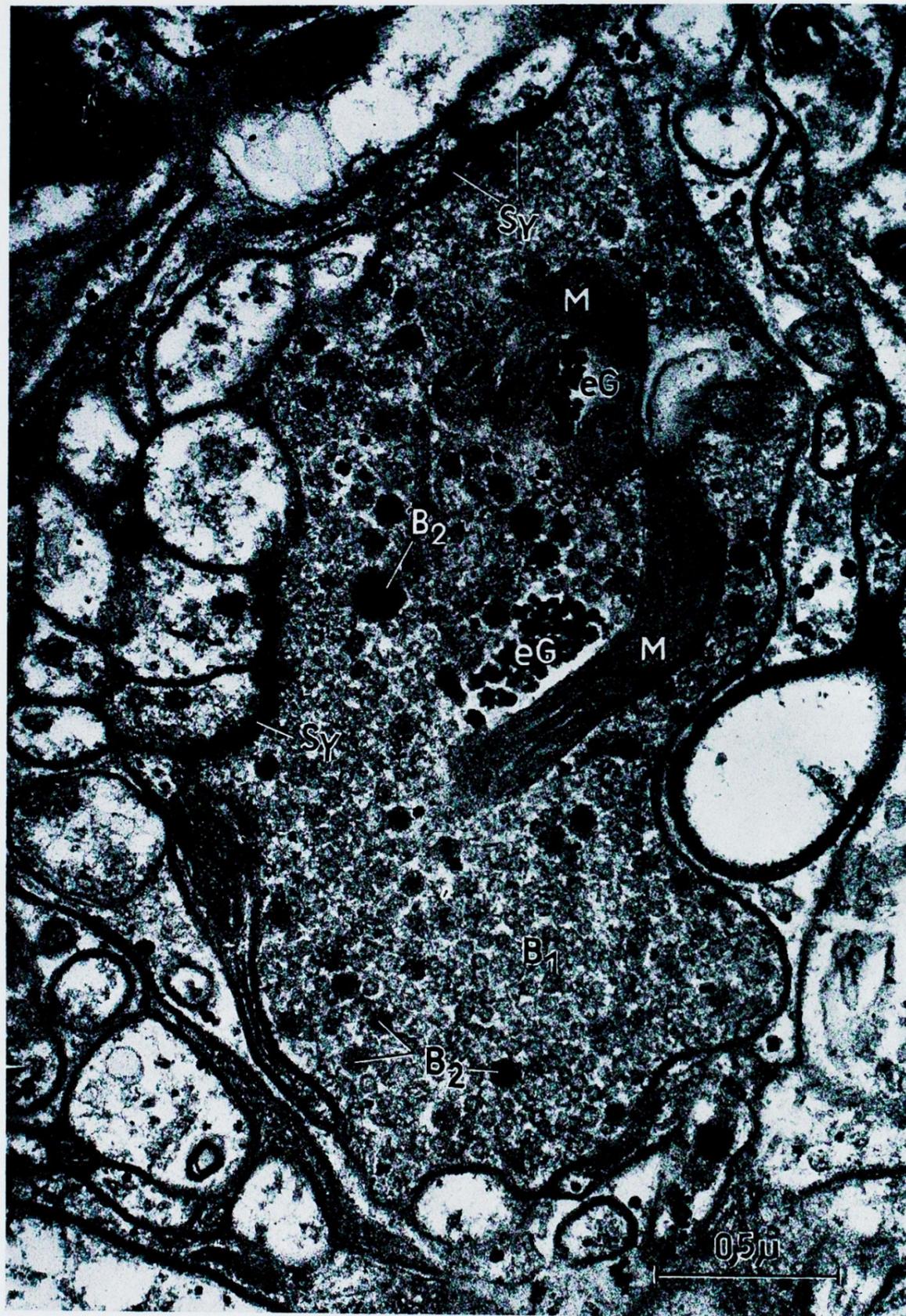


Abb. 8. Dunkler Endkolben, dicht gefüllt mit synaptischen Bläschen im Durchmesser von 300—600 Å (B_1) und mehreren Bläschen mit dunklem Kern und einem Durchmesser von 1000—1500 Å (B_2). In Mitochondriennähe (M) gehäufte elektronendichte Granula (eG). An der Außenfläche des Endkolbens sind mindestens zwei aktive synaptische Stellen vorhanden (Sy). Vergr. ca. 50000 \times . (*Formica rufa*)

eines Zellzapfens entnommen und zeigt demzufolge die Glomeruli inmitten eines relativ groben und reich verzweigten Nervenfasernetzes. Das in Abb. 4 zur Darstellung gelangende Neuropil im gegenüberliegenden Abschnitt des Kelches ist durch ein äußerst feines Fachwerk von Nervenfasern gekennzeichnet.

2. Feinbau der Glomeruli

Bei stärkerer Vergrößerung erweisen sich die Endkolben im Zentrum der Glomeruli als präsynaptische Elemente. In Abb. 6 ist eine solche Endigung im Längsschnitt getroffen, wobei auch die präterminale Nervenfasern zur Darstellung gelangt. Der Endkolben ist mäßig dicht gefüllt mit hellen, runden Bläschen vom Typus der präsynaptischen Vesicles (Durchmesser 300—600 Å) und vereinzelt größeren Bläschen mit dunklem Kern und einem Gesamtdurchmesser von 1000—1500 Å. Ferner ist in dieser präsynaptischen Endigung ein Mitochondrium im Längsschnitt getroffen, welches die für Mitochondrien der Endkolben und der präterminalen Nervenfasern typische Struktur aufweist. Diese Mitochondrien sind allgemein wurstförmig, haben einen Durchmesser von 0,3—0,7 μ und enthalten längsverlaufende elektronendichte Cristae, die eng aneinanderliegen.

Nach dem Inhalt der präsynaptischen Endkolben können zwei Varianten von Glomeruli unterschieden werden: „Helle“ und „dunkle“. Beide Arten kommen in Abb. 7 zur Darstellung. Während der „helle“ Endkolben nur mäßig runde synaptische Bläschen der Größenordnung von 300—600 Å enthält, ist der „dunkle“ auffallend dicht mit synaptischen Bläschen gefüllt. Mit Hilfe der stärkeren Vergrößerung (Abb. 8) lassen sich weitere Unterschiede erkennen. Neben den hellen Bläschen sind auch ziemlich viele Bläschen mit dunklem Kern vorhanden (Durchmesser 400—1500 Å). Die Mitochondrien in den „dunklen“ Endkolben sind auch wurstförmig aber in der Regel größer und zahlreicher als in den „hellen“ Endkolben. Die dunklen Endkolben zeigen nahe der Mitochondrien regelmäßig Nester von elektronendichten Granula, die sich in Form, Größe und Anordnung deutlich von Ribosomen unterscheiden und mit ziemlicher Sicherheit als Glykogen angesprochen werden können. Dieselben Granula findet man in geringerer Anzahl, aber diffus verteilt, oft auch im Lumen der hellen Endkolben. In den dunklen Endkolben findet man im Schnitt bis ca. 800 synaptische Bläschen pro μ^2 , in den hellen ca. 50—300 pro μ^2 . Die zu den Endkolben des hellen wie des dunklen Typs gehörenden Nervenfasern lassen sich voneinander nicht unterscheiden und enthalten längsverlaufende Mikrotubuli mit einem Durchmesser von ca. 200 Å.

Im Bereiche der Membrankontakte zwischen den prä- und postsynaptischen Faserelementen der Glomeruli treten zahlreiche sog. „aktive Stellen“ (DE ROBERTIS, 1955 und 1959) auf. Diese sind nach geeigneter Fixation und Kontrastierung des Materials schon bei schwacher elektronenmikroskopischer Vergrößerung deutlich erkennbar, da sie sich mit den zur Kontrastierung verwendeten Schwermetallsalzen intensiv „anfärben“ (Abb. 4 und 5). In Abb. 8 sind mindestens zwei aktive Stellen an einem dunklen Endkolben zu sehen und in Abb. 9a und b sieht man eine aktive Stelle an einem hellen Endkolben. Die aktiven Stellen sind in beiden Fällen durch folgende Merkmale gekennzeichnet: Die Distanz zwischen prä- und postsynaptischer Membran ist auf 150—200 Å erweitert. Der Spalt selbst erscheint im Bereiche der aktiven Stelle von elektronendichtem Material gefüllt, und bei stärkerer Vergrößerung und geeigneter Schnitttrichtung findet man in der

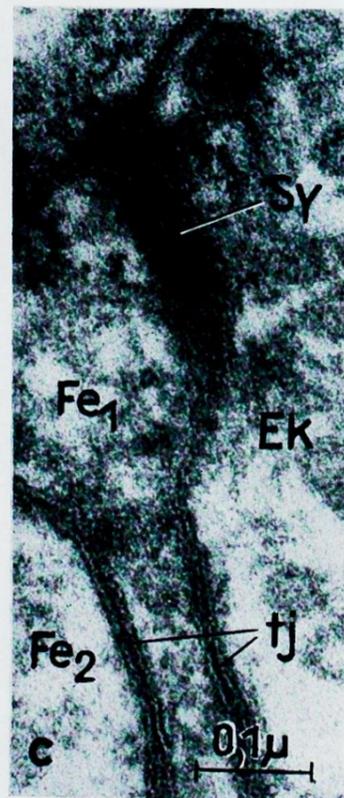
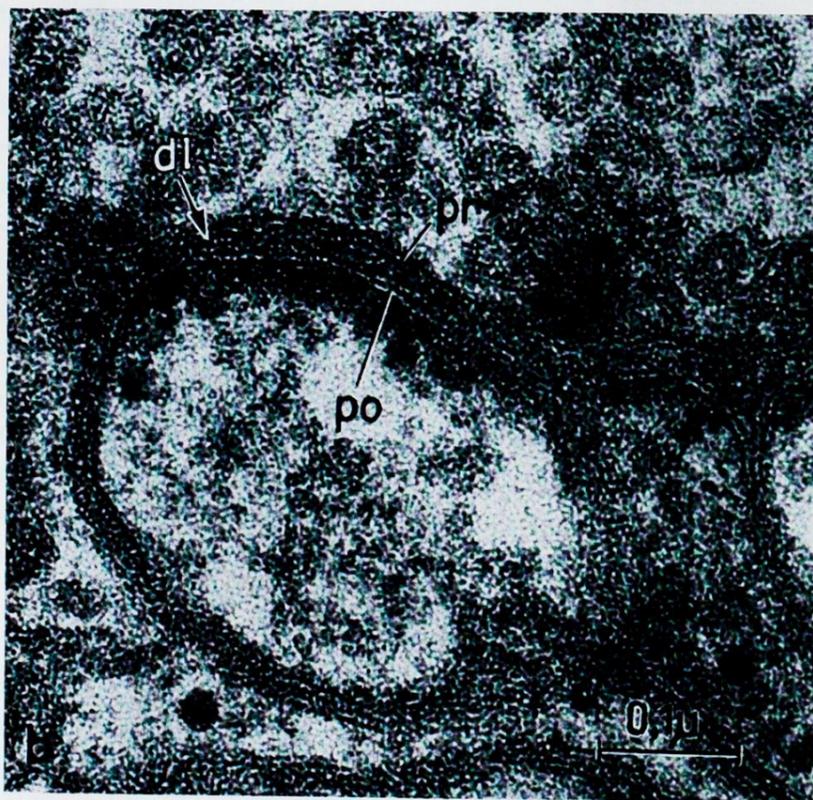
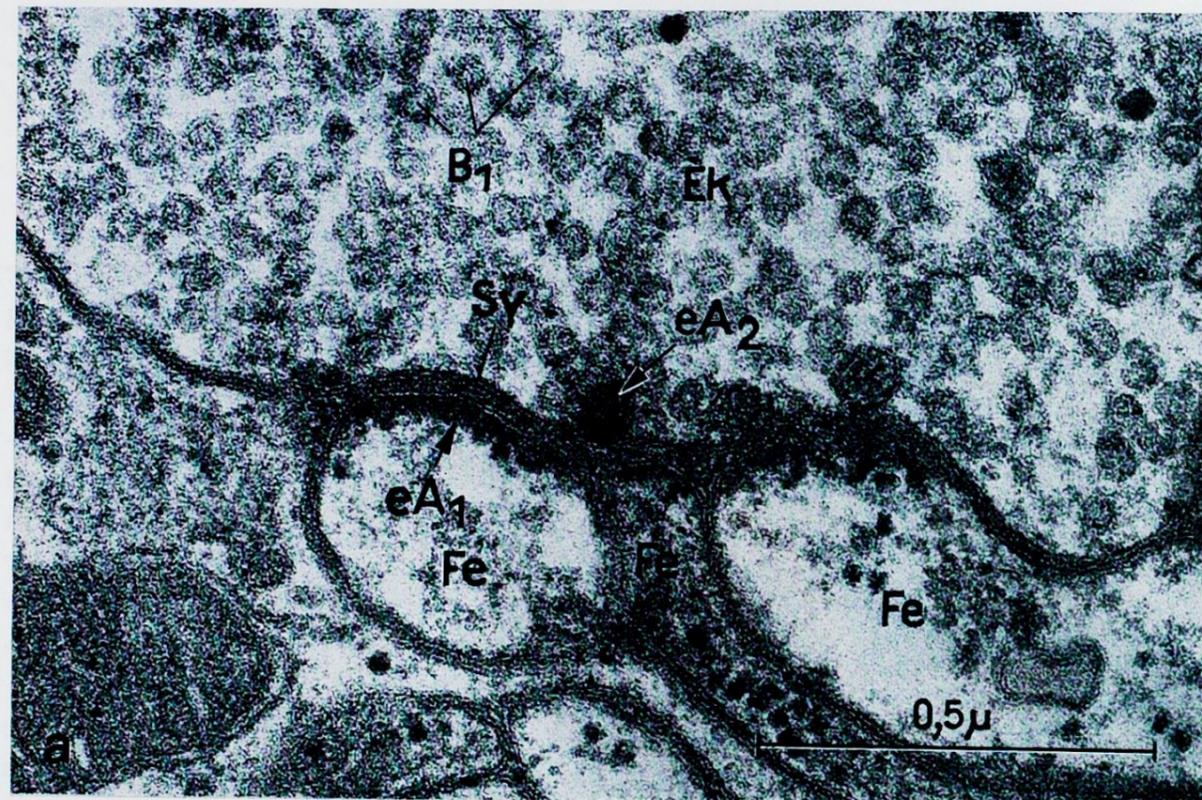


Abb. 9a. Aktive Stellen (*Sy*) an einem hellen präsynaptischen Endkolben (*Ek*), der die typischen synaptischen Bläschen (*B₁*) enthält. Die Distanz zwischen prä- und postsynaptischer Membran beträgt ca. 180 Å. Der synaptische Spalt ist von elektronendichtem Material gefüllt. Die Verdichtung an der postsynaptischen Membran (*eA₁*) ist deutlich erkennbar (Pfeil). Im Endkolben sieht man eine umschriebene elektronendichte Anlagerung (*eA₂*) gegenüber dem Treffpunkt zweier aktiver Stellen. Die postsynaptischen Faserendigungen (*Fe*) enthalten keine synaptischen Bläschen. Vergr. ca. 85000 ×. (*Formica rufa*). b Ausschnitt aus Abb. 9a bei stärkerer Primärvergrößerung. Im synaptischen Spalt ist eine mittlere „dense line“ (*dl*)

Mitte desselben einen, den synaptischen Membranen parallel verlaufenden, dunklen Streifen („dense line“) (Abb. 9b). An der postsynaptischen Membran ist die zum Teil beträchtliche, elektronendichte Anlagerung zu sehen, die wahrscheinlich dem subsynaptischen Netz („subsynaptic web“) von DE ROBERTIS (1955 und 1959) entspricht. Auch an der präsynaptischen Membran findet man häufig eine umschriebene elektronendichte Anlagerung. Sie findet sich in der Regel gegenüber dem Treffpunkt zweier aktiver Stellen (Abb. 9a und b).

Die aktiven Stellen (erweiterter synaptischer Spalt) haben im allgemeinen einen Durchmesser von 1000—2500 Å. Sie nehmen keineswegs die gesamte Kontaktfläche zwischen dem präsynaptischen Endkolben und den postsynaptischen Fasern ein. In den Kontaktgebieten außerhalb des synaptischen Spaltes findet man eine starke Verengung des Interzellularraumes, wobei sogar die Bildung einer „external compound membrane“ (oder „tight junction“) im Sinne von ROBERTSON (1960) sowie von FARQUHAR u. PALADE (1963) die Regel ist (Abb. 9c). Diese Stellen weisen im übrigen keine besonderen Merkmale auf. Auch ist es bemerkenswert, daß ähnlich enge Membranappositionen und „tight junctions“ zwischen den innerhalb des Glomerulus befindlichen postsynaptischen Faserendigungen untereinander vorkommen (Abb. 9c).

Eine Besonderheit wird bei den Glomeruli von *Camponotus ligniperdus* offenbar (Abb. 10). Es handelt sich um feine Faserprofile, die in wechselnder Zahl im Inneren der präsynaptischen Endkolben auftreten. Sie entsprechen Endigungen einer oder mehrerer Nervenfasern, die von Außen her in die Endkolben eindringen. Diese Fasern bezeichnen wir als „intrinsic Fasern“; ihr Durchmesser beträgt 1800—2500 Å. In den Querschnitten durch die Endkolben findet man 4—20 solcher intrinsischer Faserquerschnitte. Bei stärkerer Vergrößerung (Abb. 11a und b) erweist es sich, daß die Membranen der intrinsic Fasern mit den eingestülpten Membranen der Endkolben ausnahmslos im Sinne von „external compound membranes“ miteinander verbunden sind. Gelegentlich sind die intrinsic Fasern von regelmäßig radiär angeordneten fibrillären Strukturen umgeben (Abb. 11b). Intrinsic Fasern trifft man in den präsynaptischen Endkolben der genannten Ameisenspezies fast durchwegs. Bei *Formica rufa* bilden sie die Ausnahme. Die intrinsic „tight junctions“ bei *Camponotus* sind auch im Übersichtsbild (Abb. 10 und 12) gut erkennbar. Gleichzeitig sieht man, daß die betreffenden Endkolben auch mit „extrinsisch“ ansetzenden postsynaptischen Fasern verbunden sind und dabei eine größere Anzahl von aktiven Stellen aufweisen. Solche „aktive“ Stellen kommen auch bei dieser Spezies nur an der Zirkumferenz der Endkolben und niemals in deren Inneren vor. Abb. 11 und besonders Abb. 12 zeigen, daß dieselbe postsynaptische Faser, welche sich im Inneren des Endkolbens aufzweigt, gleichzeitig an dessen Außenfläche aktive Stellen bildet.

(Pfeil) stellenweise deutlich erkennbar. *pr* Präsynaptische Membran, *po* postsynaptische Membran. Vergr. ca. 140000 ×. (*Formica rufa*). c Aktive Stelle (*Sy*) bei *Camponotus ligniperdus*. Sie zeigt dieselben Merkmale wie bei *Formica rufa*. Beachtenswert ist der tangentielle Verlauf der postsynaptischen Faserendigung (*Fe₁*) am präsynaptischen Endkolben (*Ek*) unter stellenweiser Bildung einer „external compound membrane“ bzw. „tight junction“ (*tj*) vor der Erweiterung zum synaptischen Spalt. Ebenso ist zwischen *Fe₁* und der benachbarten postsynaptischen Faser (*Fe₂*) kein Interzellularraum erkennbar (*tj*). Vergr. ca. 120000 ×

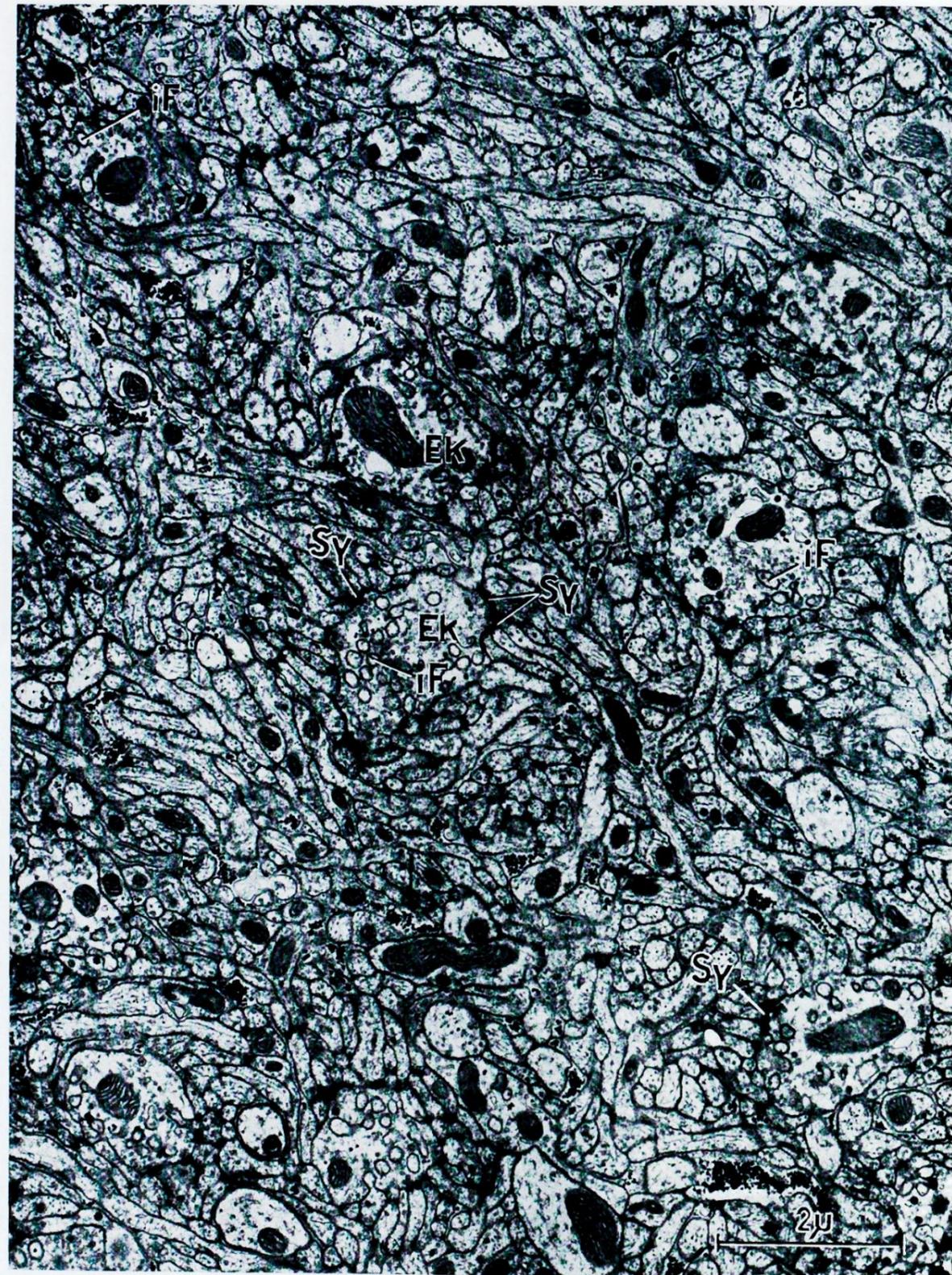


Abb. 10. Kelchneuropil von *Camponotus ligniperdus*. Aufbau analog zu *Formica rufa* (vgl. Abb. 5). In den Endkolben (*Ek*) sind zahlreiche intrinsische Fasern (*iF*) zu sehen, aber die dunkeln aktiven Stellen (*Sy*) sind auch hier an der Oberfläche der Endkolben lokalisiert. Vergr. ca. 12000 \times

3. Gliazellen im Neuropil der Kelche

Gliaperikaryen finden sich ausschließlich am Rande der Neuropilkelche (s. Abb. 4). Die Fortsätze der Gliazellen dringen ins Innere des Neuropils, wo sie

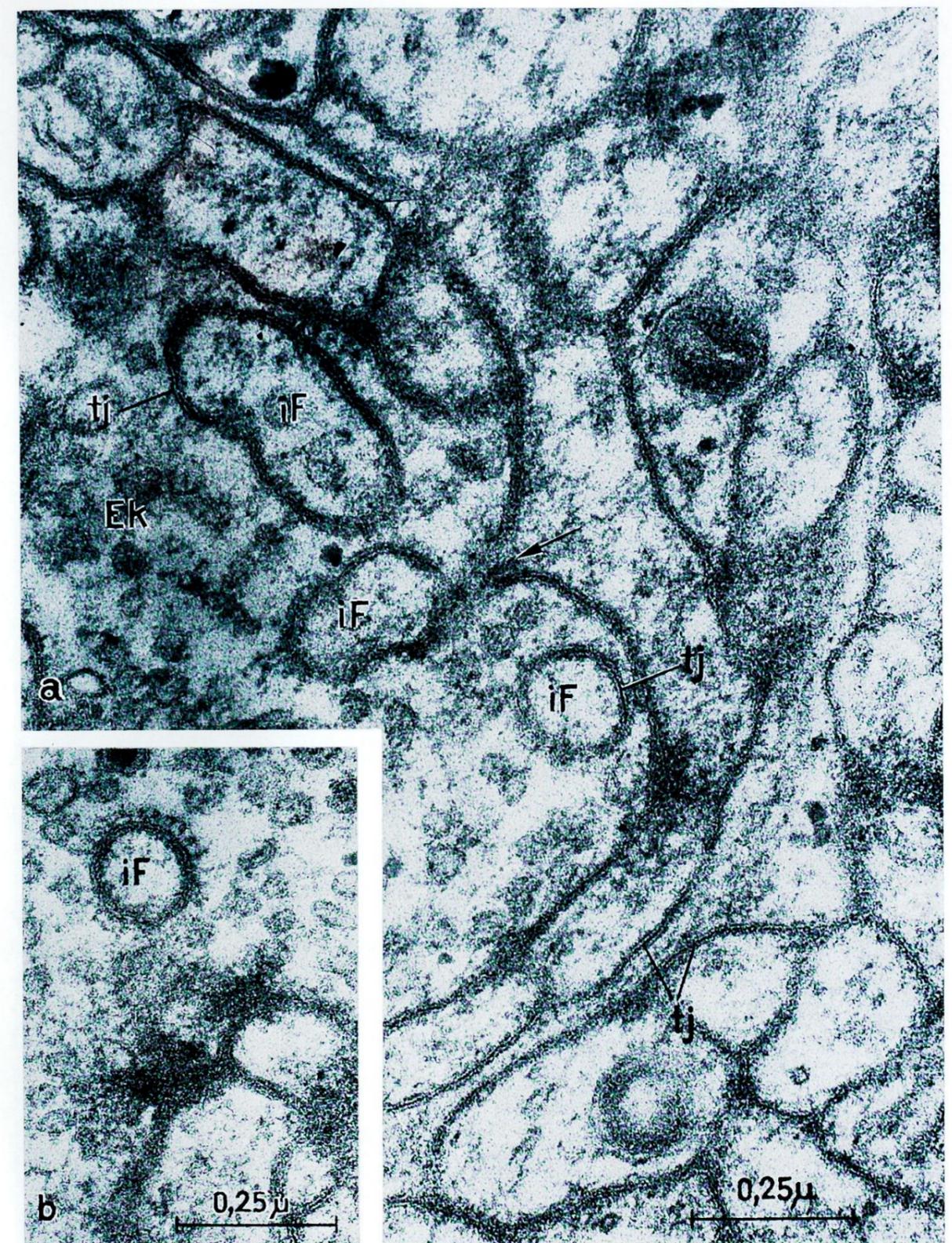


Abb. 11 a. Stärkere Vergrößerung eines Teils eines präsynaptischen Endkolbens bei *Camponotus ligniperdus* (*Ek*) mit intrinsischen Faserquerschnitten (*iF*), wobei die Membranen des prä- und postsynaptischen Anteils fast ausnahmslos durch „external compound membranes“ (*tj*) miteinander verschmolzen sind. Man beachte das häufige Vorkommen dieser Art von Membranverschmelzung auch außerhalb des Endkolbens. Beim Pfeil ist die Eintrittsstelle einer invaginierenden Faser angedeutet. Vergr. ca. 90000 \times . b Intrinsic Faserquerschnitt (*iF*) in einem Endkolben, der zeigt, daß dieselben gelegentlich von regelmäßig radiär angeordneten fibrillären Strukturen umgeben sind. Vergr. ca. 90000 \times . (*Camponotus ligniperdus*)

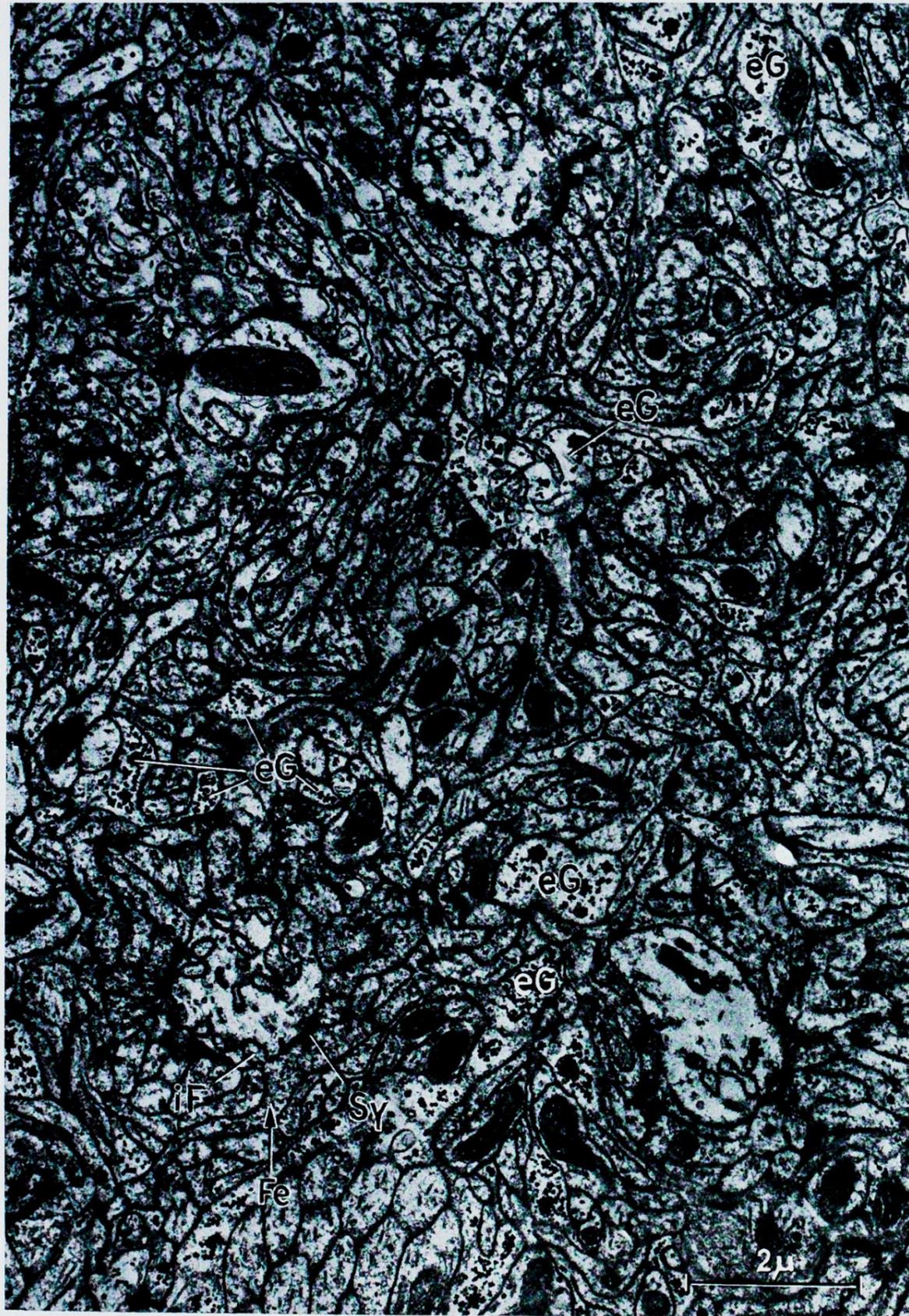


Abb. 12. Neuropil von *Camponotus ligniperdus*. Hervorzuheben ist die deutliche Markierung der Gliafortsätze durch Glykogengranula (*eG*). Die Glia umgibt die Glomeruli, ohne je zum Endkolben vorzudringen. Beim Pfeil ist eine postsynaptische Faserendigung (*Fe*) zu erkennen, die an der Oberfläche eines Endkolbens offensichtlich eine synaptische Kontaktstelle (*Sy*) macht und im weiteren Verlaufe in denselben eindringt unter Bildung einer intrinsischen Faser (*iF*). Vergr. ca. 12000 \times

sich ständig verzweigen und sich zusehends verjüngen. Die feineren Gliafortsätze sind oft auch rundlich oder oval im Querschnitt und weisen ein ähnliches Kaliber wie die Nervenfasern auf. Obschon das gliöse Zytoplasma meist weniger elektrodicht ist als das der Nervenfasern, ist es oft schwierig die beiden Kategorien von Fortsätzen auseinanderzuhalten (Abb. 5). Am leichtesten fällt die Differenzierung dort, wo die Gliafortsätze stark mit Glykogenkörnern angefüllt sind (Abb. 10 u. 12). Anhand solcher Bilder stellt man fest, daß das Innere der Glomeruli in der Regel von Gliafortsätzen frei ist. Offensichtlich bilden die an den Rändern der Neuropilkelche gelegenen Gliazellperikaryen ein Fortsatzsystem, das im Inneren des Neuropils die Glomeruli relativ weitmaschig umgibt, ohne ins Innere derselben einzudringen.

Diskussion

1. Das Neuropil als Synapsenschicht

Im Zentralnervensystem der Insekten ist die klare Zweiteilung in Zellkörperschicht und Faserfilz (Neuropil) bemerkenswert. Diese entspricht nicht etwa der Unterscheidung zwischen grauer und weißer Substanz des Wirbeltiergehirns; sie betrifft vielmehr zwei Bauelemente, die beim letzteren zusammen das sog. Griseum bilden. Diese merkwürdige Tatsache wurde erstmals von LEYDIG (1864) erkannt. Bereits 1855 beschrieb er das vom Zellager getrennte Neuropil im Protocerebrum von Spinnen und bezeichnete das letztere als eine feine Punktmasse (später als Leydigsche „Punktsubstanz“ bezeichnet), womit er die punktförmige Agglomeration feinsten Nervenfasereendigungen besonders hervorheben wollte. In unserem Laboratorium erbrachte LANDOLT (1965) bei Ameisen den elektronenmikroskopischen Nachweis, daß das Zellager der *Corpora pedunculata* aus einem kompakten Mosaik von unipolaren Ganglienzellen besteht (Perikaryenschicht), welche durch ein feinstes Gliafachwerk voneinander abgegrenzt werden und *keinerlei Synapsen* mit afferenten Fasern aufweisen. Auch Dendriten fehlen in dieser Schicht vollkommen. In der vorliegenden Arbeit stellt sich nun heraus, daß sämtliche Schaltelemente, die im Vertebratenhirn zum integrierenden Bestandteil der grauen Substanz gehören, im Kelchneuropil zu finden sind. Wenn man also die *Corpora pedunculata* als rindenähnliche Grisea auffassen möchte, wie das vielfach frühere Autoren getan haben, so müßte man sich klar sein, daß dieses aus zwei Schichten besteht, welche zusammen eine morphologische Einheit bilden: Im oberflächlichen Pilzhut sitzen die Perikaryen und darunter im Kelchneuropil — fein säuberlich getrennt — das Dendritensystem mit den Schaltstellen. Die letztere Schicht stellt demnach das receptive Feld für afferente Beziehungen der ersten Schicht dar.

Ein der weißen Substanz der Wirbeltiere entsprechendes Faserwerk tritt in den *Corpora pedunculata* der Insekten nirgends stark in Erscheinung. Es lassen sich nur kleinere umschriebene Bereiche in den Kelchen feststellen, die von massiven Faserbündeln besetzt sind. Darüber geben die Arbeiten von WIGGELSWORTH (1959) und VOWLES (1955) Aufschluß.

2. Die Glomeruli

Als erstes fällt die Einheitlichkeit der glomerulären Bauweise der Schaltstellen im Kelchneuropil auf; dazu kommt als zweite Tatsache ihre Ausschließ-

lichkeit. In anderen Regionen des Zentralnervensystems der Ameise treten Glomeruli ebenfalls auf (LAMPARTER, persönliche Mitteilung), aber häufig gemischt mit anderen Bautypen. Glomeruli entstehen durch Gruppierung multipler Endfüße um eine einzelne Faserendigung. Sie sind nichts anderes als die feinen Punkte, die LEYDIG in der Mitte des vorigen Jahrhunderts zur Prägung des Begriffes der „Punktsubstanz“ veranlaßten.

TRUJILLO-CENOS und MELAMED (1964), welche als Erste den Glomerulus im Kelchneuropil von Insekten (darunter eine Myrmex-Art) elektronenmikroskopisch untersucht und beschrieben haben, mußten die Frage nach der Polarität der

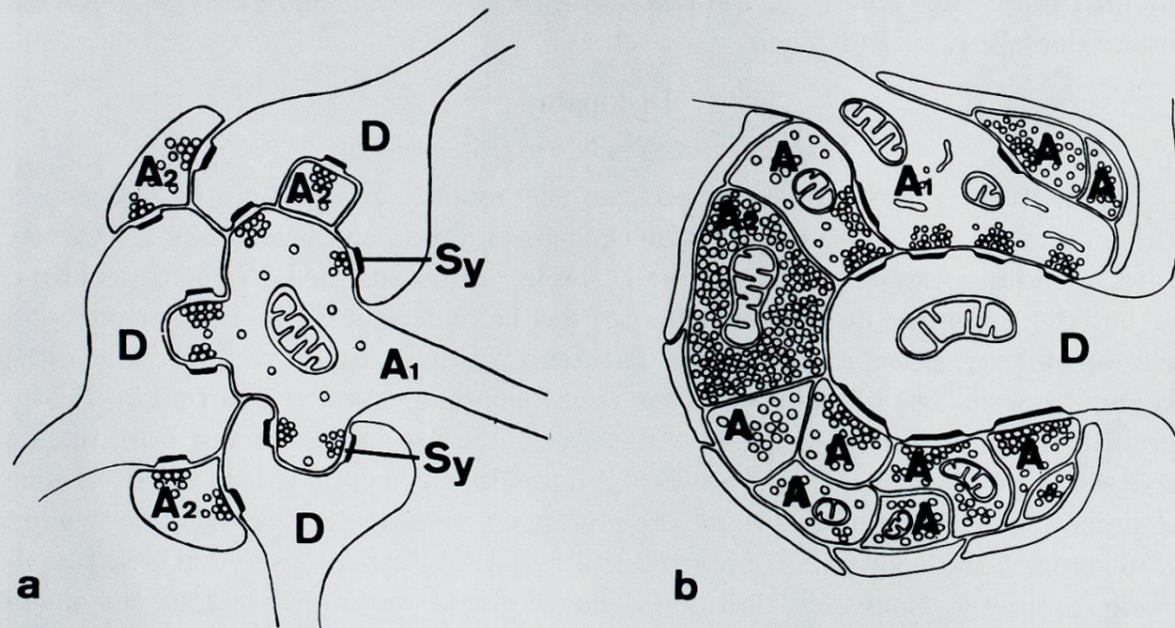


Abb. 13a u. b. Schematische Darstellung von Glomeruli im Zentralnervensystem von Vertebraten. a Divergenzschialtung im Glomerulus in der Granulärschicht der Kleinhirnrinde (nach SZENTAGOTHAI, 1962). A₁ präsynaptische Moosfaserendigung, A₂ präsynaptische Axonendigungen von Golgizellen, D postsynaptische Dendriten von Körnerzellen, Sy Synapsen (aktive Stellen). b Konvergenzschialtung im Glomerulus des Pulvinar (nach MAJOROSSY, RETHELYI und SZENTAGOTHAI, 1964/65). A, A₁ und A₂ bläschenhaltige Axonendigungen verschiedener Herkunft, D zentraler postsynaptischer Dendrit einer Nervenzelle des Pulvinar

Schialtung offen lassen, da die synaptischen Spezialstrukturen nicht deutlich genug erkennbar waren. Die vorliegenden Resultate bringen hier die gewünschte Aufklärung. Der mit Bläschen und Mitochondrien gefüllte Endkolben in der Mitte des Glomerulus ist eindeutig als präsynaptisches Element indentifiziert. Gestützt auf die experimentellen Ergebnisse von VOWLES (1955) darf man diese axonalen Endigungen bestimmten afferenten Projektionen sensorischer Hirnzentren zuschreiben. Die den präsynaptischen Endkolben umgebenden Endfüße weisen die für postsynaptische Membranen charakteristischen elektronendichten Anlagerungen (GRAY, 1959) auf und stellen, wie gesagt, die Dendriten der Globulizellen dar. Leider ist nicht bekannt, ob die postsynaptischen Elemente innerhalb eines einzigen Glomerulus ihre Information entsprechend ihrer Zugehörigkeit einer oder mehreren Nervenzellen der Perikaryenschicht zufließen lassen.

Glomeruli kommen auch in verschiedenen Hirnregionen bei Vertebraten vor, und somit drängt sich ein Vergleich mit den Glomeruli im Kelchneuropil der Ameise auf (Abb. 13 u. 14). Am eindeutigsten sind die bisherigen Befunde im

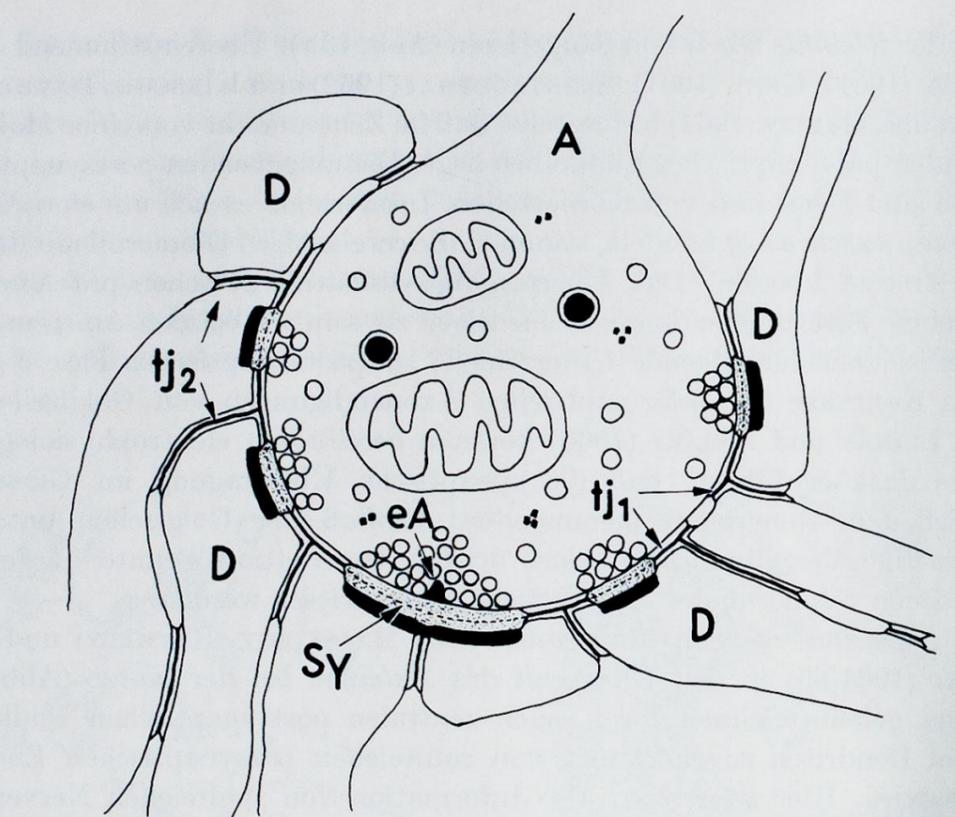
Bereiche der Kleinhirnrinde von Säugetieren (Abb. 13a). Übereinstimmend wurde von PALAY (1961), GRAY (1961), SZENTAGOTHAI (1962) und KIRSCHKE, DAVID, WINKELMANN und MARKX (1964) festgestellt, daß im Zentrum ein von einer Moosfaser stammender präsynaptischer Endkolben liegt. Die umgebenden postsynaptischen Elemente sind Dendriten von Körnerzellen. Insofern als es sich um eine *divergierende Synapsenschaltung* handelt, stimmen die cerebellären Glomeruli mit denjenigen der Ameise überein. Das Übertragungsverhältnis zwischen prä- und postsynaptischen Fasern scheint etwas niedriger zu sein als bei den Ameisen. Noch wichtiger ist aber der folgende Unterschied: Die postsynaptischen Fasern weisen ihrerseits Kontakte mit präsynaptischen Axonendigungen von Golgizellen auf. ECCLES, LLINAS und SASAKI (1966) konnten bereits den elektrophysiologischen Nachweis darüber führen, daß die synaptische Übertragung im Glomerulus tatsächlich dem steuernden (hemmenden) Einfluß der Golgizellen unterliegt. Eine derartige Verzahnung mit einer dritten Innervation konnte in den hier beschriebenen Glomeruli der Ameise nicht nachgewiesen werden.

Eine gegensätzliche Schaltung entdeckten MAJOROSSY, RETHELYI und SZENTAGOTHAI (1964/65) in den Glomeruli des Pulvinar bei der Katze (Abb. 13b). Diese sind gekennzeichnet durch einen zentralen postsynaptischen Endkolben, der einem Dendriten zugehört und von zahlreichen präsynaptischen Endfüßen umgeben wird. Hier *konvergiert* also Information von zahlreichen Nervenzellen auf einen einzelnen Empfänger. Diese Anordnung steht bisher einzig da und existiert jedenfalls im Corpus pedunculatum der Ameise nicht.

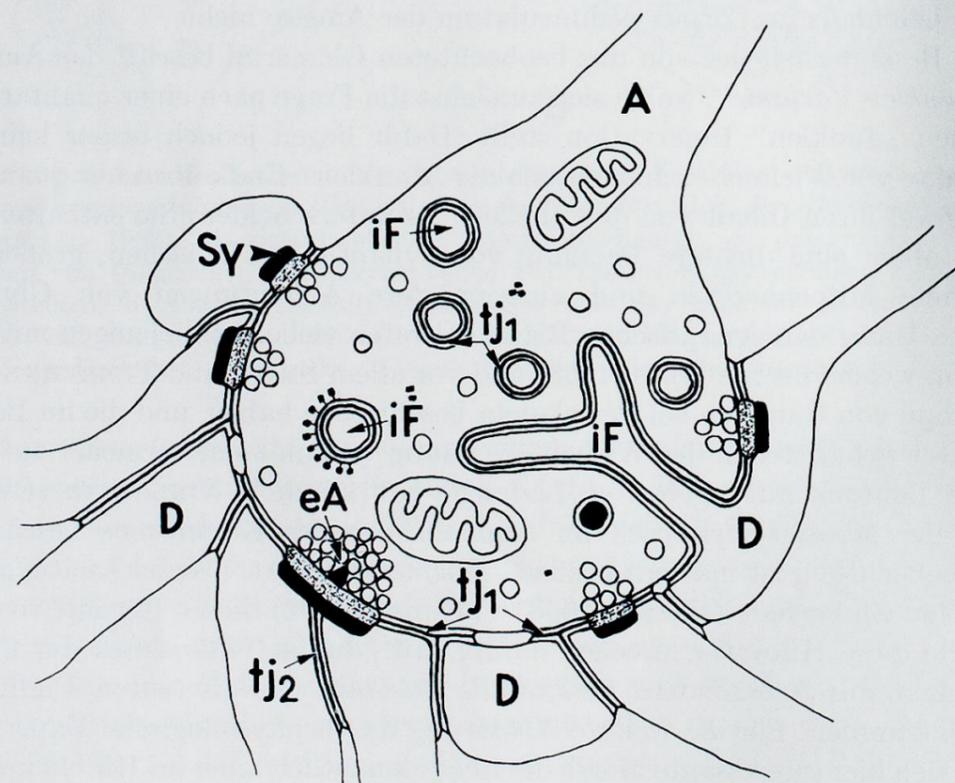
Eine Besonderheit der von uns beobachteten Glomeruli betrifft das Auftreten einer „dunklen Variante“, wobei sich zunächst die Frage nach einer qualitativ verschiedenen „dunklen“ Innervation stellt. Dafür liegen jedoch bisher keine Anhaltspunkte vor. Vielmehr scheinen sich die „dunklen“ Endkolben nur quantitativ in bezug auf ihren Inhalt von den „hellen“ zu unterscheiden. Sie enthalten nämlich vor allem eine dichtere Packung von synaptischen Bläschen, größere und zahlreichere Mitochondrien und ausgeprägtere Anhäufungen von Glykogenkörnern. Unter den synaptischen Bläschen treten vielleicht diejenigen mit dunklem Kern, welche bereits HESS (1958) und vor allem SMITH und TREHERNE (1963) im Neuropil von Ganglien bei Periplaneta beschrieben haben, und die im Bereiche vegetativer Schaltstellen der Wirbeltiere häufig vorkommen, vermehrt auf. Ganz ähnliche Boutons mit „geballter Ladung“ hat kürzlich NIKLOWITZ (1966) im Bereich der Moosfasersynapsen im Ammonshorn des Kaninchens beschrieben. Diese Beobachtung ist insofern besonders bemerkenswert, als gleichzeitig auf den vermehrten Zinkgehalt (MASKE, 1955; v. EULER, 1962) dieser Gegend verwiesen wird. Alle diese Hinweise sprechen dafür, daß „dunkle“ Glomeruli der Corpora pedunculata durch besondere *funktionelle Zustände* der afferenten Endigungen zustande kommen. Für die weitere Abklärung durch physiologische Experimente ergeben sich hier interessante Möglichkeiten, namentlich auch im Hinblick darauf, daß die „dunklen“ Glomeruli im lateralen Kelchgebiet anscheinend stärker vertreten sind als im medialen.

3. Die interneuronalen Membrankontakte

Hier sind zwei besondere Formen zu unterscheiden: a) die „aktiven“ Stellen (d.h. die Synapsen im engeren Sinne und b) die „tight junctions“.



a



b

Abb. 14a u. b. Schematische Darstellung der Glomerulusformen im Kelchneuropil zweier Ameisenspezies. a *Formica rufa*. b *Camponotus ligniperdus*. A präsynaptische Axonendigung, D postsynaptische Faserendigungen, eA elektronendichte Anlagerung, iF intrinsische Fasern, Sy Synapsen (aktive Stellen), tj₁ axodendritische „tight junctions“, tj₂ dendrodendritische „tight junctions“. Beide Glomeruli weisen Divergenzschaltung auf. Bei *Camponotus* sind die „intrinsischen“ Faserkontakte besonders auffallend

a) *Chemische Synapsen*. Der Feinbau der *aktiven* Stellen in den Glomeruli der Ameisen läßt die Schlußfolgerung zu, daß es sich um sog. *chemische* Kontakte handelt, wie sie durch DE ROBERTIS und BENNETT (1955) im Nervensystem des Regenwurms erstmals beschrieben und seither auch im Bereich der Vertebraten bestens bekannt geworden sind. In Abb. 14a u. b sind diese Kontakte schematisch dargestellt. Der Bläschengehalt der präsynaptischen Boutons wurde schon durch TRUJILLO-CENOZ und MELAMED (1962) überzeugend dokumentiert. Seither haben die Untersuchungen von SMITH und TREHERNE (1965) sowie von LANDOLT und SANDRI (1966) den elektronenmikroskopischen Nachweis des Cholinesterasegehaltes der synaptischen Region erbracht und es liegt deshalb nahe, daß zum mindesten die hellen Bläschen von 300–600 Å Durchmesser, entsprechend der heute allgemein akzeptierten Konvention, dem cholinergischen Übertragungssystem zuzurechnen sind².

Anders verhält es sich mit den granulierten Bläschen von 1000–1500 Å Durchmesser. Ihre chemische Natur ist noch nicht abgeklärt. Doch ist erwähnenswert, daß FRONTALI und NORBERG (1966) mit der Fluoreszenzmethode den histochemischen Nachweis von Katecholaminen im Neuropil der sog. beta-lobes (Periplaneta), welche ebenfalls zu den Corpora pedunculata gehören (s. Abb. 1), geleistet haben.

Zu den präsynaptischen Differenzierungen gehören auch die feinkörnigen fokalen Anlagerungen an die cytoplasmatische Grenzschicht der präsynaptischen Zellmembran. Solche Bildungen hat vor allem TAXI (1965) bei sympathischen Ganglien von Amphibien beschrieben. Im Glomerulus der Ameise liegen diese präsynaptischen „Plomben“ gegenüber von Doppel-Synapsen (Abb. 14a und b), d.h. dort, wo zwei postsynaptische Endfüße haften.

Der synaptische Spalt der Glomeruli fällt durch zwei Besonderheiten auf: Erstens beträgt er nur 150–100 Å und erscheint deshalb etwas eng und zweitens enthält er eine elektronendichte, fein granuliert Masse. Es bleibt abzuklären, inwieweit diese beiden Eigenschaften für die Glomeruli wirklich charakteristisch und nicht bloß fixationsbedingt sind.

b) „*Tight junctions*“. Im Bereich der Membrankontakte von Glomeruli begegnet man sehr häufig einem zweiten Phänomen: Es handelt sich um die Bildung von sog. „external compound membranes“ (ROBERTSON, 1960). Diese von GRAY (1961) als „closed contacts“ und von FARQUHAR und PALADE (1963) auch als „tight junctions“ bezeichneten Stellen bilden sich besonders häufig zwischen den benachbarten Endfüßen von postsynaptischen Dendritenendigungen im zentralen Bereich des Glomerulus (Abb. 14a und b). Es sind also dendro-dendritische Kontakte, die durch die Verschmelzung der anliegenden Membranen zustande kommen. Offenbar werden solche Bildungen noch dadurch begünstigt, daß in diesem Bereich keine trennenden Gliaelemente vorzuliegen scheinen. Diese Armut an Gliaelementen im Glomerulus wurde übrigens bereits von TRUJILLO-CENOZ und MELAMED (1962) hervorgehoben und kann von uns bestätigt werden. Was nun die „tight junctions“ betrifft, so muß festgestellt werden, daß sie auch zwischen prä- und postsynaptischen Fasern vorkommen. Solche axo-dendritischen Kontakte

² Unser Mitarbeiter F. A. STEINER (pers. Mitteilung) hat beobachtet, daß die lokale Applikation von Acetylcholin in kleinsten Mengen (mittels Mikroelektrophorese) die Nervenzellen der Corpora pedunculata von Ameisen zur Entladung bringt.

(Abb. 14a und b) beobachtet man einerseits an der äußeren Oberfläche der Endkolben, andererseits fallen sie bei näherer Betrachtung, besonders bei *Camponotus ligniperdus*, auch im Inneren derselben auf. Diese sog. „intrinsischen“ Kontakte kommen dadurch zustande, daß feinste Dendriten ins Innere des Endkolbens eindringen und sich verzweigen, wobei es *durchwegs* zu einer innigen Verschmelzung der prä- und postsynaptischen Membran³ kommt. Eine ähnliche Situation liegt bei den im Inneren von Moosfaserendigungen vorkommenden Kontakten mit Dendriten von Pyramidenzellen des Hippocampus beim Kaninchen (HAMLYN, 1962) vor, die durch mehrfache Aufzweigung eines dendritischen Fortsatzes („spine“) bedingt sind. Während aber hier multiple „aktive Stellen“ mit allen Merkmalen chemischer Synapsen auftreten, fehlen solche Differenzierungen im Bereich der intrinsischen „tight junctions“ des Ameisenglomerulus vollständig. Als einziges Merkmal verdient das gelegentliche Auftreten von fibrillären Strukturen, die an die postsynaptische³ Membran angelagert sind, erwähnt zu werden.

Die interessante Frage nach der funktionellen Bedeutung der „tight junctions“ ist vorläufig nicht zu beantworten. Natürlich denkt man zunächst an die Möglichkeit einer elektrischen Übertragung im Sinne von FURSHPAN (1964). Eine solche Interpretation gaben kürzlich LANDOLT und RIS (1966) den zwischen Perikaryen der Corpora pedunculata vorhandenen Haftstellen auf Grund der Übereinstimmung mit den Befunden von ROBERTSON (1961) und anderen an elektrophysiologisch identifizierten elektrischen Synapsen. Bei den vorliegenden Stellen ist die Annäherung der Membranen besonders innig⁴. Trotzdem wird man auch noch andere Interpretationsmöglichkeiten im Auge behalten. PALAY (1964) hat im cerebellären Glomerulus auf desmosomenähnliche Plaques aufmerksam gemacht, die sowohl Dendriten miteinander als auch mit dem axonalen Endkolben verbinden; auch in unmittelbarer Umgebung der oben erwähnten „spine“-Synapsen im Hippocampus (HAMLYN, 1962) treten sie auf. Diese Gebilde sind den als „maculae adhaerentes“ zwischen Epithelzellen vorkommenden Bildungen durchaus vergleichbar. Die im Ameisenglomerulus vorliegenden „tight junctions“ unterscheiden sich von ihnen vor allem dadurch, daß der Spaltraum nicht nur nicht erweitert, sondern aufgehoben ist, und daß keine symmetrischen cytoplasmatischen Anlagerungen im Bereiche der gegenüberliegenden Membranen vorliegen.

Literatur

- Viele Hinweise auf die einschlägige Literatur wurden mit Hilfe des vorzüglichen Werkes von BULLOCK und HORRIDGE, das nachfolgend zitiert wird, gefunden.
- ALTEN, H. v.: Zur Phylogenie des Hymenopterehirns. *Z. Naturwiss. (Jena)* **46**, 511—590 (1910).
- BRUN, R.: Vergleichende Untersuchungen über Insektengehirne mit besonderer Berücksichtigung der pilzhutförmigen Körper. *Schweiz. Arch. Neurol. Psychiat.* **13**, 144—172 (1923).
- BULLOCK, T. H., and G. A. HORRIDGE: Structure and function in the nervous system of invertebrates, vol. I and II, p. 1719. San Francisco and London: W. H. Freeman 1965.
- CAJAL, S. R., u. D. SANCHEZ: Contribución al conocimiento de los centros nerviosos de los insectos. *Trab. Lab. Invest. biol. Univ. Madrid* **13**, 1—164 (1915).

³ Im Hinblick auf das Fehlen jeglicher morphologischen Anzeichen synaptischer Aktivität, sollten eigentlich die Bezeichnungen „prä- und postsynaptisch“ fallen gelassen werden; sie werden hier nur angewendet, weil sie die beteiligten Elemente sinngemäß, d.h. im Sinne der im Glomerulus eindeutig feststellbaren Polarität der Elemente, kennzeichnen.

⁴ Nach ROBERTSON (1964) kann die Verschmelzung zweier anliegender Membranen im hypertonischen Milieu erfolgen.

- DE ROBERTIS, E. D. P.: Submicroscopic organization of some synaptic regions. *Acta neurol. lat.-amer.* **1**, 3—15 (1955).
- Submicroscopic morphology of the synapse. *Int. Rev. Cytol.* **8**, 61—96 (1959).
- , and H. S. BENNETT: Some features of the submicroscopic morphology of synapses in frog and earthworm. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 47—58 (1955).
- DUJARDIN, F.: Mémoires sur le système nerveux des insectes. *Ann. sci. nat. (Zool.)* **14**, 195—205 (1850).
- ECCLES, J. C., R. LLINAS, and K. SASAKI: The mossy fibre-granule cell relay of the cerebellum and its inhibiting control by Golgi cells. *Exp. Brain Res.* **1**, 82—101 (1966).
- EULER, C. v.: On the significance of the high zinc content in the hippocampal formation. *Coll. internat. Centre Nat. Rech. Sci. No. 107: Physiologie de l'hippocampe, Montpellier* **24**.—26. 8. 1961, p. 135—145. Paris: Centre Nat. Rech. Sci. 1962.
- FARQUHAR, M. G., and G. E. PALADE: Functional complexes in various epithelia. *J. Cell Biol.* **17**, 375—412 (1963).
- FLOEGEL, J. H. L.: Über den einheitlichen Bau des Gehirns in den verschiedenen Insecten-Ordnungen. *Z. wiss. Zool.* **30**, Suppl., 556—592 (1878).
- FOREL, A.: Die psychischen Fähigkeiten der Ameisen und einiger anderer Insekten. *Vortr. V. Internat. Zool. Kongr. Berlin, 1901. 4. Aufl., S. 57.* München: E. Reinhardt 1907.
- FRONTALI, N., and K. A. NORBERG: Catecholamine containing neurons in the cockroach brain. *Acta physiol. scand.* **66**, 243—244 (1966).
- FURSHPAN, E. J.: "Electrical transmission" at an excitatory synapse in a vertebrate brain. *Science* **144**, 878—880 (1964).
- GRAY, E. G.: Axo-somatic and axo-dendritic synapses of the cerebral cortex: An electron microscope study. *J. Anat. (Lond.)* **93**, 420—433 (1959).
- The granule cells, mossy synapses and Purkinje spine synapses of the cerebellum: light and electron microscope observations. *J. Anat. (Lond.)* **95**, 345—356 (1961).
- HAMLYN, H.: The fine structure of the mossy fiber endings in the hippocampus of the rabbit. *J. Anat. (Lond.)* **96**, 112—120 (1962).
- HANSTROEM, B.: Untersuchungen über die relative Größe der Gehirnzentren verschiedener Arthropoden unter Berücksichtigung der Lebensweise. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **7**, 135—190 (1926).
- HESS, A.: The fine structure of nerve cells and fibers, neuroglia and sheaths of the ganglion chain of the cockroach (*Periplaneta americana*). *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 731—742 (1958).
- HOLMGREN, N.: Zur vergleichenden Anatomie des Gehirns von Polychaeten, Onychophoren, Xiphosuren, Arachniden, Crustaceen, Myriapoden und Insekten. *Vorstudien zu einer Phylogenie der Arthropoden. Kungl. Svenska Vetensk. Akad. Handl.* **56**, 1—303 (1916).
- JAWLOWSKI, H.: Beitrag zur Kenntnis des Baues der Corpora pedunculata einiger Hymenopteren. *Folia morph. (Warszawa)* **5**, 137—150 (1934/35).
- Structure of corpora pedunculata in *Aculeata* (Hymenoptera). *Folia biol. (Kraków)* **7**, 61—70 (1959).
- KARNOVSKY, M. J.: Simple methods for "staining" with lead at high pH in electron microscopy. *J. biophys. biochem. Cytol.* **11**, 729—732 (1961).
- KENYON, F. C.: The brain of the bee. A preliminary contribution to the morphology of the nervous system of the Arthropoda. *J. comp. Neurol.* **6**, 133—210 (1896).
- KIRSCH, W., H. DAVID, E. WINKELMANN u. I. MARX: Elektronenoptische Untersuchungen an synaptischen Formationen im Cortex cerebelli von *Tattus norvegicus*, BERKENHOOT. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **72**, 49—80 (1964).
- LANDOLT, A. M.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Perikaryenschicht der Corpora pedunculata der Waldameise (*Formica lugubris* ZETT.) mit besonderer Berücksichtigung der Neuron-Glia-Beziehung. *Z. Zellforsch.* **66**, 701—736 (1965).
- , and H. RIS: Electron microscopic studies on soma-somatic interneuronal junctions in the Corpus pedunculatum of the wood ant. (*Formica lugubris* ZETT.). *J. Cell Biol.* **28**, 391—403 (1966).
- , u. C. SANDRI: Cholinergische Synapsen im Oberschlundganglion der Waldameise (*Formica lugubris* ZETT.). *Z. Zellforsch.* **69**, 246—259 (1966).

- LEYDIG, F.: Zum feineren Bau der Arthropoden. Arch. Anat. Physiol. wiss. Med. **1855**, 376—480.
- Vom Bau des thierischen Körpers. In: Handbuch vergleichende Anatomie, Bd. I. Tübingen: 1864.
- LUFT, J. H.: Improvements in epoxy resin embedding methods. J. biophys. biochem. Cytol. **9**, 409—414 (1961).
- MAJOROSSY, K., M. RETHELYI, and J. SZENTAGOTHAI: The large glomerular synapse of the pulvinar. J. Hirnforsch. **7**, 415—432 (1964/65).
- MASKE, H.: Über den topographischen Nachweis von Zink im Ammonshorn verschiedener Säugetiere. Naturwissenschaften **32**, 424 (1955).
- NIKLOWITZ, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Ammonshorn. III. Mitt. Vergleichende Phasenkontrast- und elektronenmikroskopische Darstellung der Moosfaserschicht. Z. Zellforsch. **75**, 485—500 (1966).
- PALAY, S. L.: The electron microscopy of the glomeruli cerebellosi. In: Cytology of nervous tissue. Proc. Anat. Soc. Great Britain and Ireland, p. 82—84. London: Taylor & Francis 1961.
- The structural basis for neuronal action. In: Brain function, vol. II, p. 69—108. Berkeley and Los Angeles: Univ. California Press 1964.
- PANDAZIS, G.: Über die relative Ausbildung der Gehirnzentren bei biologisch verschiedenen Ameisenarten. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **18**, 114—169 (1930).
- PIETSCHKER, H.: Das Gehirn der Ameise. Z. Naturwiss. (Jena) **47**, 43—114 (1911).
- ROBERTSON, J. D.: The molecular structure and contact relationships of cell membranes. Progr. Biophys. **10**, 343—418 (1960).
- Ultrastructure of excitable membranes and the crayfish median-giant synapse. Ann. N.Y. Acad. Sci. **94**, 339—389 (1961).
- SABATINI, D. D., K. BENSCH, and R. J. BARNETT: The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. J. Cell. Biol. **17**, 19—58 (1963).
- SANCHEZ y SANCHEZ, D.: Contribution à la connaissance des centres nerveux des insectes. Nouveaux apports sur la structure du cerveau des abeilles (*Apis mellifica*). Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid **32**, 123—210 (1940).
- SMITH, D. S., and J. E. TREHERNE: Functional aspects of the organization of the insect nervous system. In: Advances in insect physiology (J. W. L. BEAMENT, J. E. TREHERNE and V. B. WIGGLESWORTH eds.) vol. I, p. 401—484. London and New York: Academic Press 1963.
- — The electron microscopic localization of cholinesterase activity in the central nervous system of an insect, *Periplaneta americana* L. J. Cell Biol. **26**, 445—465 (1965).
- SZENTAGOTHAI, J.: Anatomical aspects of junctional transformation. In: Information processing in the nervous system. Proc. 22. Int. Physiol. Congr. Leiden, 1962 (R. W. GERARD and J. W. DUYFF, eds.), p. 119—136. Int. Congr. Series No. 49. Amsterdam: Excerpta Medica Foundation 1962.
- TAXI, J.: Contribution à l'étude des connexions des neurones moteurs du système nerveux autonome. Ann. Sci. nat. Zool. (Paris) **7**, 413—674 (1965).
- THOMPSON, C. B.: A comparative study of the brains of three genera of ants with special reference to the mushroom bodies. J. comp. Neurol. **23**, 515—574 (1913).
- TRUJILLO-CENOZ, O., and J. MELAMED: Electron microscope observations on the calyces of the insect brain. J. Ultrastruct. Res. **7**, 389—398 (1962).
- VOWLES, D. M.: The structure and connexions of the corpora pedunculata in bees and ants. Quart. J. micr. Sci. **96**, 239—255 (1955).
- WATSON, M. L.: Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 475—478 (1958).
- WIGGLESWORTH, V. B.: The histology of the nervous system of an insect, *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). II. The central ganglia. Quart. J. micr. Sci. **100**, 299—313 (1959).
- ZIEGLER, H. E.: Die Gehirne der Insekten. Naturwiss. Wschr. **27**, 433—442 (1912).