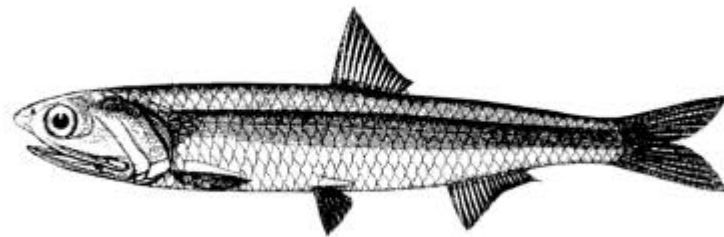


**Vergleichend feinstrukturelle Untersuchungen  
an der Netzhaut der Europäischen Sardelle  
*Engraulis encrasicolus* L. (Engraulididae)  
und den Retinae anderer Clupeiformes**



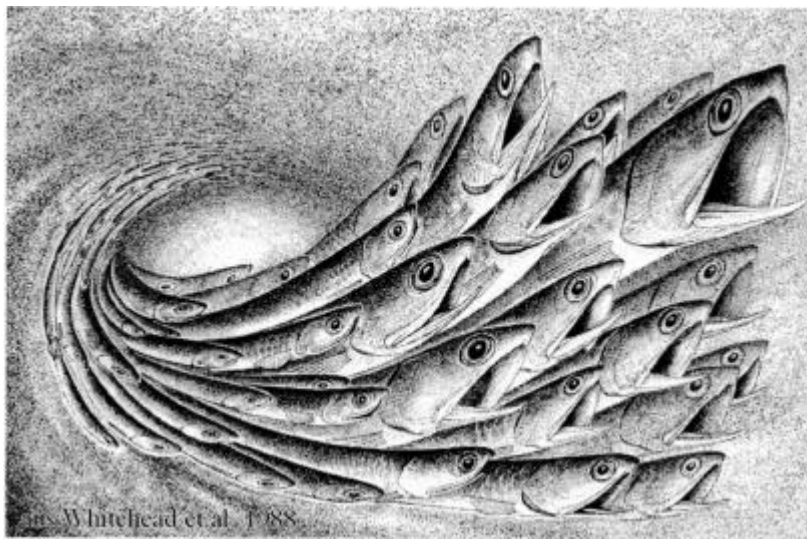
Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
eines Doktors der Naturwissenschaften  
(Dr. rer. nat.)

der Fakultät für Biologie der  
Ludwig-Maximilians-Universität  
München

vorgelegt von  
**Martin Heß**

München, 2000

**Vergleichend feinstrukturelle Untersuchungen  
an der Netzhaut der Europäischen Sardelle  
*Engraulis encrasicolus* L. (Engraulididae)  
und den Retinae anderer Clupeiformes**



DISSERTATION  
vorgelegt von  
**Martin Heß**

München, 2000

## **ehrenwörtliche Versicherung**

Die vorliegende Arbeit wurde selbständig  
und ohne unerlaubte Hilfsmittel angefertigt.

München, im Februar 2000

Martin Heß

1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Ulrich Smola
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Gerhard Haszprunar
eingereicht am:	23. März 2000
mündliche Prüfung:	26. Juli 2000
Note schriftlich:	sehr gut (0.61)
Note mündlich:	sehr gut (1.0)
Gesamtbewertung:	magna cum laude

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen .....	7
Zusammenfassung .....	8

## 1. Einleitung

1.1 Licht als Informationsträger und die Evolution von Lichtsinnesorganen .....	10
1.2 Die Netzhaut der Knochenfische	
1.2.1 Der Grundplan der Wirbeltierretina .....	12
1.2.2 Variationen bei den Teleostei .....	23
1.3 Bisherige Untersuchungen zur Netzhaut der Clupeiformes	
1.3.1 Clupeiformes ohne Engraulididae .....	28
1.3.2 Engraulididae .....	33
1.4 Möglichkeiten der Retinastrukturforschung .....	42
1.5 Fragestellung und Zielsetzungen dieser Arbeit .....	44

## 2. Material und Methoden

2.1 Tiere und Bezugsquellen	
2.1.1 Herkunft der untersuchten Fischaugen .....	46
2.1.2 Fangmethoden für <i>Engraulis encrasicolus</i> .....	50
2.2 Mikroskopische Verfahren	
2.2.1 Präparation, Fixierung und Einbettung der Fischaugen .....	54
2.2.2 Licht- und Lasermikroskopie .....	57
2.2.3 Transmissions-Elektronenmikroskopie .....	59
2.2.4 Raster-Elektronenmikroskopie .....	60
2.3 Neuroanatomische Verfahren	
2.3.1 Silberchromat-Imprägnierung .....	62
2.3.2 DiI-Diffusion .....	64
2.3.3 Intrazelluläre Mikroinjektion mit Lucifer Yellow .....	65
2.4 Bilderverarbeitung und graphische Darstellung	
2.4.1 Phototafeln .....	68
2.4.2 Computergraphiken .....	69
2.4.3 Flußdiagramm zum Methodenteil .....	74

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Die Photorezeptoren und das Pigmentepithel von *Engraulis encrasicolus*

3.1.1	Die Eidonomie der Sardellenaugen	77
3.1.2	Der innere Aufbau des Organs	77
3.1.3	Die Schichtung der Retina	78
3.1.4	Das vorherrschende Muster der Photorezeptoren	84
3.1.5	Die Dichteverteilung der Photorezeptoren	88
3.1.6	Die Feinstruktur der „Polycones“	92
3.1.7	Die Feinstruktur der „Langen Zapfen“	94
3.1.8	Die Feinstruktur der „Kurzen Zapfen“	106
3.1.9	Regionale Unterschiede im Feinbau der „Polycones“	114
3.1.10	Die Stäbchen	119
3.1.11	Die Struktur des Pigmentepithels	122
3.1.12	Der ventro-temporale Retinarand	130
3.1.13	Die Dreifachzapfen	134

#### 3.2 Die „äußere plexiforme Schicht“ von *Engraulis encrasicolus* und andere neuroanatomisch untersuchte Bereiche

3.2.1	Das Muster der Zapfenterminalen in der ventro-temporalen Retina	140
3.2.2	Das „Innenleben“ der Zapfenfüße	146
3.2.3	Drei Horizonte von Horizontalzellen und Hinweise auf die Verschaltung von H1-Zellen mit den Zapfen	156
3.2.4	Bipolarzellen	166
3.2.5	Amakrine und Ganglienzellen	168

#### 3.3 Die Photorezeptorausstattung und das Pigmentepithel anderer Gattungen innerhalb der Engraulidae

3.3.1	<i>Anchoviella</i>	172
3.3.2	<i>Cetengraulis</i>	176
3.3.3	<i>Lycengraulis</i>	180
3.3.4	<i>Encrasicolina</i>	182
3.3.5	<i>Stolephorus</i>	186
3.3.6	<i>Thryssa</i>	188
3.3.7	<i>Setipinna</i>	191
3.3.8	<i>Coilia</i>	192
3.3.9	<i>Lycothrissa</i>	198
3.3.10	Zusammenfassung der Strukturdaten	200

## **4. Diskussion**

4.1	Strukturelle Abweichungen der Sardellenretina vom Grundplan .....	202
4.2	Vergleich mit früheren Engraulididae-Arbeiten .....	208
4.3	Hinweise auf die Morphogenese der Polycones .....	214
4.4	Funktionsmorphologische Interpretation der Strukturbefunde zu den Zapfen und Pigmentepithelzellen	
4.4.1	Die Photorezeptoren - allgemeine Aspekte .....	221
4.4.2	Das Pigmentepithel - Eigenschaften von Interferenz-Keilspiegeln ...	226
4.4.3	Die Polycones - Analysatoren für linear polarisiertes Licht .....	241
4.5	Hinweise auf geordnete Verschaltungen in der Sardellenretina	
4.5.1	Zapfenfüßchen .....	254
4.5.2	Horizontalzellen .....	255
4.5.3	Bipolarzellen .....	258
4.6	Vermuteter biologischer „Sinn“ der aberranten Strukturen	
4.6.1	Polarisations-Kontrastsehen .....	262
4.6.2	Andere Mechanismen zur Wahrnehmung linear polarisierten Lichtes bei den Vertebrata .....	268
4.6.3	Zapfentapetum .....	270
4.7	Vergleich der Netzhautstrukturen innerhalb der Sardellen-Verwandtschaft	
4.7.1	Bauplanvarianten und taxonomische Deutung .....	272
4.7.2	Vorschläge zur Evolution der Polycones .....	277
4.7.3	Feinstruktur - Lebensraum - Lebensweise .....	279
4.8	Ausblick .....	283

## **6. Literatur**

Quellen und alphabetische Liste .....	284
---------------------------------------	-----

<b>Dank</b> .....	305
-------------------	-----

<b>Publikationen</b> .....	306
----------------------------	-----

<b>Bildungsweg</b> .....	308
--------------------------	-----

## Abkürzungen

AK	Außenglied des kurzen Zapfens
AL	Außenglied des langen Zapfens
CLSM	Konfokales Lasermikroskop (confocal laser scanning microscope)
CP	critical-point Trocknung
$\Delta c$	Konzentrationsunterschiede
$\Delta pH$	pH-Wert-Unterschiede
dest.	destilliert
DiI	Name eines Carbocyanin-Fluoreszenzfarbstoffes
ER	Endoplasmatisches Retikulum
ERG	Elektroretinogramm
et al.	und Mitarbeiter
Fa.	Firma
Gew.%	Gewichtsanteil in %
GPS	global positioning system
H	Horizontalzelle (Ebenen 1-3)
ibid.	in der gleichen Arbeit
ILM	Innere Grenzmembran (inner limiting membrane)
INL	Innere Körnerschicht (inner nuclear layer)
IPL	Innere plexiforme Schicht (inner plexiform layer)
i.w.S.	im weiteren Sinne
LM	Lichtmikroskop
$\lambda_{\max}$	Wellenlänge am Kurvenmaximum
M	Musculus (S.14), Molar (Kap. 2)
MI	Mikroinjektion
NBT	Nitroblue-Tetrazolium
OLM	Äußere Grenzmembran (outer limiting membrane)
ONL	Äußere Körnerschicht (outer nuclear layer)
OPL	Äußere plexiforme Schicht (outer plexiform layer)
p.a.	pro analysi (Reinststoff)
PE	Pigmentepithel
Pos.	Position
REM	Rasterelektronenmikroskop
sm	Seemeilen
TEM	Transmissionselektronenmikroskop
vs.	versus
Ø	Durchmesser
=>	daraus folgt od. danach folgt

## Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Netzhautfeinstruktur der Europäischen Sardelle *Engraulis encrasicolus* und verwandter Heringsfische. Detaillierte licht- und elektronenmikroskopische Strukturanalysen dienen als Grundlage für eine funktionsmorphologische Diskussion - daneben werden auch Fragen zur Evolution und Ökophysiologie der Sardellenretinae, sowie zur Taxonomie der Engraulididae behandelt.

Die Europäische Sardelle besitzt zapfenförmige Photorezeptoren mit einer stark vom Grundplan abweichenden Feinstruktur. Lange und kurze Zapfen sind abwechselnd und höchst regelmäßig in langen Zapfenreihen angeordnet. Diese sog. „Polycones“ verlaufen innerhalb des Augenbeckers in konzentrischen Ringen um den ältesten und damit am weitesten zentral gelegenen Teil der optischen Furche, wechseln sich mit mehr oder weniger breiten Bahnen normal gestalteter Stäbchen ab und sind in charakteristischer Weise mit keilförmigen Ausläufern des Pigmentepithels (PE) verzahnt. Die langen Zapfen reichen weit zwischen die PE-Keile, die Außenglieder der benachbarten kurzen Zapfen werden dagegen von den Spitzen der Keile partiell in zwei Lappen gespalten. Das distale Membranfaltensystem der Sardellenzapfen ist radial ausgerichtet, d.h. gegenüber dem „Normalfall“ um 90° gekippt. Damit werden die Zellen strukturbedingt selektiv empfindlich für die Schwingungsrichtung des axial einfallenden Lichtes. Die Membranfalten der beiden Zapfentypen stehen zudem senkrecht zueinander - eine funktionelle Kopplung ergäbe einen 2-Kanal-Analysator für linear polarisiertes Licht. Die PE-Zellen bilden ein eigentümliches Tapetum lucidum: Höchst regelmäßig ausgerichtete Guaninreflektoren formen einen Interferenz-Keilspiegel in unmittelbarer Nähe der Zapfenaußenglieder.

Die Kartierung der Photorezeptoren innerhalb einer Retina zeigt ein Gebiet erhöhter Zapfendichte im ventro-temporalen Quadranten - eine sog. „Area temporalis“ - das eine maximale Sehschärfe im vorderen oberen Sehfeld garantiert. In diesem Bereich befinden sich auch besonders präzise gestaltete Polycone-Zapfen, die die modalitätsspezifische Struktur für die Perzeption scharfer Polarisationskontrastbilder darstellen können. Die Proportionen der Zapfenabschnitte variieren zwischen Area und Fundus, ebenso die Guaninausstattung der PE-Zellen - zudem tritt ein bisher unbekanntes Muster von Dreifachzapfen am dorsalen und ventralen Retinarand auf. Die Übergangsregion zu den Polycones und auch der Retinarand geben Hinweise auf die Morphogenese der Vielfachzapfenreihen und der senkrecht stehenden Membranfalten, vor allem bezüglich der langen Zapfen.



Das regelmäßige Muster der skleralen Abschnitte der Photorezeptoren von *E. encrasicolus* setzt sich auch vitreal der äußeren Grenzmembran fort. Die synaptischen Zapfenfüße bilden in der äußeren plexiformen Schicht eine Art „Schachbrettmuster“, wobei die Terminalen eines Zapfentyps benachbarter Reihen über sog. „Telodendriten“ miteinander verbunden sind. Sie unterscheiden sich bei den langen und kurzen Zapfen in charakteristischen Strukturmerkmalen: die Füßchen der kurzen Zapfen enden weiter vitreal als die der langen. Letztere haben zwei Gruppen von „synaptic ribbons“, während bei den kurzen Zapfen keine eindeutige Gliederung in Synapsenfelder festzustellen ist.

Aufgrund der radialen Lage und der Zellmuster können drei Typen von Horizontalzellen unterschieden werden. Für eine H1-Zelle wurde der Versuch unternommen, ihre Verschaltung mit den Zapfen darzustellen: diese Zelle ist spezifisch mit Pedicles der langen Zapfen verbunden und gibt damit einen Hinweis auf eine Trennung von e-Vektor-spezifischen Informationskanälen. Ferner ist bei der Sardelle ein Bipolarzell-Typ mit einem Dendritenfeld ungewöhnlicher Geometrie zu finden. Es folgt offensichtlich dem Reihemuster der Photorezeptoren.

Neben der Europäischen Sardelle wurde auch von anderen Vertretern der Heringsartigen die Struktur und das Muster der Photorezeptoren und der Pigmentepithelzellen bestimmt. Die Ergebnisse liefern Daten, die Aussagen über die Verbreitung und Evolution der aberranten Polycone-Strukturen innerhalb der Engraulididae gestatten - darüberhinaus geben sie Anlaß, eine neue Feingliederung der Engraulididae vorzuschlagen. Neben wenigen „Ausreißern“ lassen sich zwei Fischgruppen unterscheiden: eine mit Polycones in Verzahnung mit dem PE und eine mit guaninhaltigen PE-Vorhängen zwischen den Zapfenreihen und ohne Guaninplättchen. Die erste Gruppe wird als Kerngruppe der Engraulidinae verstanden, die zweite dürfte näher mit den Coiliinae verwandt sein.

# 1. Einleitung

To suppose that the eye with all its inimitable contrivances for adjusting the focus to different distances, for admitting different amounts of light, and for the correction of spherical and chromatic aberration, could have been formed by natural selection, seems, I freely confess, absurd in the highest degree.

CHARLES DARWIN, The Origin of the Species

## 1.1 Licht als Informationsträger und die Evolution von Lichtsinnesorganen

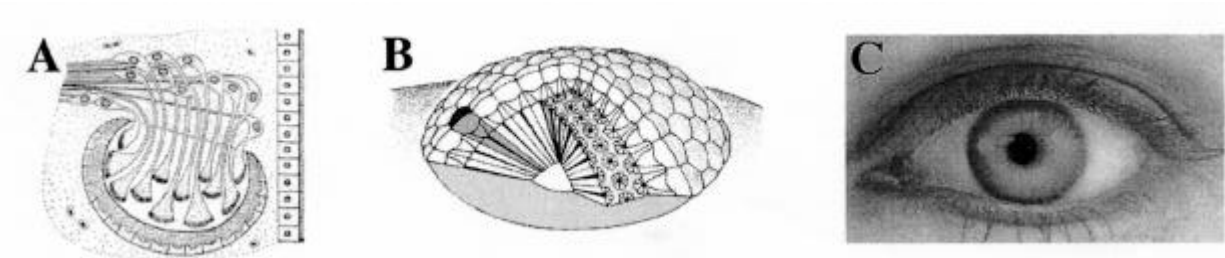
Sonnenlicht, das das „optische Fenster“ der heutigen Erdatmosphäre wenig abgeschwächt passieren kann, ist ein fundamentaler Umweltfaktor für die gesamte Biosphäre unseres Planeten. Während es für photoautotrophe Bakterien und Protisten und für die Pflanzen die primäre Energiequelle darstellt, wird es von den Tieren in erster Linie als Informationsträger genutzt: direkt, indirekt als Mondlicht und substituiert durch das Licht der Fixsterne oder der Biolumineszenz. In der Auseinandersetzung der Organismen mit dem Umweltfaktor Licht hat das Evolutionsgeschehen Strukturen und Mechanismen zur Perzeption und Verarbeitung elektromagnetischer Strahlungsreize hervorgebracht und so finden sich Lichtsinnesorgane quer durch das Tierreich - von einfachen Pigmentbecherzellen (z.B. bei den Turbellarien) bis hin zu den hochkomplexen Sehsystemen der Vertebraten, Arthropoden und Cephalopoden. Je nach Organisationshöhe bzw. Spezialisierung des Sehsystems reicht seine Kompetenz von primitiver Hell-Dunkel-Unterscheidung über ein zunehmend gesteigertes Spektral- und Bildauflösungsvermögen bis hin zur Analyse und Interpretation bewegter Objekte im Raum und setzt damit die Freiheitsgrade für ein mehr oder weniger differenziertes aktives Verhalten im visuellen Erlebnisfeld.

In der Regel besitzen Augen einen dioptrischen Apparat, der das Licht aus dem betrachteten Raumsegment sammelt, dosiert und als mehr oder weniger scharfes Bild auf ein Ensemble lichtempfindlicher Zellen - die Retina - abbildet. Die retinalen Photorezeptoren bewerkstelligen die sogenannte „Phototransduktion“:

Sie machen Lichtinformation für den Organismus verfügbar, indem sie auf einen adäquaten elektromagnetischen Reiz mit der Erzeugung eines elektrischen Nervenpotentials reagieren. Dieses wird noch in der Netzhaut und dann in nachgeschalteten Nervenzentren weiterverarbeitet. Ein mehr oder weniger komplexes Lichtmuster wird also auf der Retina abgebildet und in ein „entsprechendes“ Muster elektrischer Aktivitäten übersetzt. Die Informationen, die ein einzelner Photorezeptor aus einem schmalen Raumsegment („Bildpunkt“) erhält, sind codiert in seiner Blickrichtung und einigen kollektiven Eigenschaften der pro Zeiteinheit eintreffenden Lichtquanten: Die Quantenflußdichte wird aus menschlicher Sicht als Intensität, die spektrale Zusammensetzung als Farbe interpretiert.

Weniger bekannt ist der Polarisationszustand, d.h. die Häufigkeitsverteilung der in verschiedenen Ebenen schwingenden Elementarwellen, weil er für uns Menschen ohne Relevanz ist und wir für diese allgegenwärtige Qualität des Lichtes auch keinen Sinneskanal besitzen. Nicht wenigen Tieren jedoch ist die spezifische Wahrnehmung polarisierten Lichtes gegeben, was ihnen ganz eigene, zuverlässige Möglichkeiten der Orientierung und/oder des Kontrastsehens erschließt und es spricht einiges dafür, daß die in der vorliegenden Arbeit behandelten Sardellen dazu gehören. Die Tatsache, daß uns einige Qualitäten der tierischen Sinneswelt verborgen sind, eröffnet einerseits faszinierende biologische Forschungsfelder - z.B. Strukturuntersuchungen an der Netzhaut der Knochenfische - sie verweist uns aber auch auf die Subjektivität unseres menschlichen Sinnes- und Erkenntnisapparates. Trotz der bereits fortgeschrittenen Kenntnisse zu den Sehsystemen der Tiere muß der Mensch daher einräumen, daß es ihm nie möglich sein wird zu ermessen, was eine andere Art wirklich sehen kann:

„We cannot see the world through other animals' eyes“ (HAWRYSHYN 1992).



**Abbildung 1.1: Drei Beispiele für Augen im Tierreich**

A) Pigmentbecherocellus (Turbellar, GRZIMEK 1971); B) Komplexauge (Insekt, WEHNER & GERING 1990); C) Linsenauge (Mensch, IMAGEPRO+™).

## 1.2 Die Netzhaut der Knochenfische: Grundplan und Variationen

Die sensorische Ausstattung eines Knochenfisches ist vielseitig: mechano-, chemo-, proprio-, thermo-, opto- und manchmal auch elektrozepthive Zellen bzw. Organe ermöglichen zusammen die arteigene Wahrnehmungswelt des Tieres. Die Augen sind für die Teleostei mit wenigen Ausnahmen dominierende Sinnesorgane (die höheren Sehzentren beanspruchen einen überproportional großen Volumenanteil des Gehirns: GEIGER 1956) und Licht ist in nahezu allen aquatischen Lebensräumen wahrnehmbar: Sonnenlicht bis in Wassertiefen von max. 1000m, Mondlicht bis max. 600m - in Tiefwasserhabitaten unterhalb der euphotischen Zone bleibt als alleinige Lichtquelle die Biolumineszenz.

In den beiden folgenden Abschnitten soll der grundsätzliche Aufbau der Wirbeltierretina kurz skizziert und einige morphologische Abwandlungen dieses Nervennetzes am Beispiel der Teleostei vorgestellt werden. Als allgemeine Quellen sind z.B. WALLS 1942; ALI 1975; ALI & ANCTIL 1976; ALI & KLYNE 1985; BONE & MARSHALL 1985; FERNALD 1989; FIEDLER 1991 sowie CHALUPA & FINLAY 1998 anzuführen - neuere bzw. sehr spezielle Befunde sind mit Originalzitateu belegt.

### 1.2.1 Der Grundplan der Wirbeltierretina

Die Vertreter aller Wirbeltierklassen besitzen ein Paar Linsenaugen (reduziert bei manchen Höhlenfischen, Schleimaalen, Olmen und den Blindwühlen). Sie sind in knöchernen Höhlen des Schädels durch Muskeln mehr oder weniger beweglich gelagert und blicken nach lateral bis frontal, seltener dorsal. Es handelt sich um komplexe Sehorgane mit einem dioptrischen Apparat und einem photorezeptiven und gleichzeitig schon bildverarbeitenden Gewebe, der Netzhaut oder **Retina**, die ihren neuroelektrischen „output“ an höhere Nervenzentren weiterleitet.

Der innere Aufbau des Vertebratenauges ist in Abb. 1.2A schematisch widergegeben - über das Zusammenwirken der Bestandteile des dioptrischen Apparates informieren div. Lehrbücher (z.B. ALI & KLYNE 1985). Es sei an dieser Stelle nur auf zwei wesentliche Unterschiede zwischen Fisch und Mensch hingewiesen: **1.** Das Hauptelement des dioptrischen Apparates ist bei den Teleostei die hochbrechende, kugelige Linse - beim Säuger dagegen die Cornea (abgeleiteter Zustand bei den Landtetrapoden). **2.** Die Fokussierung erfolgt beim Säuger über die Deformierung der bikonvexen Linse - beim Knochenfisch wird sie durch eine Linsenverschiebung erreicht.

Die Retina entwickelt sich nach distaler Invagination der innen bewimperten Augenblase (Neuralrohrderivat!) als ein becherförmiges, zunächst zweischichtiges Organ und kleidet die Innenseite des Auges zu etwa zwei Dritteln aus. Die Außenseite des Netzhautbechers wird zum **Pigmentepithel** (PE), das einschichtig bleibt - die Innenseite dagegen differenziert sich zur dreischichtigen **Neuroretina**, die ihre Ganglienaxone durch den Stiel des Bechers zum Tectum opticum schickt. Der Radialschnitt durch eine reife Retina zeigt folglich vier Zellschichten (Abb. 1.2B): Pigmentepithel und Photorezeptoren („outer retina“), sowie Sekundärneuronen und Ganglienzellen („inner retina“). Gliazellen oder „Müller’sche Stützzellen“ durchziehen die drei letztgenannten Schichten in radialer Richtung.

### **Pigmentepithel und Tapetum lucidum**

Das Pigmentepithel stellt die am weitesten skleral gelegene Zelage der Retina dar. Die PE-Zellen bilden an ihrem basalen Pol zur Chorioidea hin eine extrazelluläre Lamina („Bruch’sche Membran“) und an ihrem apikalen Pol einen Zellhaftenkomplex, der den sehr engen Liquorraum (= Fortsetzung des 3. Ventrikels) zwischen dem PE und den Photorezeptoren abdichtet. Je nach Spezies und Netzhautregion enthält das PE unterschiedliche Mengen des braun-schwarzen Farbstoffes Melanin (membrangebundene Albumin granula mit poly-L-Dihydroxyphenylalanin) und sendet vitread lobopodiale Fortsätze zwischen die Photorezeptoren. Diese Architektur unterstützt die optische Isolierung der Sehzellen (verbesserte Abbildungsschärfe durch Absorption von Streulicht) und auch ihre Versorgung mit Nährstoffen.

Manche Wirbeltiere - besonders einige Fische, Nachtvögel und Säuger (z.B. Katze, Reh) - zeigen unter geeigneten Bedingungen leuchtende Augen („eye-shine“): Am Augenhintergrund reflektiertes Licht kann aus der Pupille austreten. Der Grund dafür sind lichtreflektierende Schichten, sog. „**Tapeta lucida**“. Sie sind bei den Knorpelfischen, den Stören, bei *Latimeria* und den Großaugen (Priacanthidae, Teleostei) in der Chorioidea gelegen (DENTON & NICOL 1964; DENTON & NICOL 1965d; LOCKET 1974; NICOL & ZYZNAR 1973), bei allen anderen „betroffenen“ Knochenfischen dagegen im retinalen Pigmentepithel (Übersicht bei NICOL et al. 1973). Soweit die Tapeta chemisch untersucht sind (ZYZNAR & NICOL 1973), bestehen sie aus der Purinbase Guanin (z.B. *Anchoa*), aus membrangebundenen Lipidsphären (z.B. *Orthopristes*), aus Melanoidsphären (z.B. *Ictalurus*) oder aus dem Pteridinderivat 7,8-Dihydroxyxanthopterin (z.B. *Dorosoma*). Retinale Tapeta sind meist diffuse Reflektoren aus winzigen Kristalliten bzw. Kügelchen oder seltener Spiegelreflektoren: *Anchoa* (NICOL et

al. 1973) und *Scopelarchus* (LOCKET 1971a). Chorioidale Tapeta sind, soweit bekannt, immer Spiegeltapeta.

ZYZNAR (1975a) unterscheidet zwei Typen retinaler Tapeta bei Knochenfischen. Solche, die im dunkeladaptierten Zustand eine oder mehrere homogene Stäbchenetagen vitreal des Tapetums aufweisen („glatte“ Tapeta: z.B. bei den Argentinidae) und solche, bei denen die Photorezeptoren vom Tapetum in optisch isolierte Gruppen zusammengefasst werden („rauhe“ Tapeta: z.B. bei den Mormyridae, Engraulididae und *Dorosoma cepedianum*).

Erstere reflektieren das Licht, das die Stäbchen bereits passiert hat, ein Mal und können, bei mittlerem Photopigmentgehalt der Außenglieder, die Ausbeute perzipierter Strahlungsenergie etwa auf das 1.5-fache erhöhen (ZYZNAR 1975b: fig. 1, 2). Bei den Ophidiidae z.B. bestehen die „Reflektoren“ aus Liposomen, die aufgrund ihres hohen Brechungsindex in ihrer Gesamtheit einen großen Anteil des einfallenden Lichtes diffus zurückstreuen (vgl. Albedo von Milch). Rauhe Tapeta dagegen reflektieren das einfallende Licht lokal begrenzt ggf. sogar mehrmals hin und her und erhöhen damit die Lichtausbeute wesentlich (siehe auch Kap. 4.4.2). Die Sehschärfe wird durch die Gruppierung der Photorezeptoren zu rezeptiven Einheiten erniedrigt, ein Umstand, der wegen der ohnehin hohen Konvergenz des skotopischen Systems (s.u.) nicht ins Gewicht fallen dürfte. Intermediäre Ausformungen des retinalen Tapetums finden sich z.B. bei den Sciaenidae, den Pomadasyidae und den Ephippidae.

Tapeta können farbige Pupillenreflexionen hervorrufen (blau bei Tiefseehaien: DENTON & LAND 1967; orange beim Hecht: BONE & MARSHALL 1985) und tagsüber bzw. im hellen Licht durch Melanin maskiert sein. Ein solches „okklusibles Tapetum“ kann z.B. das Auge eines räuberischen Knorpelfisches tarnen (DENTON 1970).

---

### Abbildung 1.2: Das Auge der Teleostei und seine Retina

>

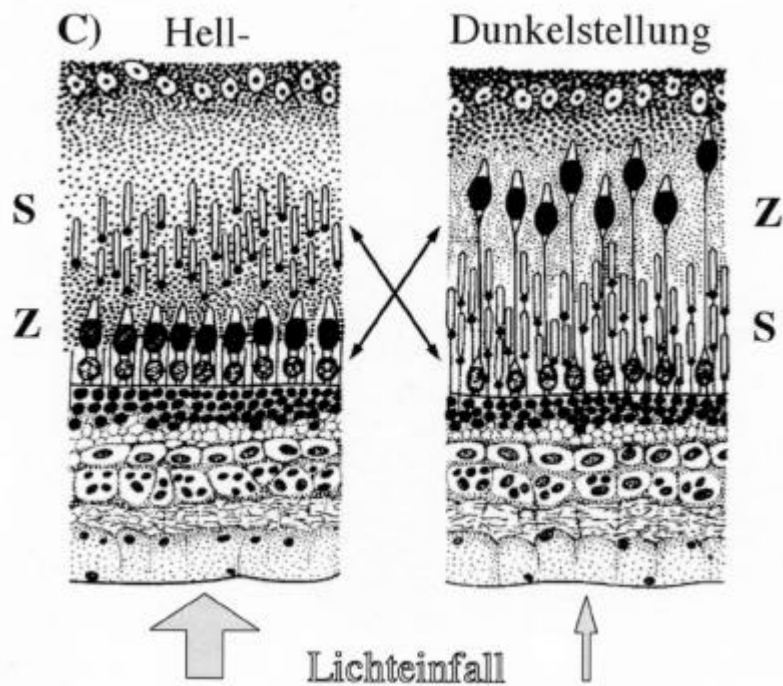
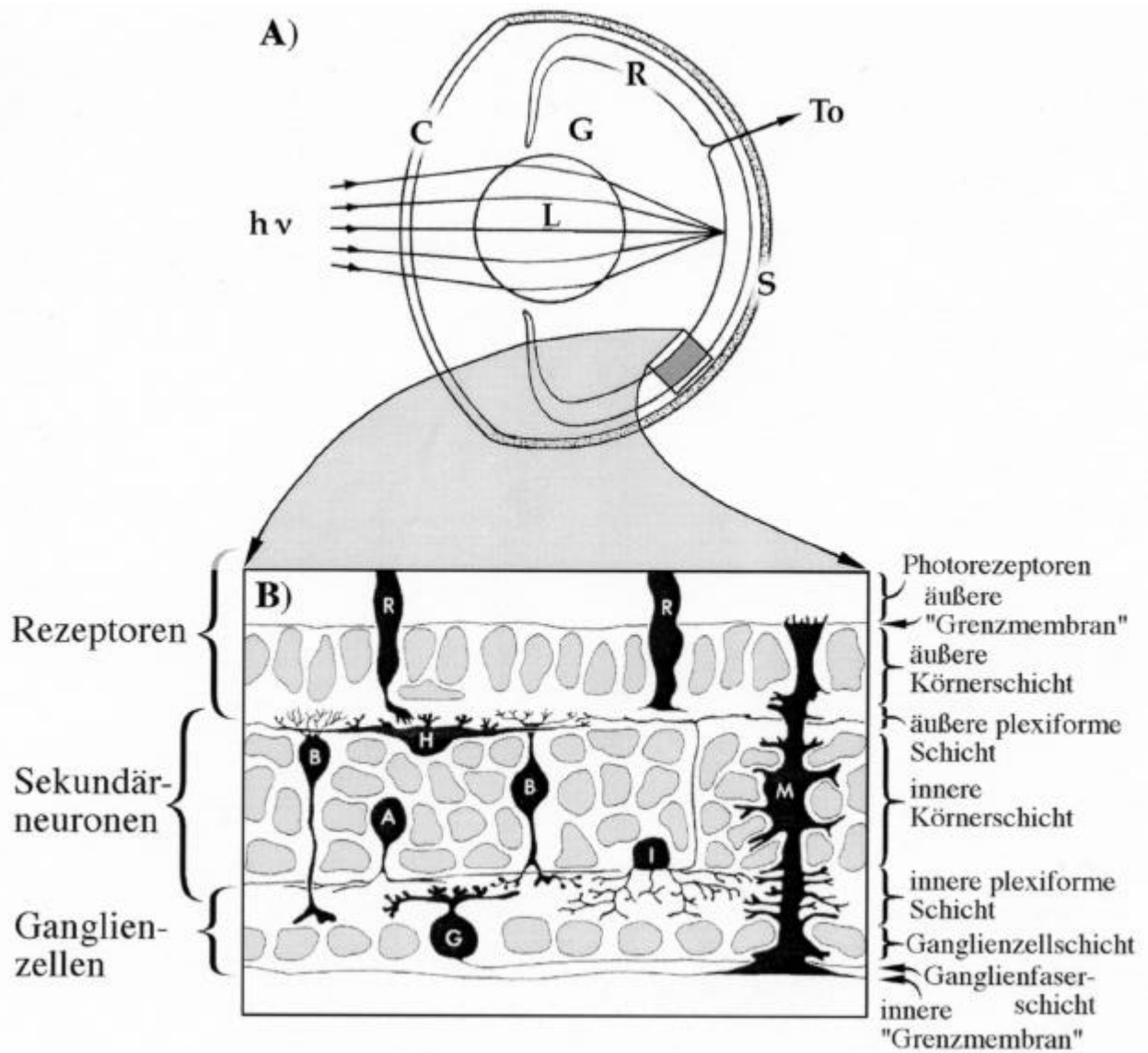
A) Stark schematisierter Radialschnitt durch das Auge eines Knochenfisches.

C Cornea, G Glaskörper, hn Lichtstrahlen, L Linse, R Retina, S Sclera, To Tractus opticus - nicht abgebildet sind die Augenmuskeln und der M. retractor lentis (verändert aus BONE & MARSHALL 1985).

B) Schematischer Radialschnitt durch die Netzhaut eines Knochenfisches.

A Amakrine, B Bipolare, G Ganglienzelle, H Horizontale, I Interplexiforme, M Müllerzelle, R Rezeptoren (leicht verändert nach DOWLING 1987).

C) Schematischer Radialschnitt durch eine hell- und eine dunkeladaptierte Teleostier-Retina. S Stäbchen, Z Zapfen (leicht verändert nach FIEDLER 1991).



## Die Neuroretina

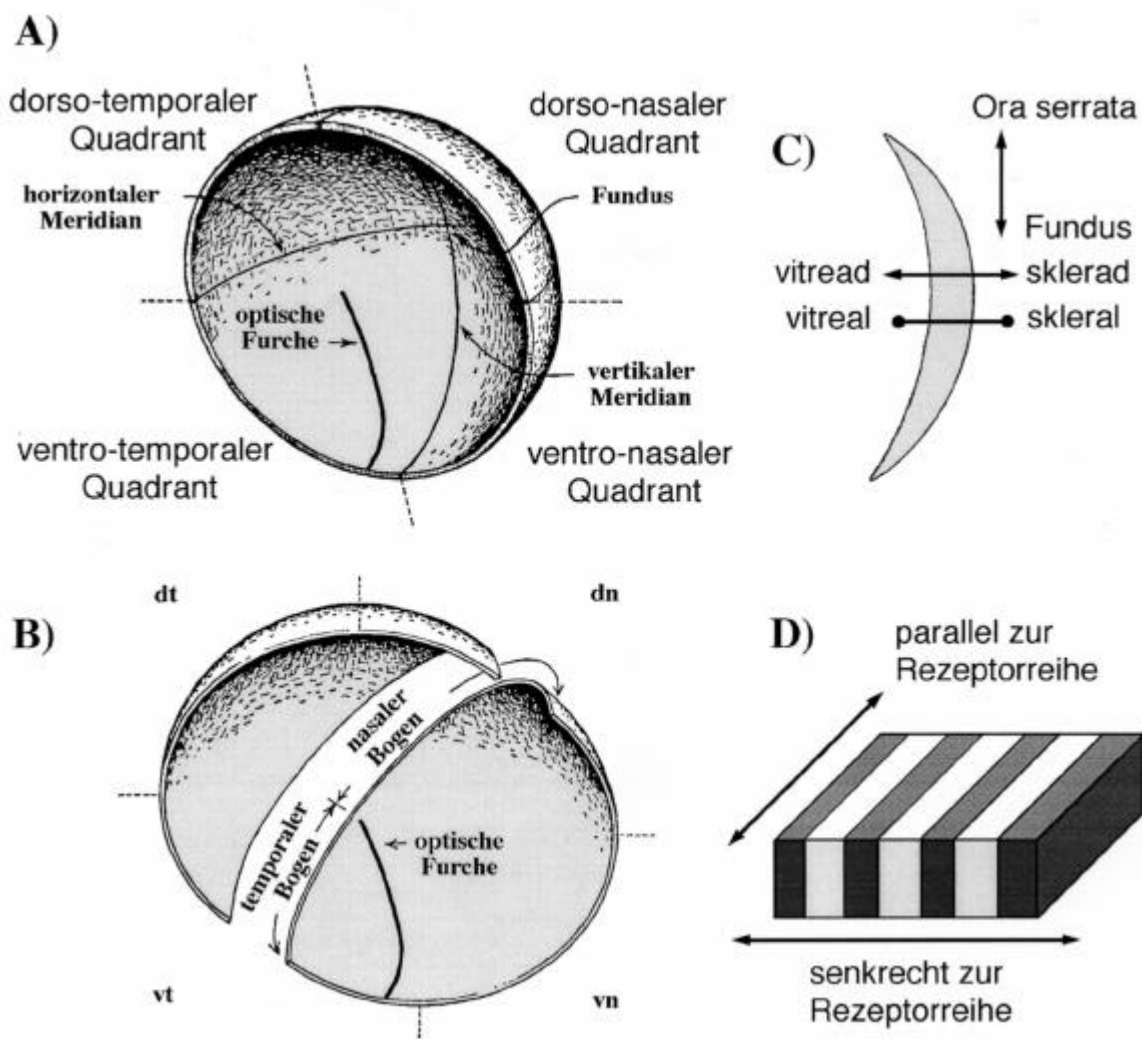
Die **Schicht der Photorezeptoren** liegt entwicklungsbedingt direkt dem Pigmentepithel an (Retina inversa) und enthält meist zwei Typen von Photorezeptoren, die sog. „Zapfen“ und die „Stäbchen“ (Retina duplex). Reine Zapfenretinae gibt es z.B. bei tagaktiven Eidechsen, Baumhörnchen und Präriehunden, reine Stäbchenretinae z.B. bei nachtaktiven Geckos, Fledermäusen und bei den meisten Knorpelfischen (ALI & KLYNE 1985).

Die Photorezeptoren sind radial gestreckte Zellen mit einer ausgeprägten strukturellen und funktionellen Polarisierung des Zytoplasmas und einer kompliziert gefalteten Membran (Abb. 1.4). Einer histologischen Tradition folgend wird die Schicht der Photorezeptoren beschrieben, als sei sie in **vier** Lagen untergliedert:

Die Perikarien der Zapfen und Stäbchen bilden die **„äußere Körnerschicht“** (ONL). Skleral geht diese Kernregion über die „outer conducting fibres“ in die **Schicht der Innenglieder** und weiter in die der **Außenglieder** über. Die Innenglieder enthalten skleral jeweils eine Mitochondriengruppe (sog. „Ellipsoid“: Zentrum der Energiebereitstellung) und vitreal vor allem ER-Zisternen (sog. „Myoid“: Zentrum der Synthese). Am Übergang zur „outer conducting fibre“ sind die Photorezeptoren über Zellhaften mit feinen Ausläufern der Müllerzellen verbunden: „tight junctions“ bilden die vitreale Abriegelung des Liquorraumes und stellen sich lichtmikroskopisch als feine Linie, die sog. „äußere Grenzmembran“ (OLM) dar. Innen- und Außenglied sind über ein sog. „Verbindungscilium“ miteinander verbunden - es ist jedoch das Außenglied insgesamt als modifiziertes Cilium anzusehen (z.B. COPELAND 1982). Basal werden die Photorezeptoraußenglieder von einem Kranz mikrovillärer Fortsätze des skleralen Ellipsoidrandes gesäumt („calycale Fortsätze“). Die Außenglieder enthalten den Sehfärbstoff (z.B. Rhodopsin) und sind die Orte der Phototransduktion. Vitreal der ONL liegen die synaptischen Endigungen der Zapfen („pedicles“) und der Stäbchen („spherules“). Sie bilden die sklerale Hälfte der **„äußeren plexiformen Schicht“**, sind über die Rezeptoraxone („inner conducting fibres“) mit den Perikarien verbunden und stellen an spezialisierten Synapsen („ribbon synapses“) die Verbindung zu den Sekundärneuronen her.

Abhängig von der Beleuchtungssituation kann die äußere Retina im Radialschnitt unterschiedliche Erscheinungsbilder annehmen (Abb. 1.2C): Im hellen Licht befinden sich die Zapfenellipsoide und -außenglieder nahe der OLM, da die Zapfenmyoide kontrahieren. Die „fluiden“ Stäbchen liegen dann zwischen den elongierten PE-Fortsätzen „versteckt“ - ihre Myoide sind gestreckt.





**Abbildung 1.3: Orientierung innerhalb des Auges und der Retina**

Ü

A) Der Augenbecher (rechtes Auge) mit seinen Quadranten und Meridianen (verändert nach O'CONNELL 1963).

B) Halbierter Augenbecher, **dn** dorso-nasal, **dt** dorso-temporal, **vn** ventro-nasal, **vt** ventro-temporal (verändert nach O'CONNELL 1963).

C) Radiale Orientierungen innerhalb der Retina.

D) Zwei bevorzugte Schnittrichtungen durch ein Reihenmuster von Photorezeptoren.

Zur **Orientierung** innerhalb des Augenbechers und innerhalb der Retina ist es sinnvoll, spezielle augenbezogene Orts- und Richtungsangaben zu definieren:

Ortsangabe		Richtungsangabe	
ventral	= an der Bauchseite gelegen	ventrad	= bauchwärts
dorsal	= an der Rückenseite gelegen	dorsad	= rückenwärts
temporal	= an der Schläfenseite gelegen	temporad	= zur Schläfe hin
nasal	= an der „Nasen“-seite gelegen	nasad	= zur Nase hin
vitreal	= an der Glaskörperseite gelegen	vitread	= glaskörperwärts
skleral	= an der Lederhaut gelegen	sklerad	= zur Sklera hin

Die Melaningranula des helladaptierten PE sind vitread gewandert (PARKER 1932). Bei der Dunkeladaptation kehren sich die Verhältnisse um: die Stäbchenmyoide verkürzen sich mit den PE-Fortsätzen und setzen die Stäbchen dem Schwachlicht aus, die Zapfenmyoide elongieren. In diesem Zustand sind PE und Neuroretina präparativ (meist) leicht voneinander zu lösen. Der Grad der Adaptation kann sich regional innerhalb einer Retina unterscheiden (HESS 1910, zitiert bei PARKER 1932). Diese sog. „Retinomotorik“ ist innerhalb der Vertebrata am stärksten bei den Teleostei und den Amphibia ausgeprägt, fehlt aber offensichtlich bei den Mammalia. Sie drückt sich auch in einer Verschiebung der ERG-Aktionsspektren aus, der sog. „Purkinje-Shift“.

Im Gegensatz zu den mehr oder weniger isodiametrischen Leber- oder Epidermiszellen sind die Photorezeptoren der Wirbeltierretina langgestreckte Gebilde mit einem feinstrukturell und funktionell besonders stark polarisierten Zytoplasma. Bei grundsätzlich gleicher Organisation unterscheiden sich dabei die Zapfen und Stäbchen im Feinbau merklich (Abb. 1.4):

Die **Zapfen** bilden kegelförmige Außenglieder (die Spitze weist zum PE) mit einem akzessorischen Außenglied („lateraler Sack“) und einem System tangential orientierter, kohärenter Membranlamellen. Die Lamellen liegen dicht gepackt aufeinander, sind aber auf der dem akzessorischen Außenglied abgewandten Seite zum Liquorraum hin offen. Zapfen besitzen oft relativ voluminöse Ellipsoide (z.B.  $\varnothing$  ca.  $6\mu\text{m}$ , Länge ca.  $10\mu\text{m}$  bei *Muraena helena*, HEB 1998) mit zahlreichen Mitochondrien, die nicht nur den Energiestoffwechsel unterstützen, sondern auch optische Eigenschaften im Sinne von Lichtfallen und Wellenleitern besitzen sollen (z.B. ZYZNAR & ALI 1975; CAMERON & PUGH 1991). Mikrofilament-Bündel in der Peripherie der Zapfenellipsoide sind Bestandteile des Zytoskeletts und dienen der Erhaltung der Zellform, zudem müssen sie eine Rolle bei der photomechanischen Bewegung spielen (PAGH-ROEHL et al. 1992). Das Myoid bildet bei Zapfen im helladaptierten Zustand radiale Falten aus, die als Membranreservoir für die Elongation in der Retinomotorik, aber auch als Austauschfläche für Nährstoffaustausch mit den Müllerzellen fungieren können (DUNN 1966). Die Zapfenkerne sind länglich und gewöhnlich in der skleralen Hälfte der ONL gelegen. Die „pedicles“ sind kegel- oder pyramidenförmig und können über sog. „Telodendriten“ elektrische Synapsenverbindung zwischen den Zapfen schaffen. Ein Zapfenpedicle besitzt mehrere „synaptic ribbons“, die im Zuge der Hell- und Dunkeladaptation einem dynamischen Auf- und Abbau unterliegen (WAGNER & ALI 1977). Lateral der Ribbons nähern sich die Dendriten der Horizontalzellen, apikal vor allem diejenigen bestimmter Bipolarzellen unter Ausbildung sog. „Synapsen-Triaden“ (z.B. DOWLING & WERBLIN 1971).

Die Zapfen der Knochenfische sind entweder Einfachzapfen (wie z.B. beim Menschen) oder sie treten zu komplexen Zapfengruppen oder „Mehrfachzapfen“ aus 2, 3, 4 oder vielen Zapfen zusammen (z.B. LYALL 1957b; FINERAN & NICOL 1976). Meist sind in einer Retina verschiedene Zapfentypen zu regelmäßigen, artspezifischen Mustern angeordnet (s. Kap. 1.2.2).

**Doppelzapfen** aus morphologisch unterscheidbaren Partnern (“unequal double cones”) finden sich bei allen Wirbeltieren außer den placentalen Mammalia (vgl. BURKHARDT et al. 1980; CAMERON & EASTER 1993) - Doppelzapfen aus morphologisch nicht unterscheidbaren Partnern (“twin cones”) gibt es bei Knochenfischen häufig, sie treten meist zusammen mit Einfachzapfen in Erscheinung (z.B. MÜLLER 1857). Zwillingszapfen können, müssen aber nicht physiologisch gleich sein. BURKHARDT et al. (1980) zeigen für die „twin cone“-Partner vom Zander (*Stizostedion vitreum*) identische Absorptions- und Aktionsspektren ( $\lambda_{\max} = 605\text{nm}$ ), wobei keine Kopplung über gap-junctions vorzuliegen scheint. LYALL (1957b) betont dagegen, daß sich die Partner des „twin cone“ oft in ihrem histologischen Anfärbeverhalten unterscheiden und deswegen chemisch und physiologisch nicht gleichartig sind (ibid. fig.2). In jedem Fall sind die Partner komplexer Zapfen über Zellhaften aneinander geheftet und bilden entlang ihrer Ellipsoid-Kontaktzone, sog. „subsurface-cisternae“ aus, flache Membransäckchen, die z.B. der elektrischen Isolation der Partner dienen könnten (BERGER 1967; siehe auch NOVALES FLAMARIQUE et al. 1998 ).

**Dreifachzapfen** sind relativ seltene Gebilde und treten in einer Retina meist nur locker verstreut oder regional begrenzt auf (eine Nachuntersuchung der Netzhautregionierung dürfte jedoch noch für etliche Arten zum Nachweis von „triple cones“ führen). Sie lassen sich in linearer oder gewinkelter Anordnung beobachten. Lineare Dreifachzapfen werden beschrieben für den Gecko *Aristelliger praetensis* (UNDERWOOD 1951), den Frosch *Rana temporaria* (SAXEN 1953), die Lachsforelle *Salmo trutta* (LYALL 1957a) und die Elritze *Phoxinus laevis* (LYALL 1957b). Bei *P. laevis* flankieren zwei kleinere Zapfen eine große zentrale Komponente. Gewinkelte bis trianguläre Dreifachzapfen finden sich z.B. bei *Alosa* (ALI & ANCTIL 1976), bei der Rotfeder *Scardinius erythrophthalmus* (SCHOLES 1975) und dem Gangfisch *Coregonus lavaretus macropthalmus* (RECKEL et al. 1999).

**Vierfachzapfen** oder „quadruple cones“ wurden bisher nur beim Gecko *Phelsuma inunguis* (PEDLER & TANSLEY 1963), bei der Elritze *Phoxinus laevis* (dort häufig, LYALL 1957b) und vier weiteren Teleostei (ENGSTRÖM 1963b) gefunden. Bei *Phoxinus* umgeben dabei drei kleinere Zapfen einen zentralen großen Zapfen.

Die **Stäbchen** der Wirbeltiernetzhaut sind im Vergleich zu den Zapfen die stammesgeschichtlich jüngeren Gebilde und von viel schlankerer Gestalt (Ausnahme Amphibien, WEHNER & GEHRING 1990: Abb. 7.6). Die Außenglieder der Stäbchen sind zylindrisch ( $\emptyset$  ca.  $2\mu\text{m}$ , z.B. COHEN 1972) und enthalten auf einer Länge von ca.  $10\mu\text{m}$  etwa 500 flache, geschlossene Membransäckchen oder „disks“ - beim Tiefseefisch *Diretmus argenteus* gibt es gar Retinaregionen mit  $200\mu\text{m}$  langen Stäbchen (MUNK 1966b). Die „disks“ sind von einer mit dem Verbindungscilium kohärenten Membran umgeben und entstehen durch Abschnürung „normaler“ Lamellen in ihrer Bildungszone am vitrealen Ende des Außengliedes (TOKUYASU & YAMADA 1959; LOCKET 1971b) - ihr geschlossener Aufbau macht sie anfällig für osmogene Artefakte. Ein akzessorisches Außenglied ist in der Regel nicht vorhanden (siehe aber YACOB et al. 1977). Die Ellipsoide der Stäbchen sind verhältnismäßig klein und enthalten nur wenige Mitochondrien. Die Kerne sind rundlich bis polyedrisch (bei sehr dichter Packung) und nehmen meist das Hauptvolumen der ONL in Anspruch. Die synaptischen Endigungen sind oval bis kugelig, enthalten ein einzelnes „synaptic ribbon“ und am vitrealen Ende Membraninvaginationen, in die die Dendriten der Horizontal- und Bipolarzellen ziehen.

Die Zapfen bilden verschiedenen Rhodopsine mit unterschiedlichen spektralen Absorptionmaxima, sind mit nur geringer Konvergenz auf die Ganglienzellen verschaltet und stellen damit die Grundlage des mehr oder weniger scharfen Farbsehens in hellem Licht („photopisches System“). Die Stäbchen besitzen in der Regel nur ein Pigment - Rhodopsin, Porphyropsin oder Chrysopsin. Da sie davon in ihren langen Außengliedern vergleichsweise viel besitzen und hochkonvergent auf die Ganglien projizieren, stehen sie als empfindliche

---

**Abbildung 1.4: Feinstruktur der Photorezeptoren von Vertebraten**

>

Die Orientierung aller Abbildungen ist gleich: skleral ist oben, vitreal unten.

**A)** schematischer Radialschnitt durch einen einfachen Zapfen

(verändert nach ALI & KLYNE 1985).

**B)** dreidimensionales Schema eines einfachen Zapfens, Außenglied z.T. offen dargestellt.

**ls** „lateraler Sack“, **mv** Mikrovilli der Müllerzellen, **mf** Myoidfalten

(aus FREDERIKSEN 1976).

**C)** schematischer Längsschnitt durch einen Doppelzapfen („unequal double cone“).

**ag** Außenglied, **e** Ellipsoid, **ls** „lateraler Sack“, **mf** Myoidfalte, **OLM** äußere Grenzmembran

(verändert nach FINERAN & NICOL 1974).

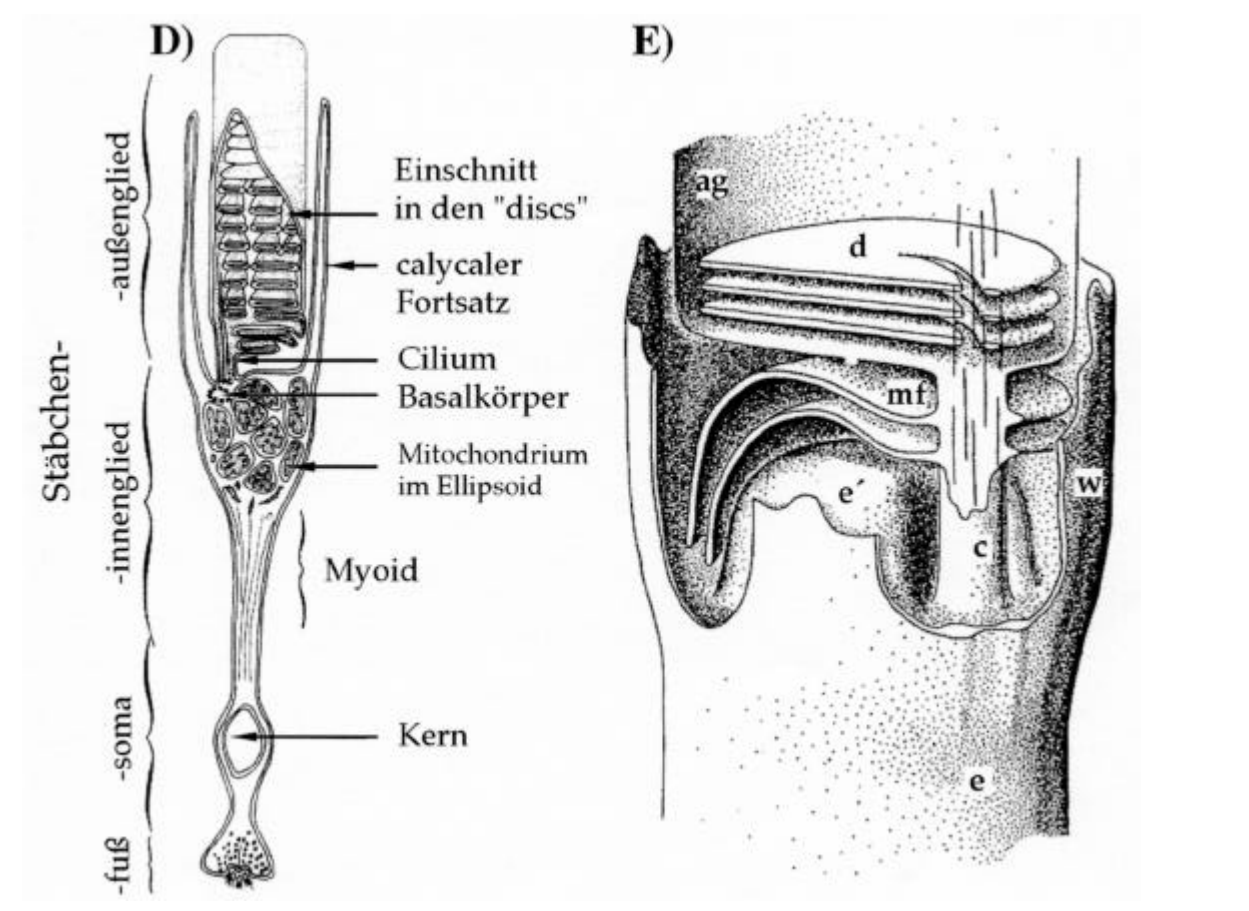
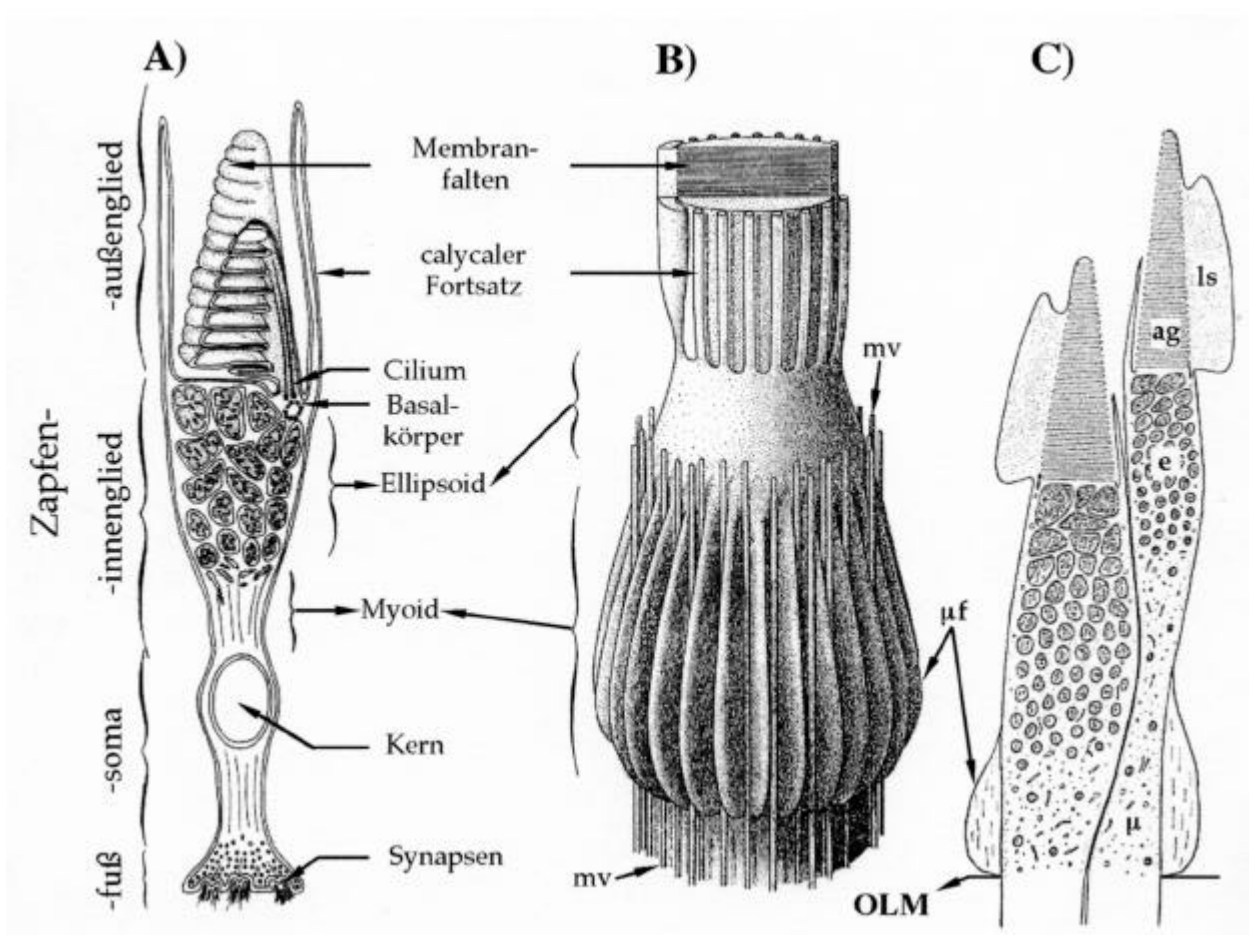
**D)** schematischer Längsschnitt durch ein Stäbchen

(verändert nach ALI & KLYNE 1985).

**E)** Dreidimensionale Schemazeichnung des Cilienbereiches eines Stäbchens, halb geöffnet.

**ag** Außenglied, **c** Cilium, **d** „disk“, **e/e'** Ellipsoid, **mf** Membranfalte, **w** Becherwand

(verändert nach LOCKET 1971b).



„Lichtfallen“ im Dienste des Dämmerungssehens („skotopisches System“, STERLING et al. 1986). Die Trennung beider Systeme erfolgt tagesperiodisch auch räumlich durch die photomechanischen Bewegungen (s.o.).

Die „**innere Retina**“ umfaßt die Schichten der Sekundärneuronen und die der Ganglienzellen mit ihren jeweiligen Somata, Dendriten und Axonen.

Die Schicht der **Sekundärneuronen** beherbergt mehrere Zelltypen: Horizontalzellen, Bipolarzellen, Amakrinzellen und „interplexiforme“ Zellen. Die Bipolarsomata erfüllen mit ihren kleinen, rundlichen Kernen den größten Teil der INL, die Kerne der Horizontalen liegen in einer bis mehreren Lagen skleral, die der Amakrinen und Interplexiformen vitreal davon (Abb. 1.2B). Die Müllerkerne sind ebenfalls in der INL zu finden.

In der schmalen „äußeren plexiformen Schicht“ (OPL) sind die Rezeptor-terminalen mit den Dendriten der Horizontal- und Bipolarzellen verschaltet, in der meist deutlich breiteren „inneren plexiformen Schicht“ (IPL) die Axone der Bipolarzellen mit den Dendriten der Amakrin- und Ganglienzellen. Die IPL zeigt oft schon lichtmikroskopisch eine strukturelle Substratifizierung.

Die **Ganglienzellen** fassen die „inputs“ der weiter skleral innerhalb ihres rezeptive Feldes gelegenen Retinaneuronen zusammen und reagieren z.T. schon auf spezielle, von der Retina gefilterte Qualitäten des primären Bildes. Die aufbereiteten Bildsignale verlassen die Netzhaut über die Ganglienaxone, die zusammen den Großteil des Volumens des Tractus opticus erfüllen. Den Axonen gesellen sich Gliazellen hinzu und bindegewebige Hüllen. An der Stelle, an der die Ganglienaxone von vitreal nach skleral durch die Retina hindurchtreten, befinden sich keine Photorezeptoren. Dieser „blinde Fleck“ wird bei den Teleostei je nach Form „optische Papille“ oder „optische Furche“ genannt.

Die radialen Mächtigkeiten und die Dickenverhältnisse der Retinaschichten können innerhalb einer Retina variieren - je nach Photorezeptorausstattung und Art der Signalverarbeitung eines Netzhautareals.

### 1.2.2 Variationen bei den Teleostei

Augenkonstruktion und Retinafeinbau unterscheiden sich innerhalb der „Fische“ und selbst innerhalb der Teleostei weit stärker als bei den Tetrapoden. Die Gründe dafür sind möglicherweise in der Plastizität des Bauplanes dieser ursprünglichen Vertebratengruppe (ca.  $2 \cdot 10^5$  rezent beschriebene Arten), sicher aber in der großen Bandbreite möglicher photischer Situationen unter Wasser zu suchen. Je nachdem, ob ein Fisch tag-, dämmerungs- oder nachtaktiv ist, ob er nahe der „Luftunterfläche“ oder in der Tiefsee lebt, ob er ein pelagischer Schwarmfisch, ein einsamer Sandfisch oder ein Bewohner hochstrukturierter Lebensräume (Phytal, Korallenriff) ist und auch in Abhängigkeit von seiner Ernährungsweise (Schwimmjäger, Lauerjäger, Planktonfresser, etc.) ändern sich die Anforderungen an den Körperbau im Allgemeinen, sowie die Ansprüche an das visuelle System im Speziellen. Desgleichen gilt natürlich auch für metamorphosierende Fische, die während der Ontogenese den Lebensraum wechseln - z.B. die pelagische Plattfischlarve beim Übergang zum Bodenleben (WAHLERT 1961) oder die katadromen (z.B. *Anguilla*) und anadromen Wanderfische (z.B. *Salmo*).

Während morphologische Spezialbildungen von Knochenfischaugen augenfällig sind (z.B. BONE & MARSHALL 1985; BORWEIN & HOLLENBERG 1973) erscheinen ihre Retinae im Artenvergleich makroskopisch meist relativ einförmig. Dennoch zeigen sich hier auf mikroskopischer, chemischer und physiologischer Ebene z.T. gravierende Unterschiede. Frühe Hinweise darauf finden sich z.B. bei WALLS (1942). Selbst innerhalb der Retina eines Fischauges können regional sehr unterschiedliche Organisationsmerkmale beobachtet werden (Abb. 1.5).

Die Zapfen der Mammalia sind über weite Bereiche der ihnen zur Verfügung stehenden Retinafläche stochastisch verteilt (z.B. STEINBERG et al. 1973, Ausnahme: Fovea), die Zapfen der Knochenfische dagegen sind in der Regel in sehr regelmäßigen und stabilen Mustern angeordnet. Sie sind auf verschiedenen tangentialen Schnittebenen durch die Photorezeptorschicht mehr oder weniger gut zu erkennen und werden meistens auf dem Niveau der Ellipsoide beschrieben - unterschiedliche Formen dieser sog. „Zapfenmosaik“ werden beobachtet (z.B. LYALL 1957b; ENGSTRÖM 1963b; ENGSTRÖM & AHLBERT 1963; AHLBERT 1969; BATHELD 1970; WAGNER 1972). Auf eine „verblüffende Ähnlichkeit“ mit dem hochgeordneten Rezeptormuster im Facettenauge der Arthropoda weisen z.B. WATERMAN & FORWARD (1970) hin.

Am häufigsten werden **quadratische Muster** aus Doppel- und Einzelzapfen gefunden: Ausgehend von einer Grundmatrix aus Doppelzapfen, die in gegeneinander um  $\frac{1}{2}$  Strukturperiode versetzten Reihen stehen, können die Hälfte oder alle der verbleibenden Lücken von Einzelzapfen besetzt werden. Muster mit einem Zahlenverhältnis der Doppelzapfen zu den Einzelzapfen von 1:1 findet man z.B. im Retinafundus von Guppies (Abb. 1.5G), solche mit einem Verhältnis von 2:1 z.B. bei Makrelen, Drachenköpfen und Flußbarschen (Abb. 1.5D und LYALL 1957b: tab. 1). Ein Übergang vom 1:1- zum 2:1-Muster während der Ontogenie ist für Lachse beschrieben (LYALL 1957a; BOWMAKER & KUNZ 1987; BROWMAN & HAWRYSHYN 1992; NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN 1996): Sie besitzen als Jungtiere UV-empfindliche, kurze Einzelzapfen, verlieren diese aber hormonbedingt, dem vorangegangenen Entwicklungs- und Differenzierungsmuster vom Fundus zum Rand hin folgend, binnen 1-2 Jahren wieder. Es finden auch reversible Musteränderungen im Zuge der Retinomotorik statt (KUNZ 1980; WAHL 1994).

Weitere Elemente, die ein Quadratmuster charakterisieren, sind die Ausrichtung der langen Halbachsen der Doppelzapfenellipsoide, das unterschiedliche Kontrastierverhalten der Zwillingzapfenpartner (LYALL 1957b: fig. 2), das physiologische „Farbmuster“ der Zapfen (FERNALD 1989: fig. 11.4), die Einstreuung von untypischen Zapfen (LYALL 1957b: fig. 4) oder auch die Regelmäßigkeit der Zellanordnung bzw. der Zahlenverhältnisse.

Eine zweite, relativ häufige Zapfenanordnung folgt einem **Reihenmuster**, wie es z.B. im Retinafundus des Zebrafisches (Abb. 1.5E) zu finden ist: zwischen Doppelzapfenreihen liegen mehr oder weniger regelmäßig angeordnet die Einfachzapfen. Es spricht einiges dafür, daß bei den meisten Arten an der Ora serrata zunächst Doppelzapfenreihen gebildet werden - evtl. entsprechend der ursprünglichen Lage der Mitosespindeln - und sich die verschiedenen Fundus-Muster durch Hinzutreten von Einfachzapfen und ggf. Drehung von Doppelzapfen entwickeln (LYALL 1957b; AHLBERT 1969; CAMERON & EASTER 1993). Vergleichbare „Reihen“ zeigen sich auch in der Form am Netzhautrand gelegener Ganglienzell-Dendritenbäume (KOCK & REUTER 1978; HITCHCOCK & EASTER 1986).

Ungewöhnlich ist das triangulare Muster im Retinafundus des Hechtes *Esox lucius* (Abb. 1.5F): diese Anordnung führt zu einem Verhältnis von 3 Doppel- zu 2 Einzelzapfen. Für manche Arten wird auch das Fehlen eines jeglichen Zapfenmusters angegeben (z.B. *Cyprinus carpio*, *Rutilus rutilus*, *Scardinius erythrophthalmus*).



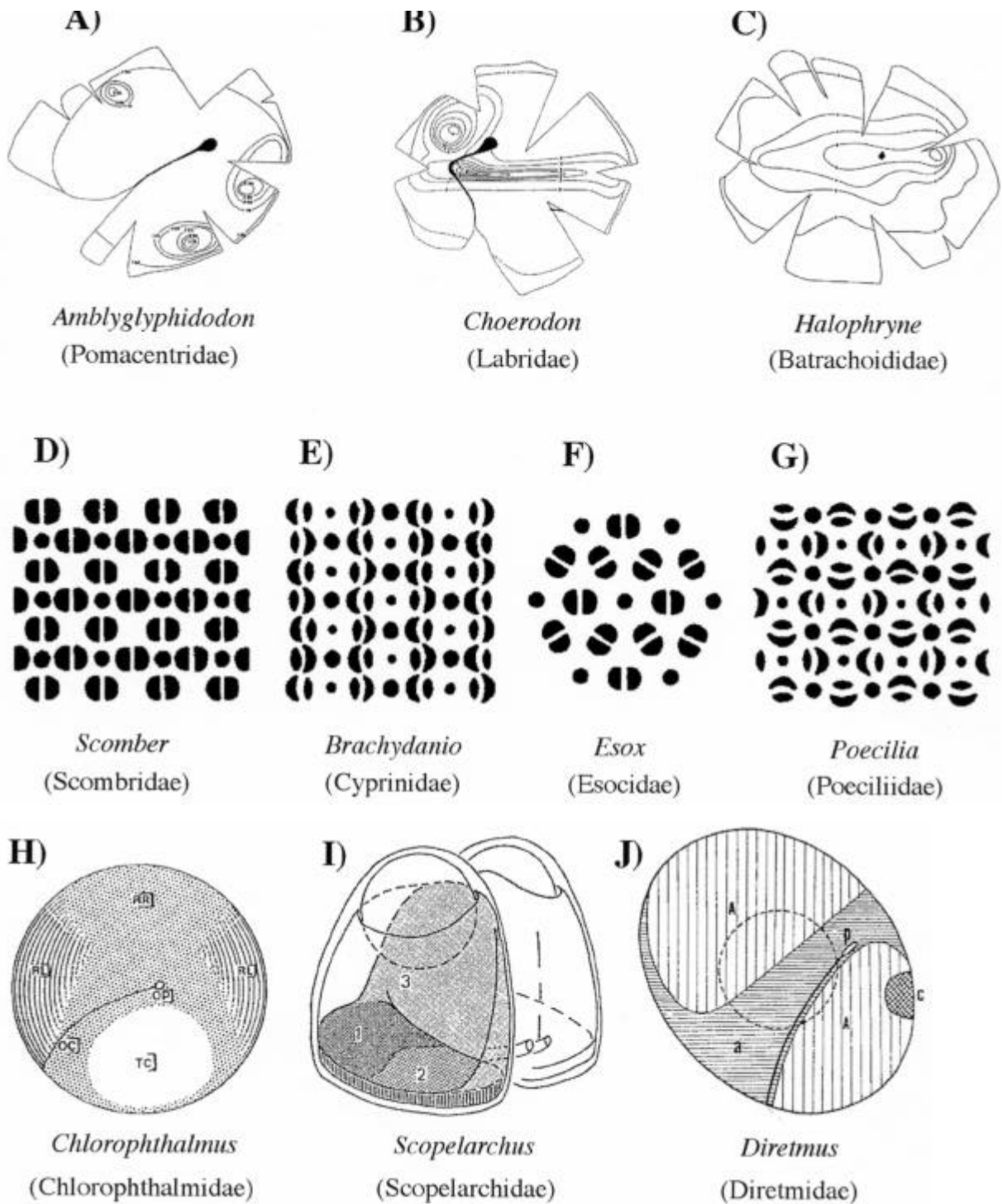


Abbildung 1.5: Die Netzhaut der Teleostei - Variationen des Grundplanes

- A-C) Unterschiedliche Rezeptordichteverteilungen bei drei Riff-Fischarten (verändert nach COLLIN & PETTIGREW 1988).
- D-G) Vier typische Zapfenmuster: quadratisch 2:1, reihig, triangulär und quadratisch 1:1 bei Makrele (*Scomber*), Zebrafisch (*Brachydanio*), Hecht (*Esox*) und Guppy (*Poecilia*) (aus WAGNER 1972).
- H-J) Drei Beispiele für Retina-Regionierungen - die Buchstaben bzw. Zahlen in den unterschiedlich schraffierten Bereichen stehen für verschiedene Rezeptormuster (aus SOMIYA 1980 (H), LOCKET 1970 (I) und MUNK 1966b (J)).

Verschiedene Hypothesen zur Funktion von Zapfenmustern finden sich in der Literatur meist nur in angedeuteter Form:

FERNALD (1989) hält Zapfenmuster für eine Folge dichter Packung, die bei kurzbrennweitigen Linsen und damit geringen Projektionsstrecken erforderlich sei, um eine passable Winkelauflösung zu erzielen, aber auch für eine notwendige Voraussetzung, daß verschiedene Farbkanäle die gleiche Sehschärfe erhalten (vgl. mit der Verteilung der Farbpixel auf einem Fernsehbildschirm). Von einer „optimierten Raumfrequenzempfindlichkeit“ sprechen auch schon WAGNER (1972) und FERNALD (1983). Die räumliche Nähe von Rezeptoren unterschiedlichen Spektraltyps ist möglicherweise auch für die Kontrastbildung durch laterale Inhibition über die Verschaltung mit Horizontalzellen und/oder für direkte exzitatorische Wechselwirkungen vorteilhaft (NORMAN et al. 1984).

Die geometrisch regelmäßige Anordnung von Zapfen könnte ferner im Dienste der Bewegungswahrnehmung stehen (z.B. WAGNER 1976; MARC & SPERLING 1976; BOEHLERT 1978). Aufgrund der stark eingeschränkten Sichtweiten unter Wasser sei die Detektion von Bewegungen oft erfolgversprechender als eine besonders hohe Sehschärfe.

Der meist hohe Anteil der Doppelzapfen in den Retinae der Knochenfische wird vor allem in drei Richtungen gedeutet. Zum einen könnte die große Querschnittsfläche der Doppelzapfenellipsoide und die vergleichsweise langen Außenglieder der Zellpaare die Lichtempfindlichkeit des photopischen Systems erhöhen und den Fisch damit tiefere Wasserschichten bzw. Dämmerungsphasen besser erschließen lassen (LYALL 1957b; SNYDER 1973). Dafür spräche auch die verzögerte retinomotorische Bewegung der Doppelzapfen gegenüber den Einzelzapfen bei der Dunkeladaptation (KUENZER & WAGNER 1969). Zum anderen könnten Doppelzapfen, da sie im langwelligen Bereich des Spektrums empfindlich sind, unter Wasser möglicherweise größere Sichtweiten erzielen als die blauempfindlichen Einzelzapfen (das kontrastvermindernde Streulicht ist vorwiegend kurzwellig) und auch eine bessere spektrale Trennschärfe des Rot-Grün-Gegenfarbenmechanismus unterstützen (RICHTER & SIMON 1974).

Schließlich werden die Zapfenmuster auch bezüglich ihrer Eignung als Analytoren für linear polarisiertes Licht diskutiert (WATERMAN & FORWARD 1970; YOUNG & MARTIN 1984; CAMERON & PUGH 1991; ROWE et al. 1991; NOVALES FLAMARIQUE et al. 1998).

Noch zwei weitere Bauplanvarianten zeigen, wie plastisch der Grundplan der Teleostier-Retina im Anpassungsgeschehen an die photischen Bedingungen - hier speziell „Schwachlicht“ - sein kann.

Bei den Mycopidae (MCEWAN 1938) und Scopelarchidae (LOCKET 1971a) sind die Photorezeptoren zu **Gruppen** zusammengefasst, die als rezeptive Einheiten angesehen werden. Sie liegen eingebettet zwischen mächtigen Ausläufern des Pigmentepithels und werden dabei von tapetalem Material flankiert (vgl. Kap. 1.2.1 „rauhes Tapetum“).

Bei den Anguilliformes (z.B. SHAPLEY & GORDON 1980; HEB et al. 1995, 1998) und verschiedenen Tiefseefischen (z.B. MUNK 1966a; ALI & ANCTIL 1976; LOCKET 1970, 1977, 1980) liegen die Stäbchen in mehreren **Etagen** hintereinander. Dieses sog. „multiple bank retinae“ dürften ein leistungsfähiges skotopisches System darstellen, das zumindest sehr lichtempfindlich ist, evtl. sogar relativ scharfe Bilder erzeugen und eine gewisse Farbunterscheidung gestatten könnte (DENTON & LOCKET 1989). Ein wahres „Hochhaus“ an Stäbchenetagen findet man beim Alepocephaliden *Bajacalifornia drakei*: 28 Bänke hinter einer tief eingeschnittenen Fovea dürften die schnelle und genaue Fixierung schwacher Biolumineszenz-Blitze fördern und damit auch den Jagderfolg (LOCKET 1985, 1992).

Nicht selten wurde die Retinastruktur eines Knochenfisches anhand eines einzelnen Netzhautfragments beschrieben, z.T. ohne Angaben zur untersuchten Region (z.B. ALI & ANCTIL 1976). Dabei kann gerade die **Regionierung** wertvolle Informationen enthüllen über die potentiellen Sehfähigkeiten des Fisches im Besonderen und über das Anpassungsgeschehen von Augen an die photische Umwelt im Allgemeinen.

Regionale Unterschiede in der Retina bestehen vor allem bezüglich der Photorezeptorzusammensetzung (z.B. MUNK 1966b), der PE-Architektur (z.B. WUNDER 1930), des Zapfenmusters (s.o.) und der Photorezeptordichte (z.B. O'CONNELL 1963; COLLIN & PETTIGREW 1988), aber auch in den Dicken und Dickenverhältnissen der Retinaschichten (ALI & KLYNE 1985), im Konvergenzgrad und bezüglich der Verschaltungsmuster.

Auffällig sind in diesem Zusammenhang sog. „Areae“ in der ventralen oder temporalen Retina mit erhöhter Zapfen- und erniedrigter Stäbchendichte, die bei geringer neuronaler Konvergenz eine erhöhte Sehschärfe des photopischen Systems im frontalen bis dorsalen Gesichtsfeld sehr wahrscheinlich machen. Damit korreliert sind eine dünne ONL, eine dicke INL und eine hohe Ganglienzell-dichte. Andererseits verschiebt sich das Verhältnis von Zapfen zu Stäbchen in der dorsalen Retina oft zugunsten der Stäbchen. Dieser Netzhautbereich „blickt“ in die untere, im Freiwasser dunklere, Hemisphäre - die ONL ist dort dick, die INL dünn.

### 1.3 Bisherige Untersuchungen zur Netzhaut der Clupeiformes

Nur wenige Familien der Knochenfische wurden systematisch bezüglich ihrer Augen- und Netzhautstrukturen untersucht (z.B. Labridae: ENGSTRÖM 1963a). Entweder hat man versucht an einem Modellorganismus möglichst viele Informationen über Struktur, Physiologie und visuell gesteuertes Verhalten zu erfahren (z.B. Goldfisch, Zebrafisch), oder es wurden Besonderheiten einzelner Arten dargestellt (z.B. *Anableps anableps*: BORWEIN & HOLLENBERG 1973; *Toxotes jaculatrix*: LÜLING 1958). Die Clupeiformes sind primär marine Fische mit relativ ursprünglichen Merkmalen und weltweit von großem wirtschaftlichen Interesse. Untersuchungen zur ihren Retinae sind eher sporadisch zu finden und nicht selten fischereibiologisch motiviert.

#### 1.3.1 Clupeiformes ohne Engraulididae

In diesem Kapitel werden die bisher publizierten Befunde zur Struktur und zur Funktion der Retinae der Heringsfische zusammengetragen, wobei die Familie der Sardellen (Engraulididae) ausgeklammert wird - ihr ist das nachfolgende Kapitel 1.3.2 gewidmet.

Die Ordnung der Clupeiformes (Heringsfische *sensu latu*) gliedert sich nach WHITEHEAD 1985 und FIEDLER 1991 in zwei Unterordnungen, die Denticipitoidei (Zahnheringe) und die Clupecoidei (Heringsfische *sensu strictu*). Recherchen nach Veröffentlichungen über die Augen der Denticipitoidei verliefen ergebnislos. Die Clupecoidei zerfallen in vier Familien: neben den Engraulididae (Sardellen) gibt es die Clupeidae (Heringe), die Pristigasteridae (Beilbauchheringe) und die Chirocentridae (Wolfsheringe, vgl. Abb. 1.6). Veröffentlichungen zur Netzhaut der Pristigasteridae konnten nicht gefunden werden, die Chirocentridae werden nur beiläufig erwähnt (s.u.). Insgesamt 33 Arbeiten zum Auge bzw. zur Retina von Clupeidae wurden ausgewertet, in denen Vertreter der Unterfamilien Clupeinae, Alosinae und Dorosomatinae behandelt werden - über die Dussumierinae und die Pellonulinae gibt es bislang keine Daten. Eine Übersicht über wichtige Strukturmerkmale der bisher untersuchten Clupecoidei-Retinae gibt Tabelle 1.1 (aus 12 Arbeiten).

Von *Chirocentrus dorab* wird berichtet, er habe eine mit 500µm verhältnismäßig dicke Retina, ein Pigmentepithel von 184µm Mächtigkeit, eine IPL von 80µm und eine „gut entwickelte“ INL (VERRIER 1928; siehe auch MCEWAN 1938). Alle weiteren Angaben beschränken sich auf die Clupeidae.

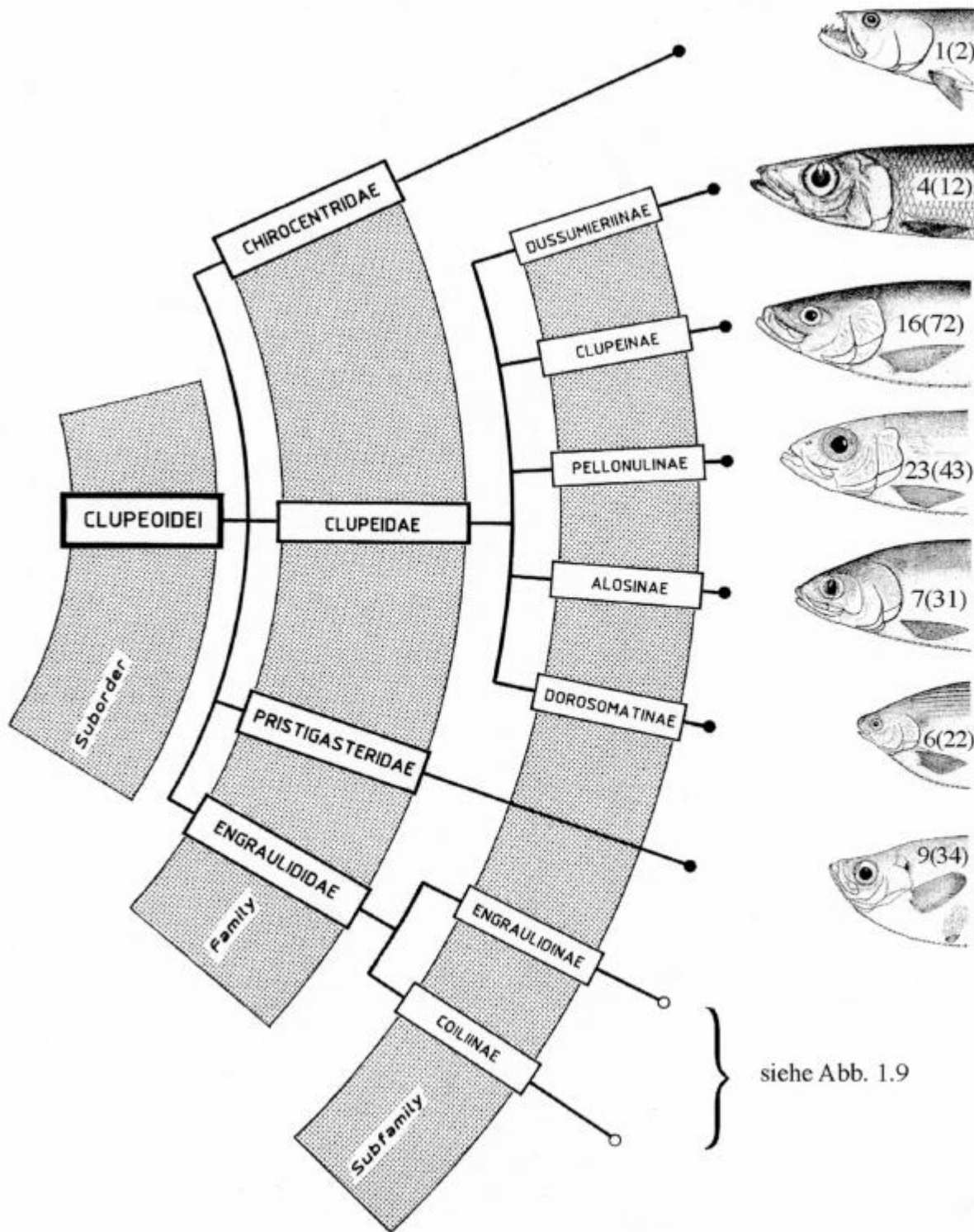


Abbildung 1.6: System der Clupeoidei (nach WHITEHEAD 1985)

Ü

Die Zahlen vor den Klammern geben die Anzahl der Gattungen, die Zahlen in den Klammern die Anzahl der beschriebenen Arten an.

Für die Clupeidenaugen häufig gültige Merkmale sind gut entwickelte okulo-motorische Muskeln, die partiell geschlossenen „Fettlider“ (vertikaler Spalt z.B. bei *Clupea*) und die von ventral nach temporal verlaufende, zum Fundus hin konvex gekrümmte optische Furche, an der ein reduzierter Processus falciformis die Blutversorgung des Auges unterstützt (WHITEHEAD 1985; O’CONNELL 1963 und Abb. 1.3).

Die Photorezeptorausstattung bietet neben den Stäbchen auch Einfach- und Doppelzapfen. Dreifachzapfen wurden nur bei *Alosa* vereinzelt beobachtet. Die Einfachzapfen sind meist von „kurzer“ Bauart, „lange“ Zapfen sind bei der Sprotte und beim Hering nachgewiesen. Die Doppelzapfenpartner sind vorwiegend von gleichem Erscheinungsbild (Zwillingszapfen, z.B. *Alosa*, *Clupeonella*), für *Clupea* werden unter Vorbehalt „unequal double cones“ angeführt (s. Tab.1.1). Tapeta lucida stellen die Ausnahme dar und wurden bisher nur für *Dorosoma* (Dorosomatinae) und *Brevoortia* (Alosinae) beschrieben. Im Retinafundus zeigen alle untersuchten Arten ein Reihemuster aus Doppelzapfen, zwischen die mehr oder weniger regelmäßig Einzelzapfen eingestreut sind (3:1 bis 10:1). Areae erhöhter Zapfendichte mit einem Quadratmuster (2:1, Typ 1 nach LYALL 1957b) finden sich ventral (z.B. *Alosa*) oder ventro-temporal (z.B. *Sardinops*).

Retinadaten zu den **Dorosomatinae** gibt es bisher nur für einen Vertreter: *Dorosoma cepedianum*. BRIDGES (1964) findet für diese Art Sehpigmente mit  $\lambda_{\max}=500\text{nm}$  (skotopisch) und  $\lambda_{\max}=521\text{nm}$  (photopisch). NICOL et al. (1973) erwähnen das Vorhandensein eines weißen, nicht lipoiden retinalen Tapetum lucidum, welches kurz darauf als „gruppierendes“, diffus reflektierendes Tapetum (Typ 2 nach ZYZNAR 1975b) auf der Grundlage winziger Pteridinkristallite charakterisiert wird (ZYZNAR & NICOL 1973).

---

**Tabelle 1.1: Strukturmerkmale der bisher untersuchten Clupeoidei-Retinae** >

Zapfentypen: **E** Einzelzapfen (**K** kurze, **L** lange), **D** Doppelzapfen (**Du** ungleiche, **Dg** gleiche), **T** Dreifachzapfen, ? Angabe fraglich.

Zapfenmuster: **Q** Quadratmuster der Area, **R** Reihemuster, **S** Stäbchen, **Z** Zapfen, **d** dorsal, **f** Fundus, **n** nasal, **t** temporal, **v** ventral, **vt** ventro-temporal, (3:1-8:1) Zahlenverhältnis Doppelzapfen: Einfachzapfen.

Tapetum: **Pt** Pteridin, + nachgewiesen, - fehlend, **leeres Feld**: keine Angabe

Familie (Unterfamilie)	Gattung	Art	Zapfen- typen	Zapfen- muster	Tape- tum	Autor(en)
Clupeidae						
(Pellonulinae)						-
(Dussumieriinae)						-
(Dorosomatinae)	<i>Dorosoma</i>	<i>cepedianum</i>			Pt	ZYZNAR & NICOL 73
					+	NICOL et al. 73
(Alosinae)	<i>Alosa</i>	<i>pseudoharengus</i>	K D T	Q (v) R (f)		ALI & ANCTIL 76
		<i>caspia caspia</i>	K Dg	R		ENGSTRÖM 63b
		<i>sapidissima</i>	L(?)K D	Q (v) R (n) 3:1-8:1	-	O'CONNELL 63
	<i>Brevoortia</i>	<i>patronus</i>			+	NICOL et al. 73
(Clupeinae)	<i>Clupea</i>	<i>pilchardus</i>	E D	R		MCEWAN 38
			R. duplex	Zapfenarea 1S:9Z?		VILTER 50
			R. duplex	Zapfenarea		BABURINA 55
		<i>pallasii</i>	R. duplex	Zapfenarea		VERHEIJEN 59
			Dg	Rvertikal		NOVALES F. & HAWRYSHYN 98b
		<i>harengus</i>	L K Dg Du?	Q (vt) R (f)		ENGSTRÖM 63b
			larval nur Zapfen	larval ohneArea		BLAXTER & JONES 67
					-	NICOL et al. 73
			L K D	QR		ALI & ANCTIL 76
			Entwicklung			SANDY & BLAXTER 80
		<i>sprattus</i>	L K Dg Du?	QR		ENGSTRÖM 63b
	<i>Sardinops</i>	<i>caerulea</i>	K D	Q (vt) R (d) 5:1-10:1	-	O'CONNELL 63
	<i>Clupeonella</i>	<i>delicatula</i>	K Dg	R 1S:7Z?		BABURINA 55
		<i>delicatula grimmi engraulisformis</i>	K D	R 1S:7Z		ENGSTRÖM 63b
	<i>Harengula</i>	<i>jaguana</i>	K D	Q (vt) R (d)		ALI & ANCTIL 76

Schon ein wenig umfangreicher ist die Datenlage zu den Augen und Retinae der **Alosinae**. BAYLOR & SHAW (1962) wissen zu berichten, daß *Alosa pseudoharengus* eine laterale Weitsichtigkeit von +8 Dioptrien (frontal +2 bis +5) und *Brevoortia tyrannus* von +4 Dioptrien besitzen (gemessen am lebenden Fisch unter Wasser, siehe aber FERNALD 1989). Sie vermuten, daß dadurch im trüben Wasser ein Kontrastsehen auf Kosten der Sehschärfe unterstützt werden könnte (vgl. WAGNER et al. 1960). *A. pseudoharengus* und *A. sapidissima* bildet im Retinafundus ein Reihemuster aus Zwilling- und Einfachzapfen aus (O'CONNELL 1963; ALI & ANCTIL 1976; auch bei *A. caspia* gefunden: ENGSTRÖM 1963b), in der ventralen Retina dagegen eine Area mit einem 2:1-Quadratmuster und einer gegenüber dem Fundus 4-fach erhöhten Zapfendichte. Auch Dreifachzapfen sind bei *A. pseudoharengus* vorhanden. SCHWANZARA (1967: tab. 4) gibt für *A. pseudoharengus* eine Purkinje-Shift von  $\lambda_{\max}=504\text{nm}$  (skotopisch) nach  $\lambda_{\max}=528\text{nm}$  (photopisch) an und NICOL et al. (1973) finden für *Brevoortia patronus* ein weißes, nicht lipoides Tapetum.

Die Retinae einiger **Clupeinae** sind verhältnismäßig gut untersucht. Strukturdaten konnte ich für 9 Vertreter ausfindig machen. In allen Fällen liegt ein Grundmuster aus Zwillingzapfenreihen vor (*Clupea harengus* und *C. sprattus* evtl. auch ungleiche Doppelzapfen) bzw. ein 2:1-Quadratmuster in der ventro-temporal gelegenen Area. Die Area wird auf einer Seite scharf begrenzt durch die „optical cleft“ und weist bei *S. caerulea* eine 10-fach erhöhte Zapfendichte gegenüber dem Zentrum des dorso-nasalen Bogens auf (O'CONNELL 1963). Typischerweise findet man in der Area nur wenige bis keine Stäbchen, die Zapfen sind länger und schlanker als die anderer Retinaregionen und scheinen, anders als die Funduszapfen, photomechanisch nicht aktiv zu sein - in einer stäbchenfreien Area liegt ja auch lokal keine Retina duplex vor (z.B. VILTER 1950; BABURINA 1955; VERHEIJEN 1959). Es scheint grundsätzlich gültig zu sein, daß die Retinomotorik in der Individualentwicklung erst mit dem Erscheinen der Stäbchen beginnt, z.B. beim Hering etwa in der 6. Lebenswoche: Die Heringslarven schlüpfen mit gut entwickelten Augen, die allerdings zunächst nur Zapfen aufweisen:  $\lambda_{\max}=450\text{nm}$ ,  $520\text{nm}$  und  $600\text{nm}$  (BLAXTER & JONES 1967; BLAXTER 1968; SANDY & BLAXTER 1980).



### 1.3.2 Engraulididae

Das bisher publizierte Wissen über die Retinae der Engraulididae ist verhältnismäßig übersichtlich. In der Computerdatenbank BIOSIS erzielt eine Anfrage nach Publikationen der letzten 25 Jahre zur Stichwortkombination „fish“ AND „retina“ derzeit ca. 400 Treffer. Akribische Literaturrecherchen erbrachten dagegen nur 17 Arbeiten, die sich in irgendeiner Art und Weise mit den Augen von Sardellen befassen (Tab. 1.2). Darunter sind die von O'CONNELL 1963, FINERAN & NICOL 1977/1978, ZUEVA 1980 und HAWRYSHYN 1998b als die zentralen Publikationen zur Retinastruktur anzuführen. Das derzeit vorhandene Wissen über Sardellenaugen bezieht sich auf 6 Arten aus drei Gattungen der Engraulidinae, zur Unterfamilie Coiliinae ist bisher nichts bekannt. Im Folgenden werden die Kernaussagen der Publikationen zur Struktur bzw. zur Licht- und Spektralempfindlichkeit der Retinae der drei bisher untersuchten Gattungen der Engraulidinae (*Anchoa*, *Engraulis* und *Stolephorus*) zusammengefasst.

#### a) *Anchoa*

Der erste Hinweis zu Eigenschaften von *Anchoa*-Augen findet sich bei MUNZ (1958). Für *Anchoa compressa* gibt er ein Absorptionsmaximum retinaler Pigmente von  $\lambda_{\max}=508\text{nm}$  an und vermutet, daß ein  $A_1$ -Pigment (=Rhodopsin) vorliegt. Eine Differenzierung nach Photorezeptortypen erfolgt nicht, zudem sei die Probe leider verunreinigt gewesen. Den Beweis für das Vorhandensein eines  $A_1$ -Pigments erbringen ALI & HEUMANN (1972).

Ausführliche Beschreibungen zur Struktur eines Sardellenauges liefert erstmals O'CONNELL (1963): in seinem allgemeinen Aufbau entspricht es dem Teleostier-Grundplan, als Besonderheiten sind jedoch die fusionierten Augenlider, eine geradlinig verlaufende optische Furche und die nur schwach entwickelten Augenmuskeln zu betrachten. Auffällig ist auch das gut entwickelte System an Hyaloidgefäßen zwischen Retina und Glaskörper. O'CONNELL beschreibt u.a. die Retinae von *Engraulis mordax* und *Anchoa compressa* aus dem nördlichen Pazifik. Die Zusammensetzung der Photorezeptorschicht dieser Arten stellt sich für ihn lichtmikroskopisch wie folgt dar: Stäbchen und Doppelzapfen bilden abwechselnd parallele Reihen, einfache Zapfen sind nicht festzustellen. Zwischen den Sehzellen ziehen die Ausläufer des Pigmentepithels vitread z.T. bis hinab zur OLM. Die Dichteverteilung der „Doppelzapfen“ besitzt bei *E. mordax* ein ausgeprägtes, steiles Maximum im

**Tabelle 1.2: Publikationen zum Thema „Sardellenaugen“**

<b>untersuchte Art</b>	<b>Autor(en)</b>	<b>Publikations-jahr</b>	<b>Methode(n)</b>
<i>Engraulis encrasicolus</i>	McEWAN	1938	LM, Chemie
<i>Anchoa compressa</i>	MUNZ	1958	Spektroskopie
<i>Engraulis encrasicolus</i>	BORISOV & PROTASOV	1960	Verhaltensversuche
<i>Engraulis encrasicolus</i>	PROTASOV ET AL	1960	Verhaltensversuche, LM
<i>Engraulis mordax</i> <i>Anchoa compressa</i>	O'CONNELL	1963	LM, Chemie
<i>Engraulis mordax</i>	LOUKASHKIN & GRANT	1965	Verhaltensversuche
<i>Anchoa compressa</i>	ALI & HEUMANN	1972	Spektren
<i>Anchoa hepsetus</i> <i>Anchoa mitchilli</i>	NICOL ET AL	1973	TEM, Chemie
<i>Anchoa mitchilli</i>	ZYZNAR & NICOL	1973	Spektren, Chemie
<i>Anchoa mitchilli</i> <i>Anchoa hepsetus</i>	FINERAN & NICOL	1976	TEM
<i>Anchoa hepsetus</i> <i>Anchoa mitchilli</i>	FINERAN & NICOL	1977	TEM, Spektren
<i>Anchoa hepsetus</i> <i>Anchoa mitchilli</i> ( <i>Engraulis mordax</i> ) ( <i>Stolephorus sp.</i> )	FINERAN & NICOL	1978	TEM
<i>Engraulis encrasicolus</i>	ZUEVA	1980	TEM
<i>Engraulis mordax</i>	NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN	1998b	TEM, Elektrophysiologie

**LM:** Lichtmikroskopie, **TEM:** Transmissionselektronenmikroskopie

Der Atlas zur Retinastruktur der Fische von ALI & ANCTIL (1976), der als solcher bis heute nicht erweitert aufgelegt wurde, liefert nur eine knappe Zusammenfassung des Wissensstandes von 1975 ohne Abbildungen, die Publikationen von SVERDLICK (1940, 1955) konnten nicht eingesehen werden.

ventro-temporalen Quadranten (s. auch Kap. 4.2), ein weiteres, flaches Nebenmaximum am nasalen Retinarand und lokale Minima am dorsalen und ventralen Rand. Die Dichtewerte O'CONNELLS für die Retina von *Anchoa compressa* deuten auf eine qualitativ ähnliche Dichteverteilung hin, lassen aber deutlich geringere Dichtegradienten vermuten. In der temporalen Area ist die Zapfendichte wahrscheinlich nur ca. doppelt so hoch, wie im Fundus. Bei beiden Arten sind die Zapfen temporal schlanker und länger als nasal, wobei die Unterschiede bei *Engraulis* stärker zutage treten als bei *Anchoa*. Auch die Mächtigkeit der verschiedenen Netzhautschichten und die Zelldichten der Sekundär- und Ganglienneurone wurden bestimmt. Die Kernzahlenverhältnisse von Zapfen und Stäbchen in der ONL zeigen beispielsweise, daß im Bereich der Area die Stäbchendichte erniedrigt ist.

Die erste elektronenmikroskopische Darstellung eines Netzhautelements von Sardellen findet sich bei NICOL et al. (1973: Tafel 1). Der Radialschnitt durch die äußere Retina einer Larve von *Anchoa mitchilli* zeigt die nahezu radial verlaufenden Membranlamellen der Zapfenaußenglieder und regelmäßig gestapelte Kristallplättchen (bis 8 Lagen) im Pigmentepithel. ZYZNAR & NICOL (1973) charakterisieren das tapetale Material spektrochemisch als Guanin.

1976 publizierten FINERAN & NICOL ihren „Schnellschuß“ zur aberranten Feinstruktur der Zapfen von *Anchoa mitchilli* und *A. hepsetus*. Ihre sensationellen Befunde markieren sicherlich den Beginn der neueren Sardellenaugenforschung. Die nachfolgenden, sehr ausführlichen Arbeiten der gleichen Autoren (1977, 1978) haben den Anstoß zur vorliegenden Studie gegeben. Der Bauplan der Zapfen und des Pigmentepithels von *Anchoa* seien im Folgenden kurz skizziert:

Ungewöhnlich geformte Zapfen und „normale“ Stäbchen liegen abwechselnd in vertikalen Reihen. In einer Zapfenreihe („polycone“, Abb 1.7) wechseln sich regelmäßig zwei Zapfentypen ab: lange Zapfen mit einem keilförmigen Außenglied und einem akzessorischen Außenglied und kurze Zapfen mit einem Außenglied, das in zwei gleiche Lappen gespalten ist (ohne akzessorisches Außenglied). Die Außenglieder der kurzen Zapfen werden in ihrem distalen Teil von den Ellipsoiden der langen Zapfen teilweise umhüllt. Beide Zapfentypen bilden calycale Fortsätze und in der Kontaktzone der Ellipsoide auf der ventralen und der dorsalen Seite die „subsurface cisternae“.

Die Zapfenreihen sind gegeneinander versetzt, so daß gleichartige Zapfen benachbarter Reihen nicht genau nebeneinander zu liegen kommen und sind eng verzahnt mit den Fortsätzen der Pigmentepithelzellen. Die Spitzen der Pigmentepithelkeile spalten die Außenglieder der kurzen Zapfen auf die Hälfte bis  $\frac{3}{4}$

ihrer Länge in zwei Loben. Die Außenglieder der langen Zapfen reichen dagegen nach skleral bis auf die Höhe, in der die Fortsätze benachbarter PE-Zellen auseinanderweichen. Benachbarte Pigmentepithelkeile schließen eine sog. „cone unit“ ein und schirmen diese gegen benachbarte Zapfeneinheiten ab. Die Zapfeneinheit besteht aus einem langen Zapfen und aus dem jeweils angrenzenden Außengliedlobus der beiden benachbarten kurzen Zapfen. Regelmäßig angeordnete Spiegelplättchen aus Guanin in den PE-Fortsätzen flankieren die zunächst strukturell definierten Zapfeneinheiten. Diese räumliche Beziehung zwischen Polycone und PE-Zellreihen ist stabil und bleibt durch die Retinomotorik unbehelligt. Bei der Dunkeladaption elongieren die Zapfenmyoide gleichzeitig und mit gleicher Geschwindigkeit wie sich die PE-Fortsätze kontrahieren. Die Stäbchen zeigen eine gegenläufige photomechanische Bewegung.

Im Gegensatz zum Grundplan der Vertebratenzapfen - die Membranlamellen des Außengliedes stehen dort senkrecht zur Zellachse (und damit zum Lichtweg) - sind die Lamellen der Sardellenzapfen parallel zur Längsachse der Zelle orientiert, also gegenüber dem Grundplan um 90° verdreht. Die Lamellen des langen Zapfens verlaufen senkrecht zum Polycone, die der kurzen Zapfen parallel dazu. Die Membranfalten der beiden Zapfentypen sind demnach zueinander orthogonal (90°) ausgerichtet. Die Verbindungsstruktur zwischen Innen- und Außenglied ist bei beiden Zapfentypen eine stark modifizierte Cilienbasis, bei den Stäbchen entspricht sie dem Grundplan.

Die beschriebene Struktur der Anchovy-Retina wird gedeutet als Spezialisierung zur modalitätsspezifischen Wahrnehmung von linear polarisiertem Licht. Die parallel zum Lichtweg orientierten Membranfalten der Zapfenaußenglieder, die bei benachbarten Zapfen orthogonal zueinander stehen, können - im Zusammenwirken mit den tapetalen Spiegelplättchen - die strukturelle Grundlage für einen 2-Kanal-Analysator für linear polarisiertes Licht sein.

## **b) *Engraulis***

Allererste Hinweise zur Netzhautstruktur von Knochenfischen der Familie Engraulididae liefert MCEWAN (1938). Dort wird erwähnt, daß im retinalen Pigmentepithel von *Engraulis encrasicolus* Guanin und Melanin zu etwa gleichen Teilen vorliegen und die Vermutung geäußert, daß das Melanin das Guanintapetum im hellen Tageslicht maskieren könnte. Die ONL von *E. encrasicolus* sei mit 50µm relativ dick und zeige eine Schichtung in eine sklerale Lage länglicher Zapfenkerne und mehrere vitreale Lagen runder Stäbchenkerne.

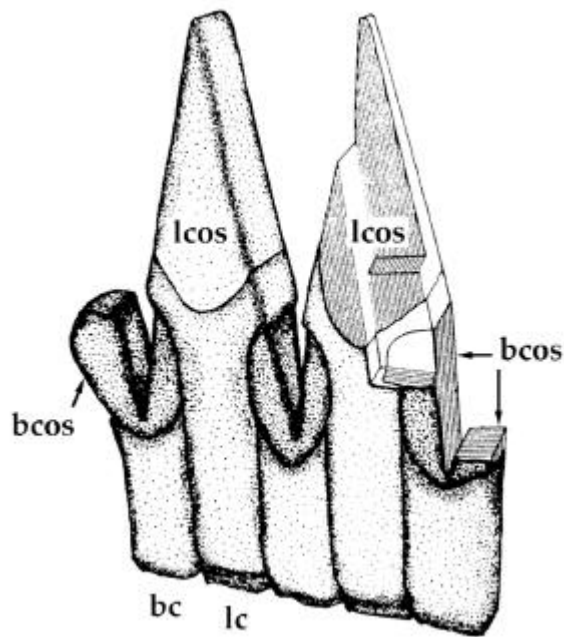


Abbildung 1.7: Der „Polycone“ der *Anchoa*-Retina (aus FINERAN & NICOL 1978)

**bc** kurzer Zapfen, **bcos** zweilappiges Außenglied des kurzen Zapfens,  
**lc** langer Zapfen, **lcos** Außenglied des langen Zapfens.

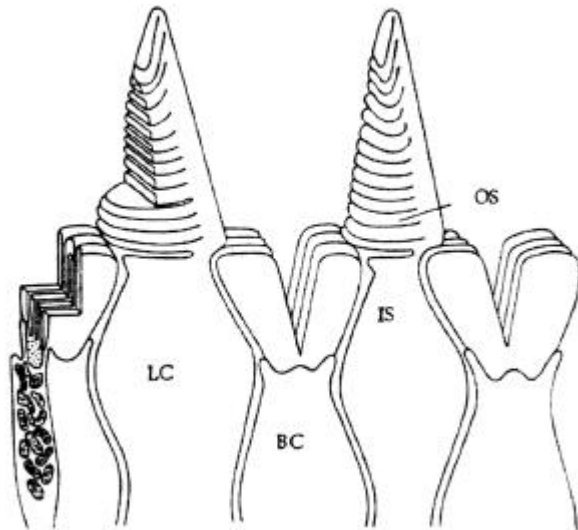


Abbildung 1.8: Der „Polycone“ der *Engraulis*-Retina (aus ZUEVA 1980)

**BC** kurzer Zapfen mit gespaltenem Außenglied, **IS** Innenglied des langen Zapfens,  
**LC** langer Zapfen, **OS** Außenglied des langen Zapfens.

Wie schon bei *Anchoa*, so gingen auch bei *Engraulis* genaueren Strukturuntersuchungen solche zur spektralen Empfindlichkeit des Auges voraus. BORISOV & PROTASOV (1960, zitiert bei BLAXTER 1964) und PROTASOV et al. (1960) zeigen mittels Verhaltensversuchen an *E. encrasicolus* eine Purkinje-Shift von  $\lambda_{\max}=560\text{nm}$  (photopische Bedingungen:  $>0.01\text{lux}$ ) nach  $\lambda_{\max}=500\text{nm}$  (skotopische Bedingungen:  $<0.01\text{ lux}$ ). Eine retinale Pigmentverschiebung sei schon ab Umgebungshelligkeiten von 0.1-1 lux nachweisbar.

Auch für die Gattung *Engraulis* stammt die erste detaillierte Augenuntersuchung von O'CONNELL (1963). Er beschreibt die Netzhaut von *Engraulis mordax* im Vergleich zu *Anchoa* (im vorigen Unterkapitel dargestellt). Darüber hinaus wird für *E. mordax* die Bewegung von Melaningranula im PE und die reziproke Längenänderung der Myoide der zwei Photorezeptortypen bei der Dunkeladaptation nachgewiesen (O'CONNELL 1963: fig.10). In diesem Zusammenhang wird ein „okklusibles“ Guanintapetum für die Engraulididen beschrieben und als Anpassung an das Sehen in trüben Gewässern oder bei Schwachlicht diskutiert.

1965 folgten Verhaltensversuche zum Farbunterscheidungsvermögen, zu den Sehschwellen und zu Farbpräferenzen von *Engraulis mordax* (LOUKASHKIN & GRANT). Die Kette der Farbpräferenzen stellt sich folgendermaßen dar:

Grün > Blau > Weiß > Rot > Dunkelheit > starkes UV

*E. mordax* sei ein besserer Grün-Blau-Unterscheider als die pazifische Sardine (*Sardinops caerulea*), diese dafür der bessere Blau-Weiß-Unterscheider (LOUKASHKIN & GRANT 1959). Ein eindeutiges Farbunterscheidungsvermögen wird bewiesen, da die Sardellen grünes Licht auch vor helleren Lichtern anderer Farbe bevorzugt anschwimmen. Bezüglich der Helligkeit wählen die Tiere mittlere Intensitäten, ein Umstand, der evtl. zu einer vertikalen Einnischung in mittlere Schichten des grünlichen Küstenwassers führen könnte.

FINERAN & NICOL vermuten schon 1976, daß die „Doppelzapfen“, die O'CONNELL 1963 für *E. mordax* beschreibt, in Wirklichkeit Polycone-Einheiten sein sollten. Ihre Empfehlung „Therefore, we suggest that a reexamination of the cones of *Engraulis* by electron microscopy would be of considerable interest“ nehmen sie im Rahmen ihrer ausführlichen Studien 1978 selbst war und liefern dort kurze, exploratorische Hinweise zur Zapfenfeinstruktur der Engraulididae *E. mordax* (Nordpazifik) und *Stolephorus* sp. (Indonesien). Bei grundsätzlich gleicher Organisation wie *Anchoa*, werden die Außenglieder der kurzen Zapfen von *E. mordax* als „weniger gut entwickelt“ beschrieben. Neben den Polycones soll *E. mordax* in machen Netzhautbezirken auch Einfach- und Doppelzapfen in variabler Zusammensetzung - dort ohne begleitende Guaninplättchen - besitzen. Die Lamellen der Außenglieder der

langen Zapfen von *Engraulis* seien nicht immer genau radial orientiert, wie es bei *Anchoa* der Fall ist, sondern mehr oder weniger schief oder gar tangential, d.h. „normal“.

TEM-Aufnahmen von Photorezeptoren und von Pigmentepithelzellen der Schwarzmeer-Sardelle *Engraulis encrasicolus ponticus* erscheinen erstmals in einem russischen Artikel (ZUEVA 1980). Die Architektur der äußeren Retina entspricht hier weitgehend der von *Anchoa* (FINERAN & NICOL 1976-1978): Polycones in enger Verzahnung mit dem Pigmentepithel wechseln sich mit Stäbchenreihen ab, die PE-Keile enthalten Guaninplättchen in der charakteristischen, regelmäßigen Anordnung, die kurzen Zapfen sind gespalten und besitzen radial orientierte Außengliedlamellen. Die langen Zapfen dagegen haben ein tangential gefaltetes Membransystem, wie die Zapfen der weitaus meisten Wirbeltiere, allenfalls an den Spitzen ihrer Außenglieder könne eine Kippung erfolgen (Abb. 1.8).

Kürzlich veröffentlichten NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN (1998b) eine vergleichende Arbeit zur Feinstruktur und Elektrophysiologie der Retinae von *Clupea harengus* und *Engraulis mordax*. Sie beschreiben vertikal verlaufende Polycones im Retinafundus der nordpazifischen Sardelle von genau der Struktur, die FINERAN & NICOL (1978) bei *Anchoa* gefunden haben.

### c) *Stolephorus*

*Stolephorus* sp., eine Sardelle aus indonesischen Gewässern, besitzt nach beiläufigen Angaben von FINERAN & NICOL (1978) grundsätzlich den gleichen Aufbau der äußeren Netzhaut wie *Anchoa*. Die Außenglieder der kurzen Zapfen werden als „vergleichsweise voll entwickelt“ beschrieben, allerdings seien die Außengliedlamellen der langen Zapfen bei *Stolephorus* wie auch bei *Engraulis* nicht immer strikt radial orientiert, sondern mehr oder weniger schief bis tangential.

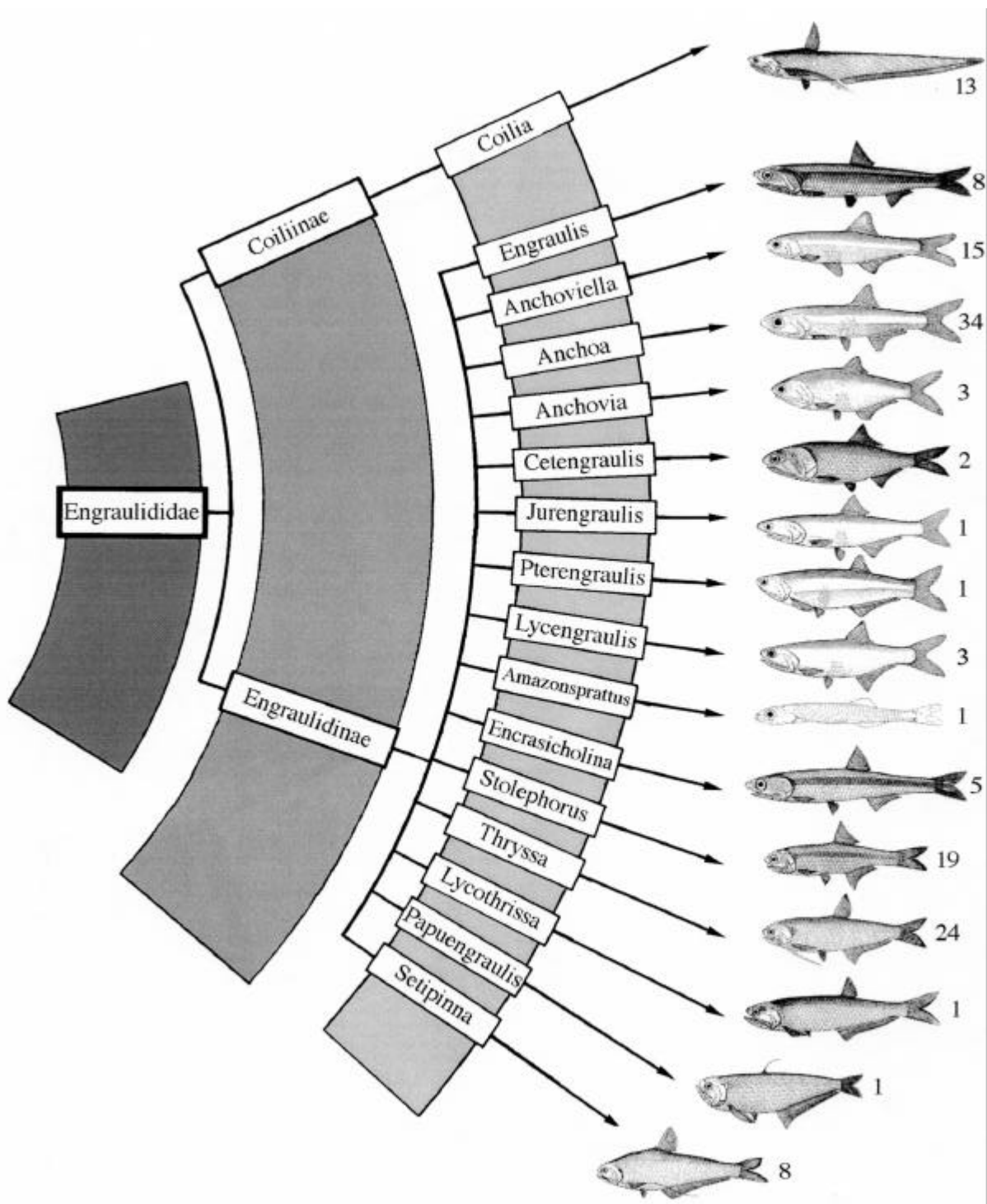


Abbildung 1.9: Das System der Engraulididae (nach WHITEHEAD et al. 1988)

Die Zahlen geben für die jeweilige Gattung die Anzahl der beschriebenen Arten an.



- Diese Seite bleibt zum Zweck einer ansprechenderen Darstellung  
der folgenden Unterkapitel 1.4 und 1.5 leer -

## 1.4 Möglichkeiten der Retinastrukturforschung

Es ist zwar nicht möglich, sich eine lebendige Vorstellung davon zu machen, wie ein Knochenfisch seine Umgebung sieht, dennoch gibt es experimentelle Zugänge zum Verständnis einiger Sehleistungen, für die uns artfremde Augen bzw. Retinae eingerichtet sind: Neben physikalisch-optischen, spektro-chemischen, elektro- und verhaltensphysiologischen Ansätzen spielt auch die Strukturforschung - eigenständig oder ergänzend - eine wichtige Rolle bei der Erforschung der Augen. Meist stehen dabei funktionsmorphologische oder ökophysiologische Fragen im Vordergrund, aber auch phylogenetische und taxonomische Themen können bearbeitet werden.

Die Fischretina ist nicht zuletzt deswegen ein begehrtes Forschungsobjekt, weil sie einen verhältnismäßig übersichtlich organisierten Teil des Gehirns und damit ein potentiell „verstehbares“ Nervennetz darstellt und weil sie - in Grenzen - als Modellnetzhaut für höhere Vertebrata fungieren kann.

### Die physikalischen Zwänge: Funktionsmorphologie

Die meisten Wirbeltiere verlassen sich in wesentlichen Teilen ihrer Orientierung, Kommunikation und Verhaltenssteuerung auf die Leistungen ihrer hochentwickelten „Kameraaugen“. Für die Entwicklung und die Funktionsfähigkeit dieser Organe waren bzw. sind sicherlich die physikalischen Zwänge der Strahlen- und Wellenoptik mit formgebend - folglich sind die optischen Eigenschaften und die Geometrie der Elemente des dioptrischen Apparates und der Retina das Resultat eines erfolgreichen Anpassungsprozesses (z.B. FERNALD 1989). Im Umkehrschluß sollten daher Augenstrukturen, makroskopische wie submikroskopische, gewisse Schlüsse auf ihre visuelle Funktion zulassen. Es ist beispielsweise wahrscheinlich, daß Netzhautregionen unterschiedlicher Rezeptordichte in einem halbkugeligen Augenbecher ein regional unterschiedliches Winkelauflösungsvermögen unterstützen, oder daß das Verhältnis von Rezeptorkernen zu Ganglienzellkernen in einem Retinafragment Aussagen über die lokale Konvergenz radialer Verschaltungen gestattet. Dicht gepackte Mitochondrien dürften - neben einer hohen Aktivität des Energiestoffwechsels - wegen ihres hohen Lipidanteiles eine Region mit erhöhtem Brechungsindex darstellen und somit auch optisch wirksam sein. Bewiesen werden können solche Aussagen letztendlich natürlich nur durch physiologische Experimente.

## **Der Bezug zu Lebensraum und Lebensweise: Ökophysiologie**

Schon die Titel renommierter Lehrbücher der Augenkunde deuten auf den in diesem Zusammenhang sehr ergiebigen Ansatz der Ökophysiologie hin, z.B.:

- „The vertebrate eye and its adaptive radiation“ (WALLS 1942)
- „Light as an ecological factor“ (EVANS et al. 1975)
- „The ecology of vision“ (LYTHGOE 1979)

Das gleiche gilt für entsprechende Buchkapitel oder Originalarbeiten (z.B. VILTER 1950; LYTHGOE 1972; O'DAY & FERNANDEZ 1974; ALI & WAGNER 1975; WAGNER et al. 1976; LOCKET 1977; MUNZ & MCFARLAND 1977).

Ein leistungsfähiges Auge sollte in der Lage sein, ein möglichst gutes Abbild der für das Überleben eines Tieres relevanten Informationen aus der Umwelt zu geben. Verschiedene Habitate und Lebensweisen bedingen verschiedene photische Situationen und erfordern entsprechende Anpassungen der Netzhaut. Umgekehrt sollte man strukturelle Gegebenheiten in der Retina bezüglich ihrer Eignung für die dem untersuchten Fisch unter natürlichen Umständen gegebenen Lichtbedingungen diskutieren können. Ein Tapetum lucidum z.B. läßt auf eine gute Schwachlicht-Sichtigkeit in der Dämmerung oder im Tiefwasser schließen und gleichzeitig überhaupt auf visuell gesteuerte Aktivitäten im Schwachlicht. Ein hoher Stäbchenanteil an der Photorezeptorausstattung der dorsalen Retinahälfte (Dominanz des skotopischen Systems) und eine relativ hohe Zapfendichte in der ventralen (Dominanz des photopischen Systems) passen bei pelagischen Fischen gut zur Winkelverteilung des Raumlichtes unter Wasser, das Vorkommen verschiedener Zapfentypen weist auf ein mehr oder weniger differenziertes Farbsehen hin (z.B. bei tagaktiven Riffischen). Die Lage der Area sollte sich nach dem Aufmerksamkeitsschwerpunkt für hohe Raumfrequenzen richten, z.B. temporal bei Geradeauschwimmern und mehr nach ventral verschoben bei Räubern, die von schräg unten angreifen (vgl. Abb. 4.3).

## **Der vergleichende Aspekt: Evolution und Taxonomie**

Die Variationen des Grundbauplans der Fischretina (siehe Kap. 1.2.2) sind nur in ihrer Geschichtlichkeit zu verstehen. Der Plastizität in der Erschließung neuer oder sich ändernder Umwelten ( $\Rightarrow$  Erwerben apomorpher Merkmale) stehen konservative Kräfte ( $\Rightarrow$  Bewahren plesiomorpher Merkmale) gegenüber. Der Vergleich verwandter Arten bezüglich ihrer Netzhautorganisation sollte deren Evolution verstehen lassen und gleichzeitig einen Merkmalskomplex für die Bestimmung verwandtschaftlicher Verhältnisse liefern.

## 1.5 Fragestellung und Zielsetzungen dieser Arbeit

FINERAN & NICOL (1976-78) und ZUEVA (1980) gaben mit ihren Beschreibungen zur aberranten Feinstruktur der Photorezeptoren und des Pigmentepithels von Anchovies der Gattungen *Anchoa* und *Engraulis* den Anstoß zu dieser Arbeit. Das Forschungsfeld an den Retinae dieser extrem häufigen Knochenfische, die für ein Polarisations-Kontrastsehen spezialisiert sein dürften, wurde eröffnet, aber bislang nicht fortgeführt. Die teilweise unterschiedlichen Ergebnisse der oben genannten Autoren (siehe Kap. 1.3.2) und Lücken im Detail führten zu neuen Fragen bezüglich der Sardellenretina und damit auch zu einem völlig neuen Themenbereich innerhalb der Arbeitsgruppe:

Ausgehend vom Zoologischen Institut der Universität München lag es nahe, als „Organspender“ die Europäische Sardelle *Engraulis encrasicolus* zu wählen. Vorab galt es festzustellen, ob und wie man mit vertretbarem Aufwand lebendfrisches Material dieser Art für die licht- und elektronenmikroskopische Analyse beschaffen kann. In diesem Falle läge ein potentes Untersuchungsobjekt für vertiefende Studien im Mittelmeer vor und damit quasi „vor der Haustür“. Angestrebt war es zunächst - anhand von radial und tangential durch die Retina geführten Semi- und Ultradünnschnittserien und Brüchen - eine detaillierte Analyse der Netzhautarchitektur (vertikale Schichtung, horizontale Zellmuster) und der dreidimensionalen Feinstruktur der Seh- und Pigmentepithelzellen durchzuführen. Weiterhin sollte die Netzhaut vollständig kartiert werden, um ein Bild zu bekommen von der Dichteverteilung der Photorezeptoren und von regionalen Unterschieden des Zellusters bzw. der Feinstrukturen. Von einer Untersuchung des Retinarandes konnte man Hinweise auf die Morphogenese der besonderen Strukturen erwarten. Über den Erfolg der Materialbeschaffung gibt Kap. 2.1.4 Auskunft, die Architektur und Feinstruktur der Seh- und Pigmentzellen beschreibt Kap. 3.1.

Oft behandeln Untersuchungen zur Struktur und zum Muster von Photorezeptoren lediglich den Bereich zwischen der Bruch'schen Membran und der „äußeren Grenzmembran“, was mitunter an der strukturellen Komplexität der weiter vitreal gelegenen Schichten liegen mag. Die Sehzellen erstrecken sich aber mit ihren synaptischen Endigungen bis in den skleralen Teil der äußeren plexiformen Schicht, wo sie untereinander, sowie mit den Horizontal- und den Bipolarzellen verschaltet sind. Mit erhöhtem experimentellen Aufwand lassen sich jedoch faszinierende Einblicke in die Zellarchitekturen und Zellverknüpfungen der inneren Retina gewinnen und Fragen der rezeptorspezifischen und räumlich gerichteten

Verschaltung klären. Wenn - wie im Falle der Sardelle - skleral der OLM ein regelmäßiges Zapfenmuster vorliegt, sollte sich dasselbe auf der Ebene der synaptischen Füßchen wiederfinden lassen und auch für die Verschaltung würde man irgendeine Form von Regelmäßigkeit erwarten (die im günstigsten Falle sogar funktionelle Schlüsse zulassen könnte). Diesem Thema widmet sich der zweite Ergebnisblock (Kap. 3.2): anhand von Schnittserien durch die äußere Körnerschicht sollten die Area-Zapfen von *E. encrasicolus* bis zu den Pedicles verfolgt, ihr Muster beschrieben und Hinweise auf ihre Verschaltung mit den Dendriten der Sekundärneuronen gefunden werden. Auch klassische neuroanatomische Methoden (z.B. Silberchromatfärbung nach GOLGI) sollten Anwendung finden und modernere (z.B. Mikroinjektion) etabliert werden.

Aus den Angaben von FINERAN & NICOL (1978: *Anchoa*, *Engraulis*, *Stolephorus*) sowie ZUEVA (1980: *Engraulis*) wird offensichtlich, daß die aberrante Zapfenstruktur bei mehreren Gattungen der Unterfamilie vorkommt, und daß es Variationen gibt. Diese Hinweise mögen mit als ein Anreiz zur breiteren Untersuchung der Verwandtschaft der Engraulidae im Rahmen dieser Arbeit verstanden werden. Es erschien interessant, Vertreter möglichst vieler Gattungen der Familie Engraulididae und im Außengruppenvergleich auch anderer Familien innerhalb der Clupeiformes auf ihre Zapfenmuster und PE-Strukturen hin zu untersuchen. Dieser Vergleich sollte zeigen, wie weit die im Detail für *Anchoa* und *Engraulis* beschriebenen Netzhautspezialisierungen im Kreise der Verwandten verbreitet sind und evtl. auch Hinweise auf die Evolution dieser Strukturen geben. Kapitel 3.3 stellt die zu diesen Fragen erzielten Ergebnisse vor. Die Beschaffung von Frisch- und Sammlungsmaterial der weltweit verbreiteten Heringsfische war zu organisieren und das Sammlungsmaterial auf seine Eignung für die Feinstrukturanalyse zu prüfen.

Neben der reinen Strukturbeschreibung soll auch über die Funktionsweise und den „biologischen Sinn“ der Sardellenretina diskutiert werden, im Vergleich der Arten ökophysiologische und phylogenetische Fragen angerissen, ergänzende Daten zur Systematik der Engraulididae geliefert und schließlich Anregungen zu weiterführenden (z.B. neuroanatomischen und/oder physiologischen) Studien gegeben werden.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Tiere und Bezugsquellen

#### 2.1.1 Herkunft der untersuchten Fischeaugen

Die im Rahmen dieser Arbeit auf ihre Netzhautstruktur hin untersuchten Sardellen sind mit Herkunftsort und Fixierdaten in Tabelle 2.1 aufgeführt, die Karten vermitteln eine Vorstellung über die globale (Abb. 2.1A) bzw. lokale (Abb. 2.1B) Verteilung der Fangorte. Die Tiere wurden entweder im Meer gefangen (*Engraulis*, *Coilia*) oder einem Zuchtbecken entnommen (*Coilia*), auf einem Fischmarkt erworben (*Stolephorus*) oder sie entstammen zoologischen Sammlungen (alle anderen untersuchten Gattungen). Die Fangdaten der von ESER im Zuge des begleitenden Clupeoiden-Projekts bearbeiteten Tiere (vgl. Kap. 3.3.10 und 4.7) finden sich in Kap. 2.2 der Diplomarbeit von R. ESER.

Die Beschaffung frisch fixierten Vergleichsmaterials aus der Unterordnung Clupeoidei bzw. aus der Familie Engraulididae läßt sich im erforderlichen Umfang praktisch nicht organisieren: die Tiere sind weltweit verbreitet, es werden aber nur wenige Arten kommerziell gefangen und die Logistik bei Tierbeschaffung und -versand kann gerade (und erprobtermaßen\*) im asiatischen Raum auf unüberwindliche Hürden treffen. Eine praktikable Methode an geeignetes Material zu kommen ist es, sich ichthyologisch-zoologischer Sammlungen zu bedienen, die Dank gezielter, professioneller Sammeltätigkeit über einen langen Zeitraum einen wertvollen und wohlgeordneten Schatz an konservierten Fischen bereitstellen können.

Besondere Erwähnung soll hier die Eignung von Sammlungsmaterial für die histologische und feinstrukturelle Analyse der Retina finden: Zwar zeigt das Netzhautgewebe von Fischen aus zoologischen Sammlungen immer eine mehr oder weniger starke Artefaktbildung auf Feinstrukturebene (Schrumpfräume, geschwollene Zellkompartimente, gerissene Membranen, agglutiniertes Zytoplasma), wesentliche Merkmale lassen sich an diesem Material jedoch fast immer darstellen (z.B. Schichtung, Adaptationszustand, Zellmuster, Zapfentypen und manchmal auch feinstrukturelle Details wie Cilien, Membranstapel und Guaninkristallite: siehe Kap. 3.3).

---

\*) Die Beschaffung von *Setipinna* über das Yellow Sea Fisheries Research Institute (YSFRI, Prof. Jinyao Deng) scheiterte zunächst am Transport der Fixanzien vom Beijing-Airport nach Qingdao und schließlich an mangelnder Kommunikationsbereitschaft auf chinesischer Seite.

Das Sammlungsmaterial war durchwegs über viele Jahre (max. 31a) in 70% Ethanol aufbewahrt worden. Über das Procedere der Sammler bzgl. Fixierung und über eventuell aufgetretene Liegezeiten (z.B. Fischmarkt) gibt es leider keine Angaben. Der relativ gute Gewebeerhaltungszustand mancher Proben macht eine Fixierung in Formol durch den Sammler wahrscheinlich (siehe z.B. Abb. 3.47). Andererseits führen bei ungenügender, verzögerter oder fehlender Fixierung in Abhängigkeit von den Lagerungsbedingungen - v.a. Temperatur, Zeit und Osmolarität des Mediums - Autolyseprozesse zum Verfall der Netzhautstrukturen (siehe z.B. Abb. 3.52).

Neben den lokalen Fischmärkten in Rovinj (Kroatien: *Engraulis encrasicolus*), San Diego (Californien: *E. mordax*) und Phuket (Thailand: *Stolephorus indicus*) wurden folgende Sammlungen zur Materialbeschaffung herangezogen:

- ZSM:** Zoologische Staatssammlung München  
Münchhausenstraße 21, 81247 München  
(Dr. Frank Glaw, Tel 089 8107 114, Fax 089 8107 300)
- ZSMK:** Zoologische Forschungsanstalt und Museum Alexander König  
Ichthyologie, Adenauerallee 160, 53113 Bonn  
(Dr. Klaus Busse, Tel 0228 9122 251, Fax 0228 216979)
- SNG:** Sammlung der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft  
Senckenberganlage 25, 60325 Frankfurt am Main  
(Dr. Friedhelm Krupp, Tel 069 7542 255, Fax 069 7542 253)
- ASFDC:** Adaman Sea Fisheries Development Center  
77 Sagdidaj Rd., Maung District, Phuket 83000, Thailand  
(Mr. Tassapon Krajangdara, Fax +66 (0)76 391139)
- FRLKU:** Fishery Research Laboratory Kyushu University  
Faculty of Agriculture, Kyushu University 46-04, Tsuyazaki,  
Munakata-gun Fukuoka 811-33, Japan  
(Assoc. Prof. Dr. Seiichi Matsui, Tel +81 (0)940 52 0163,  
Fax (0)940 52 0190, e-mail K71088A@wisdom.cc.kyushu-u.ac.jp)

Die Bestimmung bzw. Nachbestimmung der Tiere erfolgte nach dem Schlüssel von WHITEHEAD et al. (1988). Die nähere Spezifizierung des *Anchoviella*-Präparates führt nach dem angegebenen Schlüssel und beim angegebenen Fangort zu *A. alleni* oder *A. jamesi*.

**Tabelle 2.1: Untersuchte Sardellenarten**

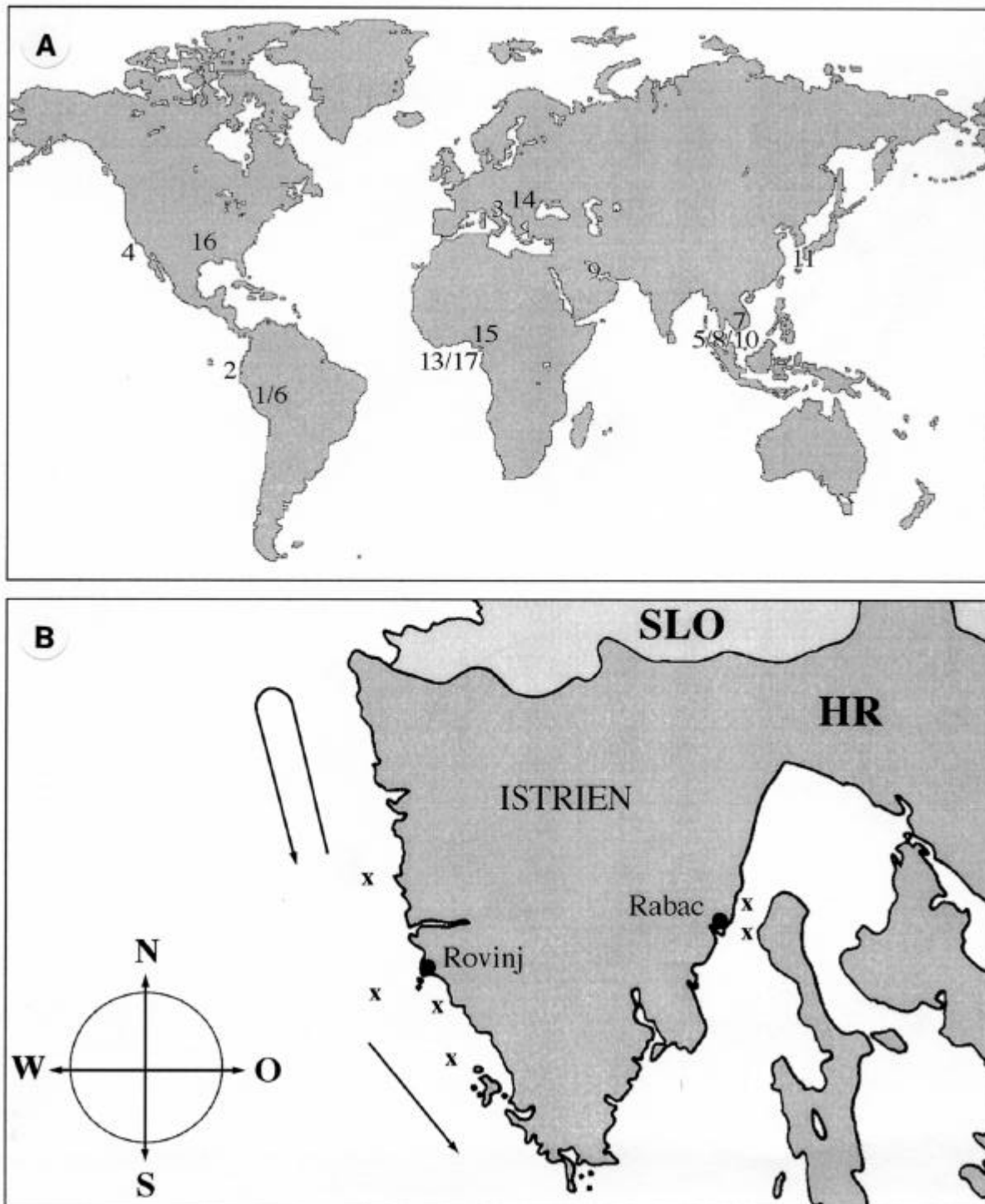
sys-tematische Stellung	Artnamen	Fanggebiet	Fangzeit	Bezugs-quelle & Kennung	nach-fixiert
Engraulidinae					
	<i>Anchoviella</i> sp. <sup>1</sup>	Yaina Cocha bei Pucallpa (Peru)	07.66	ZFMK I 66 2035	03.97
	<i>Cetengraulis mysticetus</i> <sup>2</sup>	Golfo de Guayaquil Ecuador	08.86	ZFMK 15207	03.97
	<i>Engraulis encrasicolus</i> <sup>3</sup>	Mittelmeer (Adria) vor Rovinj (HR)	03.95 - 04.98	Fischer (leg. Heß)	-
	<i>Engraulis mordax</i> <sup>4</sup>	nrdl. San Diego California (USA)	10.95	Fischer (leg. Haacke)	-
	<i>Stolephorus indicus</i> <sup>5</sup>	Phuket (Thailand)	04.97	Fischmarkt (leg. Dunkel)	-
	<i>Lycengraulis batesii</i> <sup>6</sup>	Rio Ucayali bei Pucallpa (Peru / Bolivien)	07/08.66	ZFMK I 66 2024	03.97
	<i>Lycothrissa crocodilus</i> <sup>7</sup>	VamCoDong-Fluß TayNinh-Provinz (Südvietnam)	03.91	ZFMK 19435	03.97
	<i>Encrasicolina heteroloba</i> <sup>8</sup>	Ko Yao Bay (Thailand)	02.96	ASFDC -	01.98
	<i>Thryssa setirostris</i> <sup>9</sup>	(Kuwait)	04.95	SNG -	07.97
	<i>Setipinna taty</i> <sup>10</sup>	Golf von Thailand	12.74	SNG 22245	07.97
Coilinae					
	<i>Coilia nasus</i> <sup>11</sup>	Chikugo River Kyushu (Japan)	06.97	FRLKU -	-

Zu den Abkürzungen der Bezugsquellen siehe Seite 47.

Die hochgestellten Zahlen hinter den Artnamen gelten als Kürzel zum Eintrag in Abb. 2.1A.

Auch ein Exemplar des Wolfsherings *Chirocentrus dorab* wurde bearbeitet: es stammt aus der Sammlung der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft in Frankfurt a.M. (Kennung 22251, gefangen 12.74 im Golf von Thailand, nachfixiert 07.97 in Glutardialdehyd, vgl. 2.2.1).





**Abbildung 2.1: Fangorte der untersuchten Clupeoidei**

A) Weltkarte (nach [www.webcamz.de](http://www.webcamz.de)) mit den Fangorten aller untersuchter Arten - die Artangaben zu den eingetragenen Zahlen finden sich in Tab. 2.1. Die von ESER untersuchten Clupeoidei (vgl. 3.3.10 und 4.7) sind ebenfalls angeführt: **13** *Ilisha africana*, **14** *Clupeonella cultriventris*, **15** *Pellonula* sp., **16** *Dorosoma cepedianum*, **17** *Ethmalosa dorsalis*.

B) Seekartenausschnitte der istrischen West- und Ostküste mit den Fangorten für *Engraulis encrasicolus* (x: Ringwadenfang, ® : Schleppnetzfang; vgl. 2.1.2).

### 2.1.2 Fangmethoden für *Engraulis encrasicolus*

Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Nervengewebe erfordern unbedingt die Fixierung lebendfrischen Materials, wenn es darauf ankommt, die feinstrukturelle Organisation des Zytoplasmas und die Membranarchitektur der oft filigranen Zellen in einem möglichst lebensnahen Zustand zu erhalten und postmortale (autolytische) Artefakte weitestgehend zu vermeiden.

Zugang zu lebenden Sardellen bekommt man nur direkt am Meer und praktisch nur mit der Hilfe spezialisierter Fischer. Da Sardellen bzgl. mechanischer Verletzungen und besonders auch gegen O<sub>2</sub>-Mangel sehr empfindliche Tiere sind, sind die frühmorgens am Fischmarkt erhältlichen, „frischen“ Fische gewöhnlich schon einige Stunden tot (im Gegensatz z.B. zu *Scorpaena*). Es ist also erforderlich, Kontakt mit einem Sardellenfischer aufzunehmen, ihn von dem für ihn ungewöhnlichen Vorhaben zu überzeugen und mit ihm auf Fangfahrt zu gehen. Auf diesem Wege hat man die Chance, einige lebende Sardellen direkt aus dem Netz entnehmen zu können - die meisten kommen allerdings schon tot an Bord.

Günstige Startbedingungen für die vorliegende Arbeit ergaben sich aus dem Umstand, daß die Arbeitsgruppe um Prof. SMOLA alljährlich eine Exkursion zur „Biologie und Ökologie mariner Lebensräume“ an das meeresbiologische Institut der Ruder-Boškovic-Gesellschaft in der kroatischen Mittelmeerstadt Rovinj durchführt und sich unter Vermittlung eines befreundeten Wissenschaftlers (Prof. C. LUZU), sowie der Kroatisch sprechenden Technischen Assistentin Fr. A. KERIN Kontakte zu dort ansässigen Fischern herstellen ließen. In den Jahren 1994 bis 1998 war es so mehrfach möglich, an den nächtlichen Fangfahrten eines Ringwadenfischers (z.B. „Mramorka“: vgl. Abb. 2.2B) bzw. an den Tagesausfahrten der pelagischen Schleppnetzfünger (z.B. „Mauros I+II“: Abb. 2.2A) teilzunehmen und an Bord Fische zu präparieren.

Es ist notwendig, sich auf die Arbeit auf See vorzubereiten (wasserdichte Bekleidung von Kopf bis Fuß, Kühlbox mit portionierten Chemikalien, Präparierbesteck, Wachsschale, beschriftete Rollrandgläser, Zellstoff, Arbeitsplan und ein rutschfestes Tablett als Arbeitsunterlage, ggf. Hälterungseimer) und einzustellen (Seegang, Schlafmangel, wenig Platz). Die Kommunikation mit der Crew erfolgte in der Regel auf Italienisch. Da verschiedene Gründe die Ausfahrt eines Fischers verhindern können (defekte Maschine, bewegte See, kein Geld für die Mannschaft, Feiertage) und da sich die Tage um Vollmond nicht für die Lichtfallenfischerei

eignen, ist für eine Materialbeschaffungs-Exkursion ggf. die Mondphase zu beachten, telefonische Rücksprache mit dem Fischer zu halten und soweit möglich genügend Zeit am Meer einzuplanen.

Die Ausfahrten mit den **Ringwadenfischern** begannen immer kurz nach Sonnenuntergang, d.h. im April gg. 18<sup>00</sup> Uhr, im Juni gg. 22<sup>00</sup> Uhr. Nach den Einschätzungen des Kapitäns und den Angaben des Sonars und der GPS-Seekarte wird nach zwei- bis dreistündiger Fahrt etwa 3 bis 10sm vor der Küste geankert. In den Gebieten um Rovinj und Rabac findet man dort flache Sedimentböden von 25 bis max. 40m Tiefe.

Es beginnt die erste Phase des Fischfangs: mit starken, von Dieselgeneratoren betriebenen Glühlampen wird vom Hauptschiff (4 Lampen) und von zwei kleinen Beiboote aus (je 2 Lampen) die Wasseroberfläche beleuchtet. Zuerst sammelt sich im Lichtkegel positiv phototaktisches Zooplankton (v.a. Crustacea und errante Polychaeta), im Laufe der Stunden finden sich dann zunehmend auch Fische ein. In erster Linie handelt es sich dabei um Sardinen (*Sardina pilchardus*) und Makrelen (*Scomber japonicus*), aber auch Sardellen und die oberflächennah jagenden Hornhechte (*Belone belone*) sind mit von der Partie.

Zwei Stunden vor Sonnenaufgang beginnt die Mannschaft mit der zweiten Phase des Fangs: das Hauptschiff lichtet den Anker, schaltet die Lampen aus und läßt sich ein Stück abtreiben, während die Lampen eines der Beiboote den Schwarm zusammenhalten. In ca. 50m Entfernung vom „Lichtboot“ wird vom Hauptschiff aus das Netz ausgebracht: eine sog. „Ringwade“ von 50m x 300m. Wie ein Vorhang mit nur 1cm Maschenweite hängt das Netz vertikal in der Wassersäule - getragen von einer Schwimmerkette am Oberrand und gezogen von Bleiringen am Unterrand (Abb. 2.2B). Vom zweiten Beiboot als Fixpunkt ausgehend, fährt das Hauptschiff um das „Lichtschiff“, bis sich der Kreis um den Fischschwarm schließt. Nun wird das Netz über die Bodentrossen an seinem Unterrand geschlossen und von dieser Seite her an Bord gehievt - der Oberrand wird ebenfalls verkürzt, wobei das zweite Beiboot das Netz auch bei Wind und Strömung offen hält. Auf diese Weise wird der Schwarm mehr und mehr konzentriert, bis er portionsweise mit Schöpfnetzen an Bord gehoben und dort zunächst in großen, runden, mit Salzwasser gefüllten Kunsstoffwannen untergebracht wird. Aus den tosenden Fischwannen werden die Fische in Paletten sortiert und gekühlt, während das Schiff den ein- bis zweistündigen Heimweg antritt.

Zu diesem Zeitpunkt hat man die Möglichkeit (aber nur wenig Platz und Zeit) ein paar Sardellen abzugreifen, sie zu hältern oder gleich an Bord zu präparieren. Die zur Präparation bestimmten Tiere bewahrt man am besten in einer kleinen Kühlbox auf oder entnimmt sie dem Hälterungseimer.

Der Fangerfolg einer Ausfahrt betrug in den stark überfischten Gewässern der Adria mit Ringwadenfischern zwischen 0 kg und 3 t Fisch. Die Zusammensetzung eines Fangs ist in Grenzen variabel, folgende Liste gibt eine Vorstellung von einem typischen Fang (eine Palette entspricht ca. 8kg Fisch):

160	Paletten Sardinen & Sprotten	(ca. 90 Gew.%)
8	Paletten Makrelen	(ca. 5 Gew.%)
4	Paletten Sardellen	(ca. 2.5 Gew.%)
3	Paletten „Sonstige“	(ca. 1.5 Gew.%)

(z.B. *Myliobatis*, *Pagellus*, *Octopus*)

Bei den 12- bis 14-stündigen Ausfahrten der **Schleppnetzfisher** im Mai 1998 wurde das Netz je 2-3x ausgebracht, ca. 2h sonargestützt geschleppt und wieder eingeholt. Diese Methode lieferte relativ wenige Sardellen (z.B. 20 Stück bei einem Fang von ca. 13t Sardinen und Makrelen), die allesamt tot an Bord gebracht wurden (Staudruck im Netz, lange Streßzeit). Zur Etablierung der portablen Mikroinjektion (Kap. 2.3.3) und für einen umfangreichen GOLGI-Ansatz war das Netzhautgewebe aber gut genug erhalten.

Die Hälterung lebender Sardellen erwies sich unter den oben geschilderten Umständen als möglich, wenn auch problematisch. In einem zu  $\frac{3}{4}$  mit frischem Seewasser gefüllten 10l-Kunststoffeimer mit Deckel können ca. 10 bis maximal 12 Sardellen schonend gehalten werden. Es ist unbedingt nötig, das Wasser über einen Sprudelstein kräftig zu belüften (entweder über eine 4l-200bar-Druckluftflasche oder mittels einer batteriegetriebenen Aquarienpumpe). Die Überlebenswahrscheinlichkeit der Sardellen sinkt stark mit der Transportzeit und mit der Wassertemperatur. Während es im März ( $T_{H_2O} \approx 12^\circ C$ ) regelmäßig gelang 6-8 Tiere lebend in den Hafen zu bringen, überlebten im Juni ( $T_{H_2O} > 20^\circ C$ ) unter sonst gleichen Bedingungen nur 2 bis 3 Tiere. Die längste Überlebenszeit betrug ca. 4 Stunden, bei dem Versuch eine Sardelle dunkel zu adaptieren.

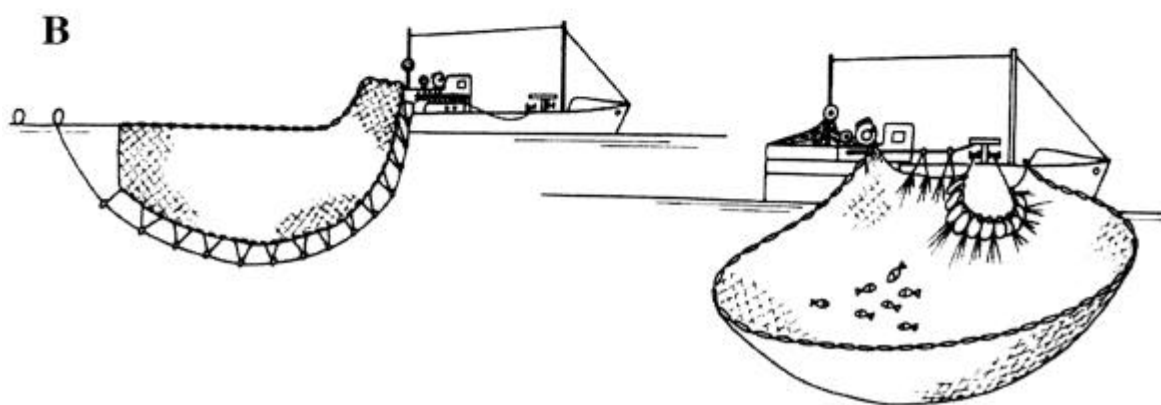
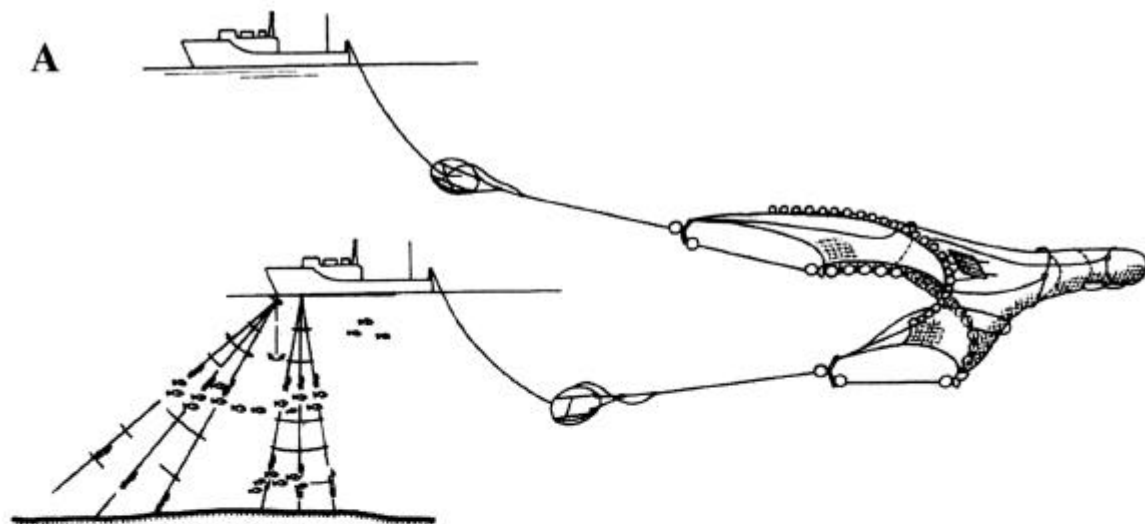


Abbildung 2.2: Fangmethoden für *Engraulis encrasicolus* im Mittelmeer

Ü

A) Schleppnetzfisher, sonarunterstützt - Erklärung der Methode im Text.

B) „Nachtaktive“ Ringwadenfisher - Erklärung der Methode im Text.

(Zusammengestellt aus OTT 1988.)

## 2.2 Mikroskopische Verfahren

### 2.2.1 Präparation, Fixierung und Einbettung der Fischeaugen

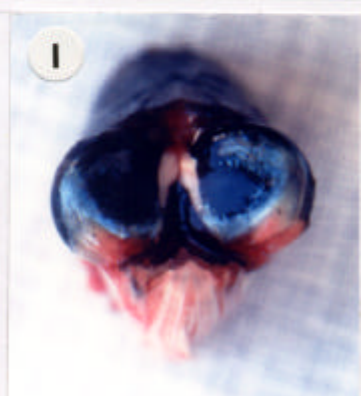
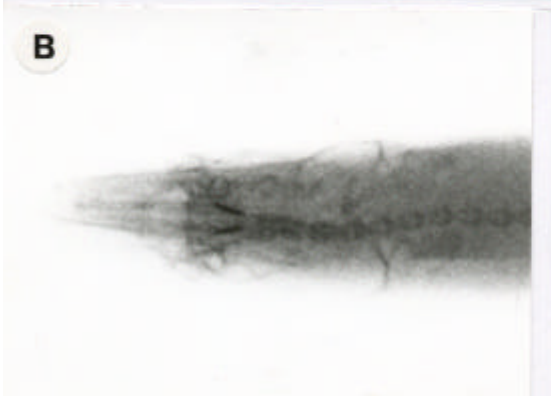
Falls nötig wurden die Fische durch einen Genickschnitt mit einer starken Rasierklinge, sowie durch mehrfache Perforation des Gehirns mittels einer spitzen Pinzette getötet. Die Isolierung der Augen wurde in der Regel an Bord vorgenommen und zwar mittels einer Mikroschere auf einem Kunststofftablett: durch vorsichtige Zirkumcision wurden beidseitig die Fettlider entfernt, die Schädeldecke nasal und temporal des Auges durchgeschnitten und die gelöste Knochenplatte abgehoben. Nach dem Durchtrennen der Sehnerven und der Augenmuskeln konnten so die Augen schonend isoliert werden. Die Pigmentierung der Argentea, der Austrittsort des Tractus opticus, sowie einige Charakteristika der Augenform erlaubten auch zu einem späteren Zeitpunkt eine eindeutige Orientierung der Augen. Die weitere Präparation des Organs erfolgte in einer wachsgefüllten Petrischale: für die Glutardialdehyd-Fixierung wurde die Cornea entweder mehrfach mit einer dünnen Insektennadel randlich perforiert oder es wurde mit einer feinen, frischen Rasierklinge ein horizontaler Schnitt dorsal der Linse gesetzt. Für die GOLGI- oder Formaldehydfixierung wurde entweder gleichermaßen verfahren oder zuvor der „Augenbecher“ präpariert: Das Auge wurde in der puffergefüllten Wachswanne mit zwei Nadeln festgesteckt, die Cornea durch Zirkumcision distal der Ora serrata gelöst, Cornea und Linse abgehoben und der Glaskörper vorsichtig mit einer Pasteurpipette abgesaugt.

---

#### Abbildung 2.3: Die Europäische Sardelle und ihre Augen

>

- A)** Seitenansicht (links) der Europäischen Sardelle *Engraulis encrasicolus*. Das leblose Tier wurde kurz nach dem Fang auf einer trockenen Schieferplatte fotografiert. Beachte die Spindelform und Färbung des Fischkörpers, sowie die Lage und relative Größe des Auges. Gesamtlänge des Fisches 15.5cm.
- B)** Röntgenaufnahme des Fischkopfes in dorso-ventraler Projektion.
- C)** Röntgenaufnahme des Fischkopfes in lateraler Projektion.  
Die Augen erfüllen einen Großteil der abgebildeten Kopfreion und stoßen median zusammen.
- D)** Dorsale Aufsicht auf den Fischkopf - beide Pupillen sind zu erkennen.
- E)** Frontaler Aspekt des Fischkopfes - der Blick auf beide Pupillen läßt den Schluß auf ein binokulares Sehfeld zu.
- F)** Auch in der ventralen Ansicht des Fischkopfes sind beide Pupillen zu erkennen.
- G)** Dorsale Aufsicht auf den Fischkopf mit partiell entfernter Schädeldecke. Beachte den Volumenanspruch der median zusammenstoßenden Augen.
- H)** Frontaler Aspekt des gleichen Präparates nach Entfernung des Rostrums.
- I)** Gleiche Perspektive wie in Abb. **H** mit seitlich herausgedrehten Augen - dort, wo die Augen median zusammenstoßen, fehlt die Argentea.



Um eine weitgehend vollständige Erhaltung der Ultrastrukturen des Gewebes zu gewährleisten, wurden die Proben bei aller Sorgfalt zügig präpariert und sofort in die auf 4°C gekühlte Fixierlösung gegeben (Sukzedanfixierung mit Glutaraldehyd und Osmiumtetroxid): Durch Mischung von einem Teil 25%igem Glutaraldehyd p.a. mit 5 Teilen 0.1 M Cacodylatpuffer erhält man gut 4%iges Glutaraldehyd-Fixans. Die Osmolarität wurde durch Zugabe von 3g Saccharose auf 100ml Lösung derjenigen von Teleostier-Zytoplasma angenähert. Der Cacodylatpuffer (2.14g Cacodylsäure-Natriumsalz-Trihydrat auf 100ml Aqua dest.) wurde mit 1N NaOH auf pH 7.3 eingestellt und nach einem Tag im Kühlschrank nachjustiert. Die Präparate wurden im Fixans (bei nach Möglichkeit ununterbrochener Kühlkette) aufbewahrt und transportiert, z.B. von Rovinj nach München. Sammlungsmaterial wurde ungekühlt transportiert, nachdem es in den Museen nach der Präparation lediglich in dem o.g. Fixans nachfixiert wurde. Ebenfalls ungekühlt erfolgte aus logistischen Gründen der Transport des Materials aus Fernost.

Die Präparation kleiner Retinastücke geschah vor der Osmierung in Puffer mit einem frischen Skalpell. Da die Orientierung der Retinastücke für die Auswertung von Bedeutung war (Retinaregion, Verlauf der Schnittkanten, siehe z.B. Abb. 3.4), wurden mehr oder weniger asymmetrische Stücke ausgeschnitten und Aufzeichnungen vom präparierten Augenbecher gemacht. Für die vollständige Infiltration mit Osmium beim nächsten Schritt der Fixierung sind Retinastücke vorteilhaft, die nicht viel größer als 1 bis 5 mm<sup>3</sup> sind.

Die so erhaltenen Gewebestücke wurden 2x 10min in 0.1M Cacodylatpuffer (mit 3% Saccharose) gewaschen, danach wurde die Fixierung mit Osmiumtetroxidlösung fortgesetzt - bei diesem Schritt erfolgt auch schon die erste Kontrastierung. Die Osmierung wurde in einem 1:1 Gemisch von 2% OsO<sub>4</sub>-Lösung und 0.2 M Cacodylatpuffer für 2h auf Eis durchgeführt (4.28g Cacodylsäure-Natriumsalz-Trihydrat auf 100ml Aqua dest., pH 7.3).

Freipräparierte und fixierte Augenbecher bzw. Retinastücke wurden in Epoxy-Polyesterharz („Epon“) eingebettet. Für Semi- und für Ultradünnschnitte wurde folgende Mischung aus Komponenten der Firma Roth verwendet:

Substanz	Menge	Artikelnummer
Glycidether 100	45.6 ml	8619.1
Härter DBA	30.8 ml	8639.1
Härter MNA	23.6 ml	8623.1
Beschleuniger DMP-30	1.80 g	8621.1
	ergibt 100ml	



Die Komponenten müssen sorgfältig vermischt und peinlich von Feuchtigkeit geschützt werden (Flaschen aus dem Kühlschrank vor dem Öffnen auf Zimmertemperatur erwärmen lassen!).

Nach dem Osmieren wurden die Präparate 2x 10min in 0.1M Cacodylatpuffer gewaschen und in der aufsteigenden Acetonreihe (30%, 50%, 70%, 90%, 99.5%, 2x 100%) entwässert. 100%iges Aceton wurde bereitet durch Trocknung des 99.5%igen Aceton p.a. auf wasserfreiem  $\text{CaCl}_2$  über Nacht in einer gut abdichtenden Glasflasche mit Schliffstopfen (beachte beträchtliche Volumenzunahme des Trocknungsmittels).

Nach dem Entwässern wurden die Retinastücke mehrere Stunden in einem Gemisch von einem Teil Eponmischung in einem Teil 100%igen Acetons infiltriert (in geschlossenen Rollrandgläsern auf einem Rotor), danach in reines Kunstharzgemisch übertragen und über Nacht im offenen Rollrandglas rotiert (Abzug: Aceton dampft ab). Die Präparate wurden in kleine quaderförmige, mit Epon gefüllte Formen aus Silikonkautschuk gebracht, mit einer Nadel in geeigneter Weise orientiert (s. Kap. 2.2.3, Orientierung aufzeichnen!) und im Wärmeschrank bei 60°C für 48h ausgehärtet. Nach 1.5 bis 2h sollte die Orientierung der Präparate kontrolliert und ggf. korrigiert werden (senkrecht stehende Gewebestücke können durch einen kleinen Stück „leeren“ Kunstharzes aus vorangegangenen Einbettungen gestützt werden). Die Eponblöcke mit den Präparaten wurden mit einem feinen Folienstift beschriftet und in Rollrandgläsern archiviert.

### **2.2.2 Licht- und Lasermikroskopie**

Die Kunstharzblöcke wurden mit Rasierklingen getrimmt, um die gewünschten Schnittebenen freizulegen und/oder zu begrenzen und dann mit einem mechanischen Ultramikrotom (RMC MT6000-XL) geschnitten. Zur Orientierung im Auge und innerhalb der Retina siehe Abb. 1.3.

Für die Lichtmikroskopie wurden Semidünnschnitte (Schnittdicke 1 $\mu\text{m}$ ) mit Glasmessern gemacht. Die Glasmesser wurden aus Alkar-Glasstreifen (Fa. Plano) mit einem LKB Knifemaker Type 7801A gebrochen (Schneidekante 45°, 6.4mm breit) und mittels Modellierwachs mit Plastikwannen versehen. Die Schnitte wurden auf vorgereinigte und beschriftete Glasobjektträger übertragen und dort festgetrocknet (Wärmeplatte bei 70°C).

Die Semidünnschnitte wurden 15sek bei 70°C auf der Wärmeplatte mit RICHARDSON'S-Färbereagenz gefärbt (filtrierte, wässrige Lösung von 0.5% Methylenblau, 0.5% Azur II und 0.5% Borax), mit Leitungswasser gespült und getrocknet. Zur dauerhaften Aufbewahrung wurden sie unter einem Deckglas in DePeX (Fa. Serva) staubfrei eingedeckt, was auch Scharten im Kunstharz ausgleicht und somit die Qualität photographischer Ablichtungen verbessert. Die Objektträger wurden in geeigneten Holzkästchen archiviert.

Zur mikroskopischen Betrachtung der Schnitte und für die Mikrophotographie stand ein Zeiss-Axioplan Lichtmikroskop mit Zeiss-Plan-Neofluar Objektiven zur Verfügung. Hellfeld-, Phasenkontrast- und Polarisationsoptik kamen zum Einsatz. Die photographische Dokumentation erfolgte mit einer systemeigenen Kleinbildkamera und Belichtungsautomatik auf Kunstlicht-Farbdiafilm (Kodak Epy 64 T). Für eine verbesserte Farbwiedergabe empfiehlt es sich, bei maximaler Farbtemperatur der Hellfeldbeleuchtung zu arbeiten,  $\frac{2}{3}$  Stufen überzubelichten und einen schwachen Magenta-Farbfiler (Ilford Ilfochrome DY 0.05M) auf das Leuchtfeld zu legen. Zur Entwicklung der Kleinbilddias (24mm x 36mm, Prozeß E6) wurden die Filme einem professionellen Labor übergeben, ebenso zur Anfertigung von Abzügen als Kodak-Digiprint im Format 9cm x 13cm (matt).

Alternativ konnten LM-Bilder auch mittels einer integrierten CCD-Kamera (Sony DXC-C1MDP) und einer Standard-„Framegrabber“-Karte zur Bildverarbeitung an einen Macintosh Power PC 7500/100 übergeben werden. Bei offener Kondensorblende und schrittweiser Verstellung des z-Triebes kann so z.B. ein Golgipräparat in optische Schnitte zerlegt und nachfolgend am Bildverarbeitungsrechner dreidimensional rekonstruiert werden (siehe 2.4.2 und Abb. 3.39C, F).

Eine modernere Methode zur Erzeugung dreidimensionaler Bilddatensätze am Lichtmikroskop kam mit der konfokalen Lasermikroskopie zum Einsatz und zwar für die Darstellung fluoreszenzmarkierter Neuronen (2.3.2, 2.3.3): Die Präparate wurden mit dem Leica TCS-NT Laser Scanning Mikroskop an einem inversen Leica DM-IRBE Lichtmikroskop abgetastet und entweder vom systemeigenen Rechner direkt als 3D-Bilder dargestellt (Rot-Grün Anaglyphen: z.B. Abb. 3.39A) oder in Form von TIFF-Bilddateistapeln festgehalten (16 bis 64 Ebenen: z.B. Abb. 3.40A). Angeregt wurden die verwendeten Fluoreszenzfarbstoffe mit einem 515nm-Argonlaser - das emittierte Licht wurde nach der Trennung vom Anregungslicht durch einen Strahlteiler ( $\lambda > 525\text{nm}$ ) und ein „longpass“-Filter ( $\lambda > 590\text{nm}$ ) photoverstärkt und analysiert.

### 2.2.3 Transmissions-Elektronenmikroskopie

Für die Transmissions-Elektronenmikroskopie wurden Ultradünnschnitte mit Diamantmessern (Fa. Diatome und Mikrostar, 1.5mm Schneidekante) angefertigt: 4° Messerwinkel, bevorzugte Schneidegeschwindigkeit 0.6mm/sek, bevorzugte Schnittdicke 80nm entsprechend einer blaßgoldenen Interferenzfarbe. Die Schnitte wurden auf Kupfer-Lochgrids gefischt (Agar Sci. Ltd. Typ G2500C), die zuvor mit Formvar-Folie (Agar Sci. Ltd. Art. R1201) beschichtet wurden. Die Ultradünnschnitte wurden auf den Grids in sog. "Grid-Boxen" archiviert.

Radial- oder „Längs“schnitte durch die Retina erhielt man an entsprechend eingebetteten und vorgetrimmten Blöcken, indem man zunächst Semidünnschnitte anfertigt und solange in ca. 2°-Schritten kippt, bis radial verlaufende Strukturen wie Zapfenaxone oder Stäbchenaußenglieder in voller Länge erscheinen (vgl. Abb. 3.2A). Will man zusätzlich noch genau parallel oder senkrecht zu einer Photorezeptorreihe schneiden, so muß die Kippung noch in einer zweiten Ebene erfolgen. Die Annäherung an die gewünschte Orientierung ist nicht selten mühselig, zumal sie durch die Krümmung des Augenbechers, den gekrümmten Verlauf und die Dimensionen der Reihen (z.B. 5µm breit bei ca. 300µm Retinadicke) und durch zufällige Unregelmäßigkeiten wie Retinafalten verkompliziert wird.

Tangentialschnitte („Querschnitte“) erhält man an Blöcken geeigneter Orientierung durch eine Schnittführung parallel zur Netzhautoberfläche, z.B. skleral beginnend. Da im Falle der Retina ja Hohlkugelsegmente geschnitten werden, verlaufen die Schnittebenen nur im Zentrum der Scheibe parallel zu den Retinaschichten - zum Rand hin und mit zunehmender Eindringtiefe wird die relative Schneiderichtung zunehmend schräger, sodaß gleichzeitig mehrere Retinaschichten in der Anordnung konzentrischer Ringe sichtbar werden.

Für die genaue räumliche Analyse von Strukturen sind Schnittserien - radial oder tangential geführt - unerlässlich. Damit kein Schnitt verloren geht, muß sehr konzentriert und mit ruhiger Hand gearbeitet werden und für die Rekonstruktion die Position sowie die Interferenzfarbe eines jeden Schnittes schriftlich festgehalten werden. Die Schnitte wurden vor der TEM-Untersuchung automatisch kontrastiert (LKB Ultrastainer 2168: 60min bei 40°C mit verdünnter Uranylacetatlösung „Leica Ultrastain 1“ und 30min bei 26°C mit verdünnter Bleicitratlösung „Leica Ultrastain 2“). Somit erhalten die Gewebescheiben insgesamt einen 3-fachen Schwermetallkontrast (Os, U, Pb).

Die transmissionselektronenmikroskopische Betrachtung der Schnitte, sowie die photographische Dokumentation geeigneter Motive wurden mit einem Philips-CM10 durchgeführt (LaB<sub>6</sub>-Kathode, Hellfeldmodus, Beschleunigungsspannung 80kV).

Die Herstellung von TEM-Aufnahmen erfolgte auf elektronensensitive, vor-evakuierte Agfa Scientia EM Negativfilme (8.3cm x 10.2cm) mit der, im CM10 integrierten Kamera. Die Entwicklung der Negative erfolgte im institutseigenen Photolabor: Sie wurden 4min in Kodak D-19 Negativentwickler entwickelt. Das Stopbad stellte ein einfaches Wasserbad dar, in dem die Filme 1min verblieben, bevor sie für 10min in ein Fixierbad (Tetenal Superfix) gegeben wurden. Nach einer 30minütigen Wässerung und Trocknung im Trockenschrank (1h bei 60°C) wurden die Negative archiviert. Von den TEM-Negativen wurden Arbeitsabzüge und die Photos für die TEM-Phototafeln mit einem Durst-Vergrößerer (Laborator 1200, Objektiv: Rodenstock Apo-Rodagon N 150mm, Belichtungsmesser: Wallner Vario 30) auf kunststoffbeschichtetem Photopapier (Agfa Brovira Speed 310RC glossy, 17.8cm x 24.0cm, Gradationen 1 bis 5) angefertigt. Entwicklung (ca. 1min) in Tetenal Eukobrom SW-Papierentwickler 1+9, „Stoppen“ (ca. 1min) in 0.1% Essigsäure, Fixieren (10min) in Tetenal Superfix 1+7, 30min Wässern in fließendem Leitungswasser, Trocknen in einer Heißwalze (60°C) und Glätten auf einer flachen Unterlage an der Luft.

#### 2.2.4 Raster-Elektronenmikroskopie

Zwei Sardellenretinae wurden präpariert und fixiert, wie unter 2.1.1 beschrieben, wobei die Augenbecher als ganzes osmiert wurden. Um für die rasterelektronenmikroskopische Betrachtung längs orientierte Bruchflächen durch die Netzhaut freizulegen, kamen zwei unterschiedliche Verfahren zur Anwendung:

**Trockenbrüche:** ein osmierter Augenbecher wurde 2x 15min in 0.1M Cacodylatpuffer gewaschen und in der aufsteigenden Acetonreihe entwässert (30, 50, 70, 90, 96, 100, 100%) - pro Entwässerungsschritt wurden die Präparate 15min in der Lösung belassen. Danach wurde der Augenbecher in einem „Critical Point“-Trocknungsgerät (Polaron E 3000) aus 100%igem Aceton in mehreren Spülschritten in flüssiges CO<sub>2</sub> überführt (15°C, 35 bar), welches anschließend durch Erhöhung von Temperatur und Druck (40°C, 85 bar) ohne Durchschreiten einer Phasengrenze vom flüssigen in den gasförmigen Aggregatzustand gebracht wurde. Die Siedekurve wird außerhalb des sog. „kritischen Punkts“ im Phasendiagramm umgangen und so können Gewebeschädigungen durch Dampfdruck- oder Oberflächenspannungskräfte des Lösungsmittels verhindert werden - nur so gelingt

es, „weiches“ Gewebe formstabil zu erhalten (im Gegensatz z.B. zu sklerotisierten Insektenoberflächen). Nach der Druckentlastung wurde die trockene Retina samt Augenbecher auf einer harten Unterlage (Papier auf Keramik) in einige Teile gebrochen - zu diesem Zweck übte man mit zwei sauberen Pinzetten leichten Druck von oben auf gegenüberliegende Ränder der konkaven Retinafragmente aus. Die Retinastücke wurden, ohne sie anderweitig zu berühren, auf REM-Präparatehalter geschüttet (mit selbstklebender, elektrisch leitender Kohlenstoffolie belegte Aluminium-Tischchen), ggf. vorsichtig nachorientiert und in einem „Bio Rad SEM Coating System“ in verdünnter Argon-Atmosphäre mit Gold beschichtet (2.5 kV, ca. 0.02mbar, 120sek).

**Gefrierbrüche:** der zweite Augenbecher wurde auch 2x für 15min in 0.1M Cacodylatpuffer gewaschen und dann für eine weitere halbe Stunde in einer 30%igen Lösung von Dimethylformamid (DMF) im o.g. Puffer infiltriert. Das Präparat wurde trockengetupft und in einer, mit flüssigem Stickstoff gefüllten Styroporwanne auf -196°C heruntergekühlt. Auf einem Blech, das auf Höhe des N<sub>2</sub>-Flüssigkeitsspiegels angebracht war, wurde der Augenbecher incl. Retina mit zwei (gekühlten!) Pinzetten in einige Stücke gebrochen. DMF fungiert hier als Frostschutzmittel, das allenfalls die Bildung submikroskopischer Eiskristalle zulässt. Die kalten Netzhautfragmente wurden in der DMF-Lösung aufgetaut, in 0.1M Cacodylatpuffer gewaschen und wie oben bei der Trockenbruchtechnik weiterbehandelt (Entwässern, CP-Trocknen, Montieren, Goldbesputtern). Beispielgebend waren für diese Technik die Rezepte von TANAKA & NAGURO (1981) sowie TANAKA & MITSUSHIMA (1984), wobei von mir DMF statt DMSO (Dimethylsulfoxid) verwendet und von einer zweiten Osmiumätzung nach dem Brechen abgesehen wurde.

Die nach Trocken- oder Gefrierbruchtechnik vorbereiteten Netzhautfragmente wurden in einem Philips XL 20 Rasterelektronenmikroskop bei einer Beschleunigungsspannung von 20kV (high-voltage-Kathode) nach geeigneten Bruchflächen durchsucht, aussagekräftige Ausschnitte daraus möglichst scharf und kontrastreich abgebildet und ohne Umweg über das Photolabor als Bilddateien (TIFF-files, knapp 400kB bei 150dpi) abgespeichert. Die Trockenbruchtechnik liefert Aspekte von intakten oder leicht porösen Zelloberflächen in weitgehend natürlichem Zustand (siehe z.B. Abb. 3.12A). Die Gefrierbruchtechnik zeigt vergleichsweise glatte Bruchflächen, die unabhängig vom Verlauf von Zellmembranen quer durch das Gewebe, bzw. durchs Zytoplasma führen (siehe z.B. Abb. 3.12B).

---

## 2.3 Neuroanatomische Verfahren

### 2.3.1 Silberchromat-Imprägnierung

Diese klassische Methode zur stochastischen Färbung von Nervenzellen geht zurück auf GOLGI (1873, zitiert bei BÖCK 1989), wurde im Detail vielfach abgewandelt (z.B. CAJAL 1926; COLONNIER 1964; STELL 1967; SCHOLLES 1975) und auch im Rahmen der vorliegenden Arbeit in mehreren Variationen angewandt. Die Golgifärbung beruht auf der Bildung eines dunkelroten bis schwarzen Niederschlages aus Silberchromat innerhalb bzw. entlang von Nervenzellen nach abwechselnder Behandlung isolierter Retinae mit Dichromat- ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ) und Silberionen ( $\text{Ag}^+$ ). Die Dichromatlösung ist gleichzeitig eine Fixierlösung und besteht aus drei Volumenteilen einer 2.5%igen Kaliumdichromatlösung (0.625g  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  auf 25ml Aqua dest.) und einem Teil einer 25% Glutardialdehydlösung (Fa. Roth). Die Silbernitratlösung (0.75%) erhält man durch lösen von 0.375g  $\text{AgNO}_3$  in 50ml Aqua dest. Es ist nicht vorhersagbar welche Zellen imprägniert werden, daher ergibt sich in der Regel ein unvollständiges aber übersichtliches Bild der nervösen Strukturen des behandelten Gewebes. Nach Kap. 2.2.1 präparierte Augenbecher wurden standardmäßig 2x hintereinander dem folgenden Behandlungsschema unterworfen:

7 Tage Dichromatlösung =>

2-3sek spülen in Aqua dest. =>

3 Tage Silbernitratlösung =>

2-3sek spülen in Aqua dest. =>

Diese Schritte erfolgten bei Zimmertemperatur in geschlossenen Rollrandgläsern im Dunkeln. Danach wurden die Augenbecher in Stücke ( $\frac{1}{4}$  oder  $\frac{1}{8}$ ) geschnitten - davon mit dem Rasiermesser von Hand Radialschnitte für die lichtmikroskopische Kontrolle angefertigt - und danach in der aufsteigenden Acetonreihe entwässert (30%, 50%, 70%, 90%, 3x100%). Die Einbettung der Golgipräparate erfolgte in Epon, wobei gegenüber der Einbettung für Semi- und Ultradünnschnitte (s. 2.2.1) ein etwas weiches Kunstharz verwendet wurde.

---

Für 100ml Kunstharzmischung werden eingesetzt:

Substanz	Menge	Artikelnummer
Glycidether 100	38.3 ml	8619.1
Härter DBA	61.7 ml	8639.1
Beschleuniger DMP-30	1.80 g	8621.1

40µm dicke Radial- und Tangentialschnitte der silberimprägnierten Retinafragmente von wurden an einem LKB-Historange 2218 Mikrotom hergestellt, auf Objektträger aufgezogen, mit DePeX eingedeckt und archiviert. Die Untersuchung und Ablichtung der Präparate erfolgte am Lichtmikroskop im Hellfeld (SW-Kleinbild-Negativfilm oder Videokamera, siehe 2.2.2).

Im Gegensatz zu Kontrollversuchen mit Cichliden und Goldorfen führte das Standardverfahren bei *Engraulis encrasicolus* kaum zu befriedigenden Ergebnissen (stattdessen kam es vorwiegend zu parazellulärer Kristallbildung in den plexiformen Schichten oder zu partiellen Neuronenfüllungen). Eine mögliche Erklärung dafür können Diffusionsprobleme auf der skleralen Seite der Retina sein, da sich das Pigmentepithel der Sardelle im Gegensatz zu dem der meisten untersuchten Teleostei (z.B. SCHOLLES 1975) auch im dunkeladaptierten Zustand nicht von der Neuroretina ablösen läßt.

Aus diesem Grund wurden mehrere Variationen des Standardverfahrens ausprobiert:

- Behandlung von Augenbechern in einem Eigelbmantel
- Behandlung vollständiger, angeritzter Augen
- Behandlung von kleinen Retinastücken: unversehrt, perforiert oder gedehnt
- Vorfixierung mit Formaldehyd
- Nachfixierung mit OsO<sub>4</sub>
- kurzer osmotischer Schock des vorfixierten Materials mit Aqua dest.

Bei der Arbeit mit kleinen, schonend behandelten Retinastücken konnten einige verwertbare Nervenzellfärbungen erzielt werden (Abb. 3.38/39).

---

### 2.3.2 DiI-Diffusion

Ein beliebtes, wenig aufwendiges Verfahren zur Darstellung individueller Nervenzellen ist die Behandlung mit dem Carbocyanin-Fluoreszenzfarbstoff „DiI“ von Molecular Probes Inc. (z.B. GODEMENT et al. 1987; CAMERON & EASTER 1993). Diese Substanz ist fettlöslich, kann sich daher in der Zellmembran von aldehydfixierten Zellen per Diffusion ausbreiten (ca. 400µm/Tag bei Zimmertemperatur: GODEMENT et al. 1987) und auf diesem Weg auch bis in die feinsten Verzweigungen von Dendritenbäumchen gelangen. Die Darstellung der markierten Zellen erfolgt fluoreszenzmikroskopisch (Exzitation:  $\lambda_{\max}$ = 540nm, Emission:  $\lambda_{\max}$ = 565nm nach Herstellerangaben).

Zur Fixierung von Augenbechern wurde 4%ige Formaldehydlösung in Phosphatpuffer (0.1M, pH 7.3) verwendet. Von einer Glutardialdehydfixierung ist dringend abzuraten, da sie die Autofluoreszenz des Gewebes deutlich erhöht und damit den Fluoreszenzkontrast der DiI-behandelten Neuronen stark vermindert.

Der Farbstoff DiI wurde in kristalliner Form appliziert. Mittels einer feinen Insektennadel wurden kleine (gerade eben sichtbare) DiI-Kristalle auf das Nervengewebe aufgebracht und zwar je nach Ansatz an verschiedenen Stellen:

- auf den Stumpf des durchtrennten Tractus opticus
- auf die vitreale Oberfläche der Retina
- auf die Schnittflächen von Radialschnitten durch die Retina
- etwa mittig in die Retina hineingestopft

Die Gewebestücke wurden vor der Farbstoffapplikation mit einem Stück Zellstoff trockengetupft, damit die hydrophoben Kristalle nicht abschwammen. Anschließend wurden die Präparate in einer feuchten Kammer eingeschlossen (Rollrandglas mit Zellstoff, getränkt mit gepufferter Formaldehydlösung) und im Dunkeln bei Zimmertemperatur für zwei bis vier Wochen gelagert. Danach wurden die Augenbecher randlich eingeschnitten und als Totalpräparat mit der Vitrealseite nach oben zwischen Objektträger und Deckglas montiert.

Die Untersuchung des gefärbten Materials erfolgte unter einem konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop: Nach der Orientierung und der Motivwahl unter konventioneller Epifluoreszenzbeleuchtung wurden die fluoreszierenden Neuronen in einer Reihe optischer Schnitte entlang der z-Achse abgetastet (2.2.2).



---

### 2.3.3 Intrazelluläre Mikroinjektion mit Lucifer Yellow

Die gezielte Darstellung einzelner Nervenzellen in der Retina wurde auch mittels intrazellulärer Mikroinjektion versucht. Der Hauptteil dieser Aufgabe war vorerst in der Wiedereinführung der Methode in der Arbeitsgruppe zu sehen. Da keine moderne Systemlösung zur Verfügung stand, mussten bewährte Teile aus Abteilungs- und Institutsbeständen rearrangiert werden - zudem sollte die Apparatur portabel sein, um ihren Einsatz auch dort zu ermöglichen, wo lebendfrische Sardellen erhältlich sind (d.h. am Meer z.B. in den Räumlichkeiten des Meeresbiologischen Instituts in Rovinj).

Hinweise zur Verbesserung der Apparatur und ihrer Handhabung erbrachte ein Besuch in der Abteilung von Prof. WÄSSLE am MPI für Hirnforschung in Frankfurt, durch die hilfsbereiten Ratschläge von Iris HACK und Dr. PEITL und die Möglichkeit zu praktischen Übungen an einer modernen Mikroinjektionsanlage. Die funktionsfähige, portable Apparatur des Zoologischen Institutes München ist in Abb. 2.4 dargestellt und besteht aus folgenden Komponenten:

- Leitz Epi-Fluoreszenzmikroskop mit langbrennweitigem (!) Objektiv 16x
- Mikromanipulator aus institutseigener Produktion mit Grobtrieben in allen drei Raumachsen, Kipphebel, manuellem Feinvortrieb und Elektrodenhalter
- gefüllte Mikropipette aus Glas (s.u.)
- Injektionsbad mit Silberelektrode
- Stromkreis mit Schalter

Für eine weitgehend schwingungsfreie und stabile Positionierung wurden das Mikroskop mit Injektionsbad und der Mikromanipulator mit Mikropipette in geeigneter Stellung zueinander auf einer massiven Eisenplatte (ca. 20kg) befestigt und auf vier kleinen, luftgefüllten Fahrradschläuchen gelagert.

Das Injektionsbad wurde aus einer Petrischale angefertigt in die ein Silberdraht eingeklebt wurde (vgl. Abb. 2.4D) und auf ein Kunststoffplättchen passend zur Kreuztischklemme des Mikroskops aufgeklebt. Das Bad wurde für die Mikroinjektion bodenbedeckend mit Phosphatpuffer gefüllt (0.1M, pH 7.4).

Retinapräparate für die Mikroinjektion wurden nur von frisch gefangenen und gekühlt in den Hafen von Rovinj transportierten Mittelmeersardellen angefertigt. Die Augenbecher (vgl. 2.2.1) wurden in 4% Formaldehyd in Phosphatpuffer 5, 15, 30 oder 60 Minuten anfixiert, mehrmals in Puffer gespült, geviertelt und dann von der Sklera befreit (PE verbleibt an der Neuroretina).

---

Die so erhaltenen Netzhautquadranten wurden mit der Vitrealseite nach oben einzeln auf Glasobjektträger gelegt und mit einem Stück Mikroporenfilter bedeckt, in das zuvor ein dreieckiges Loch geschnitten wurde (vgl. Abb. 2.4B). Der Filter wurde mit einer Beilagscheibe aus Edelstahl beschwert und das ganze „sandwich“ im Injektionsbad platziert.

Die Herstellung der Mikropipetten erfolgte aus Glaskapillaren, die an ihrer Innenwand ein feines Glasfilament enthalten (Science Products GB100 F-10 & TF-10) mit der Hilfe verschiedener Elektropuller (Sutter Instruments Co. P87; WPI Pul-1). Die Standardeinstellung der Geräte führte in jedem Fall zu brauchbaren Pipetten, so daß die Spitzenform für die Injektion (ohne Ableitung) als unkritisch angesehen werden kann. Zur Aufbewahrung wurden die Mikropipetten in Petrischalen auf Knetestreifen befestigt. Dieser Schutz war auch ausreichend, sie unversehrt mit dem PKW nach Rovinj transportieren zu können. Erst nach ca. 3 Monaten wurden die Pipetten zunehmend unbrauchbar (Spitzen fließen zu).

Die Spitzen der Mikropipetten wurden mit einer ca. 4%igen Lösung des Fluoreszenzfarbstoffes „Lucifer Yellow“ (Sigma L0259) in wässriger 1.5M Lithiumacetatlösung gefüllt und zwar von hinten durch die Kapillarwirkung des Glasfilaments. Der Rest der Kapillare wurde mittels einer sehr feinen Spritzenadel ( $\varnothing=0.45\text{mm}$ ) mit Lithiumacetatlösung aufgefüllt und dann auf den Silberdraht des Elektrodenthalers am Mikromanipulator aufgesteckt.

Vor der eigentlichen Injektion muß die Pipette auf Funktionsfähigkeit überprüft werden: Abseits des zu untersuchenden Gewebes wird die Spitze im Blickfeld des Mikroskops in den Puffer eingetaucht, im Hellfeld scharfgestellt und dann nur noch mit der UV-Epifluoreszenzanregung beleuchtet. Die Silberdrähte am Elektrodenthaler und am Injektionsbad werden mit einer 3V Batterie verbunden (Mikropipette an der Kathode), so daß der Stromkreis über einen Tastschalter geschlossen werden kann. Wenn auf Tastendruck ein kleines leuchtendes Wölkchen in der Umgebung der Pipettenspitze erscheint (anionischer Farbstoff !), dann ist die Apparatur einsatzbereit. Wird die Stromstärke

---

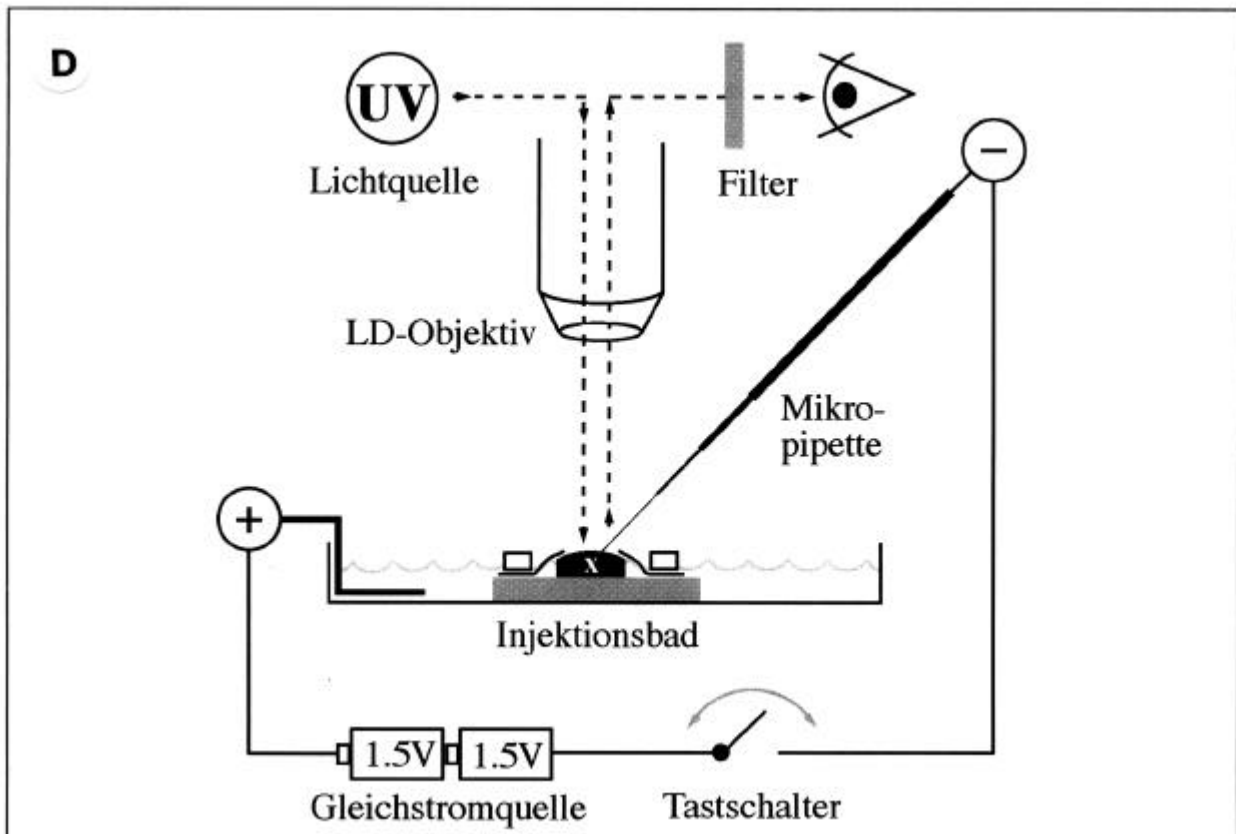
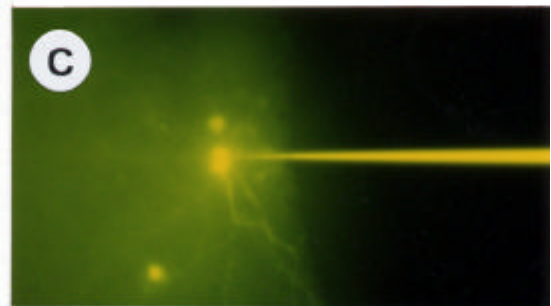
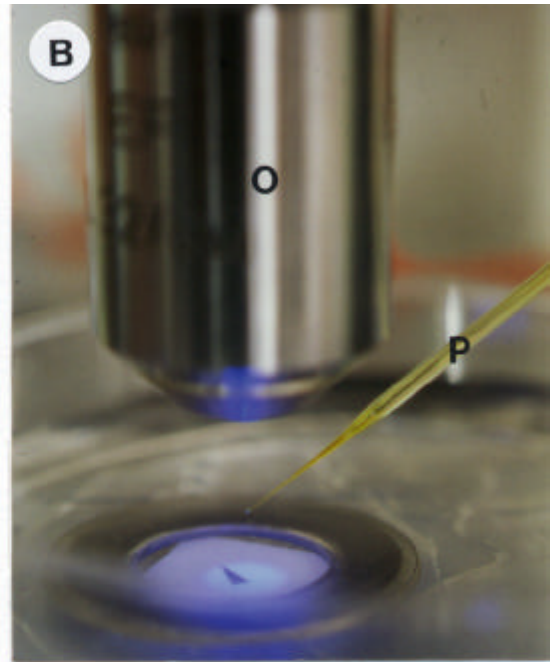
**Abbildung 2.4: Portable Apparatur zur intrazellulären Mikroinjektion von Lucifer Yellow** >

A) Photo der Apparatur. **FM** Fluoreszenzmikroskop, **M** Mikromanipulator, **N** Netzteil der UV-Lampe, **R** Regelelektronik (verzichtbar s. Text), **E** schwingungsarm gelagerte Eisenplatte.

B) Annäherung der Mikropipette (**P**) an das Retinaräparat (>). **O** „long distance“ Objektiv.

C) Erfolgreiche Injektion von Lucifer Yellow in eine Ganglienzelle (Mikrophoto).

D) Schema zum Versuchsaufbau. **x**: Retina.



an der Elektrodenspitze zu groß, dann wird die Spitze durch Kristallbildung zugesetzt - eine Umpolung der Stromversorgung kann den Pfropf ggf. lösen.

Die Annäherung der Mikropipettenspitze an die vom Mikroporenfilter unbedeckte Retinaoberfläche geschah in einem möglichst steilen Winkel zunächst makroskopisch, dann unter mikroskopischer Kontrolle im Hellfeld und schließlich unter UV-Epifluoreszenzanregung mit Fluoreszein-Filterset. Abwechselnd wurde nun mit kleinen Stößen auf den manuellen Feinvortrieb die Nadel in Schritten von wenigen Mikrometern in das Gewebe geschoben und mit kurzen Strompulsen Farbstoff ausgestoßen. Besonders schonend funktioniert das mit den dickwandigen Pipetten und durch schließen des Stromkreises mit blosem Fingerkontakt unter Umgehung des Tastschalters. War eine Zelle erfolgreich getroffen, so wurde die Injektion ca. 1 Minute pulsierend fortgesetzt, bis die Fluoreszenz auch in den feinsten Zellfortsätzen zu erkennen war und danach die Nadel zurückgezogen. Auf diese Weise wurden mehrere Zellen pro Präparat gefüllt und anschließend 20 Minuten in 4%iger gepufferter Formaldehydlösung nachfixiert. Stabile Färbungen konnten auf diese Weise bisher von den am weitesten vitreal gelegenen Zelltypen - den Ganglienzellen und den Amakrinzellen - gewonnen und mikrophotographisch dokumentiert werden (vorzugsweise Laserscans nach 2.2.2, siehe Abb. 3.40/41) und blieben in der feuchten Kammer (Puffer + Formol) wochenlang bestehen.

## **2.4 Bildverarbeitung und graphische Darstellung**

Die Ergebnisse der vorliegenden morphologischen Arbeit sind naturgemäß zum überwiegenden Teil Bilddaten und wurden in Form von Phototafeln und Computergraphiken niedergelegt. Sie wurden wie folgt angefertigt:

### **2.4.1 Phototafeln**

Lichtmikroskopische Aufnahmen lagen entweder als Kodak-Digiprints im Format 9cm x 13cm vor oder als Kleinbild-Farbdia. Erstere wurden zugeschnitten, in geeigneter Anordnung auf Photokarton geklebt und mit Letraset-Symbolen beschriftet (z.B. Abb. 3.54), letztere wurden in elektronische Bilddateien umgewandelt (Nikon Coolscan II am Macintosh, Auflösung 2400dpi), mit Adobe Photoshop<sup>TM</sup> arrangiert und beschriftet und mit einem DIN A4 Thermosublimationsdrucker (Mitsubishi CP2000, Auflösung 325dpi) in Farbe ausgedruckt (z.B. Abb. 3.4). In gleicher Weise wurde mit den elektronischen Bilddaten vom Laser-Scanning Mikroskop verfahren (Abb. 3.39-41). Auch Kombinationen der beiden Verfahren kamen zur Anwendung (z.B. Abb. 3.2).

Makroaufnahmen von der Sardelle und ihren Augen (Abb. 2.3) wurden mit einer Nikon F3 Kleinbildkamera (Objektiv 50mm mit und ohne Umkehring) auf Kodak Ektachrome 64 Farbdiafilm gemacht.

Die Röntgenaufnahmen von der Sardelle (Abb. 2.3B,C) wurden in der radiologischen Abteilung des Stadtkrankenhauses in Rovinj auf einer 13cm x 18cm Röntgen-Negativfilmplatte beim Minimum der einstellbaren Strahlendosis angefertigt. Die Positivabzüge auf Photopapier wurden wie in Kap. 2.2.3 angegeben hergestellt.

Die TEM-Tafeln wurden aus Papierabzügen (2.2.3) erstellt. Jedes Motiv wurde in verschiedenen Graustufen abgezogen, um Auswahlmöglichkeiten für eine harmonische Tafelkomposition zu bekommen. Bilder, die in Helligkeit und Kontrast gut aufeinander abgestimmt waren, wurden zurechtgeschnitten, auf Photokarton geklebt und mit Letraset-Symbolen beschriftet (z.B. Abb. 3.14, 3.17). Es wurden auch Tafeln in Kombination mit LM (z.B. 3.56) oder Computergraphik (z.B. Abb. 3.16) angefertigt.

REM-Tafeln (z.B. Abb. 3.18) wurden mit Adobe Photoshop™ direkt aus elektronischen Bilddateien (siehe 2.2.4) zusammengestellt, kontrastverstärkt, beschriftet und mit dem Videoprinter ausgedruckt

## **2.4.2 Computergraphiken**

Neben der Bildbearbeitung und Tafelgestaltung (2.4.1) wurden Computer v.a. dazu eingesetzt, um eigene Graphiken zu erstellen, bildliche Vorstellungen vom dreidimensionalen Aufbau bestimmter Feinstrukturen zu bekommen und für die Simulation von Strahlengängen im Keilspiegel. Ferner wurden zur Visualisierung bestimmter Zusammenhänge auch aus der Literatur Graphiken entnommen und leicht modifiziert abgebildet (Kap. 1, 2, 4).

Die Erstellung und Bearbeitung von Computergraphiken wurde auf einem Macintosh Power PC 7500/100 unter Verwendung der Bildverarbeitungs-Software Adobe Photoshop™, NIH-Image 1.60beta und IDL durchgeführt. Grundlage für die meisten eigenen Graphiken waren Handzeichnungen (Import über einen UMAX Vista S6 Flachbettscanner), in wenigen Fällen wurden Bilddateien aus dem Internet modifiziert und eingebaut (z.B. Abb. 4.8C).

Ausgabegerät war entweder der oben genannte Thermosublimationsdrucker oder ein Schwarz-Weiß Laserdrucker (Apple Laser Writer 16/600PS, 600dpi).

## **Dichtekarten**

Die Photorezeptor-Dichtekarten der Sardellenretina (Abb. 3.5/6) wurden aus je 80 Meßwerten mit definierter Position im Koordinatensystem der Netzhaut erstellt. Dazu wurden zunächst die Rohdaten [Zellen/ $10^4\mu\text{m}^2$ ] ins Zentrum der zugehörigen Felder einer kreisförmigen Projektion der Retina im Format DIN A2 eingetragen (vgl. z.B. Abb. 3.5A) und auf allen Verbindungslinien benachbarter Dichtewerte die Positionen für Vielfache von 10 Zellen/ $10^4\mu\text{m}^2$  linear interpoliert. Punkte gleicher Dichtewerte wurden nun miteinander verbunden und die resultierenden eckigen Linien abgerundet. Nach diesen manuellen Arbeitsschritten wurde die Karte eingescannt, die Flächen gleicher Dichtewerte farblich bzw. grau gefüllt (mit zunehmender Rezeptordichte dunkler) und beschriftet.

## **TEM-Abstraktionen**

Um die Interpretation von TEM-Bildern zu erleichtern, wurde manchen Aufnahmen eine graphische Abstraktion gegenübergestellt, die die Strukturen einzelner Zelltypen in unterschiedlichen Farben hervorhebt (z.B. Abb. 3.7/8). Im Fall der Serienrekonstruktion des Cilienschichtbereiches von langen und kurzen Zapfen (Abb. 3.11/15) wurde als adäquate Darstellungsform die Schwarz-Weiß-Abstraktion ausgesuchter TEM-Bilder gewählt. Ausgehend von einer Papiervergrößerung des TEM-Negativs wurden die Zellumrisse mit Folienstift auf Kopierfolie nachgezeichnet, eingescannt und mit Photoshop nachbearbeitet. Abb. 3.36 A/B entstanden auf dem gleichen Weg, nur daß als Vorlage ein Mosaik mehrerer TEM-Abzüge fungierte - eine einzelne Aufnahme bei schwacher Vergrößerung hätte den Verlauf der Zellmembranen nicht erkennen lassen. An den abstrahierten Computerbildern lassen sich zudem sehr bequem Zählungen und nach Maßstabseichung auch Strecken- und Flächenmessungen durchführen. Korrekturversuche wegen möglicher Gewebeschrumpfung wurden nicht gemacht (meist  $<5\%$ , CAMERON & EASTER 1993).

## **3D-Rekonstruktionen**

In vier Fällen wurden Folienstift-Abstraktionen von Zell- bzw. Zellkernumrissen aus lückenlosen Ultradünnschnittserien gemacht (Abb. 3.28, 3.33, 3.36E, 3.37) und für die dreidimensionale Rekonstruktion mit dem Computer eingescannt. Mit Hilfe einer für die Bildstapelverarbeitung ausgelegten Software (NIH-Image) mussten zunächst aufeinanderfolgende Bildebenen möglichst exakt zueinander ausgerichtet werden (Rotation und Translation: Abb. 2.5), um dann als Ganzes in verschiedene Richtungen gedreht und betrachtet werden zu können. Zur Erlangung einer Tiefenwirkung wurden die Projektion der gedrehten Datensätze entweder farbcodiert (mit NIH-Image, Abb. 3.28/37C) oder als sog. Rot-Grün Anaglyphen aus zwei, um  $6^\circ$  gegeneinander verdrehten

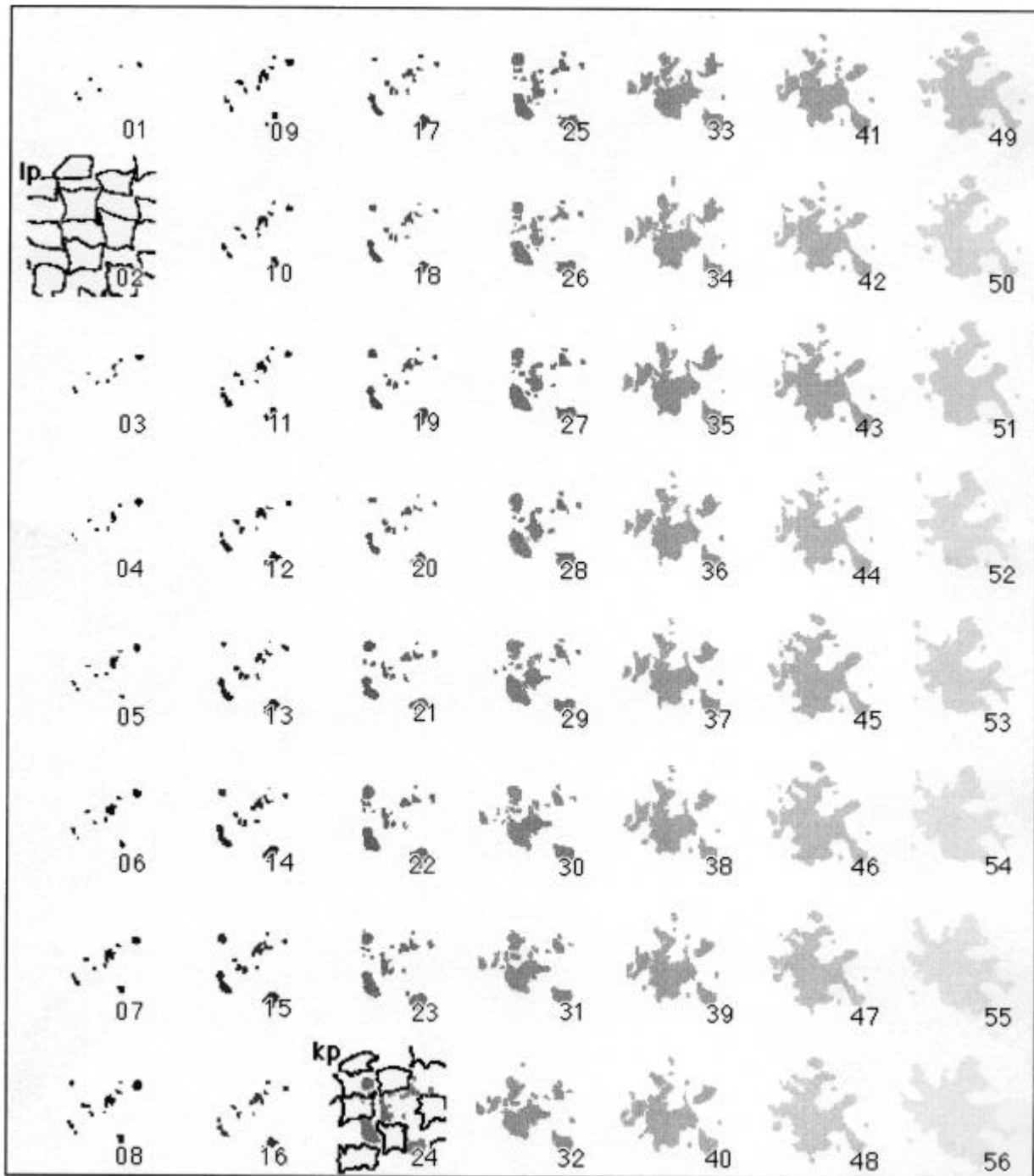


Abbildung 2.5:

Abstrahierte Zellumrisse aus einer Ultradünnschnittserie durch eine H1-Zelle für die 3D-Rekonstruktion von skleral (1) nach vitreal (56). lp Pediclebasen der langen Zapfen, kp Pediclebasen der kurzen Zapfen (vgl. Abb. 3.37).

Projektionen zusammengesetzt (Abb. 3.33; 3.37A,B) - die Betrachtung dieser Bilder erfordert eine Rot-Grün-Brille, wie sie im Rückendeckel dieser Arbeit bereitgehalten wird. Auch auf der Grundlage lichtmikroskopisch gewonnener Bilderstapel wurden Rot-Grün Anaglyphen erzeugt: Die Abbildungen 3.39A/C/F basieren auf „optischen Schnitten“ durch ein Golgipräparat (2.2.2), die direkt und richtig ausgerichtet von der CCD-Kamera in den Rechner importiert werden konnten. Abb. 3.41B beruht auf manuellen Abstraktionen der optischen Schnittserie, die mit dem Laser-Scanning Mikroskop von einer Lucifer-Yellow injizierten Ganglienzelle gemacht wurde.

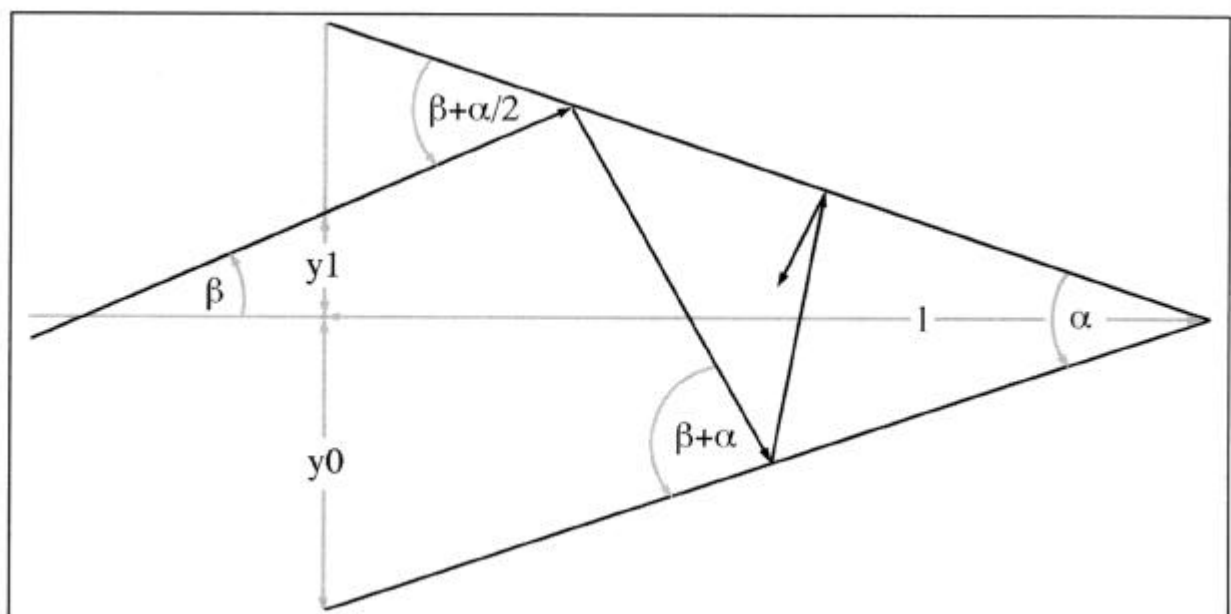
### Pseudo-3D-Grafiken

Alle schematischen Abbildungen, die nicht aus der Literatur übernommen sind (u.a. 3.26/57, 4.1/2/8) wurden zunächst auf Papier vorgezeichnet, dann eingescannt und mit Photoshop nachbearbeitet. Sie wurden in enger Anlehnung an vorliegendes Bildmaterial aus der Licht- und Elektronenmikroskopie erstellt.

### Strahlengangsimulation

Die zweidimensionale Simulation von Strahlengängen im Keilspiegel der *Engraulis*-Polycones wurde nach den Gesetzen der geometrischen Optik mit einem selbstgeschriebenen Algorithmus durchgeführt (Programmiersprachen: QBasic und Mathematica). Für einen gegebenen Öffnungswinkel, sowie Einstrahlort und Einstrahlwinkel konnten so auf bequeme Weise die Kontaktpunkte und Reflexionswinkel bei der wiederholten Reflexion im Keilspiegel bestimmt werden (Abb. 4.5 und 4.10).

**Abbildung 2.6: Geometrisches Prinzip für die Strahlengang-Berechnungen**

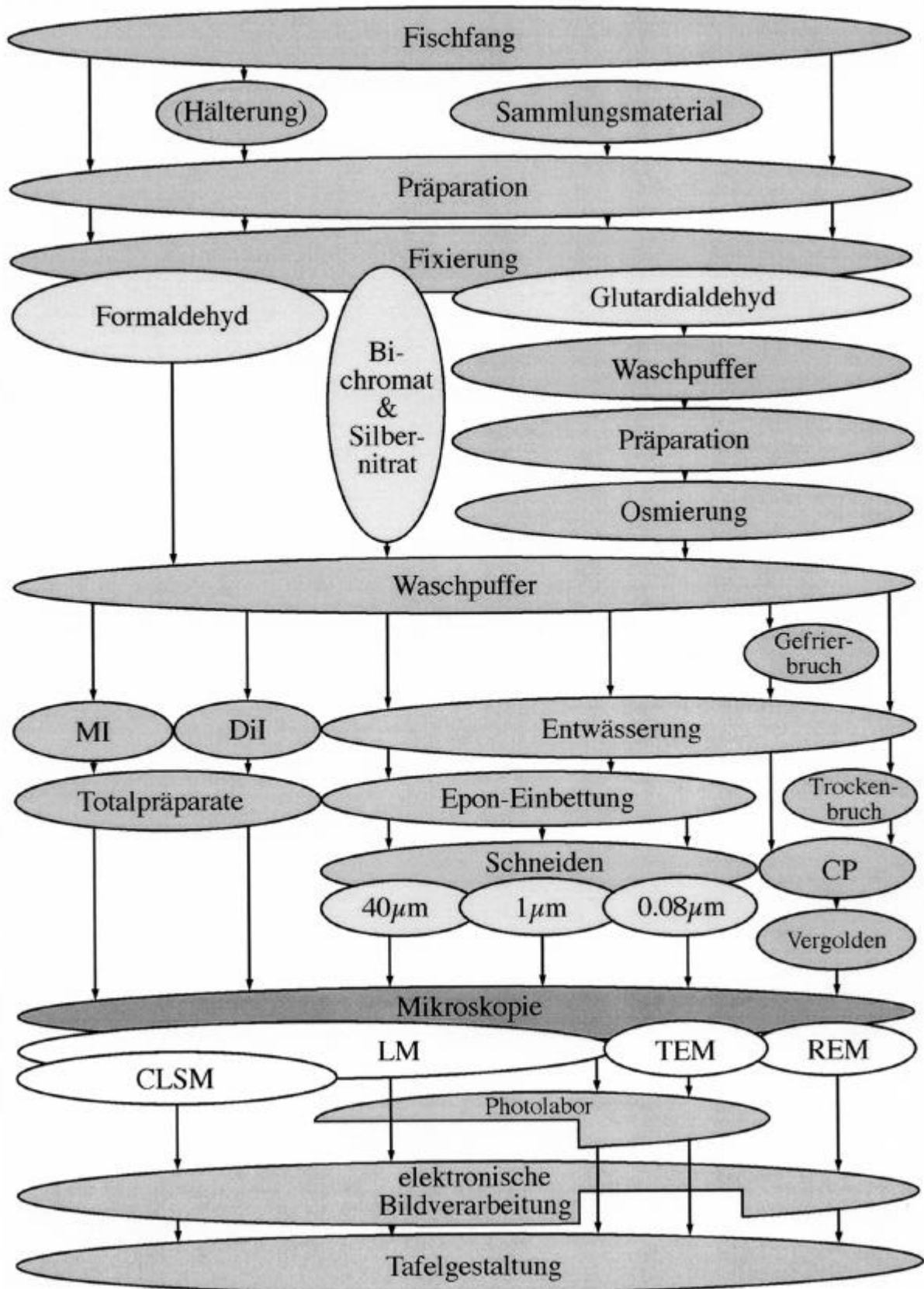




## QBasic-Algorithmus zur Berechnung des Strahlengangs von Licht in einem Keilspiegel:

```
10 REM KEIL1.BAS
20 CLS : CLEAR
30 REM Definition der Konstanten
40 l = 57.15: y0 = 5: ah = 5: k = 1: i = -1
50 pi = 3.1415926536#: p2 = 6.2831853072#: ph = 1.5707963268#
52 REM Definition der Variablen
55 y1 = 4: b = 5
60 REM Umrechnung der Winkel in Radianen
70 PRINT „Öffnungswinkel“, „Eintrittswinkel“, „Eintrittsort“
80 a = 2 * ah: PRINT „a=„, a, : ah = ah * (p2 / 360)
90 PRINT „b=„, b, : PRINT „y1=„, y1: PRINT : b = b * (p2 * 360)
100 PRINT „Reflexionswinkel“, „Eindringtiefe“, „Δ-Lichtweg“, „Lichtweg“
110 REM Eintritt in den Keilspiegel
120 g = ph - (b + ah): gg = g * (360 / p2)
130 dx = (y0 - y1) / (TAN(b) + TAN(ah))
140 dy = dx * TAN(ah): y = y0 - dy: y2 = y - y1
145 IF y < 0 THEN GOSUB 500
150 dd = SQR(dx * dx + y2 * y2): d = d + dd
160 x = (CINT(dx * 100)) / 100
170 tt = (CINT(dd * 100)) / 100
180 t = (CINT(d * 100)) / 100
190 PRINT CINT(gg), x, tt, t
195 y = y * k
200 REM Iteration der Reflexionen
210 a = y * TAN(g - ah): dy = a * TAN(ah): y2 = y - dy
220 g = g - 2 * ah: gg = g * (360 / p2)
230 b = (y2 * TAN(g + ah)) / (1 + TAN(ah) * TAN(g + ah))
240 dx = dx + a + b
250 dy = b * TAN(ah): yy = y2 - dy
260 dd = SQR(y * y + a * a) + SQR(yy * yy + b * b)
270 y = yy: d = d + dd
280 x = FIX(dx) + CINT((dx - FIX(dx)) * 100) / 100
290 tt = FIX(dd) + CINT((dd - FIX(dd)) * 100) / 100
300 t = FIX(d) + CINT((d - FIX(d)) * 100) / 100
305 IF dx < 0 THEN END
306 IF dx < 1 THEN END
310 PRINT CINT(gg), x, tt, t
320 IF dx > 0 THEN GOTO 210 ELSE END
490 REM Gosub-Routine
500 y0 = -5: dx = -(y0 - y1) / (TAN(ah) + TAN(b))
510 g = ph - ah + b
520 dy = dx * TAN(b): y = y1 + dy
530 i = 1: k = -1
540 RETURN
```

### 2.4.3 Flußdiagramm zum Methodenteil



(zu den Abkürzungen siehe Seite 7)

- Diese Seite bleibt zum Zweck einer ansprechenderen Darstellung  
Des Kapitels 3.1 frei -

### 3. Ergebnisse

Die Ergebnisse meiner praktischen Arbeiten an den Retinae der Europäischen Sardelle und einiger verwandter Arten lassen sich in drei Kapitel gegliedert darstellen:

Der erste Teil (3.1) behandelt anhand licht- und elektronenmikroskopisch erstellter Phototafeln und Computergrafiken die Struktur der Zapfen und des Pigmentepithels in der Netzhaut von *Engraulis encrasicolus*, sowie das vorherrschende Muster und die regionale Verteilung der Photorezeptoren.

Im zweiten Teil (3.2) finden meine ersten Bemühungen zum Verständnis der Neuroanatomie und Verschaltung der Sardellenretina, insbesondere im Bereich der äußeren plexiformen Schicht, ihren Niederschlag. Rekonstruktionen auf der Basis von Ultradünnschnittserien enthüllen die Struktur und die Anordnungsmuster der Zapfenfüße und das Netz der Horizontalzellen in der ventro-temporalen Retina von *E. encrasicolus*. Es folgen Darstellungen von Bipolar-, Amakrin- und Ganglienzellen, die mittels Silberchromatfärbung, DiI-Diffusion und Lucifer-Yellow-Mikroinjektion gewonnen wurden.

Kapitel 3.3 stellt die Strukturen und die Muster der Photorezeptoren und Pigmentepithelzellen von Vertretern aus 9 von 16 Gattungen der Engraulididae vor. Es soll gezeigt werden, wie weit die bei *Anchoa* (FINERAN & NICOL 1976-78) und *Engraulis* (ZUEVA 1980; vorliegende Arbeit) realisierten aberranten Zapfen- und Pigmentepithelstrukturen innerhalb der Familie verbreitet sind.

### **3.1 Die Photorezeptoren und das Pigmentepithel der Europäischen Sardelle *Engraulis encrasicolus***

#### **3.1.1 Die Eidonomie der Sardellenaugen**

Die Augen der Sardelle liegen lateral weit vorne am Kopf des schlanken Fisches in je einer scharf umschriebenen Orbita, beim ausgewachsenen Tier etwa 5mm hinter der Spitze des Akrons mit seinen dorsal gelegenen Nasenöffnungen und 3mm hinter der Spitze des Unterkiefers (Abb. 2.3A). Bei einem Fisch von 16cm Gesamtlänge haben sie einen äquatorialen Durchmesser von ca. 8mm und sind bedeckt von einem sog. „Fettlid“, einem durchsichtigen Derivat der Epidermis. Die Iris besitzt eine silbrig glänzende Argentea, wie auch der gesamte Augapfel. Besonders auf der Dorsalseite sind dort schwarze Melanophoren eingelagert, entsprechend der allgemeinen Farbverteilung am Fischkörper. Die Augen erscheinen in lateraler Aufsicht annähernd kreisrund, wobei sie allerdings temporal eine kleine Ausbeulung aufweisen. Die Pupillen sind nicht völlig rund, sondern nasal ein wenig erweitert. Das Gleiche gilt auch für die Orbitae - sie lassen nasal einen optisch transparenten Raum frei, der Fettlidgewebe enthält.

Die Augen erfüllen an ihrem Platz den Kopf weitgehend vollständig (Abb. 2.3 C,G,H) und sind, da sie median zusammenstoßen, im Fundus etwas abgeflacht. Sie enthalten an ihren rückseitigen Kontaktflächen kein Guanin. An der temporalen Grenze dieser mattschwarzen Bezirke verläßt der Tractus opticus als mehrfach gefälteltes Band den Augenbecher und zieht dorso-temporal zum Tectum opticum.

An die Rückseite des Sardellenauges schmiegt sich von nasal über dorsal nach ventro-temporal die hufeisenförmige Chorioidaldrüse an. Dieses hämale Versorgungsorgan ist von der Argentea überzogen und setzt sich nach innen in die gefäßreiche Chorioidea fort. Die Augenmuskeln sind alle relativ schwach entwickelt.

#### **3.1.2 Der innere Aufbau des Organs**

Nach äquatorialer Zirkumzision des Augapfels können die Cornea, die Iris und die kugelige, glasklare Linse abgehoben werden. Die Linse ist dorsal über ein feines Ligament am Ciliarkörper befestigt, der Linsenmuskel inseriert ventro-nasal und zieht zur ventralen Seite des Ciliarkörpers, knapp temporal der Augenmitte. Der verbleibende Augenbecher, eine etwas breitere als tiefe knorpelige Schale, ist von einer schleimig-gelatinösen Glaskörpersubstanz erfüllt und auf seiner Innenseite von

der Retina ausgekleidet. Auf ihr liegt ein gut entwickeltes Netz von Hyaloidgefäßen. Im frisch eröffneten Auge erscheint die Netzhaut farblich regioniert und räumlich strukturiert: besonders auffällig ist die Austrittsstelle der Ganglienzellaxone - die „optical cleft“, im folgenden „optische Furche“ genannt - die als gerade Linie vom ventralen Netzhautrand nach mesiotemporal zieht und die Retina in ungleiche Bezirke gliedert (vgl. Abb. 1.3A,B). Überlagert von einem zarten Rosa - vermutlich die Farbe frischen Rhodopsins - erscheint die Retina im ventralen Drittel dunkel und deutlich heller in den dorsalen zwei Dritteln.

### 3.1.3 Die Schichtung der Retina

Am radial durch die Netzhaut geführten Semidünnschnitt (Abb. 3.1A; 3.2A,B) läßt sich der Schichtenaufbau dieses Organs lichtmikroskopisch darstellen, die horizontale Organisation der einzelnen Schichten enthüllen Tangentialschnittserien (nicht abgebildet).

---

#### Abbildung 3.1: Radialschnitte durch die ventro-temporale Retina (LM) >

(Alle Schnitte verlaufen genau parallel zu einem Polycone und mittig durch ihn hindurch!)

**A)** Der Polycone-parallele Radialschnitt zeigt die Schichtung der Sardellenretina. Phasenkontrast. Skleral ist oben, vitreal unten im Bild. **Balken:** 25µm.

**A')** PE-Keile, Detail aus **A**: im Polarisationskontrast (gekreuzte Filter) leuchten die Stapel aus Guaninplättchen hell auf (Ú Ú Ú), das melaninhaltige Zentrum der Keile bleibt dunkel.

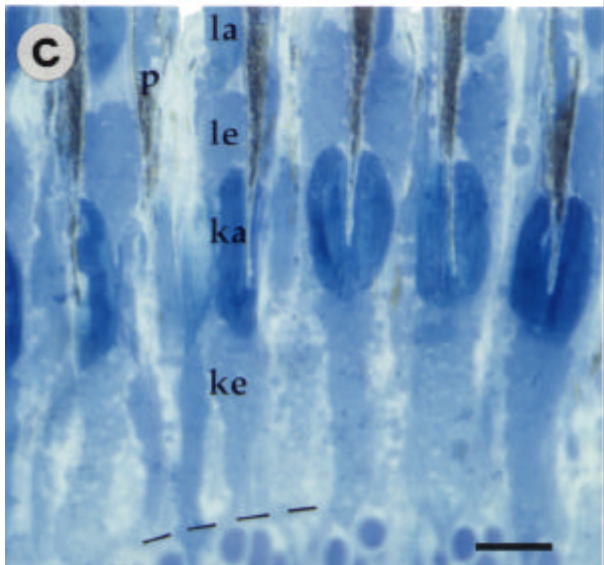
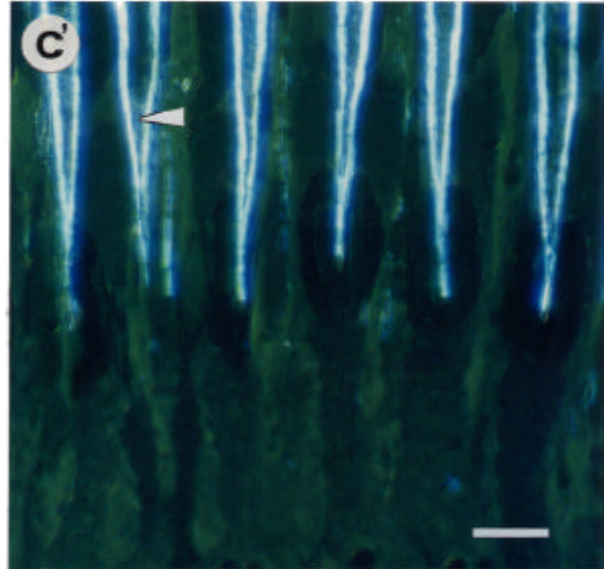
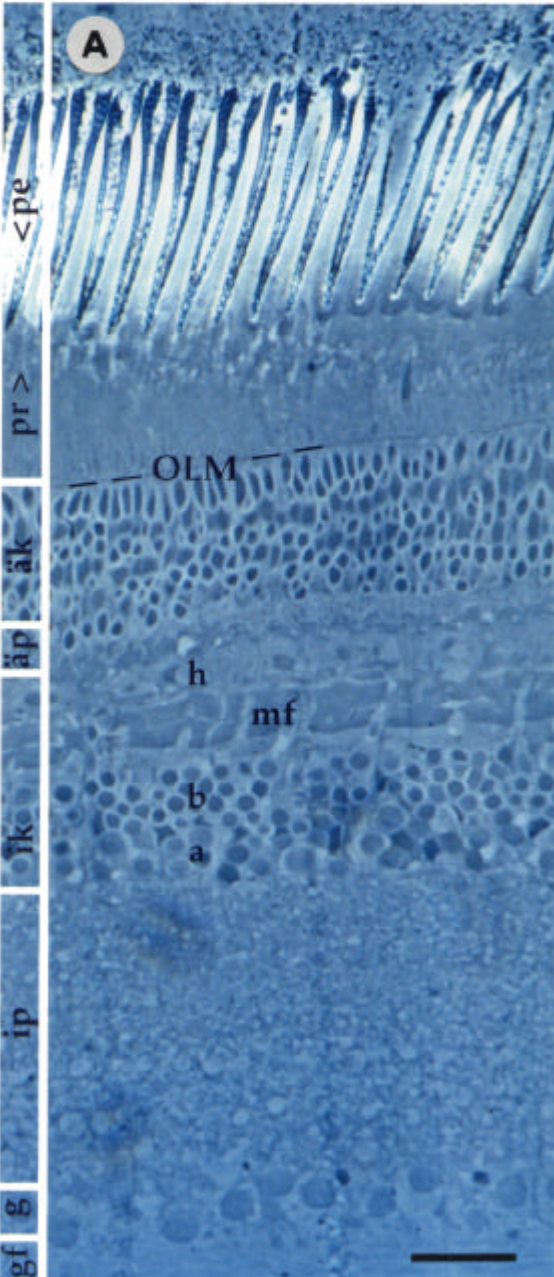
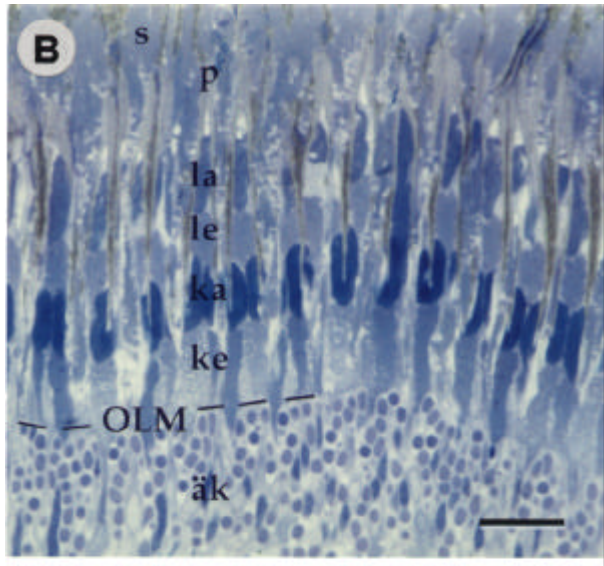
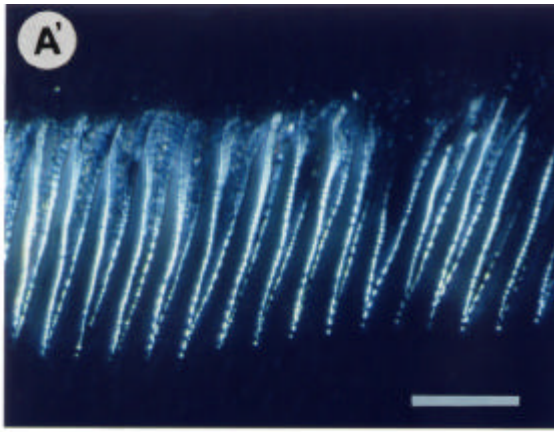
**Balken:** 25µm.

**B)** Hellfeldaufnahme der Photorezeptorschicht bei mittlerer Vergrößerung: zwei Etagen von Zapfen („kurze“ & „lange“) in inniger Verzahnung mit dem PE. **Balken:** 25µm.

**C)** Detailaufnahme aus dem Bereich der PE-Keil-Spitzen bei starker LM-Vergrößerung (Hellfeld). Deutlich sind die gespaltenen Außenglieder der kurzen Zapfen und das Melanin in den PE-Keilen zu erkennen. **Balken:** 10µm.

**C')** Polarisationskontrastaufnahme des gleichen Motivs wie **C**. Längs der konvergierenden Flanken der PE-Keile leuchten Stapel von Guaninplättchen auf (Ú Ú Ú). Im Zentrum der Keile befinden sich Melanin und geringe Mengen an Guaninrus (<). **Balken:** 10µm.

**a** Amakrinenkerne, **äk** äußere Körnerschicht, **äp** äußere plexiforme Schicht, **b** Bipolarenkerne, **g** Ganglienzellkerne, **gf** Ganglienfaserschicht, **h** Horizontalzellen, **ik** innere Körnerschicht, **ip** innere plexiforme Schicht, **ka** Außenglieder der kurzen Zapfen, **ke** Ellipsoide der kurzen Zapfen, **la** Außenglieder der langen Zapfen, **le** Ellipsoide der langen Zapfen, **mf** Müllerfasern, **OLM** und ----- „outer limiting membrane“ = „äußere Grenzmembran“, **p** Pigmentepithelzellen, **pe** Pigmentepithel, **pr** Photorezeptoren, **s** Stäbchen, > gegenseitige Verzahnung von **pr** + **pe**.



- Am weitesten skleral ist das retinale **Pigmentepithel** (PE) gelegen. Die PE-Zellen haben ihren Kern in skleraler (= basaler) Position und bilden Ausläufer, die sich vitread keilförmig verjüngen (Abb. 3.1A/A'). Aufgrund ihrer Architektur und wegen ihres regelmäßigen Musters im Zellverband ist der lichtmikroskopische Aspekt am Radialschnitt stark von der Schnittrichtung abhängig. Bei Hellfeldbeleuchtung erscheinen im basalen Zellbereich und im Zentrum der Ausläufer die charakteristischen, braun gefärbten Melaningranula (3.1B,C). Daneben enthält das Pigmentepithel der Sardelle Guaninkristallite, die wegen der doppelbrechenden Eigenschaften des Materials im Polarisationskontrast hell aufleuchten (vgl. Abb. 3.1C mit C' oder 3.2B mit B'). Die Guaninpartikel liegt in mindestens zwei Gestalten vor: weite Teile der Retina, mit Ausnahme der Area temporalis (Abb. 3.5B) enthalten im Zentrum der PE-Ausläufer und bis etwa auf Höhe der Zellkerne große Mengen feingranulärer Kristallite (Abb. 3.2D/D') - daneben gibt es deutlich größere und annähernd quadratische Kristallplättchen, die die PE-Ausläufer flankieren und besonders in der ventro-temporalen Retina ihre regelmäßige Anordnung erkennen lassen: entlang der Zellgrenze liegen sie Stapel an Stapel, wobei die Mächtigkeit der Stapel von skleral nach vitreal abnimmt (Abb. 3.1A,B). Während der Guaningrus im lichtmikroskopischen Polarisationskontrast erst bei völlig gekreuzten Filtern deutlich aufleuchtet, sind die stark doppelbrechenden Plättchen schon „früher“ zu erkennen. Das Ausmaß ihrer Doppelbrechung ist richtungsabhängig (erkennbar bei Drehung des Objektisches), beim feinkristallinen Material dagegen richtungsunabhängig.

---

**Abbildung 3.2: Radial- und Tangentialschnitte durch die dorso-nasale Retina** >

(Die Radialschnitte A-C verlaufen im rechten Winkel zum Polycone, vgl. dagegen Abb. 3.1)

**A)** Übersichtsaufnahme: 56 parallele Polycones auf einer Strecke von 680µm. Skleral ist oben, vitreal unten im Bild. **Balken:** 100 µm.

**B)** Schichtung der dorso-nasalen Retina. Beachte „Melaninhaube“ (®) + Guaningrus (\*).

**B')** Gleicher Ausschnitt wie B im Polarisationskontrast. Guanin „leuchtet“ auf, Melanin dagegen nicht. Der Kreis in B + B' markiert die identische Stelle. **Balken:** 25µm.

**C)** Äußere Retina leicht schräg getroffen. „!“ in C und C' deckungsgleich. **Balken:** 25µm.

**C')** Ausschnitt aus C im Polkontrast. Guaninplättchenstapel leuchten heller als der Grus.

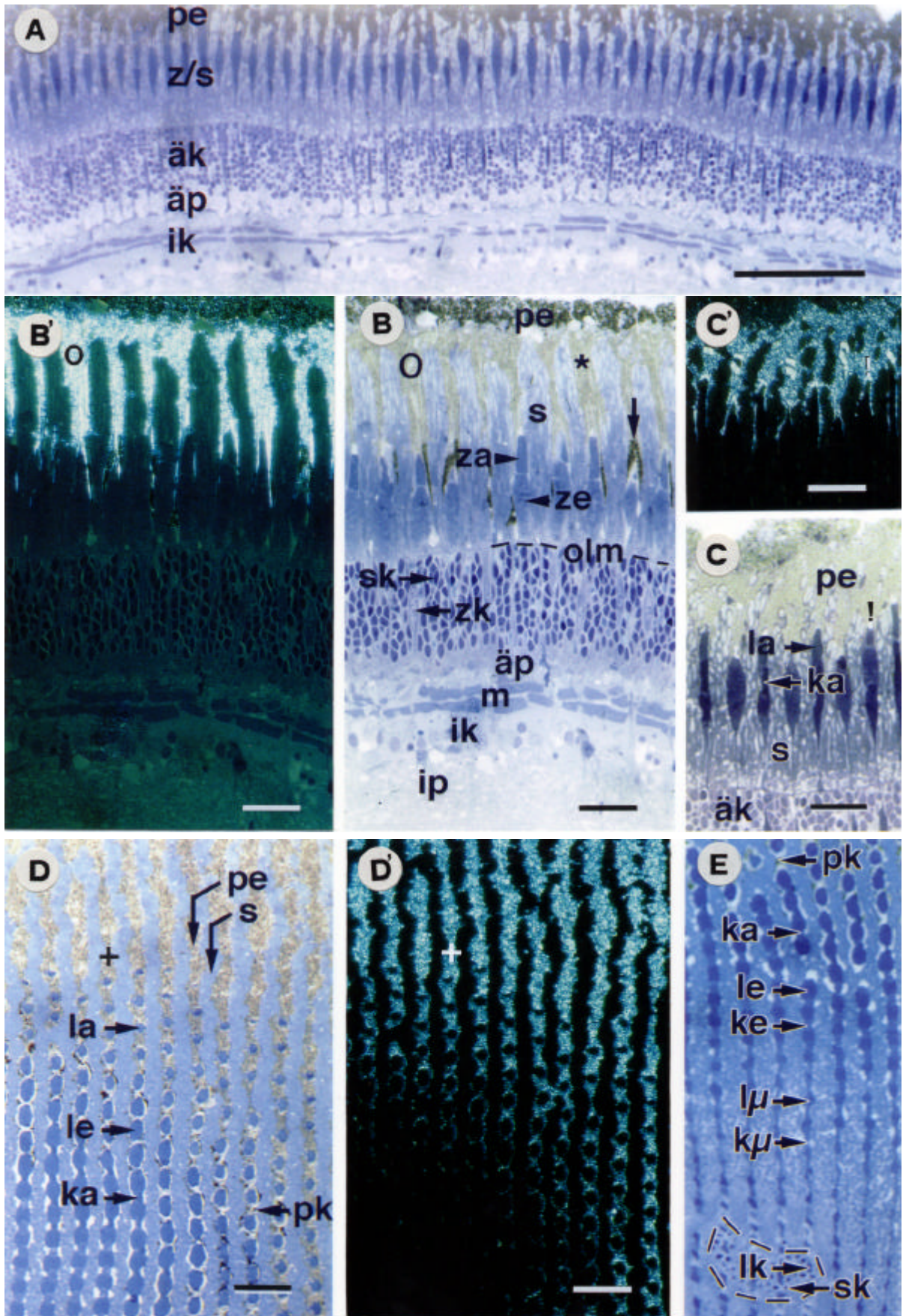
**D)** Tangentialschnitt - Zentrum (links unten) auf Höhe der Zapfenellipsoide. **Balken:** 25µm.

**D')** Gleicher Ausschnitt wie D im Polkontrast. Kreuze deckungsgleich in D und D'.

**E)** Tangentialschnitt – Zentrum (unten) auf Höhe der OLM (----). Vergrößerung wie D.

**äk** äußere Körnerschicht, **äp** äußere plexiforme Schicht, **ik** innere Körnerschicht, **ip** innere plexiforme Schicht, **ka** Außenglied kurzer Zapfen, **ke** Ellipsoid kurzer Zapfen, **ku** Myoid kurzer Zapfen **la** Außenglied langer Zapfen, **le** Ellipsoid langer Zapfen, **lk** Kern langer Zapfen, **lu** Myoid langer Zapfen, **m** Müllerfasern, **OLM** und ---- „outer limiting membrane“ = „äußere Grenzmembran“, **pe** Pigmentepithel, **pk** PE-Keil, **s** Stäbchen, **sk** Stäbchenkern, **z** Zapfen, **za** Zapfenaußenglied, **ze** Zapfenellipsoid, **zk** Zapfenkern.





- Die nächste histologisch abgrenzbare Schicht ist die der **Photorezeptoren** - genauer die ihrer Außenglieder, Ellipsoide und Myoide. Stäbchen und Zapfen wechseln sich in parallelen Reihen ab, wobei die Stäbchen mehr oder weniger mächtige Bänder zwischen den einreihigen Zapfenketten bilden (Abb. 3.2A,D). Vitreal ist diese Schicht von der „Äußeren Grenzmembran“ („outer limiting membrane“ = OLM) begrenzt, skleral erstreckt sie sich bis zur Basis der PE-Ausläufer. Die Zapfen sind zu  $\frac{1}{3}$  bis  $\frac{2}{3}$  ihrer radialen Ausdehnung innig mit dem PE verzahnt (Abb. 3.1A), wobei sich in der Area vier „Etagen“ unterscheiden lassen: die Außenglieder „langer“ Zapfen und ihre Ellipsoide, sowie die Außenglieder und Ellipsoide „kurzer“ Zapfen (Abb. 3.1B). Eine detaillierte Beschreibung der Photorezeptorschicht folgt ab Kap. 3.1.6.

- Vitreal der OLM schließt sich die **äußere Körnerschicht** an. Sie enthält in skleraler bis zentraler Position die länglichen Kerne der Zapfen und daneben in allen Tiefen die rundlichen Stäbchenkerne. Letztere sind in der dorso-nasalen Retina deutlich häufiger als in der ventro-temporalen, was an der unterschiedlichen Stäbchendichte liegt. Dieser Umstand führt auch dazu, daß die äußere Körnerschicht dorso-nasal dicker ist als ventro-temporal (vgl. Abb. 3.1A mit 3.2A). Direkt vitreal der OLM läßt sich das Reihenmuster der Zapfen auch auf der Ebene ihrer Kerne noch deutlich erkennen. Die dichte Packung der Rezeptorkerne darf nicht darüber hinwegtäuschen, daß die äußere Körnerschicht von den sehr schlanken radialen Ausläufern der Photorezeptor-Perikarien mehr oder weniger geradlinig durchzogen wird (Abb. 3.2A).

- Vitread enden die Photorezeptoren in der **äußeren plexiformen Schicht** mit ihren synaptischen Endbläschen („spherules“ der Stäbchen) bzw. Endfüßchen („pedicles“ der Zapfen). Während die pyramidalen Zapfenfüße im Lichtmikroskop recht deutlich zu erkennen sind (Abb. 3.2A; 3.36D), bilden die Endbläschen der Stäbchen als Ansammlung schwach kontrastierter rundlicher Gebilde zwischen den Photorezeptorkernen und den „pedicles“ die sklerale Hälfte der äußeren plexiformen Schicht (Abb. 3.1A; 3.2A; 3.36D). In einer schmalen Zone vitreal der Zapfenfüßchen sind die Dendritenbäumchen der Bipolarzellen und die Dendriten der Horizontalzellen miteinander verwoben.

- Eine deutliche radiale Strukturierung zeigt bei der Sardelle die **innere Körnerschicht**: skleral eines zentralen Doppelbandes stark angefarbter Gliaausläufer liegen voluminöse Horizontalzellen (Abb. 3.1A). Anhand der Lage der Kerne können - zumindest in der ventro-temporalen Retina - drei Ebenen dieses

Zelltyps unterschieden werden, wobei eine davon innerhalb des o.g. Doppelbandes zu liegen kommt (Abb. 3.36D). Vitreal dieses Gliamaterials (als solches erst im TEM identifizierbar: Abb. 3.35) befinden sich die Kerne der übrigen Sekundärneurone und die der Müllerzellen. Aufgrund ihrer Häufigkeit sind die kleineren dunkleren Kerne dieser Zone als Bipolarzellkerne zu interpretieren, die ganz vitreal gelegenen Zellen mit ihren etwas größeren, schwächer kontrastierten Kernen sollten als Amakrinzellen anzusehen sein (Abb. 3.1A). Die innere Körnerschicht - besonders ihre vitreale Hälfte – ist in der ventro-temporalen Retina erheblich mächtiger ausgebildet als in der dorso-nasalen (ohne Abbildung).

- Die **innere plexiforme Schicht** ist bei *E. encrasicolus* in allen Netzhautbezirken gut entwickelt und zeigt eine radiale Stratifizierung im Sinne mehr oder weniger dichter bzw. großer Nervenfaserschnitte. In der Area temporalis lassen sich mindestens 5 Substrata unterscheiden, zwei „locker gewebte“ und drei „dichte“. Die lockeren Substrata dürften vor allem durch die synaptischen Endköpfchen der Bipolaraxone gebildet werden. Abb. 3.39E zeigt, daß diese Strukturen im 2. Substratum (von skleral gezählt) in parallelen Reihen angeordnet sind und etwa die halbe Flächendichte der Zapfen aufweisen. Die dichter gewebten Substrata sollten als die stark vernetzten Dendritenfelder der Sekundärneurone und der Ganglienzellen verstanden werden dürfen.

- Am weitesten vitreal gelegen ist die Schicht der **Ganglienzellen** mit ihren relativ großen Kernen und den ableitenden Axonen (Abb. 3.1A). Letztere bilden die sog. „**Ganglienfaserschicht**“, die erwartungsgemäß auch bei der Sardelle nahe der optischen Furche dicker ist als am Retinarand. Es finden sich Anschnitte von Ganglienzellkernen unterschiedlichen Durchmessers und unterschiedlicher Binnenstruktur. Hierbei läßt sich allerdings nicht ohne weiteres entscheiden, ob es sich um funktionell verschiedene Zellen oder einfach um unterschiedliche Anschnitte eines Zelltyps handelt.

Die Beschreibungen der Struktur und der Anordnung von Photorezeptoren beschränken sich in der entsprechenden Originalliteratur meist auf die Zellabschnitte skleral der äußeren Grenzmembran: Außenglied, Ellipsoid und Myoid. In den folgenden Unterkapiteln 3.1.4 bis 3.1.13 ist daher ebenfalls der Schwerpunkt der strukturellen Untersuchungen in diesen eher skleralen Retina-Etagen gesetzt worden. In 3.2.1 und 3.2.2 werden dann aber auch die vitrealeren Bereiche der Zapfen eingehende Beachtung finden.

### 3.1.4 Das vorherrschende Muster der Photorezeptoren

Die Architektur und Anordnung der Photorezeptoren und PE-Zellen der Sardelle läßt sich ansatzweise schon beim Vergleich zweier bevorzugter radialer Schnittrichtungen verstehen (Abb. 3.1B vs. 3.2B; siehe auch Abb. 1.3D), besser jedoch nach Auswertung von Tangentialschnitten (Abb. 3.2D,E):

Die Netzhaut von *Engraulis encrasicolus* besitzt Zapfen und Stäbchen und zeichnet sich dadurch als sog. „Retina duplex“ aus. Die beiden Rezeptortypen sind abwechselnd in parallelen Reihen angeordnet, die Zapfenreihen stehen dabei in enger struktureller Beziehung zum Pigmentepithel. An einem Schnitt, der möglichst genau parallel zu einer Zapfenreihe geführt ist, erkennt man schon im Lichtmikroskop die ungewöhnliche Struktur der zwei in der Sardellenretina vorherrschenden Zapfentypen (Abb. 3.1C): **Lange Zapfen**, die mit ihren Außengliedern und Ellipsoiden weit zwischen die PE-Ausläufer hinaufreichen, wechseln sich völlig regelmäßig und im Verhältnis 1:1 mit **kurzen Zapfen** ab. Auf diese Weise sind lückenlose, langgestreckte Vielfachzapfenkomplexe ausgebildet, die sog. „**Polycones**“. Die Außenglieder der kurzen Zapfen werden jeweils von der Spitze des skleral assoziierten PE-Keiles mittig auf bis zu  $\frac{4}{5}$  ihrer radialen Ausdehnung in zwei Loben aufgeteilt (Abb. 3.1B,C). Die Innenglieder beider Zapfentypen sind bis kurz vor die äußere Grenzmembran von Mitochondrien erfüllt. Das Zytoplasma und die Mitochondrien der kurzen Zapfen werden mit RICHARDSON'S Reagenz deutlich intensiver angefärbt als die entsprechenden Strukturen der langen Zapfen.

Gegenüber den Verhältnissen in der Area temporalis (ventro-temporale Retina, s. 3.1.5) erscheinen die Proportionen der Zapfenabschnitte in der dorso-nasalen Retina etwas verändert: die zapfenförmigen Photorezeptoren wie auch die PE-Ausläufer sind weniger schlank und die Außenglieder gedrungener. Die Stäbchen sind dort vergleichsweise viel häufiger: Zwischen den Zapfenketten verlaufen deutlich erkennbar mehr oder weniger breite Stäbchenbänder (Abb. 3.2D), die sich in Richtung zur Area so stark verschmälern, daß sie dort lichtmikroskopisch nicht mehr darstellbar sind.

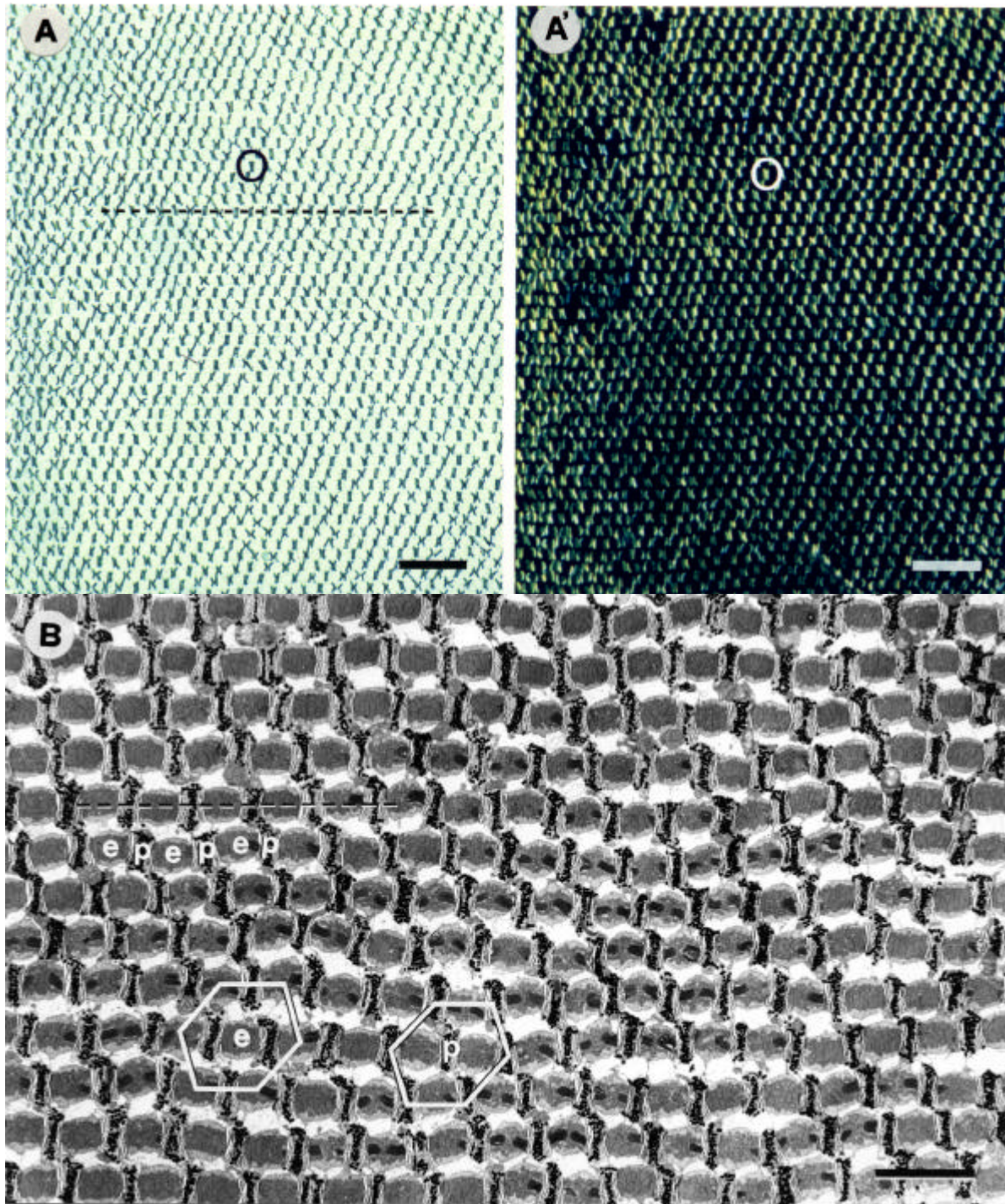
---

#### Abbildung 3.3: Das Reihemuster der Photorezeptoren bei *E. encrasicolus*

>

A) Lichtmikroskopische Hellfeldaufnahme eines ungefärbten Semidünnschnittes durch die Sardellenretina auf Höhe der zapfenförmigen Photorezeptoren. Tangentiale Schnittführung, Endvergrößerung 285x, **Balken:** 25µm.

Die „Polycones“ verlaufen genau horizontal im Bild (---), die dunkel kontrastierten Anschnitte von Guaninkristallstapeln bilden wegen einer leichten Versetzung der Polycones um ca. 1/3 Strukturperiode ein eigenes Reihemuster (×××), hier 66° schräg zu den Polycones.



**A'**) Gleicher Schnitt und gleicher Ausschnitt wie **A** im Polarisationskontrast (gekreuzte Filter, **Q** markiert das identische Quartett aus Kristallstapeln). Das doppelbrechende Guanin leuchtet hell auf vor dunklem Hintergrund, da es d. Schwingungsebene d. durchstrahlenden Lichtes dreht. **Balken** wie bei **A**. **B**) TEM-Aufnahme eines Ultradünnschnittes der gleichen Region. Innerhalb einer Photorezeptorreihe (---) wiederholen sich völlig regelmäßig die Anschnitte zweier Strukturelemente: die Ellipsoide der langen Zapfen (**e**) und die Pigmentepithelkeile (**p**) mit ihren Guaninkristalliten und Melaningranula. (†) Hexagonale Umfelder, Endvergrößerung 1600x, **Balken**: 10µm.

Betrachtet man einen etwa auf Höhe der Ellipsoide der langen Zapfen geführten Tangentialschnitt im Hellfeld (Abb. 3.3A), so treten die Zapfenreihen als gerade verlaufende Ketten aus alternierenden Ellipsoid- und PE-Keil-Anschnitten in Erscheinung. Da benachbarte Zapfenreihen mehr oder weniger gegeneinander versetzt sind, vermag das Auge aber auch aus den Guaninplättchengruppen der PE-Ausläufer benachbarter Polycones ein Reihemuster zu bilden. Diese „Pseudoreihen“ verlaufen in einem Winkel zu den echten Zapfenreihen (z.B.  $66^\circ$  in Abb. 3.3A) und können allenfalls als ein Maß für die Verschiebung der Zapfenreihen gegeneinander verstanden werden. An manchen Stellen ist es auch möglich, in der Anordnung der Anschnitte von PE-Keilen oder langen Zapfen ein hexagonales Muster zu sehen. (Abb. 3.3B). Es ist sicher nicht abwegig, das regelmäßige Zellmuster der Sardellenretina bei dieser Gelegenheit mit dem hochgeordneten Ommatidienmosaik der Facettenaugen von Arthropoden zu vergleichen (vgl. auch RYDER 1895 bzgl. des höchst regelmäßigen Zapfenmusters der Lachse).

Auf größeren Schnittflächen erkennt man, daß die Zapfenreihen keinen schnurgeraden Verlauf durch die Retina haben, sondern gekrümmt sind (Abb. 3.4D). Bei einer sorgfältigen Kartierung der Polycone-Ausrichtungen über die gesamte Retina enthüllt sich ein Muster konzentrischer Ringe mit einem Zentrum an oder nahe dem inneren Ende der optischen Furche (Abb. 3.4B).

---

**Abbildung 3.4: Orientierung der Zapfenreihen innerhalb der Retina**

>

**A)** Rohdatenkarte zum Verlauf der Zapfenreihen im linken Auge der Sardelle. An Tangentialschnitten von 77 Retinafragmenten genau definierter Orientierung wurden 93 Winkelwerte ermittelt. Die optische Furche ist der besseren Lesbarkeit halber horizontal orientiert.

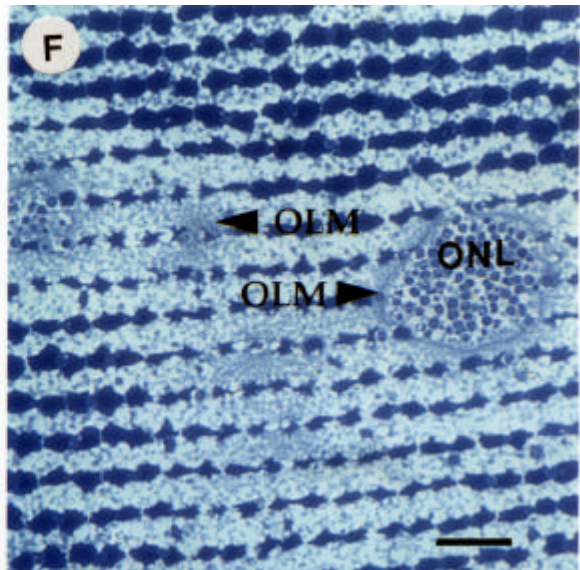
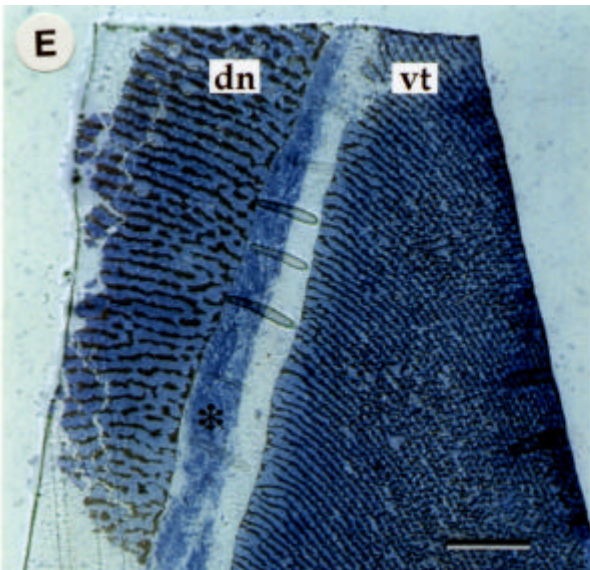
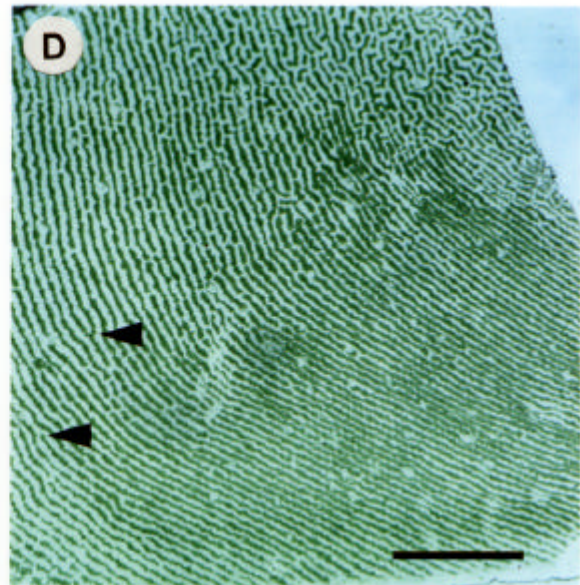
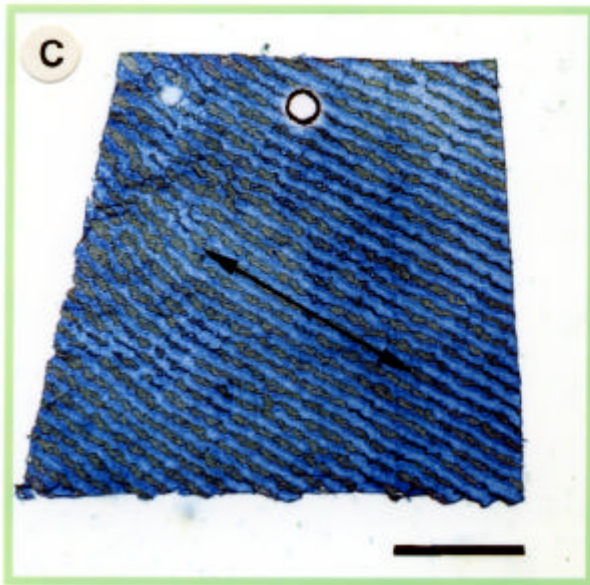
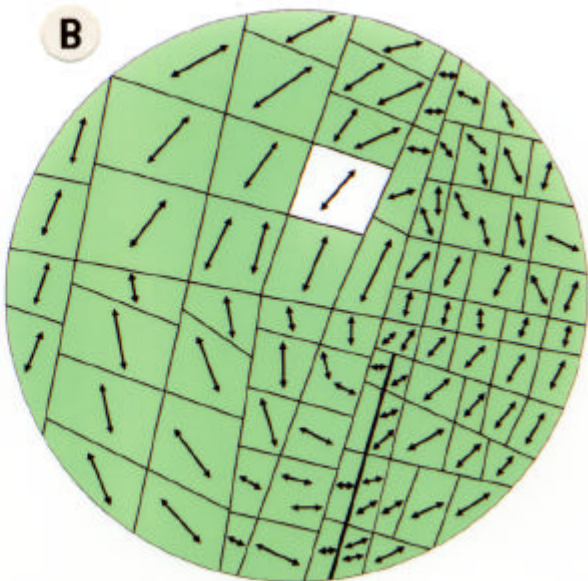
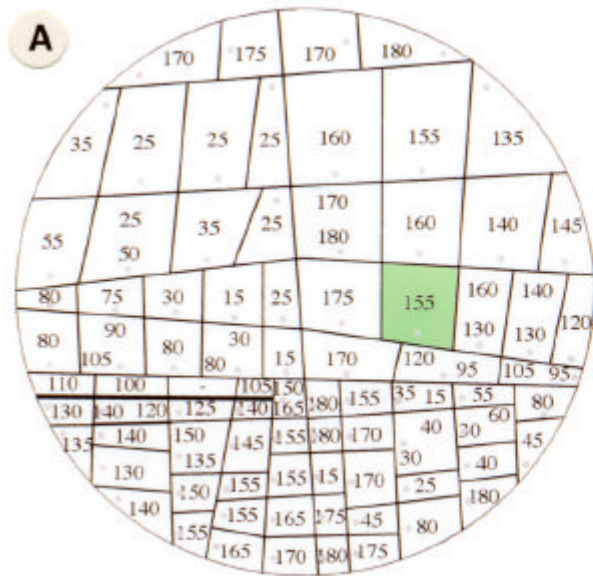
**B)** Auftragung der Rohdaten aus **A** als Doppelpfeile. Die optische Furche ist „richtig“ orientiert, dorsal ist oben, temporal rechts. Es wird ein konzentrischer Verlauf der Photorezeptor- und Pigmentepithelzellreihen erkennbar, das Zentrum der Ringe liegt nahe dem Ursprung der optischen Furche.

**C)** Beispiel eines Retinafragmentes zur Ermittlung der Winkelwerte - es entspricht dem in **A** grün hinterlegten Viereck, das „O“ an der Oberkante dem grauen Punkt (Orientierungsmarke!). **Balken:** 100µm.

**D)** Ungefärbter Schnitt bei schwacher Vergrößerung: der gekrümmte Reihenverlauf wird deutlich. Die Pfeilspitzen deuten auf eine Verzweigung der Reihen und auf einen Reiheneinschub. Das PE erscheint dunkel, die Stäbchenreihen hell. **Balken:** 200µm.

**E)** Tangentialschnitt durch die optische Furche (\*). Bezüglich des Reihenabstandes stellt sie eine Diskontinuität dar, nicht aber bezüglich der Reihenorientierung. **dn** dorso-nasal, **vt** ventro-temporal. **Balken:** 100µm.

**F)** Tangentialschnitt bei mittlerer LM-Vergrößerung. Am Übergang von den Zapfenmyoiden zur äußeren Körnerschicht (ONL) wird die „äußere Grenzmembran“ (OLM) sichtbar. In der ONL scheint das Reihemuster aufgelöst zu sein. **Balken:** 25µm.



### 3.1.5 Die Dichteverteilung der Photorezeptoren

Zur Kartierung der Photorezeptordichte wurde die Retina aus dem linken Auge einer Sardelle in 77 Stücke zerlegt und an Tangentialschnitten die Photorezeptorzahl pro  $10^4\mu\text{m}^2$  bestimmt. Die Zapfen wurden auf Höhe ihrer Ellipsoide an gefärbten Semidünnschnitten lichtmikroskopisch ausgezählt (Abb. 3.5C-E), die Ermittlung der Stäbchen-Dichtewerte gestaltete sich ungleich aufwendiger: eine verlässliche Zählung war nur an TEM-Photos von Ultradünnschnitten möglich, die genau durch den Zellhaftenkomplex der OLM geführt wurden. Dort sind die Stäbchenmyoide aufgeweitet und durch Ausläufer der Müllerzellen voneinander getrennt (Abb. 3.6C-E).

Die Dichtewerte der Zapfen (lange + kurze) reichen in der untersuchten Netzhaut von 90 bis 525 Zellen pro  $10^4\mu\text{m}^2$  (Abb. 3.5A,B), wobei grob drei Zonen unterschieden werden können: Temporal der optischen Furche zeigt sich eine deutlich ausgeprägte **Area temporalis**, in deren Zentrum Zapfendichten von  $>500/10^4\mu\text{m}^2$  gemessen werden können. Von dort aus fallen die Dichtewerte nach allen Richtungen als steiler Gradient ab. Von dorsal über zentral nach ventral erstreckt sich ein **breites Band** relativ geringer Zelldichten (90 bis  $130/10^4\mu\text{m}^2$ ). Nasal findet sich halbmondförmig eine **zweite Verdichtung**, die mit bis zu 200 Zapfen pro  $10^4\mu\text{m}^2$  weniger markant hervortritt als die temporale Area.

---

#### Abbildung 3.5: Kartierung der Zapfendichte (LM)

>

**A)** Rohdatenkarte mit 80 Dichtewerten aus 77 Fragmenten. Die Zapfendichte ist für das Zentrum des jeweiligen Retinafragments in Zellen/ $10^4\mu\text{m}^2$  angegeben. Zur besseren Lesbarkeit wurde die optische Furche horizontal ausgerichtet.

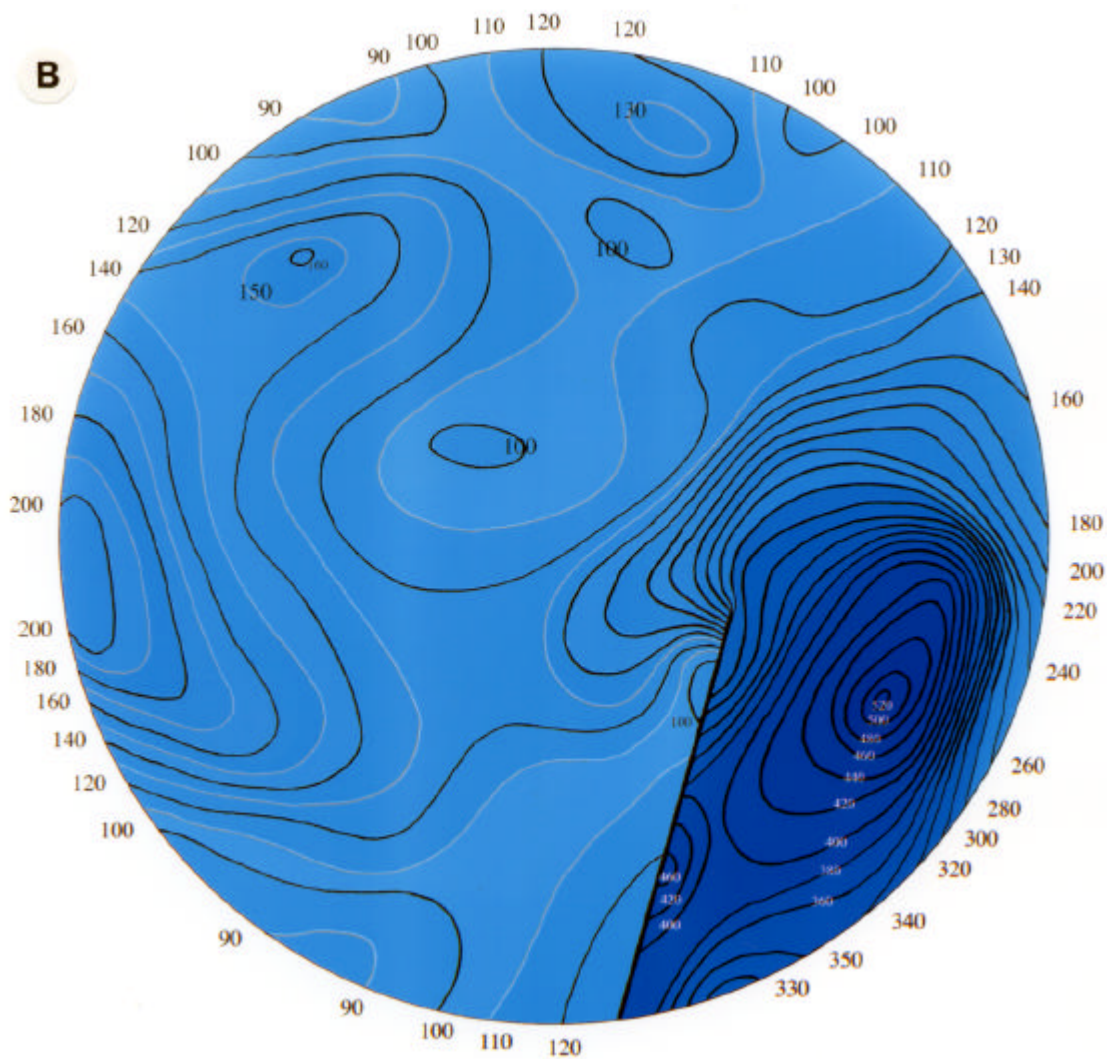
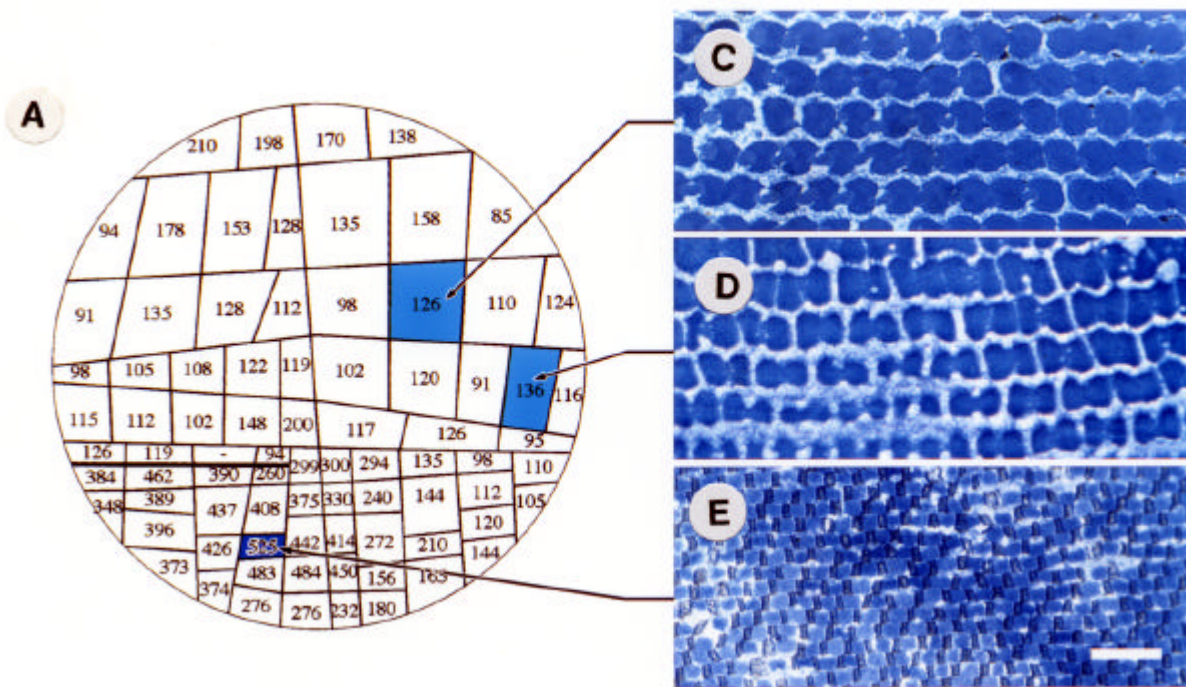
**B)** Farbkodierte Isopyknen-Karte zur Zapfendichte eines Sardellenauges (linkes Auge).

Die Dichten reichen von  $90/10^4\mu\text{m}^2$  am dorsalen und ventralen Rand des „zentralen Bandes“ bis  $>520/10^4\mu\text{m}^2$  im Zentrum der Area temporalis. Beachte auch die halbmondförmige nasale Verdichtung (bis  $200/10^4\mu\text{m}^2$ ).

**C)** Lichtmikroskopische Aufnahme aus der Mitte des dorsalen Bogens, **D)** vom Rand des dorsalen Bogens und **E)** aus der Area temporalis.

**C-E** sind Tangentialschnitte auf Höhe der Zapfen. Vergrößerung 400x, **Balken:** 25 $\mu\text{m}$ .





Die horizontale Verteilung der Stäbchendichten zeigt ein völlig anderes Bild (Abb. 3.6A,B): Temporal der optischen Furche ist im Gebiet der Zapfenarea ein Minimum der Stäbchendichte von 1000 bis 3000 Zellen pro  $10^4\mu\text{m}^2$  zu verzeichnen, ebenso fällt sie am dorso-nasalen Retinarand auf Werte um  $2500/10^4\mu\text{m}^2$  ab. Über weite Strecken der Netzhaut gibt es ca. 5000 bis 6000 Stäbchen pro  $10^4\mu\text{m}^2$  mit einem Hauptmaximum von  $8000/10^4\mu\text{m}^2$  im Zentrum des ventralen Quadranten („Stäbchenarea“). In der vorliegenden Netzhaut umrahmen drei weitere Nebenmaxima eine lokale Depression im dorsalen Fundusabschnitt ( $4500/10^4\mu\text{m}^2$ ), von denen das temporale mit Dichtewerten bis  $7500/10^4\mu\text{m}^2$  besonders erwähnt sein soll. Die optische Furche stellt eine Diskontinuität für die Isopyknen (Linien gleicher Dichte) sowohl der Zapfen, als auch der Stäbchen dar.

---

**Abbildung 3.6: Kartierung der Stäbchendichte (TEM)**

>

**A)** Rohdatenkarte mit 80 Dichtewerten aus 77 Fragmenten. Die Stäbchendichte ist für das Zentrum des jeweiligen Retinafragments in Zellen/ $1000\mu\text{m}^2$  angegeben. Zur besseren Lesbarkeit wurde die optische Furche horizontal ausgerichtet.

**B)** Grauwert-kodierte Isopyknenkarte zur Stäbchendichte eines (linken) Sardellenauges.

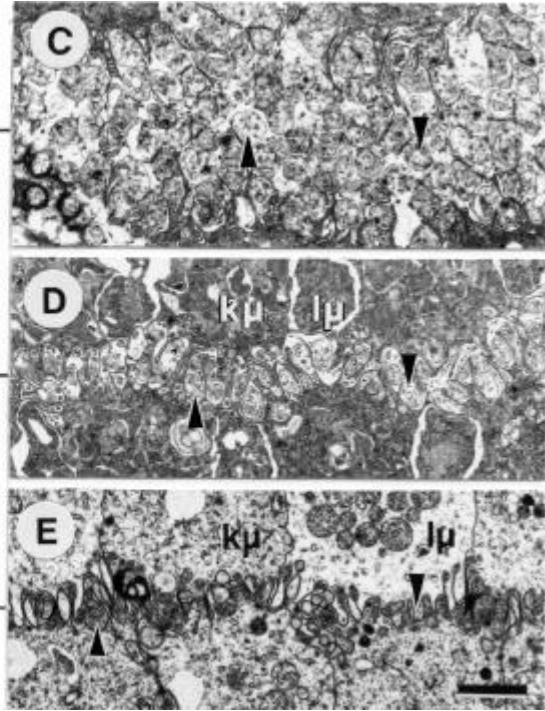
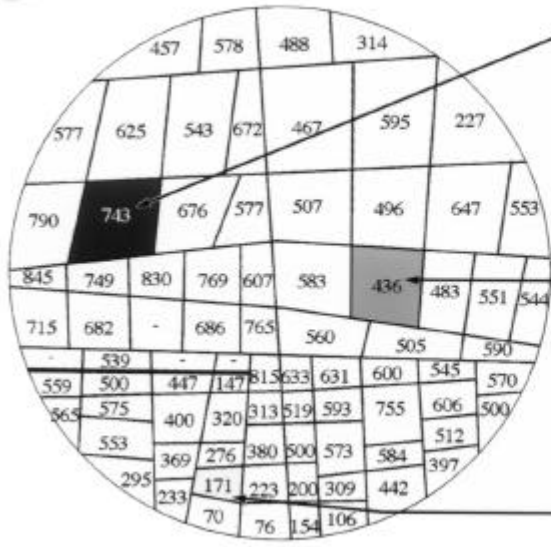
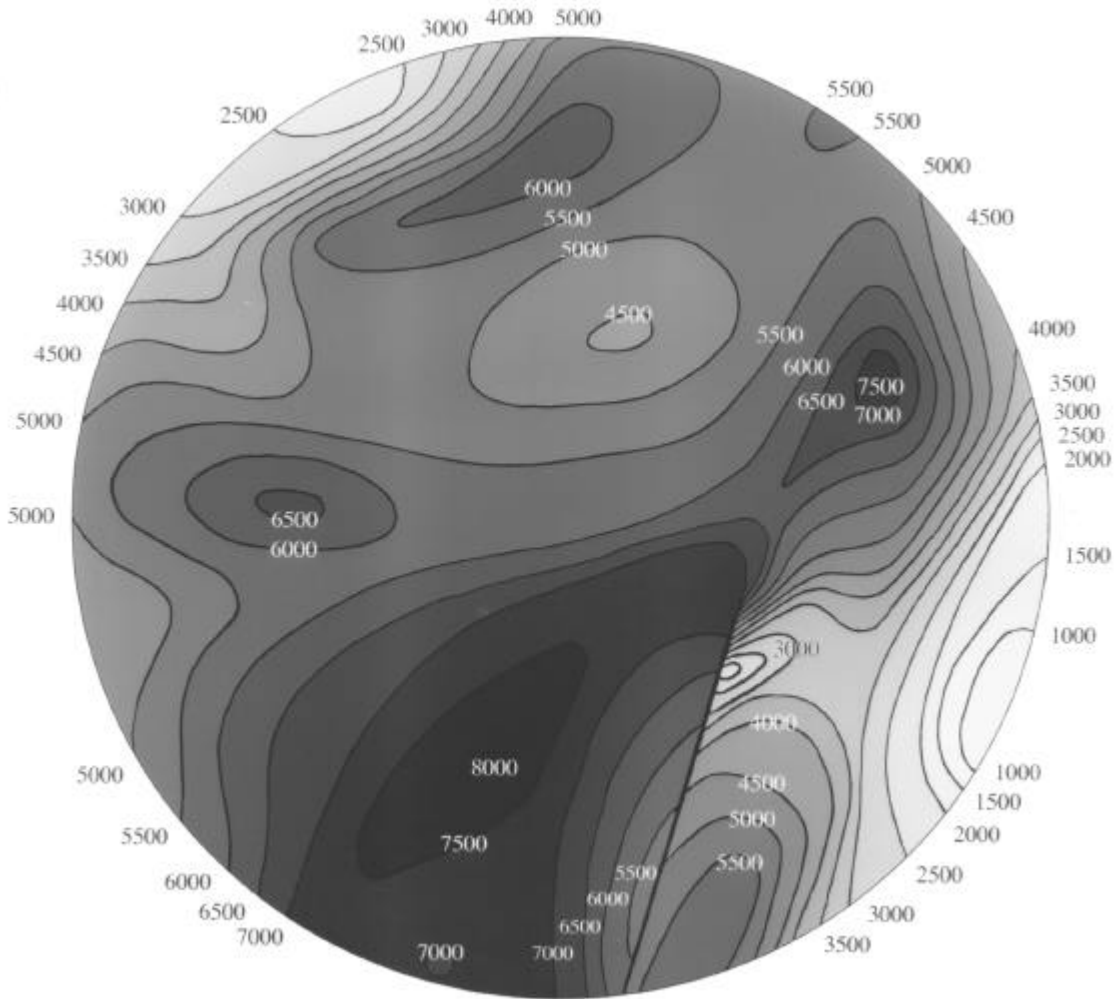
Die Dichten reichen von  $1000/10^4\mu\text{m}^2$  am ventro-temporalen Rand bis  $>8000/10^4\mu\text{m}^2$  in einer auffälligen, ventral gelegenen Stäbchenarea. Beachte die geringen Stäbchendichten im Bereich der Zapfenarea (vgl. mit Abb. 3.5B).

**C)** TEM-Aufnahme aus der Mitte des ventro-nasalen Quadranten. Die Zapfenmyoide bilden Falten, die sich aber nicht berühren. Dazwischen liegen breite Bänder von Stäbchenmyoiden.

**D)** TEM-Aufnahme aus der Mitte des dorsalen Bogens. Reihen von Zapfen- und Stäbchenmyoiden wechseln einander ab, die Myoidfalten der Zapfen berühren sich.

**E)** TEM-Aufnahme aus der Area temporalis. „Puzzelehafte“ Verzahnung der Zapfenmyoide, es bleibt wenig Platz für die Stäbchenmyoide.

**C-E** sind Tangentialschnitte auf Höhe der OLM, **k $\mu$**  Myoide der kurzen Zapfen, **l $\mu$**  Myoide der langen Zapfen, **>** Stäbchenmyoide. Vergrößerung 4600x, **Balken**  $2\mu\text{m}$ .

**A****B**

### 3.1.6 Die Feinstruktur der „Polycones“

Wenn auch der allgemeine Aufbau der Zapfenreihen schon aus den LM-Daten ersichtlich ist (Abb. 3.1; 3.2), vermittelt doch das elektronenoptisch gewonnene Bild eine deutlich plastischere (REM: Abb. 3.9; 3.12) und detailliertere (TEM: Abb. 3.7; 3.8) Vorstellung von der Geometrie und vom „Innenleben“ der Polycones.

Gerade die Rasteraufnahmen in Trockenbruchtechnik (z.B. Abb. 3.9A; 3.12A) gestatten den direkten Blick auf die ungewöhnliche räumliche Struktur der Zapfenaußenglieder: die keilförmigen Außenglieder der langen Zapfen mit ihrem akzessorischem Außenglied und den calycalen Fortsätzen und die gespaltenen Außenglieder der kurzen Zapfen. Das Erscheinungsbild beider Photorezeptortypen wird maßgeblich durch die Keilform der PE-Ausläufer bestimmt, die Stäbchen dagegen liegen „ungestört“ zwischen den PE-Zapfen-Komplexen.

Auf Ultradünnschnitten, die genau parallel durch die Mitte eines Polycone geführt sind, erkennt man schon bei relativ geringen Vergrößerungen die ausgeprägte radiale Zonierung der Zellinhalte von Zapfen und PE-Zellen (Abb. 3.7). Diese Zonierung führt zu völlig unterschiedlichen Aspekten des an sich gleichen Zellmusters von Tangentialschnitten, die in radialer Richtung nur wenige Mikrometer voneinander entfernt liegen (z.B. Abb. 3.8).

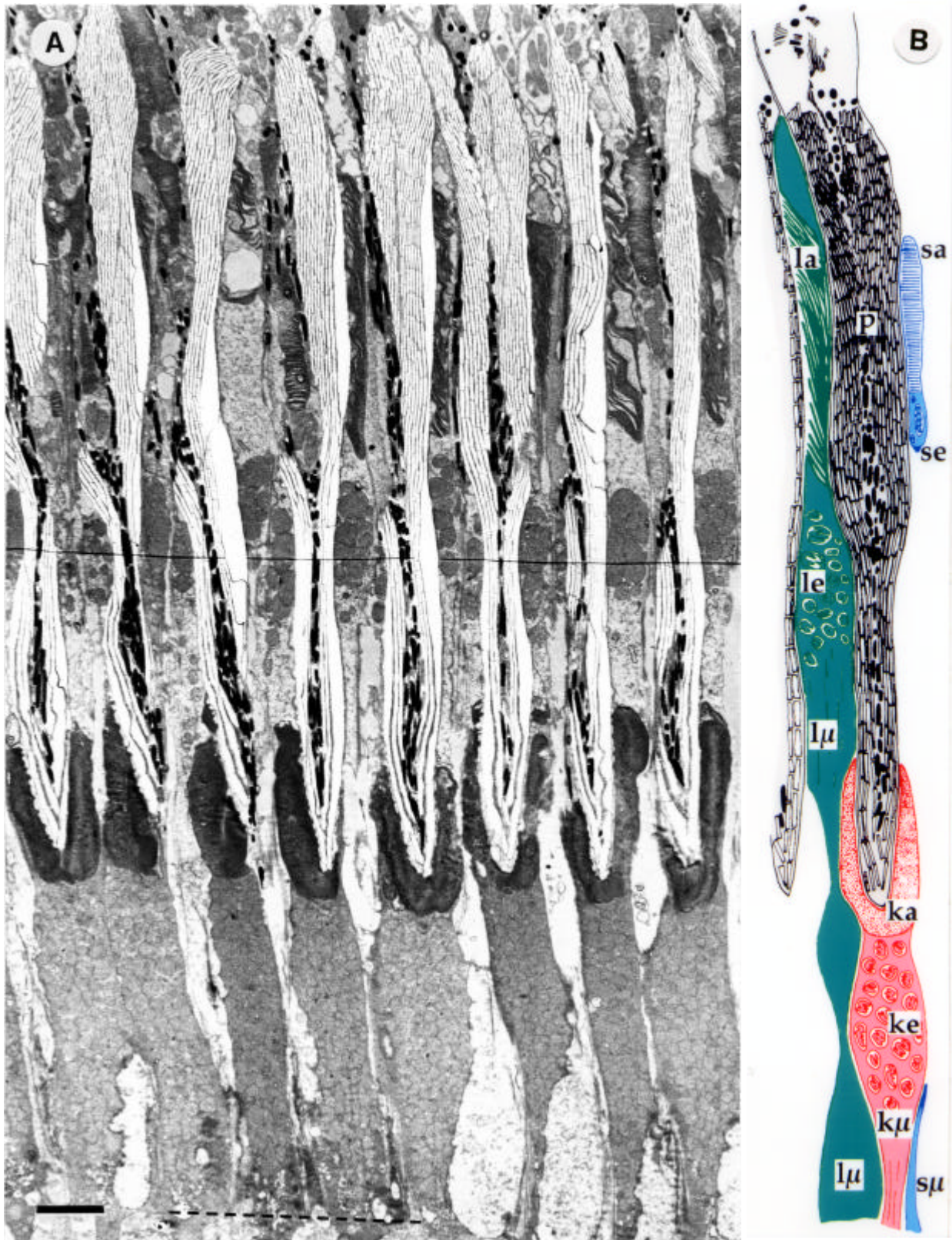
Die kleinste Zellgruppierung - d.h. die strukturelle Einheit - aus der sich das allgemeine Zellmuster zusammensetzt, besteht aus einem langen Zapfen, einem kurzen Zapfen und dem keilförmigen Ausläufer einer Pigmentepithelzelle. Die Feinstruktur dieser drei Elemente und ihre räumliche Beziehung zueinander, sowie die Feinstruktur der „normal“ gebauten Stäbchen soll in den folgenden vier Unterkapiteln eingehend beschrieben werden.

---

**Abbildung 3.7:** **Radialschnitt durch eine Zapfenreihe** >  
**der ventro-temporalen Retina - Übersicht TEM**

A) Die Abbildung zeigt eine längs geschnittene Zapfenreihe der ventro-temporalen Retina über eine Strecke von 81µm (16 Rezeptoren). Dargestellt ist der Bereich vom skleralen Beginn der PE-Keile (oberer Bildrand) bis zur „äußeren Grenzmembran“ (----, unterer Bildrand). Deutlich erkennbar sind die radiale Zonierung der Zapfen und PE-Keile von skleral nach vitreal, sowie die Anschnitte von Stäbchenaußengliedern und Stäbchenmyoiden. **Balken:** 5µm.

B) Graphische Abstraktion der Struktureinheiten aus A: **grün** langer Zapfen, **rot** kurzer Zapfen, **blau** Stäbchen, **schwarz** Pigmentepithelkeil.



**ka** Außenglied kurzer Zapfen, **ke** Ellipsoid kurzer Zapfen, **kμ** Myoid kurzer Zapfen, **la** Außenglied langer Zapfen, **le** Ellipsoid langer Zapfen, **lμ** Myoid langer Zapfen, **p** PE-Keile (mit zentralen Melanin granula und gestapelten Guaninkristallen in 1 bis mehr als 15 Lagen), **sa** Stäbchenaußenglieder, **sμ** Stäbchenmyoide.

Die folgenden Abbildungen 3.8A-I zeigen ausgewählte Schnittebenen aus einer tangential geführten Ultradünnschnittserie durch die ventro-temporale Retina der Europäischen Sardelle *Engraulis encrasicolus* von der Spitze der Außenglieder der langen Zapfen (Abb. 3.8A) bis knapp vitreal der OLM (Abb. 3.8I). Die Ausschnitte entstammen dem Zentrum des jeweiligen Schnittes (? nahezu perfekt tangential getroffen) und sind so gewählt, daß immer der gleiche Bereich einer individuellen Struktureinheit des Polycone in verschiedenen Ebenen gezeigt wird. Die Zapfenreihe verläuft horizontal im Bild.

### 3.1.7 Die Feinstruktur der „Langen Zapfen“

Der Zapfentyp, der zwischen den Pigmentepithel-Ausläufern zu finden ist und skleral bis zur Basis dieser keilförmigen Gebilde reicht wird auch „Langer Zapfen“ oder „long cone“ genannt. Im Folgenden wird die Feinstruktur der Zellabschnitte eines solchen Zapfens aus dem Bereich der Area temporalis von skleral nach vitreal fortschreitend beschrieben. Es sei an dieser Stelle noch einmal in Erinnerung gerufen, daß es sich um eine radial regionalisierte Zelle mit einer einzigen, komplex gestalteten/gefalteten Zellmembran handelt.

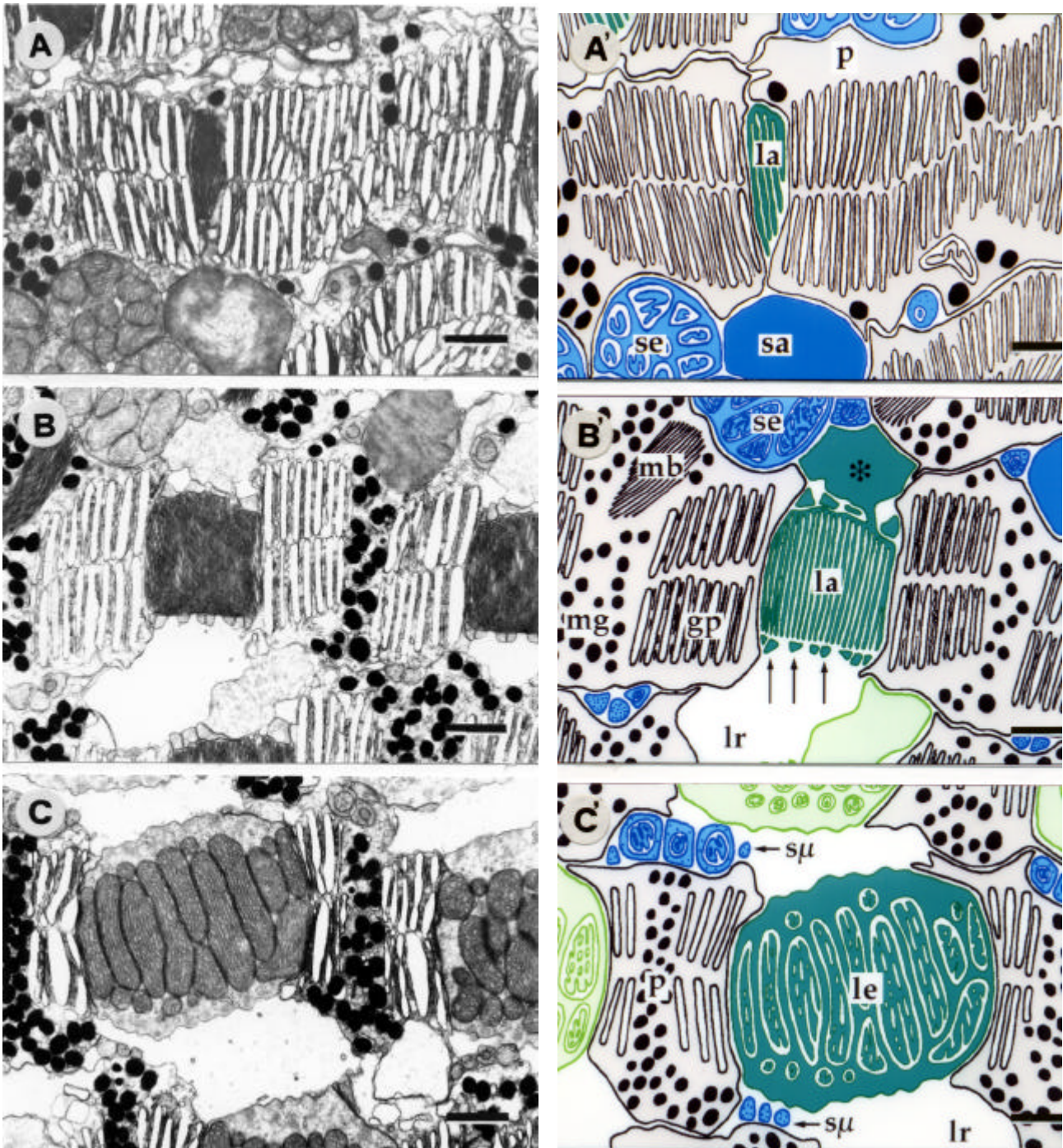
- Das als Außenglied bezeichnete Membranfaltensystem hat insgesamt eine „Umhüllende“ in Form eines Keiles mit rechteckigem Querschnitt. An seiner Basis mißt es etwa  $2\mu\text{m} \cdot 2\mu\text{m}$  und ist ca.  $20\mu\text{m}$  lang. Die beiden Flanken, die jeweils einem der benachbarten PE-Ausläufer anliegen sind mehr oder weniger rechteckig, flach bis leicht konvex und treffen sich skleral an der Spitze des Außensegments in einer gewölbten Kante. Die Flanken, die parallel zur Zapfenreihe verlaufen sind dreieckig (Spitze weist nach skleral) und ebenfalls flach bis leicht konvex (Abb. 3.7; 3.8B; 3.9A,B).

---

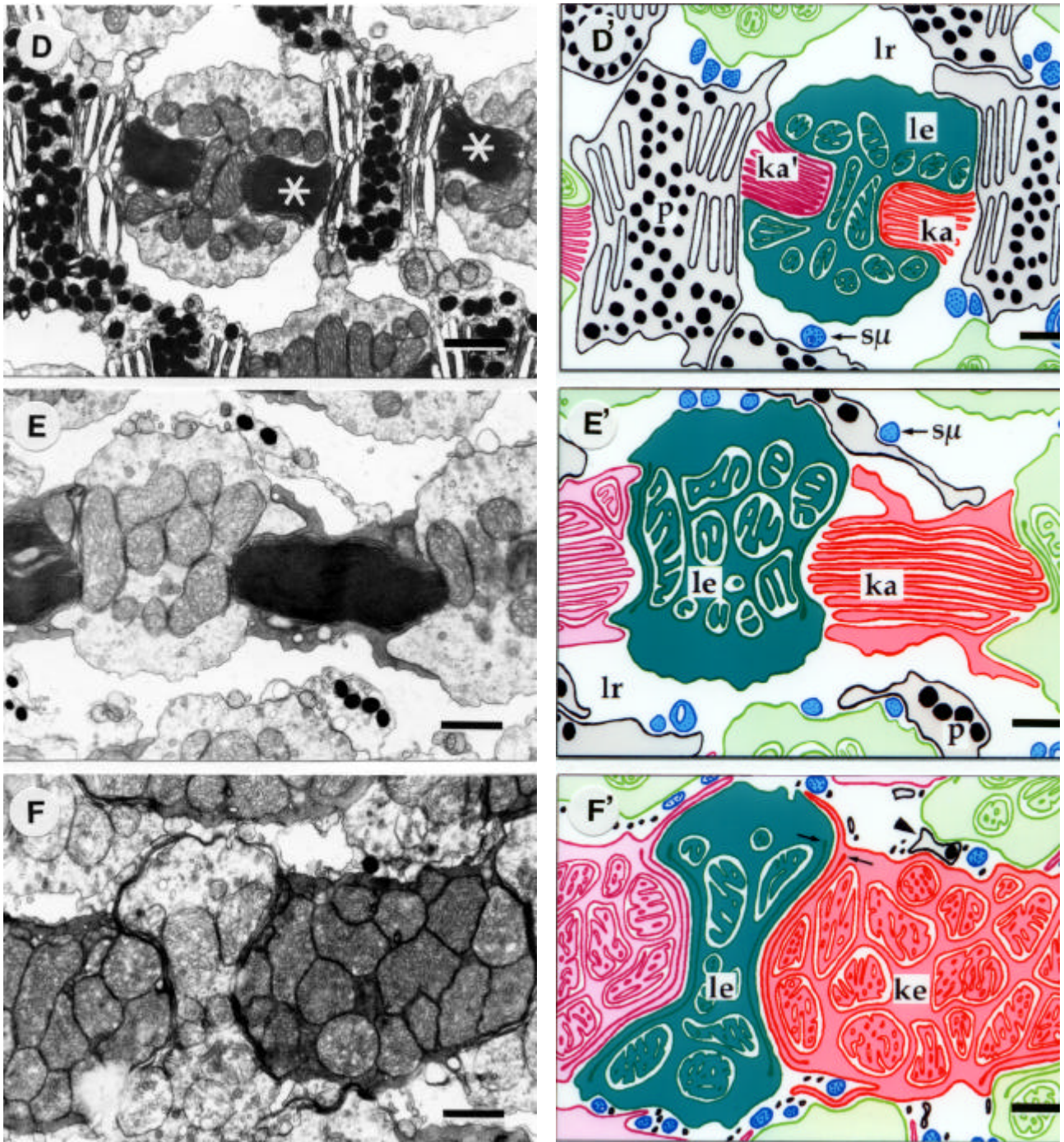
**Abbildung 3.8: Tangentialschnitte durch die strukturelle Einheit einer Zapfenreihe der ventro-temporalen Retina von skleral (A) nach vitreal (I)** >

Zum besseren Verständnis der dreidimensionalen Strukturen ist jedem TEM-Bild (A-I) eine graphische Abstraktion in Farbe gegenübergestellt (A'-I'; etwas stärker vergrößert als das Original): **schwarz** PE-Fortsätze bzw. Müllerzell-Fortsätze, **grün** lange Zapfen, **rot** kurze Zapfen, **blau** Stäbchen.

**gp** Guaninplättchen, **ka** Außenglied kurzer Zapfen, **ke** Ellipsoid kurzer Zapfen, **kμ** Myoid kurzer Zapfen, **ks** Soma kurzer Zapfen, **la** Außenglied langer Zapfen, **le** Ellipsoid langer Zapfen, **lk** Kern langer Zapfen, **lμ** Myoid langer Zapfen, **ln** Kern langer Zapfen, **lr** Liquorraum, **ls** Soma langer Zapfen, **m** Müllerzell-Fortsätze, **mb** Myeloidkörper, **mg** Melanin granula, **mi** Mitochondrium, **p** PE-Keil, **sa** Stäbchen-Außenglied, **se** Stäbchenellipsoid, **sμ** Stäbchenmyoid.



- A) Schnittebene 110 $\mu$ m skleral der OLM auf Höhe der Außenglied-Spitze der langen Zapfen. Das Außenglied ist flankiert von vier Stapeln aus Guaninplättchen (hier je 14 Lagen) aus zwei PE-Fortsätzen.
- B) Schnittebene 95 $\mu$ m skleral der OLM auf Höhe der Außenglieder der langen Zapfen unweit ihrer vitrealen Basis. Das Membranfaltensystem ist senkrecht (!) getroffen und verläuft senkrecht zur Zapfenreihe (vgl. kurzer Zapfen: 3.8E), akzessorisches Außenglied (\*) und calycale Fortsätze (®) sind erkennbar. Die flankierenden Guaninkristalle liegen hier in Stapeln zu 7-9 Plättchen.
- C) Schnittebene 77 $\mu$ m skleral der OLM auf Höhe der Ellipsoide der langen Zapfen - dichtgepackt liegen darin die Mitochondrien. Die PE-Keile sind weiter verschmälert mit Kristallstapeln zu 4-5 Plättchen.
- Balken:** 1 $\mu$ m.



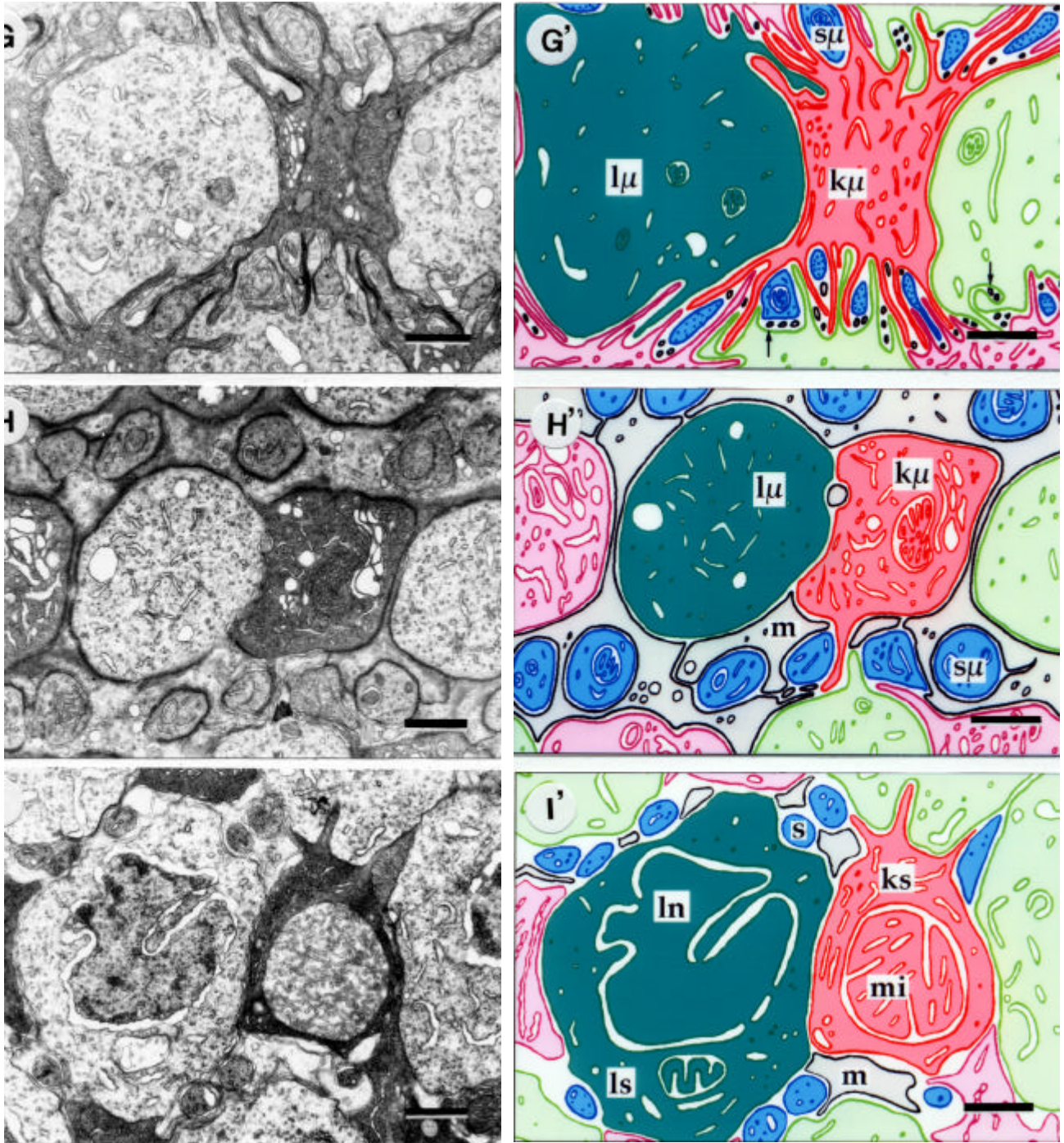
D) Schnittebene 58 $\mu$ m skleral der OLM auf Höhe der gespaltenen Außenglieder der kurzen Zapfen. Die beiden Loben des zu einem kurzen Zapfen gehörigen Außengliedes (\*) liegen zu beiden Seiten eines PE-Keiles in die Ellipsoide benachbarter langer Zapfen eingebettet.

E) Schnittebene 39 $\mu$ m skleral der OLM auf Höhe der Außenglieder der kurzen Zapfen unweit ihrer vitrealen Basis. Das Membransystem ist senkrecht getroffen und verläuft parallel zur Zapfenreihe (vgl. langer Zapfen: 3.8B). Die vitrealen Spitzen der lateralen Loben der PE-Keile sind angeschnitten.

F) Schnittebene 26 $\mu$ m skleral der OLM auf Höhe der Ellipsoide der kurzen Zapfen. Die weniger elektronendichten Ellipsoide der langen Zapfen sind von denen der kurzen Zapfen hantelförmig deformiert.

**Balken:** 1 $\mu$ m.





**G)** Schnittebene 10 $\mu$ m skleral der OLM auf Höhe der Zapfenmyoide. Beachte die Membranfalten der Myoide der kurzen Zapfen - dazwischen Stäbchenmyoide und Müllerzell-Fortsätze (®).

**H)** Schnittebene genau auf Höhe der OLM. Die Myoide der Zapfen und Stäbchen sind hier vollständig von Ausläufern der Müllerzellen eingerahmt und bilden mit ihnen Zellhaften (junctions).

**I)** Schnittebene 10 $\mu$ m vitreal der OLM auf Höhe der Kerne der langen Zapfen.

**Balken:** 1 $\mu$ m.

Sie werden beide von fingerförmigen Ausläufern, die der skleralen Ellipsoidkante entspringen, begleitet. Diese sog. „calycales Fortsätze“ haben einen annähernd ovalen bis dreikantigen Querschnitt bei einem mittleren Durchmesser von ca. 175nm und ziehen, dem Außenglied eng anliegend, bis kurz unter dessen Spitze. Entlang der Flanke, die an der Außenkurve der Zapfenreihe liegt, finden sich meistens 6 calycale Fortsätze (Abb. 3.9A; 3.10B), der Innenkurvenflanke liegen 4 bis 5 davon an (Abb. 3.10C).

Auf dieser Seite befindet sich auch das akzessorische Außenglied als schlauchförmiges Gebilde von der Länge des „echten“ Außenglieds (ovaler Querschnitt bis 2µm; Abb. 3.9C; 3.10A,C), dessen Kontur sich den umliegenden Zellumrissen nachgiebig anschmiegt. Das akzessorische Außenglied ist als ein modifiziertes Cilium aufzufassen (9 Mikrotubuli-Dupletts in peripherer Lage) und im Sinne einer unvollständigen Abschnürung von der Außenmembran der geschlossenen Seite des Membransystems über seine ganze Länge kontinuierlich mit dem Außenglied verbunden (Abb. 3.10C,D; siehe auch Abb. 3.11).

Im Außenglied eines langen Zapfens der Sardelle liegen die Membranfalten nicht in tangentialen Ebenen wie bei fast allen Wirbeltieren, sondern sind mehr oder weniger radiad gekippt, so daß sie im Extremfall sogar radial orientiert sein können (Abb. 3.7A; 3.10A). Im Tangentialschnitt werden daher nicht die Flächen, sondern die Kanten der Membranfalten dargestellt (Abb. 3.8B): Sie verlaufen senkrecht zur Zapfenreihe, sind in Richtung der Polycone-Außenkurve zum Liquorraum hin offen (Abb. 3.10B) und auf der Innenkurvenseite (dort wo sich auch das akzessorische Außenglied befindet, Abb. 3.10C) geschlossen. Ein langer Zapfen besitzt etwa 350-400 Membranfalten von ca. 2µm (vitreal) bis ca. 10µm (skleral) Länge. Die Oberfläche der Membranen erscheint manchmal ein wenig gewellt, was ein Präparationsartefakt sein kann, aber nicht muß (vgl. mit kurzem Zapfen: Abb. 3.13A,C).

---

**Abbildung 3.9: Details zum Außenglied der langen Zapfen (REM)**

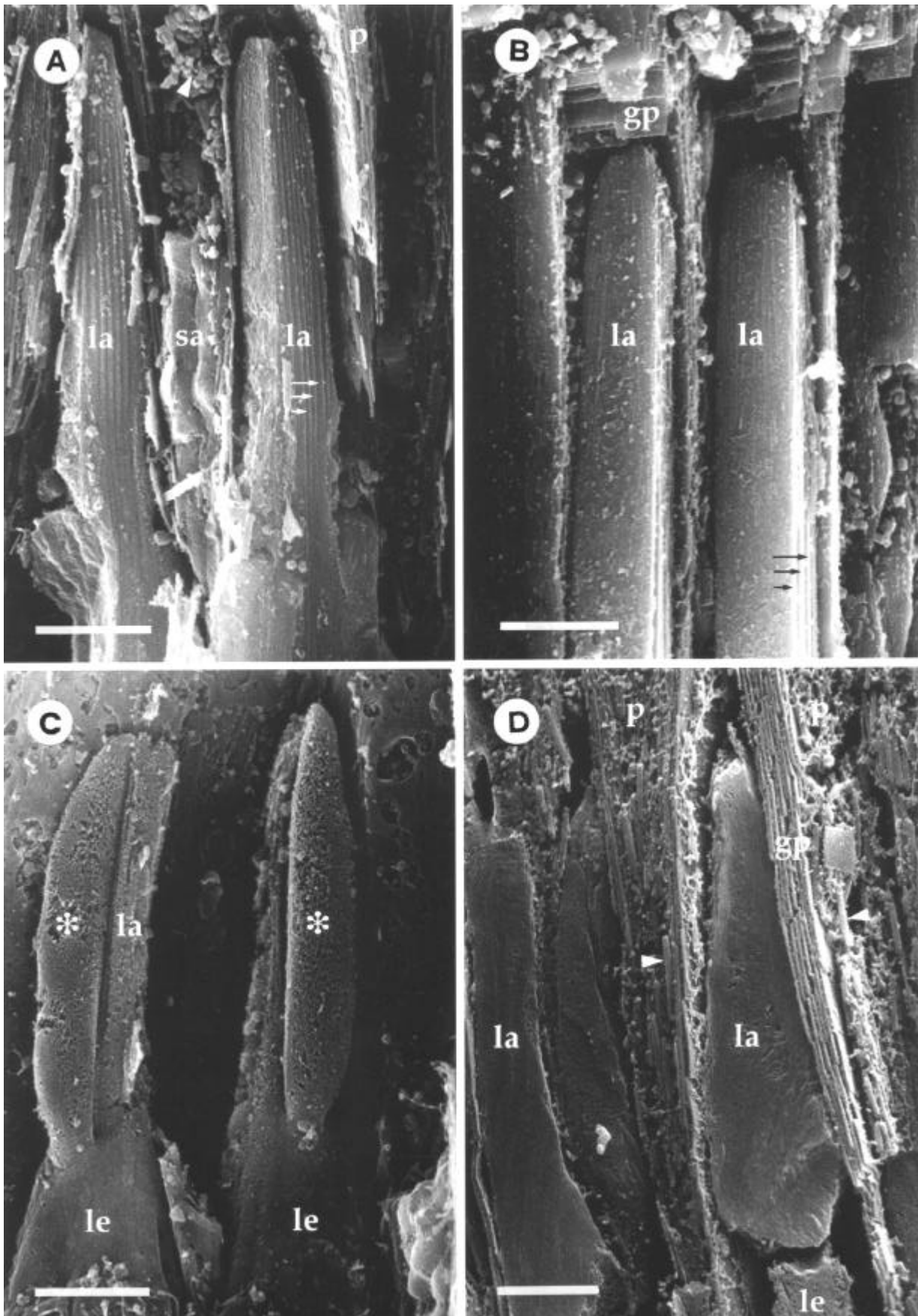
>

**A)** Die Außenglieder von zwei langen Zapfen benachbarter Zapfenreihen von ihrer zur Ora serrata weisenden Seite (Außenkurve) betrachtet. Deutlich sind die längsseits angeschmiegtten „calycales Fortsätze“ zu erkennen. Trockenbruch, **Balken:** 5µm.

**B)** Blick auf die den PE-Keilen zugewandten Außenglied-Flanken von zwei langen Zapfen benachbarter Zapfenreihen. Trockenbruch, **Balken:** 2.5µm.

**C)** Von der zum Zentrum der Retina weisenden Seite (Innenkurve) gesehen sind die hier mächtig entwickelten akzessorischen Außenglieder zweier langer Zapfen einer Zapfenreihe zu erkennen. Trockenbruch, **Balken:** 5µm.

**D)** Gefrierbruch durch das Außenglied eines langen Zapfens und die ihn flankierenden PE-Keile. Die vertikal verlaufenden, teils etwas gewellten Membranfalten sind erkennbar. Gefrierbruch, **Balken:** 5µm.



**gp** Guaninplättchen, **la** Außenglied langer Zapfen, **le** Ellipsoid langer Zapfen, **sa** Stäbchenaußenglied, **p** Pigmentepithelzellkeil, \* akzessorisches Außenglied langer Zapfen, ® calycale Fortsätze, > in A: Guaninschotter, > in D: Melaningranula.

- Das Innenglied eines langen Zapfens ist definitionsgemäß der Bereich zwischen der Basis des Außenglieds und der äußeren Grenzmembran und läßt sich in zwei Abschnitte gegliedert beschreiben: skleral das mitochondrienhaltige Ellipsoid und vitreal das Myoid (Abb. 3.7). Die Grenze zwischen Ellipsoid und Myoid ist meist nicht scharf nachzeichenbar. Der Übergang vom Innenglied zum Außenglied ist im vierten Abschnitt (•) dieses Kapitels näher beschrieben.

- Das Ellipsoid beginnt auf seiner skleralen Seite etwa in der Mitte der radialen Erstreckung der PE-Keile und ist etwa 12 bis 15µm lang. Sein Querschnitt wird im wesentlichen bestimmt durch die zu beiden Seiten angrenzenden Nachbarzellen (PE-Ausläufer und kurze Zapfen) und entspricht in seinem skleralen  $\frac{1}{3}$  in etwa einem abgerundeten Rechteck (Abb. 3.8C; 3.10E). Die Membranabschnitte, die Kontakt zu den PE-Ausläufern haben, werden von diesen abgeflacht - diejenigen dagegen, die zu den benachbarten Zapfenreihen weisen, sind konvex und dabei etwas gewellt, da sie radial verlaufenden Bündeln des Zytoskeletts nachgiebig anliegen (Abb. 3.8C-E).

In seinem weiteren Verlauf wird das Ellipsoid glaskörperwärts nicht im gleichen Maße voluminöser, wie die sich verschmälernden PE-Keile auseinanderweichen, sondern rundet sich ab und verliert zunehmend den Kontakt zu den PE-Zellen. In den Ebenen, in denen die Loben der gespaltenen Außenglieder der kurzen Zapfen liegen, erhält das Ellipsoid des langen Zapfens einen charakteristischen hantelförmigen Querschnitt (Abb. 3.8D). Dort nämlich, wo sich die Außengliedloben der kurzen Zapfen raumfordernd zwischen PE und langen Zapfen schieben, weicht letzterer aus und bildet zwei Taschen auf einander gegenüberliegenden Seiten. Diese radial verlaufenden Invaginationen der Zellmembran öffnen sich zum PE-Ausläufer hin und umschließen mit engem Kontakt je einen Lobus der beiden benachbarten Außenglieder der kurzen Zapfen (Abb. 3.8D; 3.13A).

---

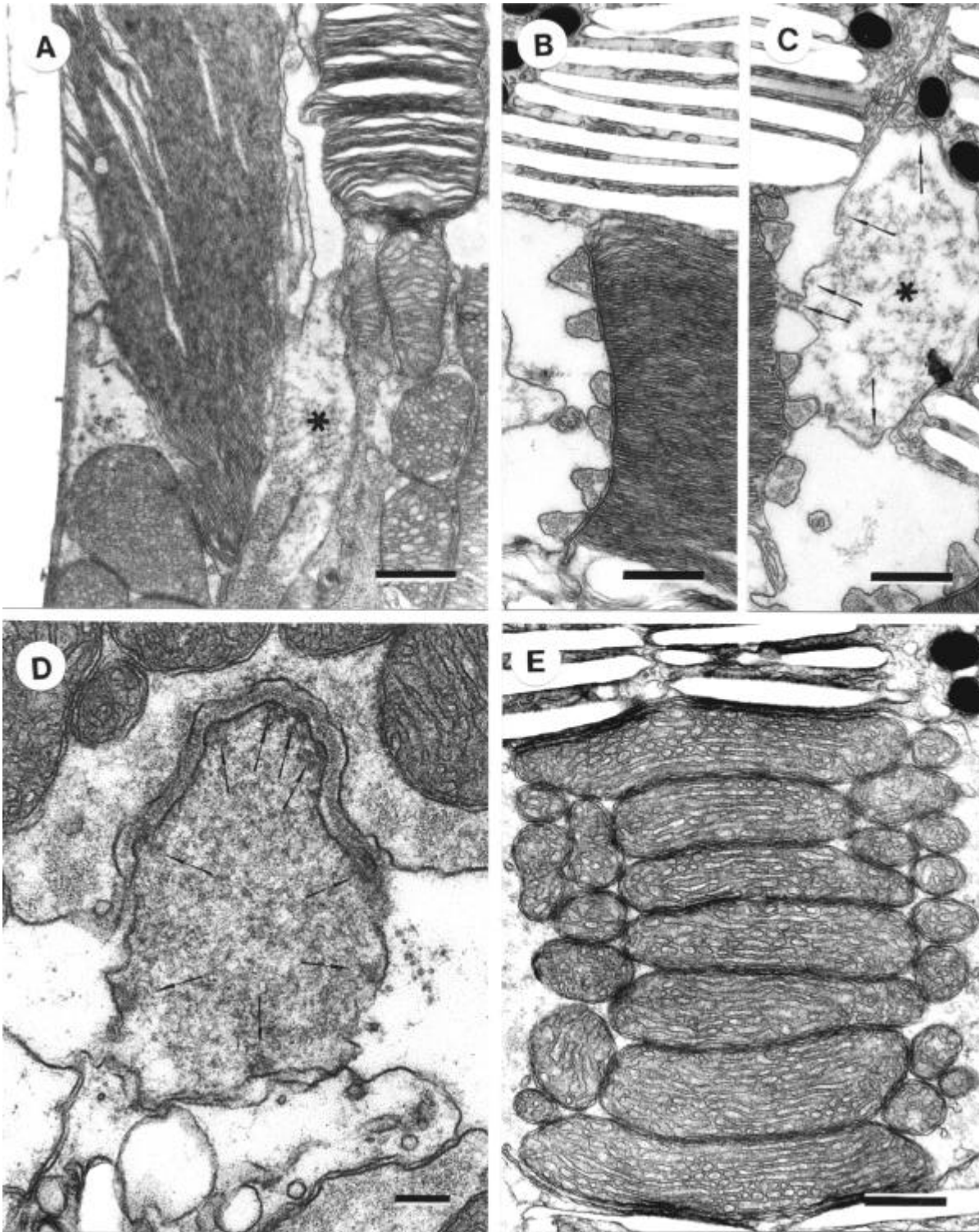
**Abbildung 3.10: Details zum langen Zapfen (TEM)**

>

**A)** Radialschnitt durch die Außenglieder eines lange Zapfens und eines Stäbchens. Die Membransäckchen („disks“) des Stäbchens sind normal angeordnet, die Lamellen des Zapfens dagegen nahezu senkrecht dazu. \*: siehe C. **Balken:** 1µm, Endvergrößerung 13400x.

**B)** Tangentialschnitt durch das Außenglied eines langen Zapfens (100µm skleral der OLM) - „äußerer“ Rand. Das senkrecht getroffene Membranfaltensystem und 6 calycale Fortsätze sind abgebildet (vgl. **A** und 3.8B). **Balken:** 500nm, Endvergrößerung 25700x.

**C)** Tangentialschnitt durch das Außenglied eines langen Zapfens (100µm skleral der OLM) - „innerer“ Rand. 5 calycale Fortsätze und das akzessorische Außenglied (\*) sind zu erkennen (vgl. 3.8B) - beachte darin die Mikrotubuli (®). **Balken:** 500nm.



**D)** Tangentialschnitt durch das Verbindungscilium eines langen Zapfens unmittelbar skleral seiner Abgliederung vom Ellipsoid (= Basis des akzessorischen Außengliedes). Der Zwischenraum enthält elektronendichtes Material. 9 Mikrotubulidupletts sind andeutungsweise zu erkennen (®, vgl. Abb. 3.14B). **Balken:** 200nm, Endvergrößerung 45400x.

**E)** Tangentialschnitt durch das Ellipsoid eines langen Zapfens (etwa 75µm skleral der OLM, vgl. Abb. 3.8C). Die länglichen zentralen Mitochondrien sind dicht gepackt (hier parallel angeordnet), die rundlichen peripheren sind deutlich kleiner. Beachte die Tubuli der inneren Mitochondrienmembran. **Balken:** 500nm, Endvergrößerung 26200x.

Während die längs zur Zapfenreihe verlaufenden Membranflächen der Taschen annähernd parallel verlaufen - ihr Abstand voneinander entspricht mit ca. 0.9 bis 1.8µm genau der Breite des Außengliedes des kurzen Zapfens - sind die zentralen Flächen entweder eben oder konkav und können sich einander bis auf ca. 200nm (d.h. eine Mitochondrienbreite) annähern. Auf Höhe des basalen  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{5}$  der Außenglieder der kurzen Zapfen nimmt die Querschnittsfläche des Ellipsoids des langen Zapfens wieder zu (die Taschen werden flacher, Abb. 3.8E), um weiter vitreal vom Ellipsoid des kurzen Zapfens wiederum eingeengt zu werden - diesmal auf breiter Fläche (Abb. 3.8F). Es hat hier den Umriss einer stumpfen Hantel mit der schmalsten Stelle von ca. 0.9µm in zentraler Lage.

Als „Kraftwerk“ der Zelle ist das Ellipsoid vollgepackt mit Mitochondrien und danach auch morphologisch und funktionell definiert. Etwa 250 bis 300 Mitochondrien vom tubulären Typ finden sich, verteilt über eine radiale Strecke von ca. 55µm von der skleralen Begrenzung des Innenglieds bis hinab zu den Ellipsoiden der kurzen Zapfen. Im Bereich der größten Mitochondriendichte - ca. 45µm bis 60µm skleral der OLM - liegen langgestreckte Mitochondrien (Länge bis 2.5µm, Ø ca. 440nm) dicht an dicht in tangentialer Ebene und annähernd parallel zu den Guaninplättchen der PE-Ausläuder (Abb. 3.8C; 3.10E). Sie erfüllen das zentrale Ellipsoidlumen fast lückenlos und lassen zu beiden Seiten einen ca. 200 bis 400nm breiten Zytoplasmastreifen frei. Randlich dieser länglichen Mitochondrien finden sich deutlich kleinere von ovoider bis sphärischer Form, ebenso weiter vitreal, wo sie am Übergang zum Myoid spärlicher werden. Hier erscheint die Matrix der Mitochondrien weniger elektronendicht als die der weiter skleral gelegenen, die Tubuli liegen darin lockerer verteilt und weniger geordnet.

In Ultradünnschnitten vom Ellipsoid des langen Zapfens weisen die randlichen Zytoplasmasäume eine relativ geringe Elektronendichte auf. Darin fallen, neben wenigen Anschnitten glatten ERs auf beiden Seiten 6-8 Bündel fibrillären Materials (Aktin ?) auf, die längs der Zellmembran vom Myoid bis in die Spitzen der calycaalen Fortsätze verlaufen (Abb. 3.8C-F; 3.10B-D). Sie dürften einen wesentlichen Bestandteil des Zytoskeletts darstellen, stützen sie doch die feinen calycaalen Fortsätze und die mit ihnen kontinuierlich verlaufenden erhabenen Leisten der leicht gewellten Ellipsoidoberfläche.

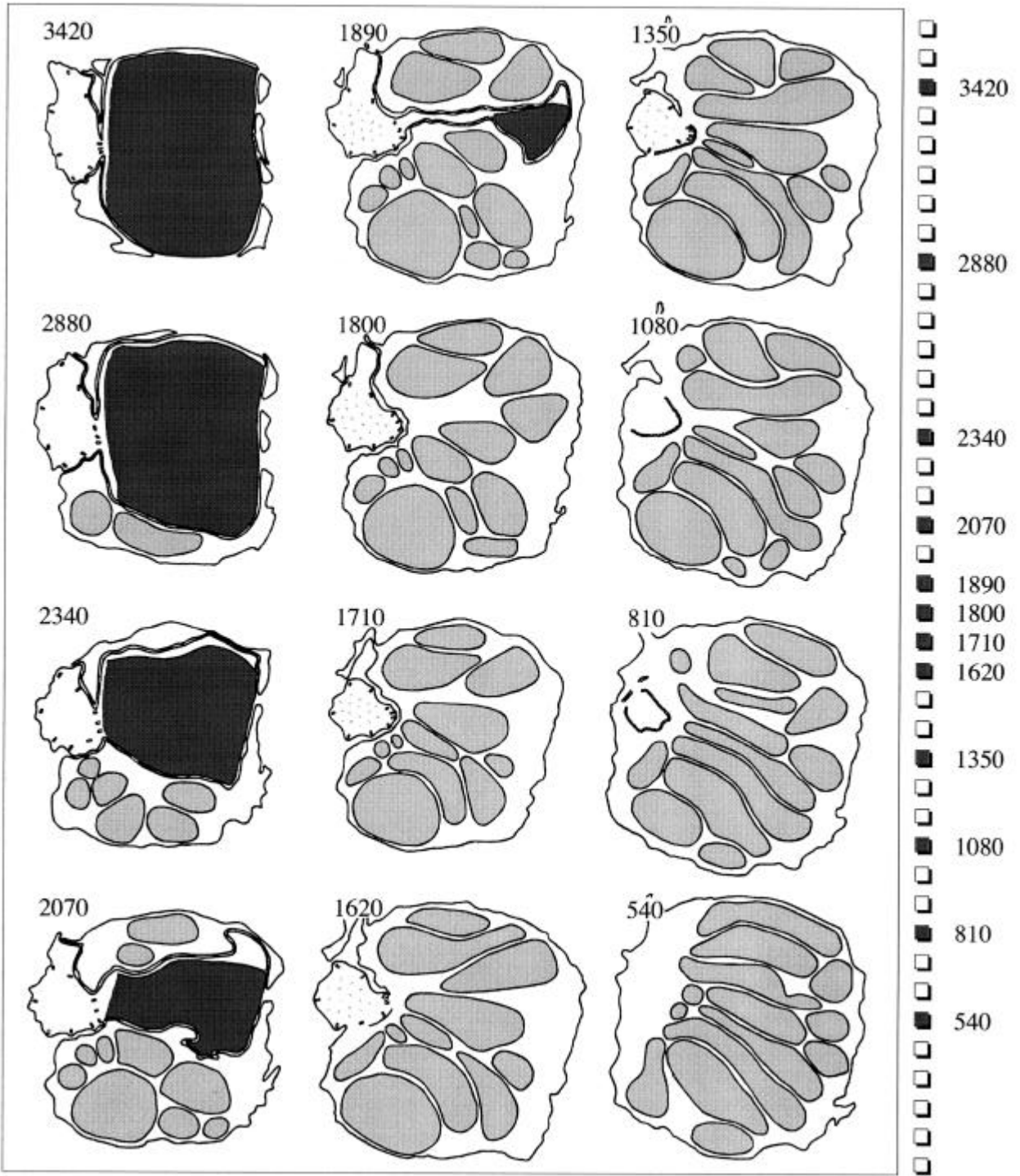
Schließlich ist auch für die Vielfachzapfenkomplexe der Sardelle noch eine Struktur zu beschreiben, die sich typischerweise in den Ellipsoiden strukturell gekoppelter Wirbeltierzapfen auffinden läßt, die sog. „subsurface cisternae“.

Dort wo die Ellipsoide von langen und kurzen Zapfen engen Kontakt haben, ist in beiden Zapfentypen direkt unterhalb der Zellmembran ein flaches Membrankompartiment ausgebildet. In Ultradünnschnitten dieser Region sind daher nebeneinander sechs parallel verlaufende Elementarmembranen zu erkennen: zwei pro Cisterne und zwei Zellmembranen. Da die Mitochondrien der Ellipsoide den „subsurface cisternae“ eng anliegen sind stellenweise sogar 10 Membranen auf 125nm zu finden (Abb. 3.8F; vgl. auch 3.21E und 3.23F).

- Das Myoid des langen Zapfens hat einen rundlichen bis unregelmäßig geformten Querschnitt, schwillt vitreal der Ellipsoide der kurzen Zapfen auf einen Durchmesser von ca. 4µm an (Abb. 3.8G) und mißt auf Höhe der OLM noch 3µm (Abb. 3.8H). Knapp skleral davon können schmale, radial verlaufende Membranfalten ausgebildet sein. Das für den langen Zapfen typische elektronenlichte Zytoplasma ist im Myoid von Lakunen und/oder Röhren des glatten ER durchsetzt und enthält zahlreiche kleine Vesikel (Ø ca. 40 bis 60nm). Daneben findet sich granuläres und/oder fibrilläres Material.

- Der Übergangsbereich vom Innenglied zum Außenglied eines Wirbeltierzapfens zeichnet sich durch eine vergleichsweise komplizierte räumliche Architektur der Zellmembran aus. Gerade bei den aberrant gestalteten Zapfen der Sardelle erscheint daher eine genauere Analyse dieser Zellregion besonders interessant und lohnenswert, vor allem auch im Hinblick auf einen Vergleich der zwei Zapfentypen. Abbildung 3.11 zeigt den Versuch, aus einer lückenlosen Ultradünnschnittserie der gewünschten Region diejenigen Schnittebenen herauszuzeichnen, die im Vergleich zu den jeweils benachbarten Schnitten eine erkennbare Änderung der Feinstruktur zeigen und sie so anzuordnen, daß sich eine Vorstellung vom räumlichen Verlauf der Membran gewinnen läßt. Die Beschreibung erfolgt von vitreal (Position 540nm) nach skleral (Position 3420nm).

Auf der „Innenkurven“-Seite der Zapfenreihe weitet sich der Zytoplasmasaum des Ellipsoids des langen Zapfens auf und beherbergt eine becherförmige, nach skleral und in Richtung des Retinazentrums offene, sehr elektronendichte Struktur, die das Zytoplasma des Ellipsoids von dem des modifizierten Verbindungsciliums trennt. Etwa 300nm skleral des Becherbodens beginnt sich das Cilium von der Wand des Ellipsoids abzugliedern, was dann nach knapp 1µm zur Gänze erfolgt ist. In dem 60-70nm breiten extrazellulären Spalt zwischen Cilium und Ellipsoid befindet sich (amorphes?) elektronendichtes Material (Abb. 3.10D). Im Cilium lassen sich randlich 9 Mikrotubuli-Dupletts ausmachen (wenn auch nicht sehr deutlich: Abb. 3.10D; 4.9A) - sein Plasma ist erfüllt von Granula mittlerer Elektronendichte (Ø ca. 30-35nm), die sich einen weiteren Mikrometer weiter skleral verlieren.





Etwa auf Position 1890nm beginnt die Abfaltung der Außengliedmembranen an einem schmalen Prozess der dem Ellipsoid zugewandten Seite des Ciliums. Sie sind mehr oder weniger radial orientiert und nicht wie sonst bei Wirbeltieren „üblich“ tangential. Das Ellipsoid wird dadurch schließlich in zwei Zipfel gespalten (ab Position 2070nm) und verjüngt sich skleral - vom breiter werdenden Außenglied verdrängt - bis davon auf der Außen- und Innenseite der Zapfenreihe nur noch die calycales Fortsätze „übrigbleiben“.

Die Verbindung vom Cilium zum Außenglied, das etwa ab Position 2070nm als akzessorisches Außenglied anzusehen ist, wird an einer schmalen Stelle über die ganze Länge des Außengliedes beibehalten - sein Plasma ist kontinuierlich mit dem Innenraum der Membranfalten verbunden (Abb. 3.10C). Letztere sind auf der Seite der Polycone-„Außenkurve“ zum Interstitium hin offen, an ihren Kanten jedoch offensichtlich durch extrazelluläres Material verbunden und so in ihrer Lage stabilisiert (Abb. 3.10B).

---

< **Abbildung 3.11: Strichzeichnungen zur Ultradünnschnittserie durch das Cilium eines langen Zapfens.**

Aus einer lückenlosen Serie von 40 tangential durch die Cilienregion eines langen Zapfen geführten Ultradünnschnitten wurden 12 ausgewählte Anschnitte herausgezeichnet, orientiert und montiert. Die relative radiale Position ist in Nanometern angegeben und zusätzlich am Punktebalken graphisch ablesbar - der Querschnitt des Photorezeptors beträgt in dieser Region ca.  $3\mu\text{m} \times 3\mu\text{m}$ . Von vitreal (rechts unten) nach skleral (links oben) sind die laterale Abgliederung des Ciliums vom Ellipsoid und die Formierung des Außengliedes nachvollziehbar. Die Umrisse der Mitochondrien sind hellgrau gefüllt, die Membranfalten des Außengliedes dunkelgrau dargestellt (vgl. kurzer Zapfen Abb. 3.15).

### 3.1.8 Die Feinstruktur der „Kurzen Zapfen“

Während der lange Zapfen aus der Area temporalis der Sardelle - trotz einiger Besonderheiten - in den Grundzügen seiner Organisation große Ähnlichkeiten zum „normalen“ Wirbeltierzapfen aufweist, ist der kurze Zapfen sicherlich ein architektonisches Unikum, insbesondere in Bezug auf den Bau seines Außengliedes. Die kurzen Zapfen mit ihrer eigenwilligen Form befinden sich in völlig regelmäßigem Wechsel zwischen je zwei langen Zapfen der Zapfenreihe. Ihre Innenglieder enden vitreal wie die der langen Zapfen an der OLM, skleral erstreckt sich dieser Zelltyp aber insgesamt nur etwa halb so weit wie der lange Zapfen. Es folgt die Beschreibung der Zellabschnitte des kurzen Zapfens von skleral nach vitreal:

- Das Außenglied des kurzen Zapfens ist in radialer Richtung etwa 15µm lang und wird immer zu  $\frac{3}{4}$  bis  $\frac{4}{5}$  seiner Länge vom assoziierten PE-Keil des Polycone-Komplexes in zwei gleiche Loben gespalten (Abb. 3.7A; 3.8D). Blickt man genau auf die Seite einer Zapfenreihe (Abb. 3.7A; 3.12A,B), dann erscheint der Umriß des Außengliedes herzförmig mit abgerundeter, vitreal gelegener Spitze. An seiner breitesten Stelle mißt dieses „Herz“ ca. 7µm, der Abstand der skleralen Lobenspitzen zueinander beträgt ca. 5µm. Die Dicke des Außenglieds beträgt an seiner Basis etwa 1.8µm (senkrecht zur Zapfenreihe gemessen) und bleibt abseits der Spitzen über die radiale Länge der Loben annähernd konstant. Manchmal sind die Loben etwas verbogen (Abb. 3.13A).

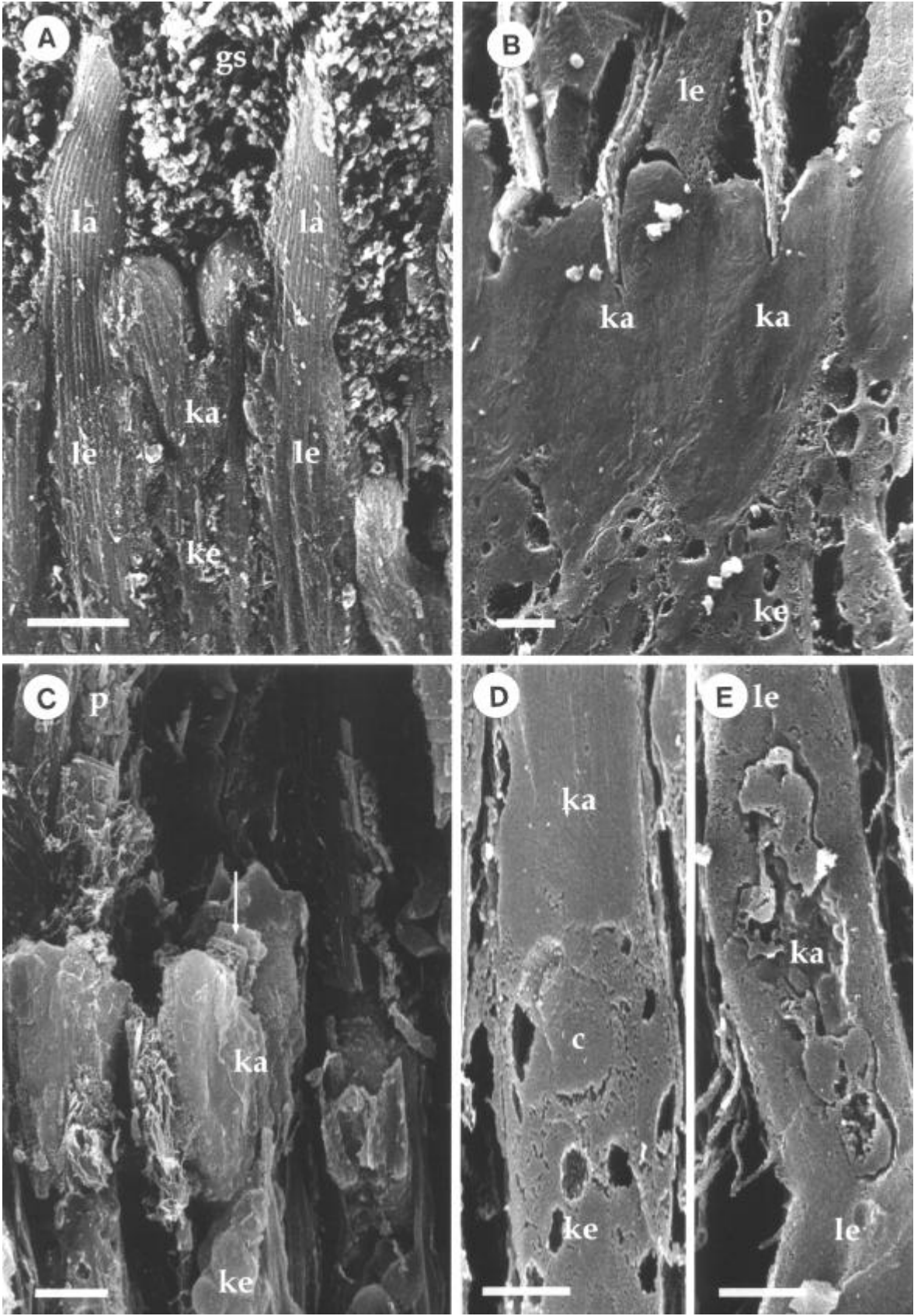
---

#### Abbildung 3.12: Details zum kurzen Zapfen (REM)

>

- A)** Radialer Trockenbruch entlang der „Außenkurve“ einer Zapfenreihe des Retinafundus. Das herzförmige Außenglied eines kurzen Zapfens ist eingerahmt von zwei langen Zapfen. Skleral der Photorezeptoren finden sich Massen von „Guaninschotter“. **Balken:** 5µm.
- B)** Gleiche Bruchrichtung wie **A** im Gefrierbruch. Die Außenglieder der kurzen Zapfen werden von PE-Keilen gespalten und heben sich strukturell deutlich von den mitochondrienhaltigen Ellipsoiden ab. **Balken:** 5µm.
- C)** Der schräg zur Zapfenreihe verlaufende radiale Trockenbruch durch die Netzhaut im Bereich der Area temporalis vermittelt eine räumliche Vorstellung vom Außenglied eines kurzen Zapfens. Die Guaninplättchen einer PE-Keilspitze stecken noch zwischen den Loben eines Außengliedes (®). **Balken:** 5µm.
- D)** Radialer Gefrierbruch durch Ellipsoid und Außenglied eines kurzen Zapfens. Das zentral gelegene Verbindungscilium ist erkennbar. **Balken:** 1µm.
- E)** Radialer Gefrierbruch durch das Ellipsoid eines langen Zapfens. In einer taschenförmigen Vertiefung befinden sich Reste vom Außenglied und Ellipsoid eines kurzen Zapfens.  
**Balken:** 1µm.

c Cilienbasis, gs Guaninschotter, ka Außenglied kurzer Zapfen, ke Ellipsoid kurzer Zapfen, la Außenglied langer Zapfen, le Ellipsoid langer Zapfen, p PE-Keil.



In seinem skleralen Viertel wird das Außenglied schmaler (z.B. bis auf  $0.9\mu\text{m}$ ) und rundet sich an den Lobenspitzen ab. Die nebeneinander befindlichen Loben benachbarter Außenglieder sind im Ellipsoid des gleichen langen Zapfens eingebettet und dadurch in parallel gegenüberliegender Position fixiert (Abb. 3.8D). Die beiden Loben des gleichen Außengliedes werden vom dazwischenliegenden PE-Keil auf Abstand gehalten und liegen innerhalb der Zapfenreihe entweder linear oder leicht parallelverschoben hintereinander.

Die Membranfalten des Außengliedes eines kurzen Zapfens (70-80 Stück pro Zelle) liegen über ihre gesamte Länge exakt radial ausgerichtet, dabei parallel zur Zapfenreihe und somit orthogonal zu den Membranfalten der benachbarten langen Zapfen (Abb. 3.8B,E; 4.9). Sie haben ihren Ursprung in einem zentral im Ellipsoid gelegenen Cilium (siehe 4. Abschnitt • dieses Kapitels) und sind nach skleral, sowie auf den, dem PE-Ausläufer zugewandten Seiten offen. Geschlossen sind sie nur basal und teilweise auf der dem Ellipsoid des langen Zapfens zugewandten Seite. Abweichungen vom „geometrischen Ideal“ ergeben sich häufig durch geringe Verbiegungen der Loben und/oder durch angeschwollene bzw. lysierende Membranlamellen (Abb. 3.13C,D).

Dort, wo das Außenglied an seinen Polycone-parallelen Flanken nicht vom Ellipsoid des angrenzenden langen Zapfens umhüllt ist, wird es radiad von fingerförmigen Ausläufern des eigenen Ellipsoids begleitet. Diese „calycaalen Fortsätze“ haben einen Durchmesser von ca.  $150\text{-}250\text{nm}$ , einen auffallend kantigen Querschnitt und sind dem Außenglied eng angeschmiegt (Abb. 3.13A,C,D). Sie folgen ihm auch entlang der Loben und biegen daher mit ihnen etwa auf Höhe der PE-Keil-Spitze um wenige Grad aus der optischen Achse ab (Abb. 3.12A).

Ein akzessorisches Außenglied fehlt dem kurzen Zapfen gänzlich und verbietet sich darüberhinaus in der üblichen Form wegen der radial ausgerichteten Abfaltung der Außengliedmembranen von einem zentral gelegenen Cilium.

---

**Abbildung 3.13: Details zum kurzen Zapfen (TEM 1)**

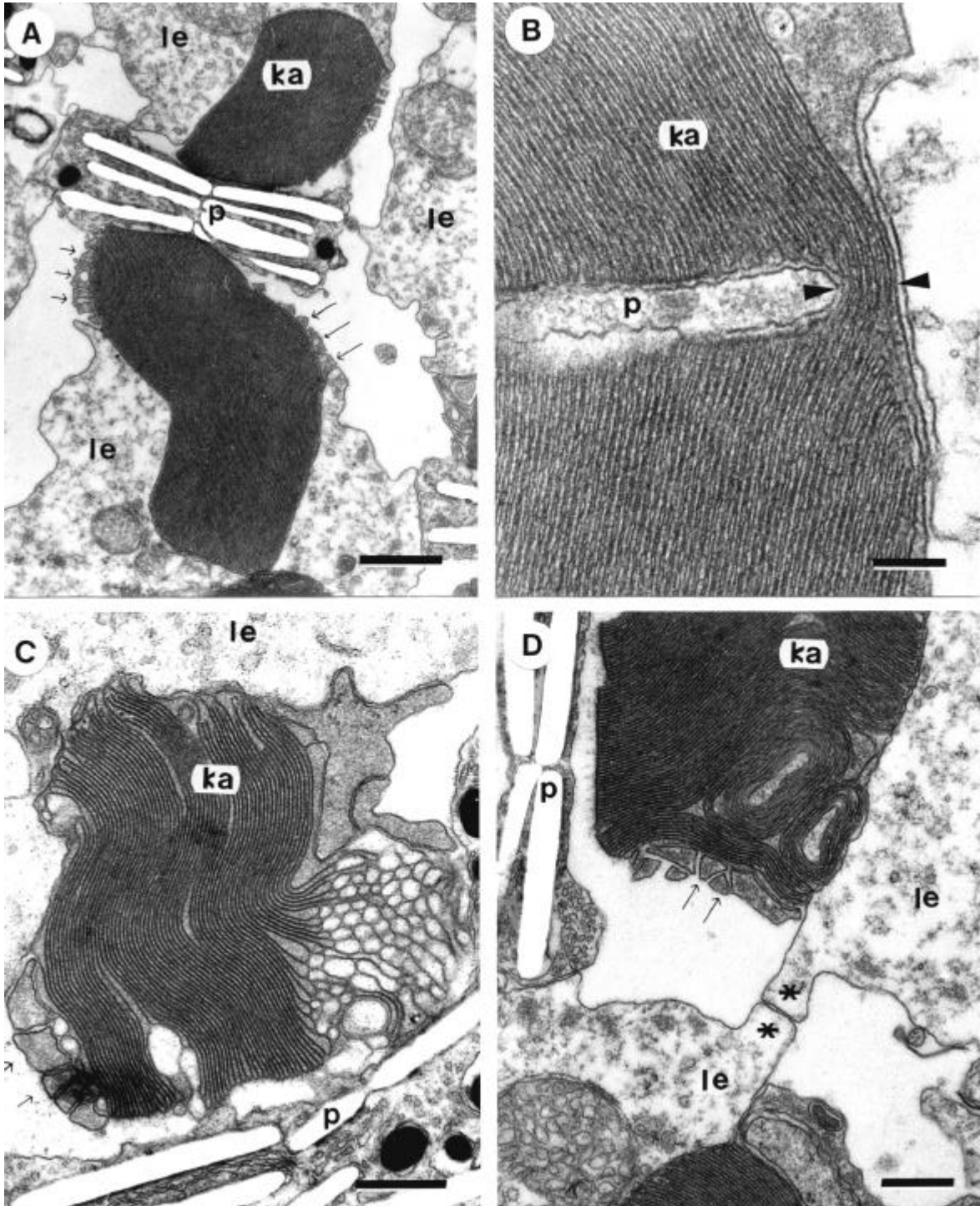
>

**A)** Tangentialer Schnitt durch die Außengliedloben eines kurzen Zapfens. Die Membranen sind senkrecht angeschnitten - dort wo sie nicht engen Kontakt zum Ellipsoid der benachbarten langen Zapfen haben finden sich calycaale Fortsätze (®).

**Balken:**  $1\mu\text{m}$ , Endvergrößerung 13500x.

**B)** Außenglied eines kurzen Zapfens am Übergang zu den Loben - die Kontinuität der Membranen vor der Aufspaltung ist klar zu sehen (><).

**Balken:**  $200\text{nm}$ , Endvergrößerung 59200x.



C) Außengliedlobus eines kurzen Zapfens mit vesikulären Degenerationserscheinungen. Deutlich erkennbar ist die Polarität im Membranverlauf zwischen PE-zugewandter (unten) und Ellipsoid-zugewandter Seite (oben) des Membransystems (vgl. Abb. 4.2). **Balken:** 500nm, Endvergrößerung 29900x.

D) Außengliedlobus eines kurzen Zapfens mit Degenerationserscheinungen in Form aufgerollter Membranstapelportionen. Die Ellipsoide von langen Zapfen benachbarter Reihen bilden Kontaktpunkte ohne erkennbare Zellhaften (\*). **Balken:** 500nm, Endvergrößerung 23700x.

**le** Ellipsoid langer Zapfen, **ka** Außenglied kurzer Zapfen, **p** PE-Keil, ® calycale Fortsätze

- Das Ellipsoid des kurzen Zapfens ist mächtig entwickelt und dicht vollgepackt mit Mitochondrien. Es ist ein bauchiges Gebilde von abgerundet rechteckigem Querschnitt mit einer größten Ausdehnung von etwa  $7\mu\text{m} \cdot 3.5\mu\text{m}$ , ca.  $13\text{-}18\mu\text{m}$  skleral der OLM (Abb. 3.7A; 3.8F). Es tendiert dazu, an der Grenze zu den benachbarten Ellipsoiden der langen Zapfen Membranfalten zu bilden, die diese Ellipsoide teilweise einhüllen und auch manchmal Kontakt zu den Ellipsoiden der kurzen Zapfen benachbarter Zapfenreihen aufnehmen (Abb. 3.8F). Das Zytoplasma der Ellipsoide ist ausgesprochen elektronendicht, enthält wie die Ellipsoide der langen Zapfen wenig vesikuläres und fibrilläres Material, sowie glattes ER. An der Kontaktstelle zu den langen Zapfen sind „subsurface cisternae“ ausgebildet (Abb. 3.8F'). Etwa 450-500 rundliche bis (packungs-bedingt) polyedrische Mitochondrien vom tubulären Typ können sich in einem Ellipsoid befinden. Manchmal erscheinen sie, gegenüber den Mitochondrien der langen Zapfen von leicht erhöhter Elektronendichte, doch ist der Unterschied nicht gravierend (Abb. 3.7A; 3.8F).
- Im Myoidbereich ist der kurze Zapfen am schmalsten und von etwa quadratischem Querschnitt (Kantenlänge ca.  $2\mu\text{m}$ : Abb. 3.8G). An den Flanken die parallel zur Zapfenreihe verlaufen, bilden sie auffällige radiale, manchmal verzweigte Membranfalten aus - vergleichbar mit den Brettwurzeln tropischer Baumriesen. Im Tangentialschnitt erscheinen diese Falten wie dünne Finger, die innigen Kontakt zu den Membranfalten der Zapfen (v.a. zu den kurzen) der Nachbarreihen aufnehmen (Abb. 3.8G; 3.14D). Die Reihen sind hier, nahe der OLM, um einen Zapfendurchmesser gegeneinander verschoben, so daß im Tangentialschnitt eine Art „Schachbrettmuster“ aus hellen Anschnitten der langen Zapfen und dunklen Anschnitten der kurzen Zapfen entsteht.

---

**Abbildung 3.14: Details zum kurzen Zapfen (TEM 2)** >

**A)** Radialschnitt durch das Cilium eines kurzen Zapfens. Der Stiel ist von granulärem Cytoplasma erfüllt und vitread von einer becherförmigen, elektronendichten Struktur begrenzt. Die Membranfalten des Außengliedes stehen a priori senkrecht. ®: s. Text. Beachte die Mitochondrien mit eigenartiger Kontaktzone (>). Die Schnittebenen der benachbarten Abbildungen sind mit ---B-- und ---C-- angegeben. **Balken:** 500nm, Endvergrößerung 19600x.

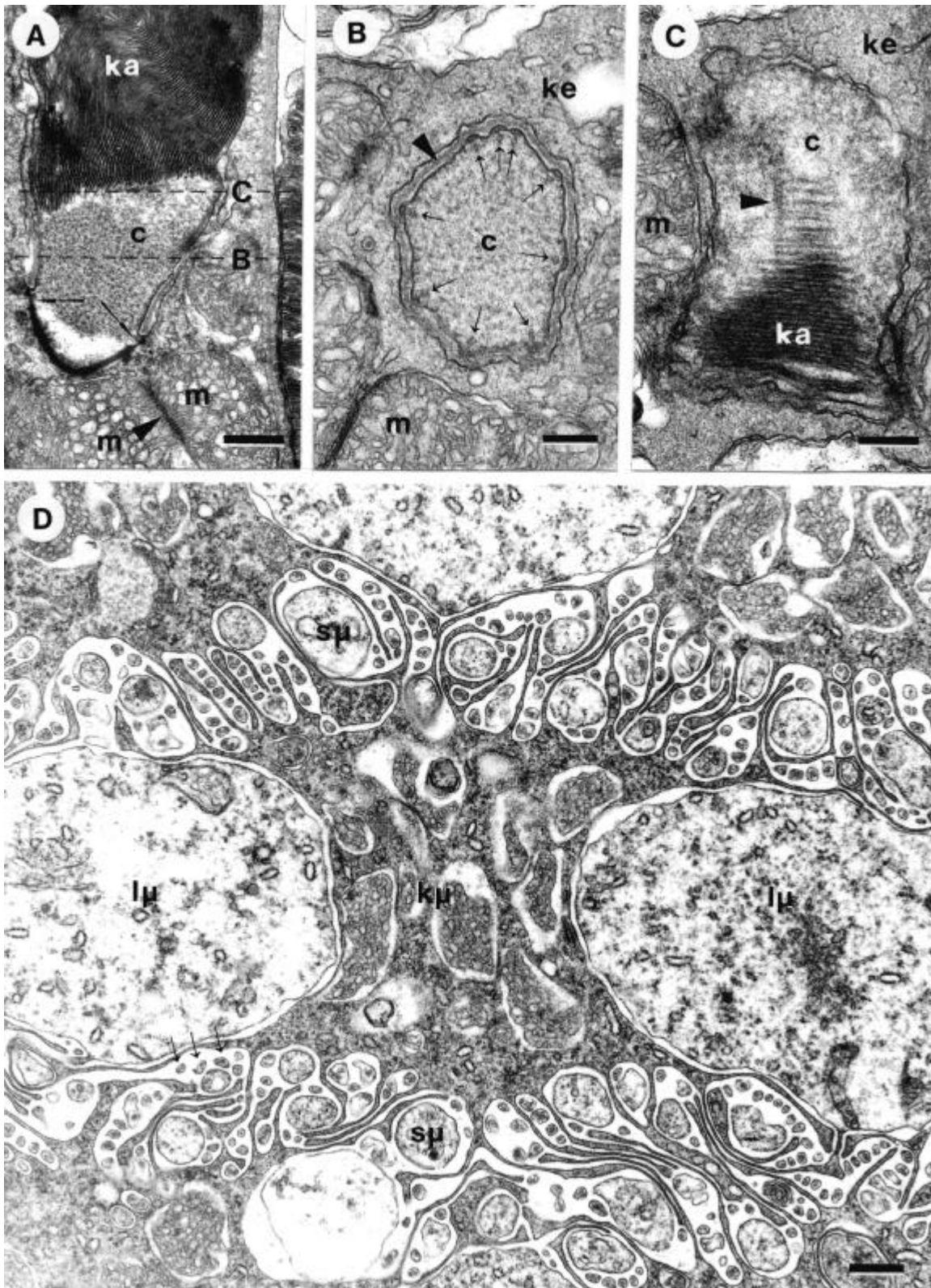
**B)** Tangentialschnitt durch das Cilium eines kurzen Zapfens. Im granulären Cytoplasma sind andeutungsweise 9 Mikrotubuli-Dupletts zu erkennen (®, vgl. Abb. 3.10D). Zwischen Stiel und Ellipsoid befindet sich eine amorphe extrazelluläre Matrix mittlerer Elektronendichte (>).

**Balken:** 250nm, Endvergrößerung 35600x.

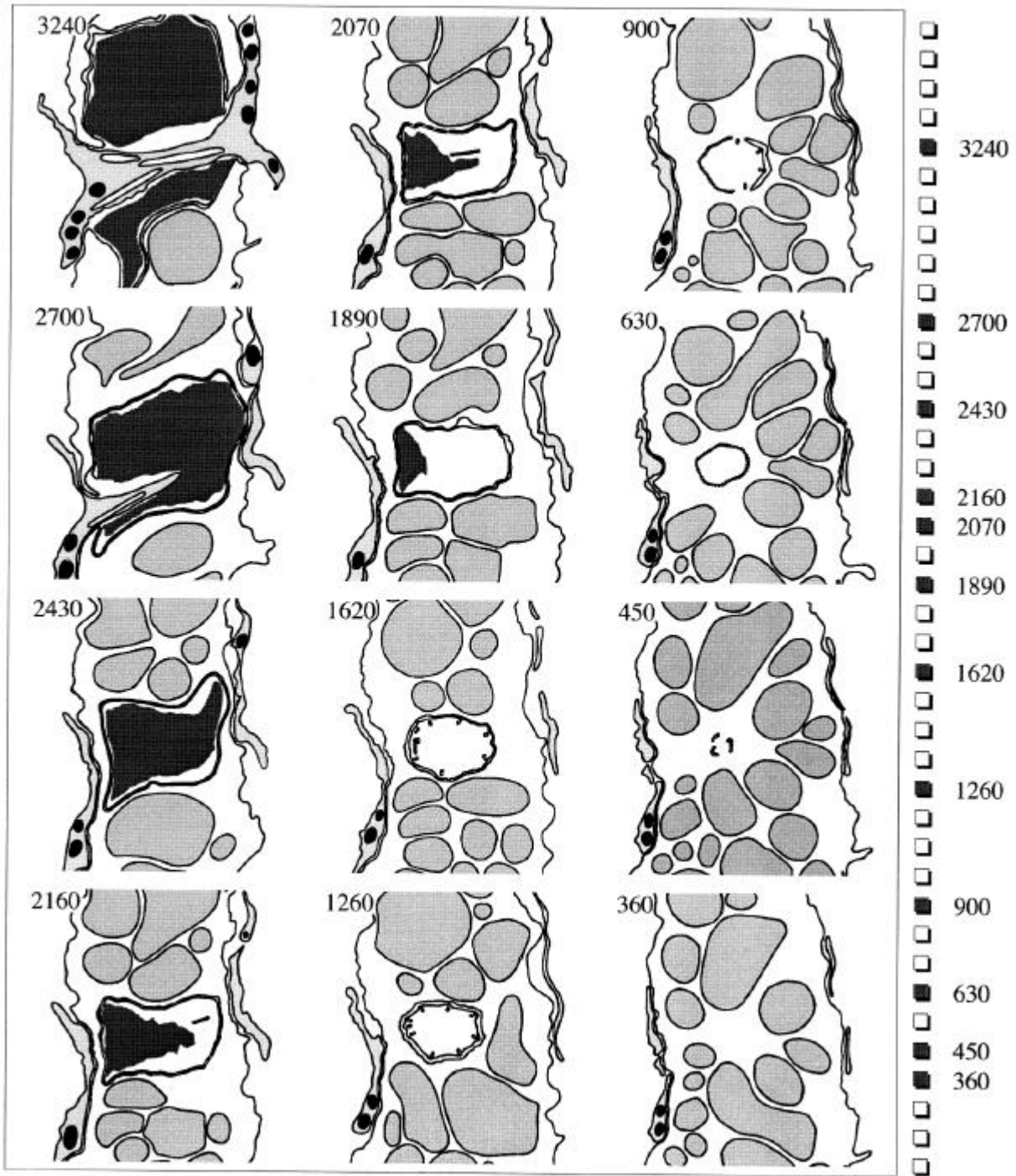
**C)** Tangentialschnitt durch das Cilium eines kurzen Zapfens am Übergang zum Außenglied (ggü. **B** verbreitert). Unmittelbar vitreal der Membranfalten verlaufen Mikrotubuli (>).

**Balken:** 250nm, Endvergrößerung 41000x.

**D)** Tangentialschnitt durch das Myoid eines kurzen Zapfens. Die Membranfalten von Myoiden benachbarter Zapfenreihen sind eng miteinander verzahnt, ohne direkte Kontakte auszubilden. **Balken:** 500nm, Endvergrößerung 18200x.



c Cilium, **ka** Außenglied kurzer Zapfen, **ke** Ellipsoid kurzer Zapfen, **kμ** Myoid kurzer Zapfen, **lμ** Myoid langer Zapfen, **m** Mitochondrium, **sμ** Stäbchenmyoid, ® Müllerzell-Fortsätze.





Der Liquorraum zwischen den Myoidfalten wird von den Stäbchenmyoiden und den mikrovilliartigen Ausläufern der Müllerzellen weiter eingeengt. Das Myoidplasma enthält glattes ER (z.T. angeschwollen), kleine Vesikel und Fibrillen und ganz vitreal wieder Mitochondrien, die skleral des Kerns liegen und z.T. bis durch die OLM reichen (Abb. 3.8I; 3.14D). Der Myoidbereich des kurzen Zapfens ist in der helladaptierten Retina extrem kurz ( $<5\mu\text{m}$ ).

- Mehr noch als beim langen Zapfen war die Strukturanalyse des ciliären Verbindungsbereiches zwischen Außenglied und Ellipsoid des kurzen Zapfens wichtig, um sein Membranfaltensystem zu verstehen. Abbildung 3.15 zeigt ausgewählte Ebenen einer lückenlosen Ultradünnschnittserie von vitreal (relative Position 360nm) nach skleral (Position 3240nm).

Vitreal der Cilienbasis (Pos. 360nm) weichen die Mitochondrien im Zentrum des Ellipsoids auseinander, wodurch ein mitochondrienfreier Raum im Zytoplasma entsteht. Darin befindet sich eine elektronendichte Struktur, die sich becherförmig etwas schräg nach skleral öffnet. Der Oberrand dieses „Bechers“ umschreibt den basalen Umriß des Ciliums und hat über schmale elektronendichte Verbrückungsstrukturen (® in Abb. 3.14A) Kontakt zur Wendelinie der Zellmembran zwischen Ellipsoid und Cilium - im gleichen Zuge trennt er das Plasma dieser beiden Zellkompartimente voneinander.

Das ovale (strenggenommen 9-kantige) Cilium gliedert sich vom Ellipsoid ab, in dessen Zentrum es eingebettet und von einem 50-60nm weiten extrazellulären Raum umgeben ist (Abb. 3.14B). Dieser Raum ist größtenteils von einem Material mittlerer Elektronendichte erfüllt, bis er sich etwa auf Höhe der Position 1620nm auf einen minimalen Spalt einengt. Das Cilienplasma des kurzen Zapfens ist, wie das des langen (vgl. 3.1.7), dicht gefüllt mit unscharf begrenzten Granula von ca. 30-35nm Durchmesser; 9 radiad verlaufende Mikrotubuli-Dupletts stützen die Kanten des Ciliums (Abb. 3.14B).

---

< **Abbildung 3.15:**                      **Strichzeichnungen zur Ultradünnschnittserie  
durch das Cilium eines kurzen Zapfens.**

Aus einer lückenlosen Serie von 40 tangential durch die Cilienregion eines kurzen Zapfen geführten Ultradünnschnitten wurden 12 ausgewählte Anschnitte herausgezeichnet, orientiert und montiert. Die relative radiale Position, gemessen vom vitrealen Ende der Schnittserie, ist in Nanometern angegeben und zusätzlich am Punktebalken ablesbar - der Querschnitt des Photorezeptors beträgt in dieser Region ca.  $3\mu\text{m} \times 6\mu\text{m}$ . Von vitreal (rechts unten) nach skleral (links oben) sind die zentrale Abgliederung des Ciliums vom Ellipsoid und die Formierung des Außengliedes nachvollziehbar. Die Umrisse der Mitochondrien sind hellgrau gefüllt, die Membranfalten des Außengliedes dunkelgrau dargestellt (vgl. langer Zapfen Abb. 3.11).

Auf Höhe der relativen Position 1890nm erhält das Cilium einen annähernd rechteckigen Querschnitt und die vitrealen Enden der Membranfalten des Außengliedes erscheinen an einer der schmalen Seiten, begleitet von mindestens einem tangential umgebogenen Mikrotubuli-Duplett (z.B. Abb. 3.14C = Pos. 2070 in Abb. 3.15).

Nach wenigen Bruchteilen eines Mikrometers (skleral der Pos. 2160) entspringen die Membranfalten der gesamten Cilienfläche bis auf schmale zytoplasmatische Säume, die von der aufgeweiteten (und zunächst ungefalteten) Cilienmembran umgeben sind. Die Membranfalten erscheinen in dieser tangential geführten Schnittebene als Stapel langer Cisternen mit engem, extrazellulärem Lumen (etwa vergleichbar einem Lattenrost).

Weiter skleral (vgl. Pos. 2700 mit 3240) wird das Membranpaket mehr oder weniger mittig durch einen PE-Keil in zwei Loben gespalten. Ebenso wird das Ellipsoid dort in zwei Portionen mit U-förmigem Querschnitt geteilt, die skleral an den Polycone-parallel Seiten der Außenglieder in die calycales Fortsätze übergehen, bzw. dort enden, wo die Außengliedloben der kurzen Zapfen von den Ellipsoidtaschen der langen Zapfen aufgenommen werden. Gegenüber der Situation an der Basis des Außengliedes verkompliziert sich das Membranfaltensystem im Bereich der Loben etwas: Während die Membranfalten skleral und in Richtung des PE-Ausläufers offen sind, sind sie auf der Ellipsoid-zugewandten Seite nicht mehr über den ganzen Lobus hinweg geschlossen, sondern in Portionen von einer bis einigen Falten gespalten (s. Abb. 3.13C; 4.2). Die Integrität des Lobus als Ganzes ist davon unberührt. Die lateralen Loben der PE-Ausläufer begleiten die Flanken des Ellipsoids des kurzen Zapfens, bis sie sich im gegebenen Beispiel etwa  $3\mu\text{m}$  vitreal der „Schneidekante“ des Keils in Form feiner Leisten verlieren (Abb. 3.8E; 3.15).

### **3.1.9 Regionale Unterschiede im Feinbau der Polycones**

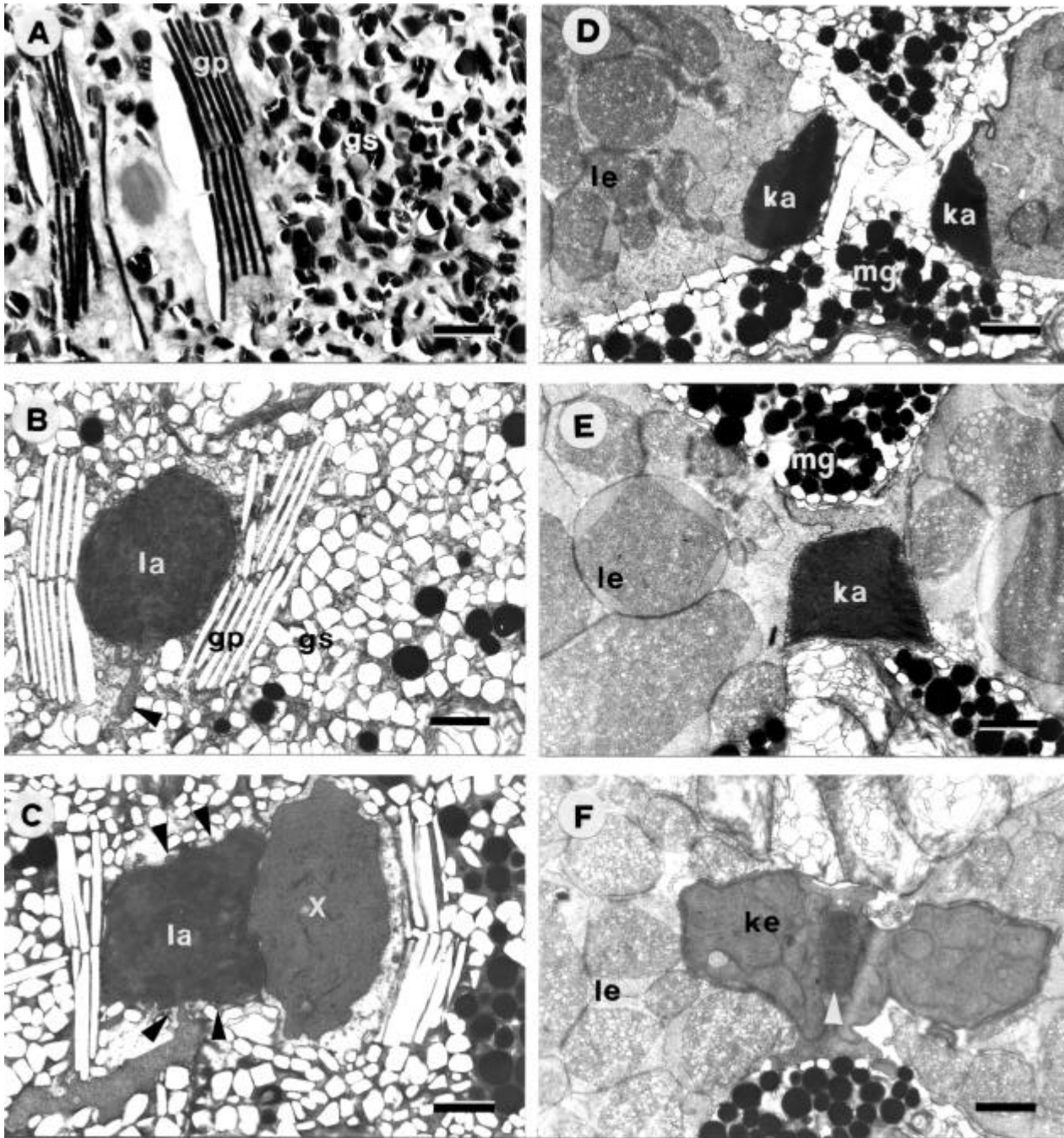
Die Feinstrukturbeschreibung der Polycone-Elemente aus der ventro-temporalen Retina (Kapitel 3.1.6 bis 3.1.8) gilt in ihren Grundzügen für die Vielfachzapfenreihen auch überall dort, wo sie außerhalb der Area in der Retina ausgebildet sind. Drei Dinge ändern sich allerdings in Abhängigkeit von ihrer Position im retinalen Koordinatensystem: **1.** das Verhältnis der Zapfenzahl zur Stäbchenzahl (s. 3.1.5) und damit auch der Abstand zwischen den Zapfenreihen, **2.** der Zellinhalt und die Proportionen der Pigmentepithel-ausläufer, sowie **3.** feinstrukturelle Details der Zellabschnitte der langen und kurzen Zapfen.

Am Radialschnitt senkrecht zur Zapfenreihe erkennt man die Stäbchenmassen zwischen den Polycones, die mächtigen Ellipsoide der langen Zapfen und die sehr schmalen Myoide beider Zapfentypen (ohne EM-Abbildung). Die Außenglieder der langen Zapfen (Länge ca.  $18\mu\text{m}$ , basale Kantenlänge ca.  $3.5\mu\text{m}$ ) liegen eingebettet zwischen den dicht gepackten Guaninkristalliten der PE-Zellen und reichen skleral weit ins Pigmentepithel. Die Außenglieder der kurzen Zapfen sind verhältnismäßig klein ausgebildet (ca.  $2.5\mu\text{m} \cdot 4.5\mu\text{m} \cdot 10\mu\text{m}$ ). Bei oberflächlicher Betrachtung bestimmter Tangentialschnittebenen scheinen daher manchmal Doppel- und Einfachzapfen in einer Reihe zu stehen. In der Tat wechseln sich aber lange und kurze Zapfen innerhalb einer Zapfenreihe völlig regelmäßig ab. Während die Reihen in der ventro-temporalen Netzhaut teilweise so eng nebeneinander verlaufen, daß nur wenig Platz für Stäbchenmyoide bleibt (Abb. 3.6E), sind die Polycones in anderen Retinaregionen durch bis zu  $10\mu\text{m}$  breite Bänder dicht gepackter Stäbchenmyoide voneinander getrennt (3.6C). Nahe der OLM bilden die Myoide der kurzen Zapfen schmale, radiale Falten, die diejenigen der benachbarten Zapfenreihen aber nicht zu erreichen vermögen.

Wie schon für die Area (Abb. 3.8) wurde auch für die dorso-nasale Retina eine tangential geführte Ultradünnschnittserie durch die Struktureinheit des Polycone angefertigt (Abb. 3.16): Der dreidimensionale Aufbau der Zellen kann hier im Detail nachvollzogen werden.

Die Außenglieder der **langen Zapfen** sind basal von rechteckigem Querschnitt, runden sich aber weiter skleral ab (vgl. Abb. 3.16B mit C). Bemerkenswert ist die Orientierung ihrer Membranfalten: während sie an der Spitze radial und senkrecht zur Zapfenreihe orientiert sind (Abb. 3.16A), gilt das für mittlere Abschnitte der Außenglieder nur noch partiell und verliert sich an ihrer Basis ( $\Rightarrow$  „normale“, tangentielle Orientierung: Abb. 3.16C). Die akzessorischen Außenglieder sind als radial abgeflachte Schläuche ausgebildet, calycale Fortsätze sind an den mehr oder weniger Polycone-parallelen Flanken des Außengliedes vorhanden.

Das Ellipsoid der langen Zapfen ist mächtig entwickelt: Länge ca.  $30\mu\text{m}$ , ovaler Querschnitt mit Halbachsen von maximal  $7.5\mu\text{m} \times 10.5\mu\text{m}$ . Es hat ein Zytoplasma von mittlerer Elektronendichte und beherbergt ca. 250 relativ große Mitochondrien (bis  $3.5\mu\text{m}$  mit artefaktischer Erweiterung des periplasmatischen Raumes, vermutlich in Folge dysosmotischer Fixierbedingungen). Das Myoid enthält parallel verlaufende Cisternen des glatten endoplasmatischen Retikulums und verschmälert sich im Mittelteil zu einer nur ca. 100-200 nm (!) breiten Lamelle (Abb. 3.16I,I') - nahe der OLM wird es wieder ein wenig breiter.



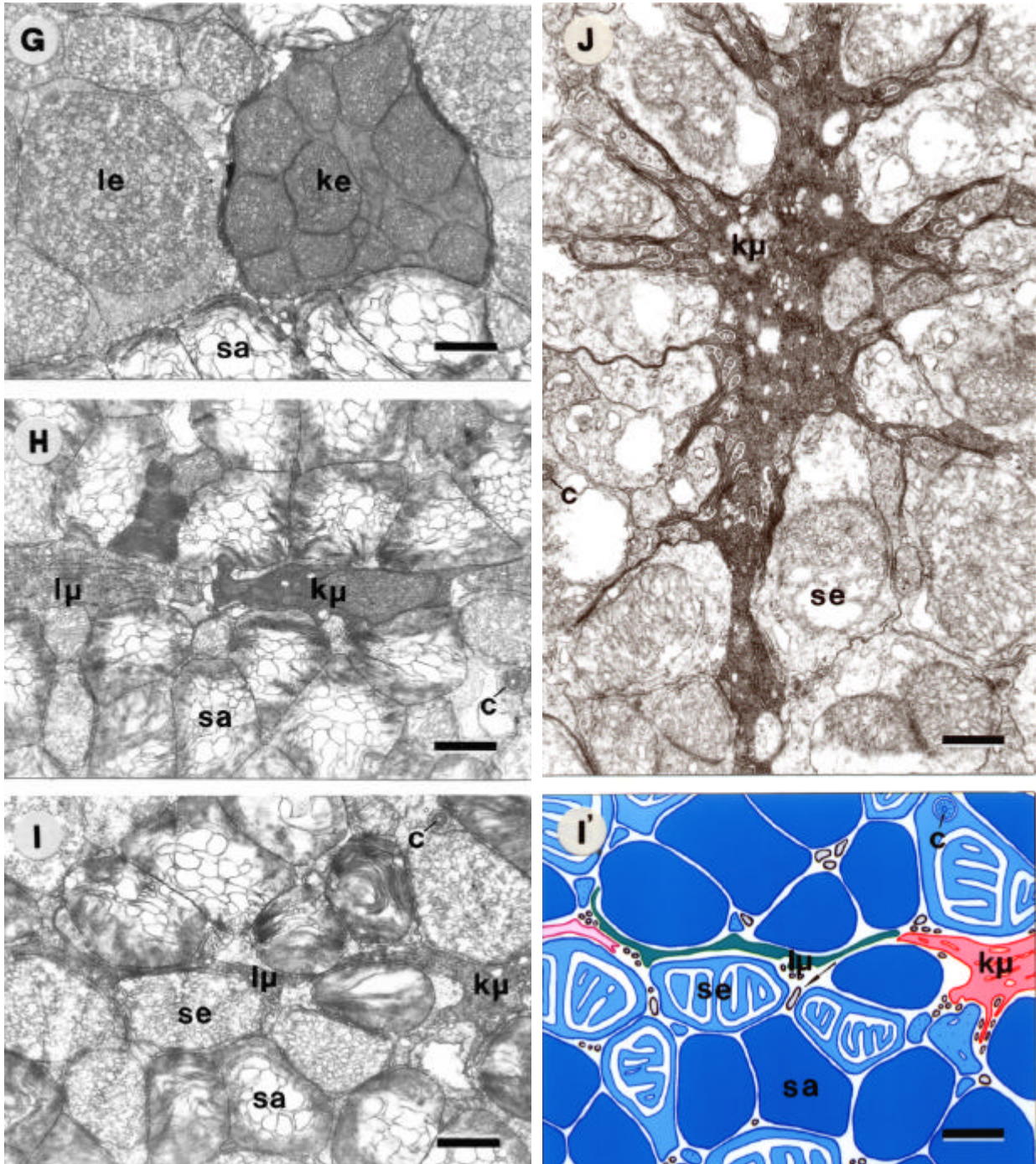
**Abbildung 3.16: Tangentialschnitte durch die strukturelle Einheit einer Zapfenreihe**

A) Schnittebene auf Höhe der Außengliedspitze eines langen Zapfens. Die Membranen stehen senkrecht, Guaninplättchen und -schotter sind im unkontrastierten Schnitt erhalten geblieben.

B) Schnittebene einige Mikrometer weiter vitreal als A. Die Membranen sind im Außenglied teils quer (linke Hälfte), teils streifend angeschnitten, das akzessorische Außenglied ist klein (>). Im kontrastierten Schnitt verbleiben vom Guanin nurmehr kunztharzfreie Räume.

C) Nahe der Basis ist das Außenglied eines langen Zapfens nur noch von wenigen Kristallplättchen flankiert, calycale Fortsätze sind erkennbar (>). Die mit „X“ gekennzeichnete Struktur konnte nicht eindeutig zugeordnet werden - vermutlich ist es eine stark angeschwollene Membranfalte des Außengliedlobus eines kurzen Zapfens. **Balken** für A-F: 1µm.

D) Schnittebene auf Höhe der Außengliedloben eines kurzen Zapfens. Der PE-Keil, der die Loben auf Abstand hält, ist an dieser Stelle sehr schmal und bildet seinerseits melaninhaltige „laterale Loben“.



**der dorso-nasalen Retina von skleral nach vitreal (TEM, Forts. der Legende auf Seite 118)**

**E)** Schnittebene auf Höhe des Außengliedes eines kurzen Zapfens vitreal seiner Aufspaltung in Loben. Die Mitochondrien der Ellipsoide von langen Zapfen zeigen teilweise osmotische Artefakte (aufgeschwollener perimitochondrialer Raum) und auffällige Kontaktzonen (vgl. Abb. 3.14A).

**F)** Schnittebene durch das Ellipsoid eines kurzen Zapfens mit dem basalsten Teil seines Außengliedes

**G)** Schnittebene auf Höhe des Ellipsoids eines kurzen Zapfens vitreal des Außengliedes.

**H)** Schnittebene auf Höhe der Zapfenmyoide - sie sind in dieser Ebene deutlich verschmälert.

**I)** Weiter vitreal sind die Zapfenmyoide extrem schmal.

**I')** Graphische Abstraktion von Abb. 3.16I: **grün** langer Zapfen, **rot** kurzer Zapfen, **blau** Stäbchen.

### < **Abbildung 3.16**

### (Fortsetzung der Abbildungslegende)

**J)** Schnittebene auf Höhe der Zapfenmyoide knapp skleral der OLM. Die Myoide zeigen Membranfalten und erscheinen im Fall der kurzen Zapfen wieder aufgeweitet. **Balken:** 500nm.

**c** Stäbchencilium, **gp** Guaninplättchen, **gs** Guaninschotter, **ka** Außenglied kurzer Zapfen, **ke** Ellipsoid kurzer Zapfen, **kμ** Myoid kurzer Zapfen, **la** Außenglied langer Zapfen, **le** Ellipsoid langer Zapfen, **lμ** Myoid langer Zapfen, **mg** Melaningranula, **sa** Stäbchenaußenglied, **se** Stäbchenellipsoid, ® in D: Guaninnadeln, ® in I': Müllerzell-Fortsatz.

---

Die Außenglieder der **kurzen Zapfen** sind in der dorso-nasalen Retina genau wie in der Area gespalten und mit ihren relativ schmalen Loben seitlich eingebettet im Ellipsoid der langen Zapfen (Abb. 3.16D). Ca. 70 Lamellen stehen über ihre gesamte Länge radial orientiert und parallel zum Polycone (Abb. 3.16E). Wenige calycale Fortsätze sind vorhanden, ein akzessorisches Außenglied ist nicht zu finden.

Das Ellipsoid des kurzen Zapfens weist im reihenparallelen Radialschnitt vitreal des Außengliedes zunächst eine bauchige Form auf (im Tangentialschnitt erscheint es dagegen verhältnismäßig schmal: Abb. 3.16F), wird weiter vitreal vom Ellipsoid des langen Zapfens auf einen annähernd quadratischen Querschnitt von ca. 4μm Kantenlänge eingeeengt (Abb. 3.16G) und ist mit ca. 4.5μm · 6μm · 16μm deutlich weniger volumiös als das Ellipsoid des langen Zapfens. Es enthält kleinere Mitochondrien (bis 1.5μm) und besitzt ein relativ elektronendichtes Zytoplasma. Auch die Mitochondrienmatrix ist beim kurzen Zapfen deutlich elektronendichter als beim langen. Innerhalb der einander zugewandten Membranen liegen in den Ellipsoiden beider Zapfentypen „subsurface cisternae“ (in Abb. 3.16F/G angedeutet, vgl. mit Abb. 3.23F). Das Myoid der kurzen Zapfen enthält zuoberst noch Mitochondrien und verschmälert sich vitread dann auf ca. 0.8μm. Unmittelbar skleral der OLM erweitert es sich wieder deutlich (auf ca. 1.5-3μm) und bildet zahlreiche flache, teils verzweigte Radialfalten aus, die sich zwischen die Ellipsoide und Myoide der Stäbchen schlängeln (Abb. 3.16J).

Die Stäbchenaußenglieder dieser Region zeigen im gegebenen Präparat massive vesikuläre Degenerationserscheinungen, vor allem zentral.

Zu einer besonders auffälligen Strukturvariante der Zapfen der dorsalen und ventralen Retina siehe Kapitel 3.1.14.

### 3.1.10 Die Stäbchen

Die Retina der adulten Sardelle *Engraulis encrasicolus* ist, wie die der meisten Vertebrata eine „Retina duplex“, d.h. sie besitzt neben den Zapfen auch Stäbchen. Das Hauptaugenmerk dieser Arbeit liegt zwar bei der Beschreibung der Zapfen, dennoch soll dem Feinbau der Stäbchen dieser kurze Abschnitt gewidmet werden.

Die Stäbchen der Sardelle sind „normale“ Stäbchen - entsprechend zeigen sie keine Bauplaneigentümlichkeiten gegenüber den Stäbchen anderer Knochenfische. Im gegebenen, weitgehend helladaptierten Zustand befinden sie sich im Raum zwischen den Vielfachzapfenreihen, der OLM und den apikalen Zellhaften der PE-Zellen. Sie erfüllen den Raum, der ihnen zur Verfügung steht in regellos radiad gegeneinander versetzter Anordnung und bilden über weite Flächen der Retina Bänder von bis zu 10µm Breite ( $\cong$  6 Ellipsoidquerschnitten). Lediglich im Bereich der Area temporalis treten sie zahlenmäßig stark zurück. Über die horizontale Dichteverteilung der Stäbchen gibt Kapitel 3.1.5 in detaillierter Weise Auskunft.

Das zylindrische Stäbchenaußenglied ist ca. 12-17µm lang und hat einen Durchmesser von ca. 1-1.5µm (Abb. 3.17A). Die radiale Wiederholungsfrequenz der durchwegs tangential orientierten „Disks“ beträgt ca. 25nm, so daß ein Stäbchen etwa 600 Membransäckchen beherbergen kann. In den skleralen Abschnitten der Stäbchenaußenglieder zeigen sich, vom Zentrum her beginnend, blasige Desintegrationserscheinungen (z.B. Abb. 3.16E-I) - ganz skleral werden die Disks portionsweise von den PE-Zellen endocytisiert („disk shedding“).

Die bei Stäbchen häufig zu beobachtenden, radialen Einschnürungen ganzer Membranscheibchenstapel („rod incisures“) waren bei *Engraulis encrasicolus* selten und dann nur schwach ausgeprägt zu finden.

Das Ellipsoid der Stäbchen besitzt den gleichen oder einen nur geringfügig größeren Durchmesser als das Außenglied, ist ca. 3-4µm lang und enthält einige wenige Mitochondrien vom tubulären Typ. Der sklerale Außenrand des Ellipsoids ist zu mehr als 30 calycalem Fortsätzen von ca. 70-90nm Durchmesser ausgezogen, die dem Außenglied eng anliegen (Abb. 3.17A) und es über eine gewisse Strecke wie ein Palisadenzaun radiad umstellen.

Der Cilienschaft, aus dem das Außenglied erwächst, ist exzentrisch positioniert und etwa 730nm tief in die sklerale Oberfläche des Ellipsoids eingesenkt (Abb. 3.17D). Er besitzt die typische „9·2+0“-Ausstattung an Mikrotubuli, am Basalkörper sind es 9·3+0). Im

Raum zwischen Cilienschicht und „Ellipsoidbecher“ befindet sich extrazelluläres Material mittlerer Elektronendichte (Abb. 3.17B'), aber im vorliegenden Präparat ohne eine erkennbare Ultrastrukturierung.

Vitreal verjüngt sich das Ellipsoid zum Myoid ( $\varnothing$  minimal ca. 270nm). Die Myoide der Stäbchen sind je nach Abstand des Ellipsoids von der OLM 1.5 $\mu$ m bis 75 $\mu$ m lang und von rundem bis unregelmäßig geformtem Querschnitt (Abb. 3.17C). Skleral erkennt man im Myoid oft den Anschnitt eines einzelnen Mitochondriums, weiter vitreal sind nur noch glattes ER und feinvacuoläres Material zu erkennen.

Die Stäbchenkerne sind in grober Näherung isodiametrisch (vgl. Abb. 3.27D,E) und bilden abseits der Area temporalis den Hauptbestandteil der äußeren Körnerschicht.

Am vitrealen Ende der ONL, aber noch vor den Zapfenfüßen liegen die synaptischen Endigungen der Stäbchen („spherules“). Diese längsovalen Endknöpfchen bilden den Hauptbestandteil des skleralen Drittels der OPL - sie sind dicht gefüllt mit synaptischen Vesikeln und beinhalten ein kompliziert gefaltetes System von Zellmembranen (Abb. 3.17E-L).

---

**Abbildung 3.17: Detailaufnahmen vom stäbchenförmigen Photorezeptor der Sardelle** >

**A)** Tangentialschnitt durch das Außenglied eines Stäbchens. Es ist gesäumt von gut 30 calycalen Fortsätzen (®). **Balken** 500nm, Endvergrößerung 21400x.

**B)** Tangentialschnitt durch das Ellipsoid eines Stäbchens. Neben wenigen Mitochondrien ist hier ein Cilium mit der typischen 9x2+0 Anordnung von Mikrotubuli angeschnitten.

**Balken:** 250nm, Endvergrößerung 30100x.

Im **Insert B'** ist das Cilium vergrößert dargestellt. **Balken:** 100nm, Endvergrößerung 72500x.

**C)** Eine Kette von Stäbchenmyoiden in der Area temporalis. An ihrem Übergang zum Ellipsoid finden sich Anschnitte je eines zentral gelegenen Mitochondriums.

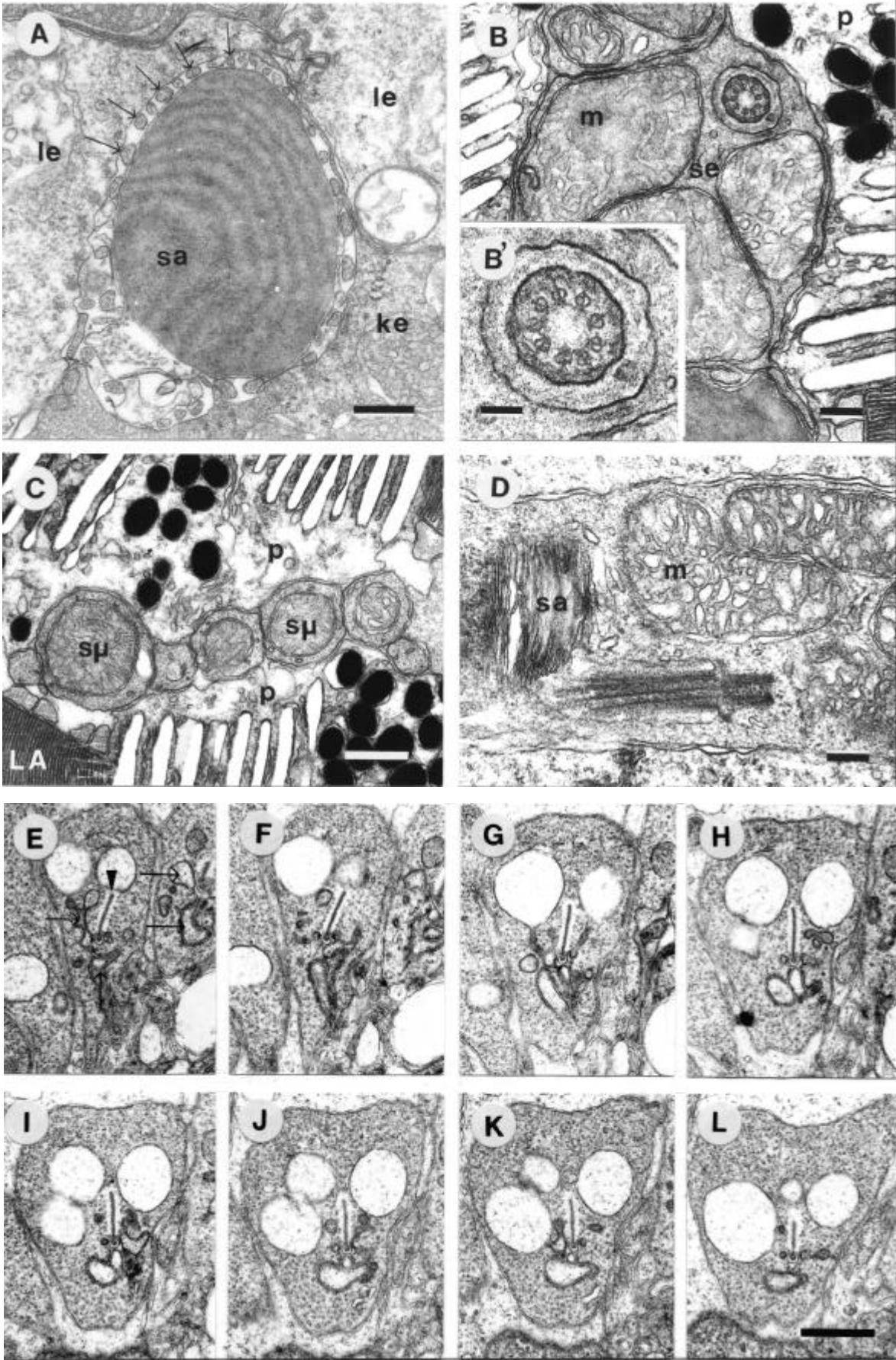
**Balken:** 500nm, Endvergrößerung 22200x.

**D)** Radialschnitt durch das Cilium eines Zapfens am Übergang vom Ellipsoid zum Außenglied. Links im Bild ist skleral, rechts vitreal. **Balken** 250nm (wie **B**), Endvergrößerung 30100x.

**E-L)** Lückenlose Ultradünnschnittserie (Radialschnitte) durch das Zentrum des synaptischen Endknöpfchens eines Stäbchens im skleralen Teil der äußeren plexiformen Schicht. Skleral ist oben, vitreal unten, der Abstand zwischen zwei Schnitten beträgt ca. 90nm. Man erkennt wie die Dendriten von Horizontal- und Bipolarzellen (®) Kontakt zum „synaptic ribbon“ (>) aufnehmen. Die großen elektronenleichten Vesikel sind die angeschwollenen Enden von Horizontalzell-Dendriten. **Balken** 1 $\mu$ m, Endvergrößerung 13000x.

**ke** Ellipsoid kurzer Zapfen, **LA** Außenglied langer Zapfen, **le** Ellipsoid langer Zapfen, **m** Mitochondrium, **p** PE-Zelle, **sa** Stäbchenaußenglied, **su** Stäbchenmyoid.





Der innere Verlauf der Zellmembran wird dem Köpfchen von den vitreal eintretenden Dendriten der Sekundärneurone (Horizontal- und Bipolarzellen) aufgezwungen. Eine ungefähre Vorstellung davon vermittelt der Ausschnitt aus einer tangential geführten, lückenlosen Ultradünnschnittserie (Abb. 3.17E-L). Der räumliche Verlauf der beteiligten Membranen ist stellenweise direkt nachvollziehbar, stellenweise wiederum nur zu erahnen. Das zentrale Element des Köpfchens ist ein einzelner „synaptic ribbon“ - eine elektronendicht kontrastierte, plattenförmige Struktur (Kantenlänge ca. 700nm) mit hellem Hof und einer rinnenförmigen Ankerstruktur („arciform density“). Die Zellmembran schmiegt sich hier relativ nah an den Ribbon an, so daß diese Stelle aus extrazellulärer Perspektive einer schmalen Leiste gleichkommt. Entlang ihrer Flanken nähern sich dem Ribbon von beiden Seiten - von vitreal her in das Endköpfchen eintretend und mit verschnörkeltem Verlauf - die Dendriten der Horizontalzellen. Ihre Enden sind meist blasig angeschwollen. Dendritenschnitte, die entlang der vitrealen Kante des Ribbon liegen (Annäherung auf einige nm), sollten den Bipolarzellen zuzuschreiben sein.

### 3.1.11 Die Struktur des Pigmentepithels

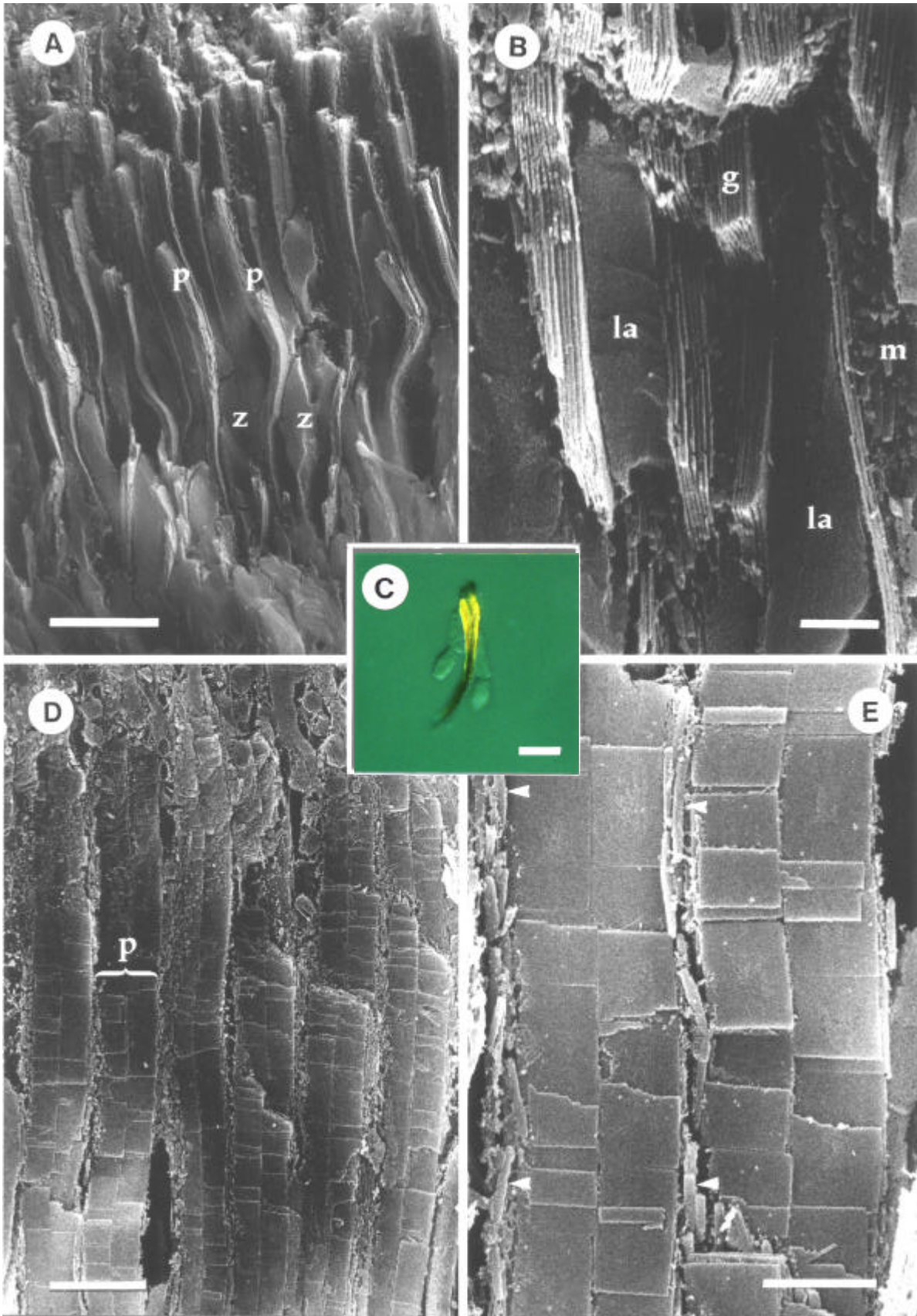
Die Pigmentepithelzellen der Europäischen Sardelle *Engraulis encrasicolus* bilden ein einschichtiges, geschlossenes Epithel zwischen der Schicht der Photorezeptoren und der Chorioidea. Von ihrer Basis an der Bruch'schen Membran bis zu den apikalen Zellhaften haben sie einen polygonalen, meist hexagonalen Querschnitt ( $\varnothing$  in der ventro-temporalen Retina ca. 8-12 $\mu$ m). In diesem Bereich liegen die Zellkerne und andere, für PE-Zellen typische Zellbestandteile: Mitochondrien, Lysosomen, Liposomen, Granula aus Melanin und in der helladaptierten Retina massiv auftretende Myeloidkörper (Abb. 3.19C). Teilweise enthalten die Lysosomen aufgerollte Membranstapel. Zusätzlich treten Guaninkristallite in drei verschiedenen Varianten auf (s.u.) - sie bilden die Grundlage für ein retinales Tapetum lucidum.

Jede PE-Zelle bildet einen Ausläufer, der bis in die Mitte der Photorezeptorschicht reicht und sich vitread keilförmig verjüngt (Abb. 3.7A; 3.18A). Diese Ausläufer enthalten den Großteil der Melaningranula und Guaninkristallite der Zelle und stehen in enger struktureller Beziehung zu den Zapfen (Verbindungsstrukturen im Sinne von Zellhaften konnten allerdings nicht festgestellt werden). Da sich immer ein PE-Keil zwischen zwei langen Zapfen befindet (z.B. Abb. 3.18C) und somit zu einem festen Bestandteil des Polycone wird, kann auch in der Schicht der PE-Ausläufer von einem Reihemuster gesprochen werden. Es folgt die detaillierte Beschreibung eines Pigmentepithelkeiles der Area temporalis:

Der PE-Keil hat eine radiale Länge von ca.  $65\mu\text{m}$  und erscheint im Tangentialschnitt rechteckig (Abb. 3.8A-D; 3.19D). Seine Breite - senkrecht zum Verlauf der Zapfenreihe gemessen - bleibt über die ganze Länge mit 3 bis  $4\mu\text{m}$  annähernd konstant und gleicht somit der der Zapfenellipsoide. Die Kantenlänge in der polyconeparallelen Richtung nimmt von skleral nach vitreal gleichmäßig ab, bis sie an der vitrealen Kante gegen Null geht (Abb. 3.15: Pos.  $2700\text{nm}$ ; 3.16D). Der Keil erhält somit vier Flanken: zwei rechteckige, die innerhalb der Zapfenreihe liegen und sich konvergierend an ihrer vitrealen Kante treffen und zwei dreieckige, die polyconeparallel liegen und mit ihrer Spitze nach vitreal weisen. Erstere sind nahezu plan, letztere sind leicht konvex gewölbt und haben eine etwas wellige Oberfläche. Ihre Spitze liegt allerdings weiter vitreal als die Kante des Keils (z.B.  $12\text{-}15\mu\text{m}$ ). Dementsprechend bilden die PE-Ausläufer Loben aus, die man sich wie lateral an den geometrisch idealisierten Keil angefügt vorstellen kann (Abb. 3.26A).

Im Zentrum des PE-Ausläufers und über seine ganze radiale Länge verteilt liegen längliche Melaningranula (Länge bis  $2.6\mu\text{m}$ ,  $\varnothing$  bis  $400\text{nm}$ ) dicht gepackt und in radialer Orientierung (3.18E; vgl. auch Abb. 3.7A/3.8B). Die Körnchen werden sehr elektronendicht kontrastiert, wobei das Zentrum leicht aufgehellt erscheint. Jedes Granulum ist von einer Elementarmembran umschlossen, die stellenweise „nicht ganz eng sitzt“ (Abb. 3.20C). Melaningranula sind ferner in den lateralen Loben zu finden. Im Zytoplasma zwischen den Pigmentkörnchen liegen in radialer Ausrichtung, aber ansonsten nicht vorhersagbarer Position Myeloidkörper geringer Stapelhöhe und oft beträchtlicher Flächenausdehnung (Abb. 3.8B; 3.19D). Weiterhin finden sich winzige Anschnitte von Membrankompartimenten, die Vesikeln und/oder glattem ER entsprechen dürften.

Die auffälligsten und für die Sardelle in besonderem Maße charakteristischen Feinstrukturelemente der Pigmentepithelzellen sind plättchenförmige Guaninkristallite. Diese Quader sind wie die Melaningranula membranumschlossen und messen z.B.  $85\text{nm} \cdot 1.5\mu\text{m} \cdot 2\mu\text{m}$  (Abb. 3.16A; 3.18E). Da ihr Aspekt stark mit der Schnittrichtung variiert, ist zur korrekten Darstellung eine besonders sorgfältige Orientierung der Schnittebene anzustreben. Die Dicke (der erste o.g. Wert) scheint relativ konstant zu sein, die Kantenlängen können in engen Grenzen schwanken. Man darf sich bei der Betrachtung von TEM-Aufnahmen nicht von den Dimensionen einzelner Anschnitte täuschen lassen: Im kontrastierten Ultradünnschnitt ist das Guanin herausgelöst und die verbleibenden kunstharzfreien Räume erscheinen aufgeweitet (z.B. auf  $150$  bis  $200\text{nm}$ ). Im unkontrastierten Schnitt dagegen ist das Material in seinen natürlichen Dimensionen erhalten (vgl. Abb. 3.16A oder 3.19E). Die rasterelektronenmikroskopische Aufnahme



(Abb. 3.18E) zeigt, daß die sonst spiegelglatten Facetten der Guaninplättchen mittig etwas rauh sind.

Die quaderförmigen Kristallite sind im Inneren des PE-Keiles nicht regellos verteilt, sondern in strenger Ordnung an ihrem Platz fixiert. Entlang der beiden konvergierenden rechteckigen Membranabschnitte sind sie jeweils zu zwei Doppelreihen von Plättchenstapeln arrangiert (Abb. 3.8A-D; 3.18D,E). An der skleralen Basis des Keils besteht ein Stapel aus bis zu 15 Plättchen, vitread nimmt die Stapeldicke ab, bis sie an der Keilspitze auf 1-2 gesunken ist (Abb. 3.7A; vgl. 3.8A/3.13A). An manchen Stellen sind die Plättchen „Kante über Kante“ sehr ordentlich gestapelt, woanders aber auch radiad mehr oder weniger gegeneinander verschoben - hier spricht man dann besser von Etagen. Die beiden Reihen verlaufen durchwegs ungestört, allenfalls sind hin und wieder aufeinanderfolgende Etagen beider Reihen gleichzeitig minimal seitlich gegeneinander verschoben. Der Abstand der Kristallite eines Stapels bzw. benachbarter Etagen beträgt ca. 70-100nm und scheint weitgehend konstant gehalten zu werden. Zwischen den Membransäcken, die die Plättchen umgeben, befinden sich schmale Zytoplasmastreifen, in denen mittig jeweils eine weitere schmale ER-Zisterne gelegen ist (Abb. 4.9). Der Abstand benachbarter Kristallite entlang aller schmalen Kanten ist mit ca. 50nm geringer als der Abstand zwischen den großen Flächen.

---

< **Abbildung 3.18: Das Pigmentepithel der Area temporalis - REM & LM**  
(Für alle Abbildungen gilt: skleral ist oben, vitreal unten)

**A)** Radialer Gefrierbruch durch die ventro-temporale Retina schräg zu den Photorezeptorreihen. Zahlreiche schlanke, keilförmige, z.T. leicht verbogene Pigmentepithelfortsätze (**p**) mit Stapeln von Guanin-Kristallplättchen sind zu erkennen - dazwischen die skleralen Portionen der Zapfen (**z**). **Balken:** 10µm.

**B)** Nahaufnahme aus der gleichen Region wie **A**. Die Außenglieder der langen Zapfen (**la**) stecken tief zwischen den PE-Keilen. Diese enthalten Kristallstapel unterschiedlicher Mächtigkeit aus Guanin (**g**, Dicke der Plättchen ca. 70-95nm) und Melanin (**m**) in Form von Granula und Nadeln. **Balken:** 2µm.

**C)** Lichtmikroskopische Aufnahme (Polarisationskontrast) eines Retinafragmentes aus einem Mazerationsversuch. An einem PE-Keil (Melanin dunkel, Guanin hellgelb aufleuchtend) haften links und rechts die Außenglieder incl. der Ellipsoide von zwei langen Zapfen. **Balken:** 10µm.

**D)** Radialer Gefrierbruch in etwa parallel zu den Guaninplättchen der PE-Fortsätze. In den 6 getroffenen PE-Fortsätzen erkennt man Doppelreihen von Kristallplättchen (**p**).

**Balken:** 5µm.

**E)** Nahaufnahme aus der gleichen Region wie **D**. Intakte Guaninplättchen haben Facetten von ca. 1.5µm x 2µm. Zwischen den Plättchen benachbarter PE-Keile finden sich laterale Melaninnadeln (<). **Balken:** 2µm.

Wie bei den Zapfen gibt es bezüglich architektonischer Details und bezüglich des „Innenlebens“ auch bei den Pigmentepithelzellen eine horizontale Regionalisierung innerhalb der Retina. Am Beispiel eines kleinen Raumelementes aus der dorso-nasalen Retina sei beschrieben, wie das Pigmentepithel über weite Flächen der Sardellenretina außerhalb des ventro-temporalen Quadranten aussieht:

Die Anordnung in Zellreihen mit keilförmigen Ausläufern, die mit den Zapfen zum Polycone-Komplex verzahnt sind, ist im Allgemeinen unverändert. Die Volumina der Keile werden größer, ebenso die vitrealen Öffnungswinkel der Membranen zwischen zwei benachbarten Zellen (z.B.  $10^\circ \rightarrow 35^\circ$ ). Auch in dieser Netzhautregion enthalten die Pigmentepithelzellen Melanin und Guanin in Form von kleinen membranumschlossenen Partikeln mit mehr oder weniger festgelegter Position - allerdings in einer gegenüber der Area temporalis veränderter Zusammensetzung. Die Melaningranula sind über weite Strecken nur spärlich vorhanden, etwas häufiger kommen sie in Kernnähe und im Bereich der Keilspitzen vor - konzentriert sind sie dafür in den lateralen Loben der PE-Ausläufer, deren Raum sie zu einem großen Prozentsatz erfüllen (Abb. 3.16D-F). Auch Guaninplättchen, die in der schon oben beschriebenen Weise die skleralen Bereiche der langen Zapfen flankieren und in den PE-Keil-Spitzen bis zwischen die Loben der Außenglieder der kurzen Zapfen vorkommen, treten in geringerer Zahl auf: die Stapeldicke beträgt skleral nur ca. 8 Plättchen (Abb. 3.16A; 3.19E).

---

**Abbildung 3.19: Details zum Pigmentepithel der Area temporalis - TEM** >

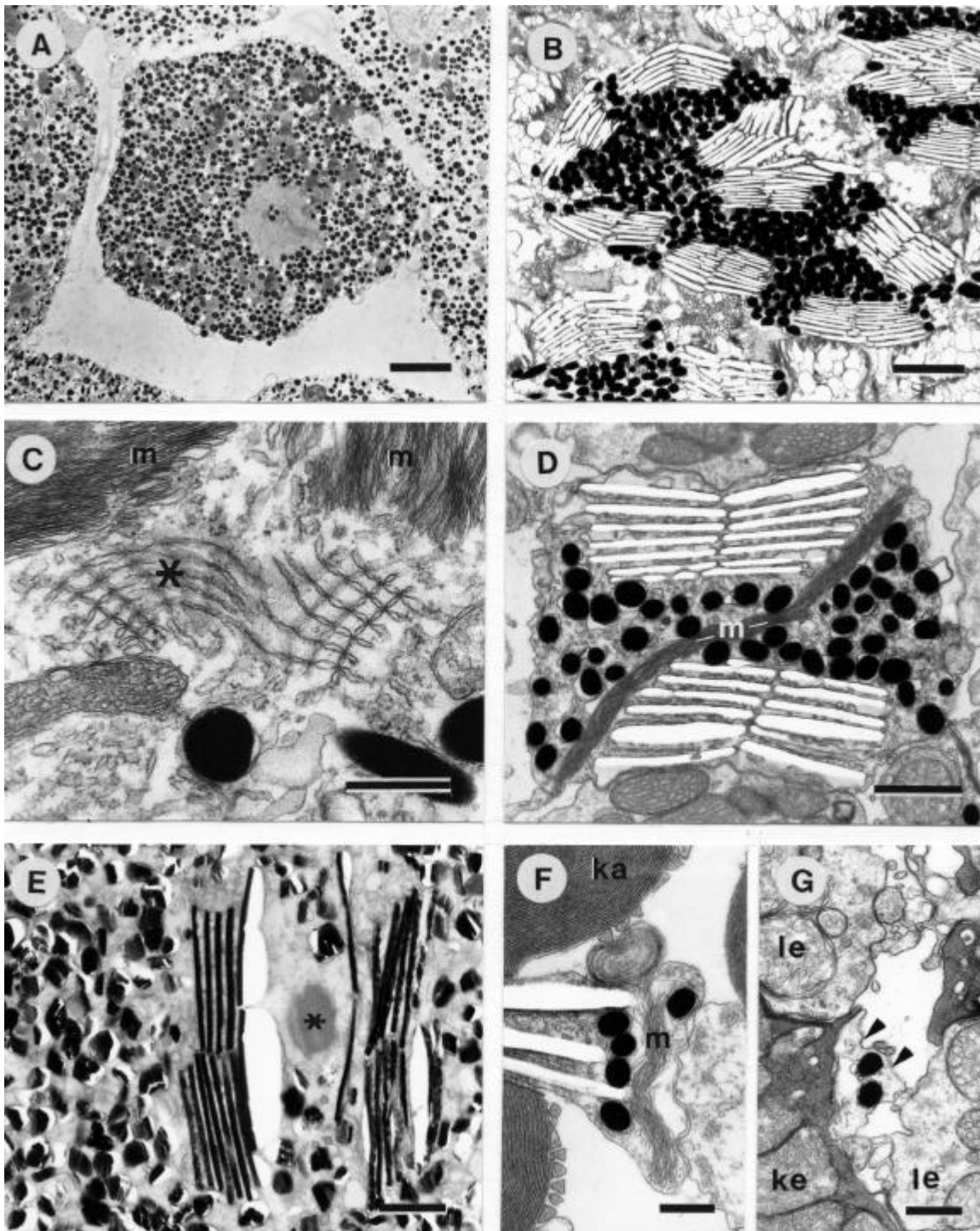
**A)** Skleral der PE-Kerne weichen die PE-Zellen im Retinafundus oft etwas auseinander. Die Zelle enthält in dieser Zone vor allem Melaningranula und einige Guaninkristallite. Tangentialschnitt. **Balken:**  $5\mu\text{m}$ , Endvergrößerung: 1950x.

**B)** Im Zentrum des Bildes erscheinen Massen von Melaningranula, umgeben von 8 Doppelreihen von Guaninstapeln => dies ist die Ausstattung für 4 PE-Fortsätze, wobei am Membranverlauf nicht eindeutig zu erkennen ist, ob 2 oder 4 PE-Zellen beteiligt sind. Tangentialschnitt. **Balken:**  $2.5\mu\text{m}$ , Endvergrößerung: 4600x.

**C)** Im Cytoplasma der PE-Zellen findet sich (selten) eine ungewöhnliche Form glatten ER's (\*) zwischen Myeloidkörperchen (**m**), Mitochondrien und Melaningranula. Tangentialschnitt. **Balken:** 500nm, Endvergrößerung: 32700x.

**D)** Diagonal durch einen PE-Fortsatz der ventro-temporalen Retina verläuft hier ein Myeloidkörperchen (**-m-**). Tangentialschnitt. **Balken:**  $1\mu\text{m}$ , Endvergrößerung: 14100x.

**E)** Unkontrastierter Tangentialschnitt auf Höhe der Außengliederspitze eines langen Zapfens (\*) in der dorso-nasalen Retina der Sardelle. Guaningrus und -plättchen sind erhalten und in ihrer natürlichen Dicke vermessbar (Plättchen: 70-95nm). **Balken:**  $1\mu\text{m}$ , Endvergr.: 10400x.



**F)** Tangentialschnitt durch den lateralen Lobus eines PE-Keiles kurz vor seinem vitrealen Ende. Neben einem Myeloidkörperchen (**m**) sind dort Melaningranula zu finden. **ka** Außenglied eines kurzen Zapfens mit calycalem Fortsätzen. **Balken** 500nm, Endvergrößerung: 17800x.

**G)** Auf Höhe der Ellipsoide der kurzen Zapfen (**ke**) sind vom PE nur noch schmale Ausläufer der lateralen Loben zu finden (<). **le** Ellipsoid langer Zapfen. Tangentialschnitt.

**Balken:** 500nm, Endvergrößerung: 17800x.

Eine Guaninform, die in der ventro-temporalen Retina nicht gefunden werden kann, beherrscht den Aspekt im Fundus und in der dorso-nasalen Netzhaut. Polyedrische Kristallite mit einem Durchmesser von ca. 400nm erfüllen in stochastischer Ausrichtung einen Großteil des Zelllumens vitreal der Kernzone bis zur Keilspitze (Abb. 3.16A-C; 3.19E; 3.20D). Idealisiert handelt es sich um kurze sechseckige Säulen mit 4 · 2 parallelen Facetten und einer äquatorialen Nut, die den Partikel etwa über den halben Umfang leicht einkerbt - entsprechend variiert die Kontur ihrer Anschnitte stark (Abb. 3.20D).

Noch eine dritte Ausformung des Guanins ist zu beobachten, nämlich abgeflachte hexagonale Nadeln von etwa 2µm Länge und ca. 120nm · 220nm Querschnitt. Sie säumen die Zellmembran in radialer Orientierung dicht an dicht in der Art einer einreihigen Palisade. Besonders auffällig ist die „Palisade“ im Bereich der lateralen Loben der PE-Ausläufer, wo die Nadeln neben wenigen Guaninpolyedern v.a. Melaningranula umschließen (Abb. 3.16D,E). Im Radialschnitt können sie evtl. Plättchenanschnitte vortäuschen.

Am dorsalen und ventralen Retinarand, dort wo die Dreifachzapfen vorkommen, bilden die PE-Zellen nur kurze Ausläufer. Nur die Spitzen der Zapfenaußenglieder werden dort von zwei benachbarten PE-Zellen eingeschlossen. Dort sind peripher Guaninnadeln konzentriert, zentral gibt es viele längliche Melaningranula und weniger Guaninpolyeder (Abb. 3.23A; 3.24C).

Als Folge der regional unterschiedlichen Verteilung der partikulären Einschlüsse des PE zeigt die Pupille der Sardelle richtungsabhängig unterschiedliche Reflexionseigenschaften: von dorsal betrachtet erscheint sie dunkel (Abb. 3.20A/C: man blickt auf einen stark melaninhaltigen Bezirk der Retina ohne Guaningrus), von ventral „leuchtet das Auge auf“ (Abb. 3.20B/D: winzige, polyedrische Guaninkristallite bilden einen diffusen Reflektor).

---

### Abbildung 3.20: Augenleuchten und Regionierung des Pigmentepithels

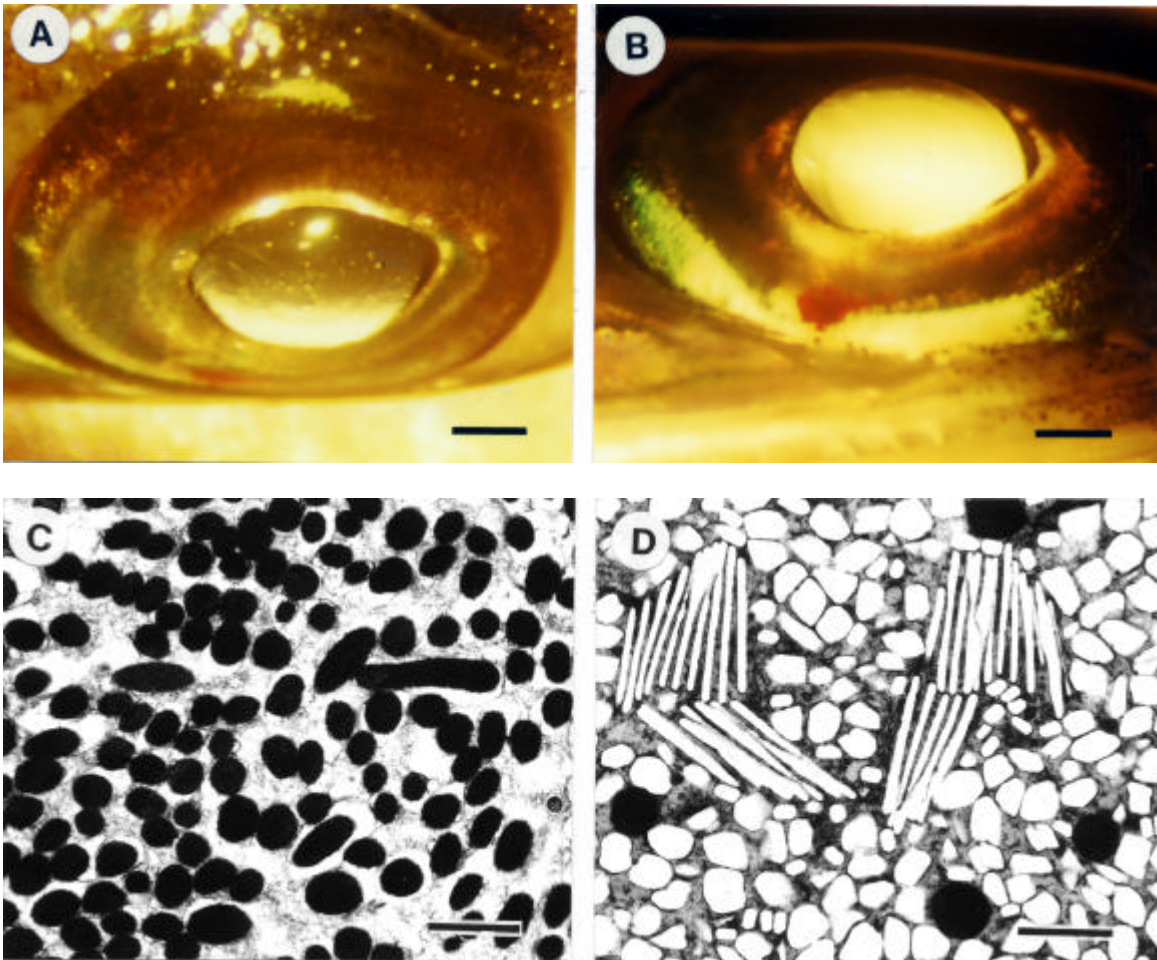
>

**A)** Rechtes Auge der Europäischen Sardelle *E. encrasicolus*, von schräg oben beleuchtet. Die Linse erscheint distal aufgehellt (Brechung) - die ventrale Retina streut kein Licht zurück!

**B)** Rechtes Auge von *E. encrasicolus* beleuchtet von schräg unten. Die starke Reflexion am diffusen Tapetum der dorsalen Retina läßt die Linse hell aufleuchten („eye-shine“).

**Balken:** 1mm.





C) Tangentialschnitt durch das Pigmentepithel der ventralen Retina. Runde und zylindrische Melaningranula erfüllen einen Großteil des Zytoplasmas. **Balken:** 1 $\mu$ m, Endvergrößerung 12600x.

D) Tangentialschnitt durch das Pigmentepithel der dorsalen Retina. Neben wenigen Melaningranula erfüllen hauptsächlich polygonale Guaninkristallite das Zytoplasma. Knapp skleral der Außenglieder der langen Zapfen sind schon die Guaninplättchen-Stapel in ihrer typischen Anordnung zu sehen (vgl. Abb. 3.16B). **Balken** 1 $\mu$ m, Endvergrößerung 12600x.

### 3.1.12 Der ventro-temporale Retinarand

Von der feinstrukturellen Untersuchung des Netzhautrandes (Ora serrata) im ventro-temporalen Quadranten waren Hinweise auf die Ontogenie der Polycones zu erwarten (Abb. 3.21). Hier - am Wendepunkt der eingestülpten Augenblase - erfolgt das Größenwachstum der Retina, indem embryonale Zellen proliferieren und sich differenzierende Netzhautneuronen zentripetal abgliedern. Über eine kurze Strecke direkt am Retinarand sollte folglich ein Differenzierungsgradient der Zapfen darstellbar sein und Auskunft geben über die graduelle Ausformung dieser hochspezialisierten Zellen.

Völlig unerwartet zeigte sich, daß in dieser Netzhautregion die Zapfenreihen „in statu nascendi“ als solche gebildet und nicht aus Einfach- oder Doppelzapfen zusammengesetzt werden. Die Reihen gliedern sich parallel der Ora serrata von dieser Bildungszone ab (Abb. 3.21B,C). Die Zellen der ersten Reihen sind zwar noch relativ kurz, doch enthalten die Ellipsoide schon zahlreiche Mitochondrien (Abb. 3.21D). Der Querschnitt der Ellipsoide ist annähernd quadratisch und auf der Innenseite der Kontaktflächen zu den beiden Nachbarzellen bilden die Zellen auf ganzer Länge „subsurface cisternae“ aus (Abb. 3.21E) - gegenüber den Zellen der Nachbarreihe wird, trotz des teilweise innigen Kontaktes, diese Feinstruktur nicht ausgebildet.

Die regelmäßige Abfolge kurzer und langer Zapfen ist schon hier deutlich zu erkennen, und zwar vom Kernniveau (unterschiedlich kontrastierte Kerne) bis zu den Außengliedern. Zuerst verlängert sich das Ellipsoid, danach folgt verstärkt das Längenwachstum des Außengliedes (4.-5. Reihe, Abb. 3.22A). Hier beginnen sich auch die zunächst noch stumpfen Fortsätze der PE-Zellen vitread zwischen die Photorezeptoren zu schieben. An partikulären Einschlüssen zeigen die Pigmentzellen nur Melaningranula.

---

#### Abbildung 3.21: Der ventro-temporale Retinarand - Übersicht und Details TEM >

**A)** Radialschnitt durch den Rand der ventro-temporalen Retina. Unmittelbar neben der Ora serrata (----- sind schon alle Retinaschichten ausgebildet (linke Bildhälfte). Die Bildungszone ist nur wenige Zellen dick. **Balken:** 10µm, Endvergrößerung 1080x.

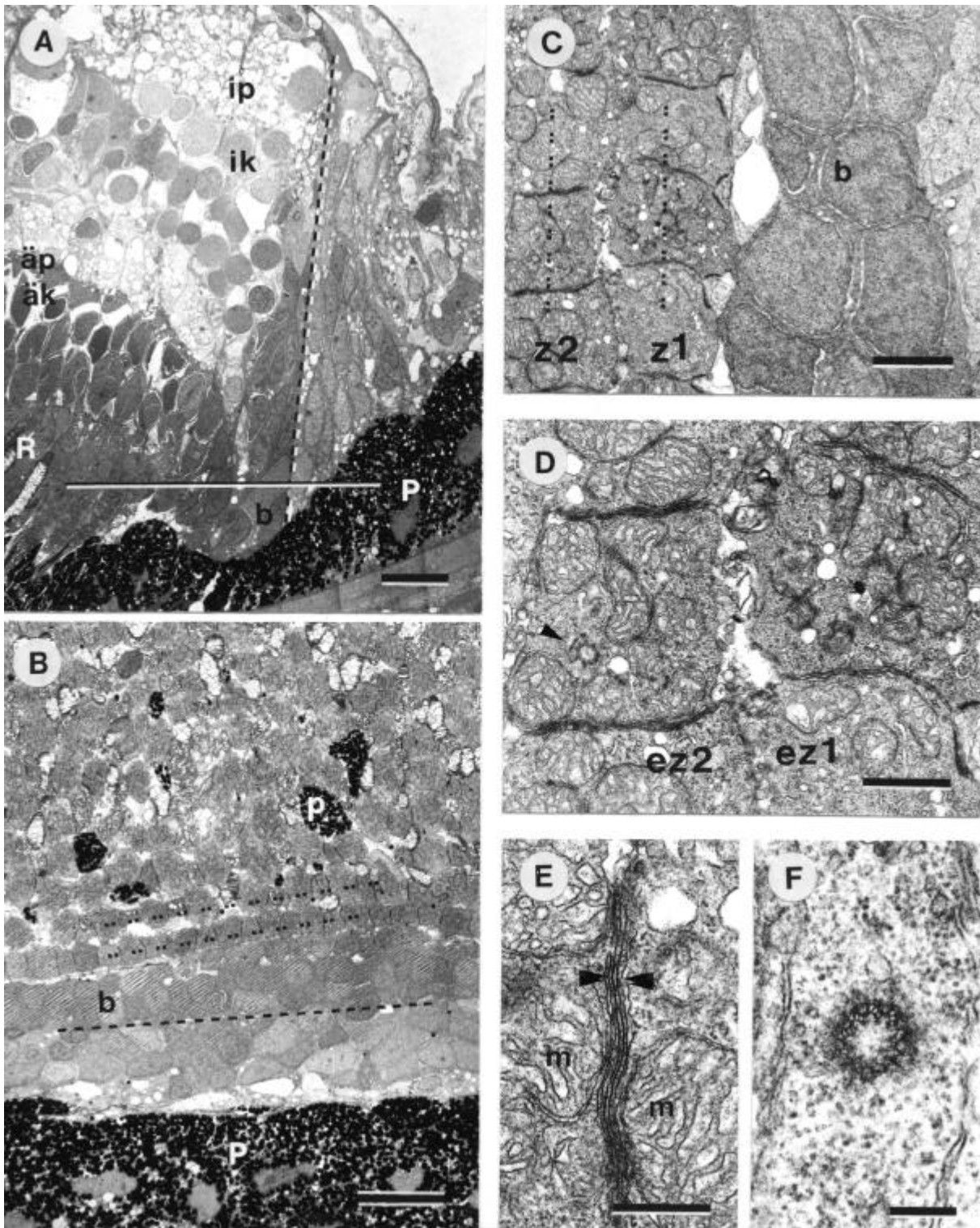
**B)** Tangentialschnitt durch den Rand der ventro-temporalen Retina (vgl. ——— in **A**). In der Bildungszone werden die Polycones direkt als solche gebildet (· · · ·). Ora serrata: -----.

**Balken:** 10µm, Endvergrößerung 1380x.

**C)** Die Bildungszone der Zapfenreihen - Tangentialschnitt. Links im Bild zwei Polycones (· · · ·), rechts embryonale Nervenzellen. **Balken:** 2µm, Endvergrößerung 6530x.

**D)** Detail aus **C**: die Ellipsoide der ersten beiden randlichen Zapfenreihen sind mit Mitochondrien gefüllt. > Basalkörper eines Ciliums. **Balken:** 1µm, Endvergrößerung 14300x.

**E)** Detail aus **D**: „Subsurface cisternae“ (>>) zwischen zwei benachbarten Zapfen der 2. Zapfenreihe. **Balken:** 500nm, Endvergrößerung 32400x.



F) Tangential geschnittene Cilienbasis einer jungen Photorezeptorzelle mit dem Mikrotubulimuster 93+0 („Basalkörper“). **Balken:** 200nm, Endvergrößerung 54900x.

**äk** äußere Körnerschicht, **äp** äußere plexiforme Schicht, **b** Bildungszone, **ez1+ez2** Zapfenellipsoide der 1. u. 2. Zapfenreihe (**z1 + z2**), **ik** innere Körnerschicht, **ip** innere plexiforme Schicht, **m** Mitochondrium, **P** Pigmentepithel, **p** PE-Fortsatz, **R** Photorezeptorschicht.

Besonders aufschlußreich für das Verständnis der Entwicklung des Außengliedes der langen Zapfen erwies sich ein Vergleich von radialen Anschnitten dieser Zellregion aus Zapfenreihen mit zunehmendem Abstand von der Ora serrata (Abb. 3.22A-E). In den ersten 8-10 Reihen sind die Membranfalten der Außenglieder entsprechend dem Grundplan des Wirbeltierzapfens durchwegs kurz und tangential orientiert. Etwa ab der 9. Reihe beginnen sich die am weitesten skleral gelegenen Membranfalten minimal aus der „Horizontalen“ aufzurichten (ca. 14°, Abb. 3.22C) und sich dabei gleichsam in den engen Spalt zwischen den Basen zweier benachbarter PE-Keile hineinzuzwängen. Dieses Phänomen setzt sich mit zunehmendem Abstand vom Netzhautrand vitread fort, bis etwa um die 40. Reihe (Abb. 3.22E) das Außenglied in seiner typischen Ausprägung vorliegt: Die basalen Membranfalten sind kurz und schwach aufgerichtet (ca. 1.8µm, ca.12°), im skleralen 1/3 des Außengliedes sind sie länger und deutlich steiler orientiert (>3µm, ca. 75°).

Die Außenglieder der kurzen Zapfen zeigten im untersuchten Präparat starke blasige Desintegrationserscheinungen (Abb. 3.22G,H) und konnten etwa ab der 10. Reihe ausgemacht werden (was nicht bedeutet, daß sie nicht evtl. schon früher ausgebildet werden). Die Membranfalten sind zunächst schmal, basal durchwegs gut erhalten und stehen gleich in den ersten randlichen Zapfenreihen radial orientiert (Abb. 3.22G,I) - Übergangsstadien zum „Grundplan“ konnten nicht gefunden werden.

---

**Abbildung 3.22: Randliche Photorezeptoren vom Zapfentyp - TEM**

>

**A-E)** Radial angeschnittene Außenglieder langer Zapfen aus den randnahen Zapfenreihen Nr. 5, 6, 9, 14 und 40. Beachte die zunehmende Aufrichtung der Membranlamellen.

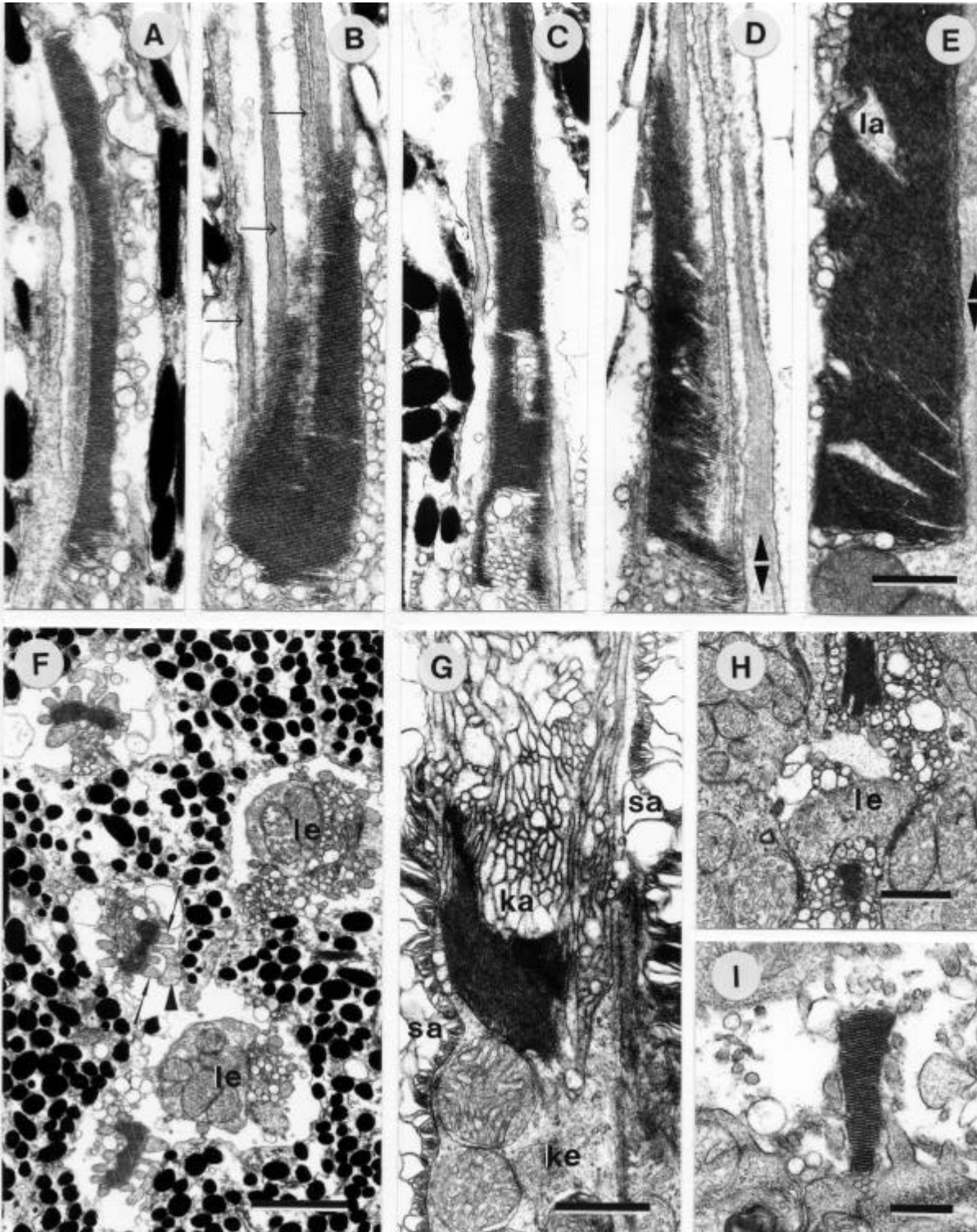
**Balken:** 1µm Endvergrößerung 13700x.

**F)** Außenglieder und Ellipsoide von langen Zapfen aus der 5. und 6. Zapfenreihe. Die Außenglieder sind noch sehr schmal. **Balken:** 2µm, Endvergrößerung 7640x.

**G)** Außenglied eines kurzen Zapfens (12. Reihe) im Radialschnitt zwischen Stäbchenaußengliedern. Unterhalb vesikulärer Degenerationserscheinungen sind die a priori radial orientierten Membranlamellen zu erkennen. **Balken:** 1µm, Endvergrößerung 15100x.

**H)** Außenglieder zweier randnaher kurzer Zapfen tangential geschnitten. **Balken:** 1µm, Endvergrößerung 11400x.

**I)** Außenglied eines randnahen kurzen Zapfens im Tangentialschnitt. **Balken:** 500nm, Endvergrößerung 19800x.



**ka** Außenglied langer Zapfen, **ke** Ellipsoid kurzer Zapfen, **la** Außenglied langer Zapfen, **le** Ellipsoid langer Zapfen, **sa** Stäbchenaußenglied, ® calycale Fortsätze, Ú/Û akzessorisches Außenglied (nur langer Zapfen!).

### 3.1.13 Die Dreifachzapfen

Bei der Duchmusterung der Netzhaut der Sardelle zwecks Erstellung einer Zapfen-Dichtekarte (siehe Kap. 3.1.5) trat am dorsalen und ventralen Retinarand überraschenderweise ein neues Zapfenmuster zu Tage. Dorsal ist es auf ein Kreis-segment begrenzt (vgl. Abb. 3.26C), ventral auf ein Dreieck bzw. ein Kreissegment, das temporal von der optischen Furche glatt „abgeschnitten“ wird.

Auch in diesen Bezirken der Netzhaut stehen die Zapfen und die Ausläufer der Pigmentepithelzellen übereinander in einer Reihe und die Stäbchen in Reihen dazwischen. Die Zapfen sind dort allerdings nicht - wie über den Großteil der Retinafläche - zu Vielfachzapfenreihen („polycones“) zusammengefügt, sondern bilden morphologisch definierbare Einheiten aus drei Zapfen („triple cones“: Abb. 3.23; 3.24; siehe auch Abb. 3.5D). Diese Dreifachzapfen treten in einer Reihe z.B. alle 16µm auf.

Sie bestehen aus zwei morphologisch gleichartigen lateralen und einem zentralen Zapfen in linearer Anordnung, d.h. ihre optischen Achsen liegen alle in der Ebene der Zapfenreihe. Die lateralen Zapfen sind deutlich voluminöser als der zentrale und auch länger (Abb. 3.23D; 3.24D). Ihre Außenglieder haben im gegebenen Präparat etwas unregelmäßige Querschnitte, liegen dicht aneinander, besitzen *cis*-ständige akzessorische Außenglieder und werden skleral von zwei benachbarten PE-Zellen eingefasst (Abb. 3.23A,B; 3.24C) - das Außenglied der zentralen Komponente reicht etwas über den skleralen Rand der Ellipsoide der lateralen Zapfen hinaus (Abb. 3.24B). Entlang der „Oberflächen“, an denen sich die Außenglieder der lateralen Komponenten nicht berühren, finden sich jeweils mehr als 30 calycale Fortsätze (Abb. 3.23B).

---

#### Abbildung 3.23: Tangentialschnittserie durch einen Dreifachzapfen – TEM

>

A) Schnittebene auf Höhe der Außengliedspitzen der lateralen Zapfen. Die Außenglieder sind in dieser Ebene und weiter skleral von guanin- sowie melaninhaltigen PE-Zellen umrahmt.

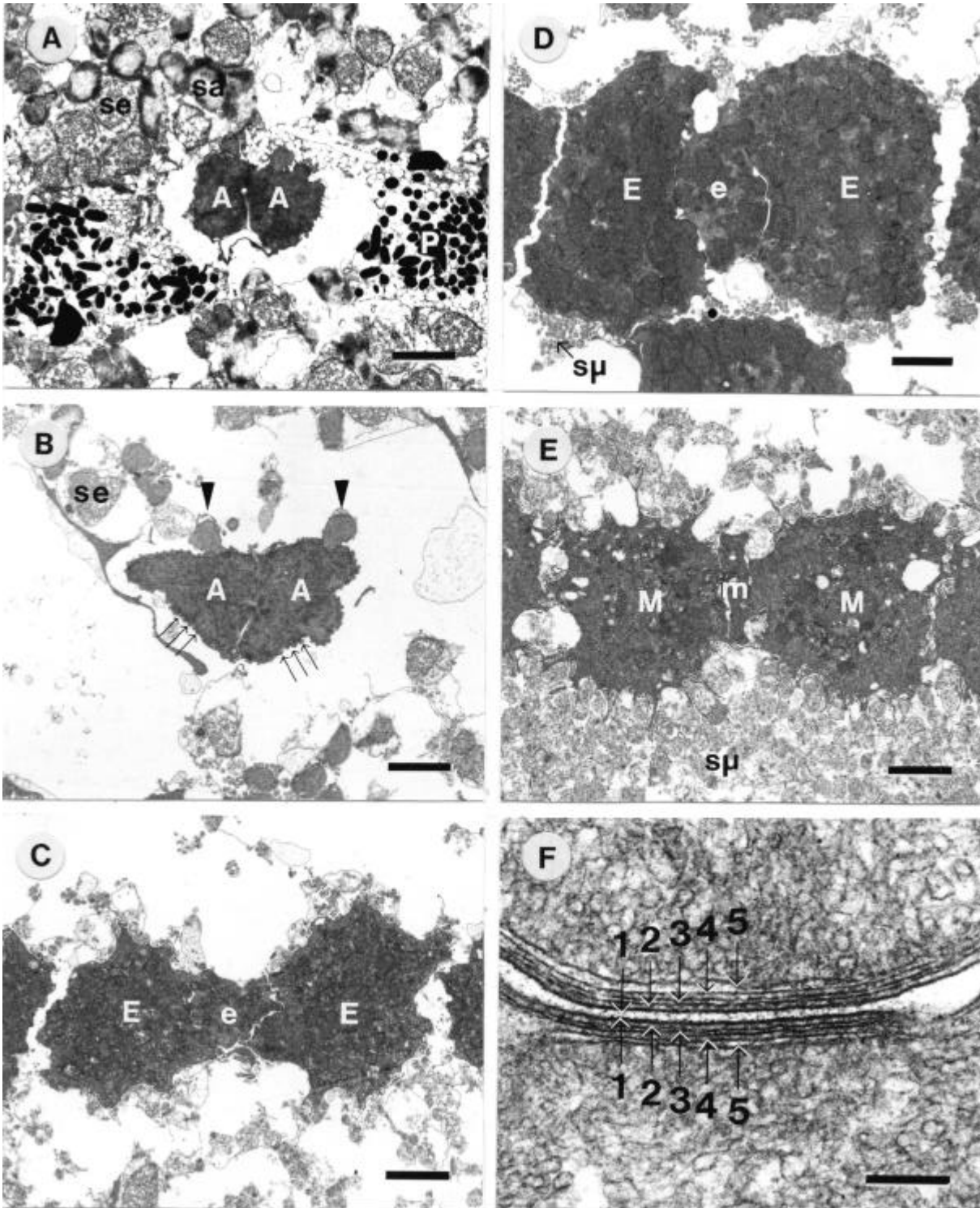
B) Schnittebene auf Höhe der Außenglieder der lateralen Zapfen. Sie zeigen einen unregelmäßigen Umriss, zahlreiche calycale Fortsätze (®) und akzessorische Außenglieder in *cis*-Stellung (>).

C) Schnittebene auf Höhe der Zapfenellipsoide gerade vitreal des Außengliedes des zentralen Zapfens.

D) Schnittebene auf Höhe der Zapfenellipsoide. Das Ellipsoid des zentralen Zapfens zeigt in dieser Ebene seine größte Anschnittsfläche.

E) Schnittebene auf Höhe der Zapfenmyoide. Die lateralen Zapfen bilden nahe der OLM Membranfalten aus, das Myoid des zentralen Zapfens liegt schmal zwischen denen der lateralen Komponenten. **Balken** für

A-E: 2.5µm, Endvergrößerung 3930x.



F) „Subsurface-cisternae“ an der Kontaktstelle von lateralem und zentralem Zapfen. Auf jeder Seite sind 5 parallele Membranen zu erkennen. Zu den Cisternen (2, 3) kommen die Zellmembranen (1) und die Doppelmembranen eng anliegender Mitochondrien (4, 5).

**Balken:** 200nm, Endvergrößerung 67500x.

**A** Außenglied lateraler Zapfen, **E** Ellipsoid lateraler Zapfen, **e** Ellipsoid zentraler Zapfen, **M** Myoid lateraler Zapfen, **m** Myoid zentraler Zapfen, **P** PE-Zelle, **sa** Stäbchenaußenglied, **se** Stäbchenellipsoid, **sμ** Stäbchenmyoid, **1** Zellmembran, **2+3** Membranen der „subsurface-cisternae“, **4** äußere Mitochondrienmembran, **5** innere Mitochondrienmembran.

Die Membranfalten aller drei Zapfen liegen tangential (d.h. „normal“) orientiert. Die Ellipsoide der lateralen Komponenten des Dreifachzapfens haben einen unregelmäßig ovalen bis nierenförmigen Querschnitt (max. 10µm) und besitzen einander zugewandte konkave Flächen, mit denen sie den zentralen Zapfen umrahmen (Abb. 3.23C,D; 3.24D). Manchmal berühren sie sich auch auf einer Seite, wodurch der mittlere Zapfen ein wenig aus dem Zentrum gedrängt wird. Das Ellipsoid des zentralen Zapfens hat einen unregelmäßig ovalen bis runden Querschnitt von max. 5µm und fällt damit deutlich kleiner aus als das vorher beschriebene. An den Kontaktflächen zwischen lateralen und zentralem Zapfen werden unmittelbar innerhalb der Zellmembran „subsurface cisternae“ ausgebildet (Abb. 3.23F). Die Myoide der lateralen und zentralen Zapfen unterscheiden sich im Tangentialschnitt nahe der OLM noch deutlicher. Erstere sind annähernd rund und bilden einige bis 2µm lange Myoidfalten aus, letztere haben einen kleinen Querschnitt (1µm · 4.5µm), der wie von den benachbarten Zapfen komprimiert erscheint (Abb. 3.23E).

Sucht man nach einem Übergangsmuster zwischen den „triple cones“ und den „polycones“, so findet man eine Zone mit unregelmäßiger Rezeptorzusammensetzung. Die Zapfen liegen im Wesentlichen in den schon mehrfach beschriebenen Reihen, doch treten auch vereinzelt Zapfenanschnitte zwischen diesen Reihen auf (Abb. 3.25). Zudem finden sich Einzelzapfen, die zwischen die Dreifachzapfen einer Reihe eingeschoben sind. Auch Arrangements wie lineare Fünffachzapfen aus drei großen Zapfen und zwei kleinen, die erstere auf Abstand halten, können beobachtet werden.

---

**Abbildung 3.24: Gefrierbrüche durch die dorsale Dreifachzapfen-Region - REM** >

A) Schräger Bruch durch die Schicht der Photorezeptoren vom Pigmentepithel (oberer Rand) bis zur OLM (----). In der unteren Bildhälfte sind Bruchflächen von 3 Reihen von Dreifachzapfen abgebildet, darüber befinden sich PE-Zellen und Stäbchen. **Balken:** 20µm.

B) Zwei Dreifachzapfen einer Zapfenreihe auf Höhe ihrer Ellipsoide ± tangential gebrochen. **Balken:** 10µm.

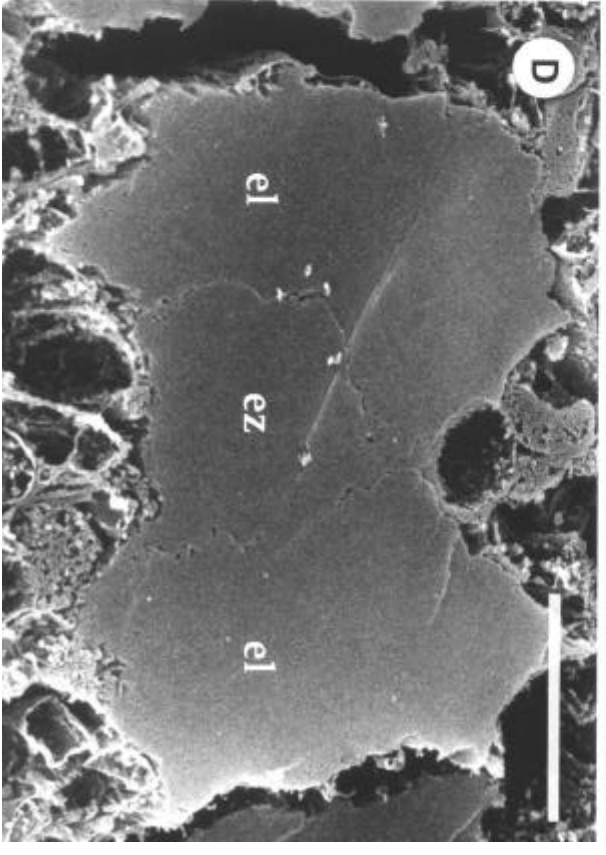
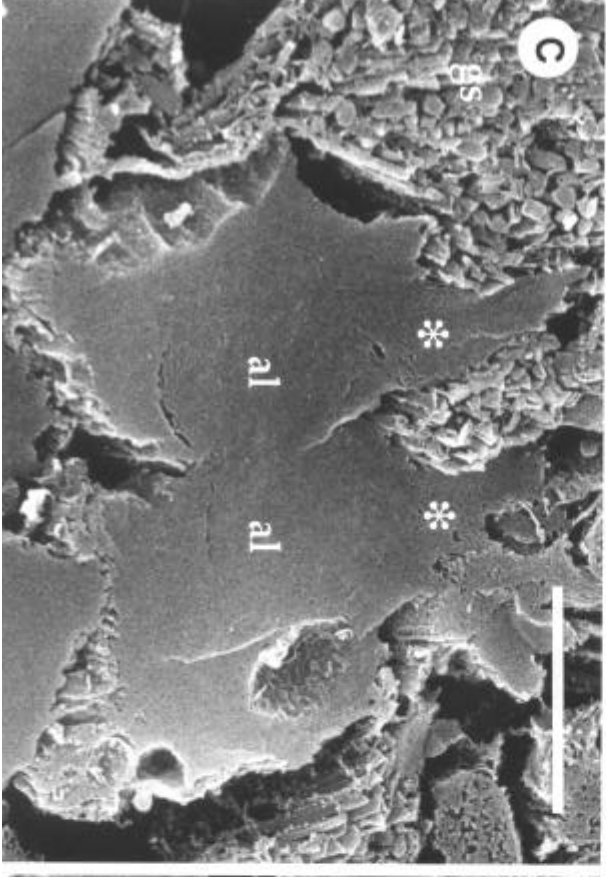
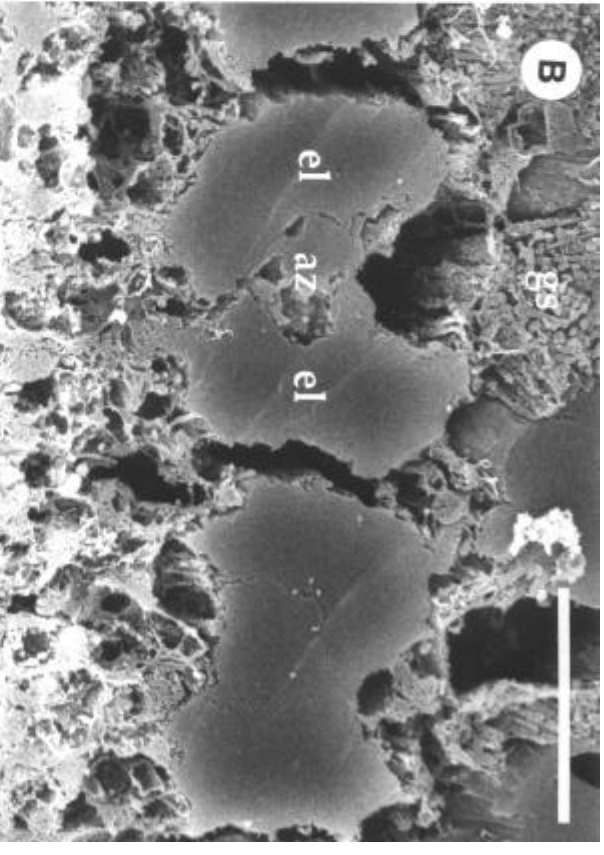
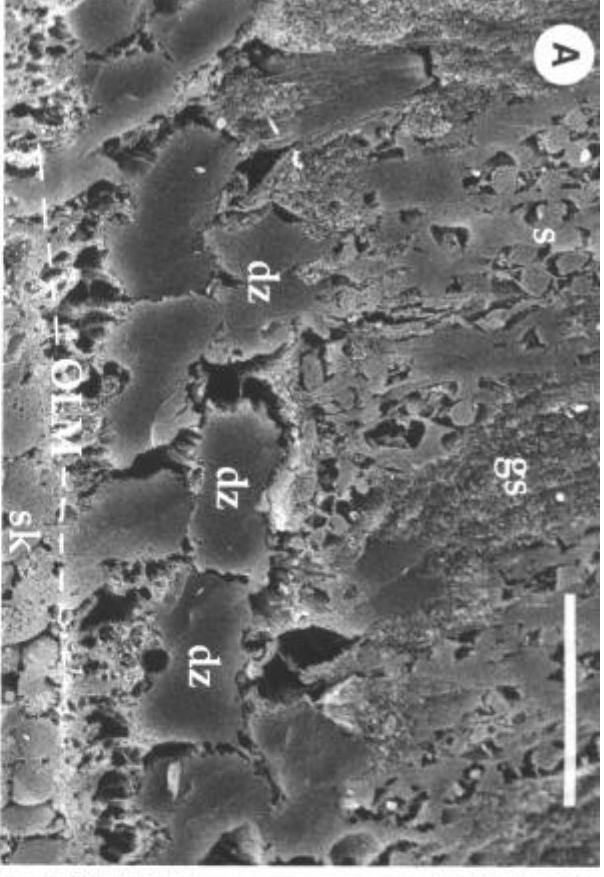
C) Detail aus A: Die Außenglieder der zwei lateralen Komponenten eines Dreifachzapfens ± tangential gebrochen. Am Unterende sind die skleralen Spitzen der Ellipsoide getroffen, am Oberende die *cis*-ständigen akzessorischen Außenglieder (\*). **Balken:** 5µm.

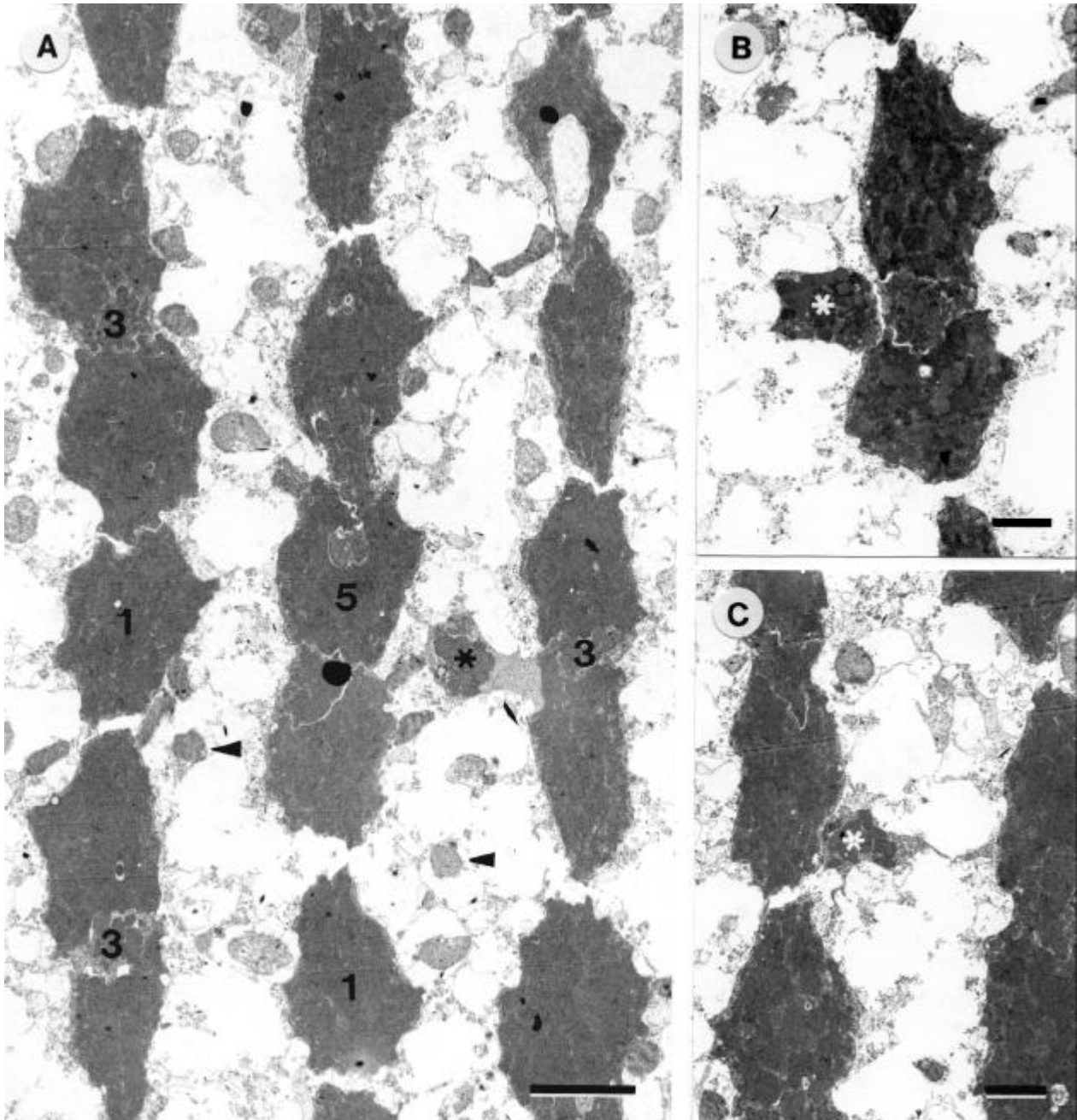
D) Detail aus B: Tangentialbruch durch einen Dreifachzapfen auf Höhe der Ellipsoide.

**Balken:** 5µm.

**al** Außenglied lateraler Zapfen, **az** Außenglied zentraler Zapfen, **dz** Dreifachzapfen, **el** Ellipsoid lateraler Zapfen, **ez** Ellipsoid zentraler Zapfen, **gs** Guaninschotter, **OLM** äußere Grenzmembran, **p** Pigmentepithel, **s** Stäbchen, **sk** Stäbchenkerne.







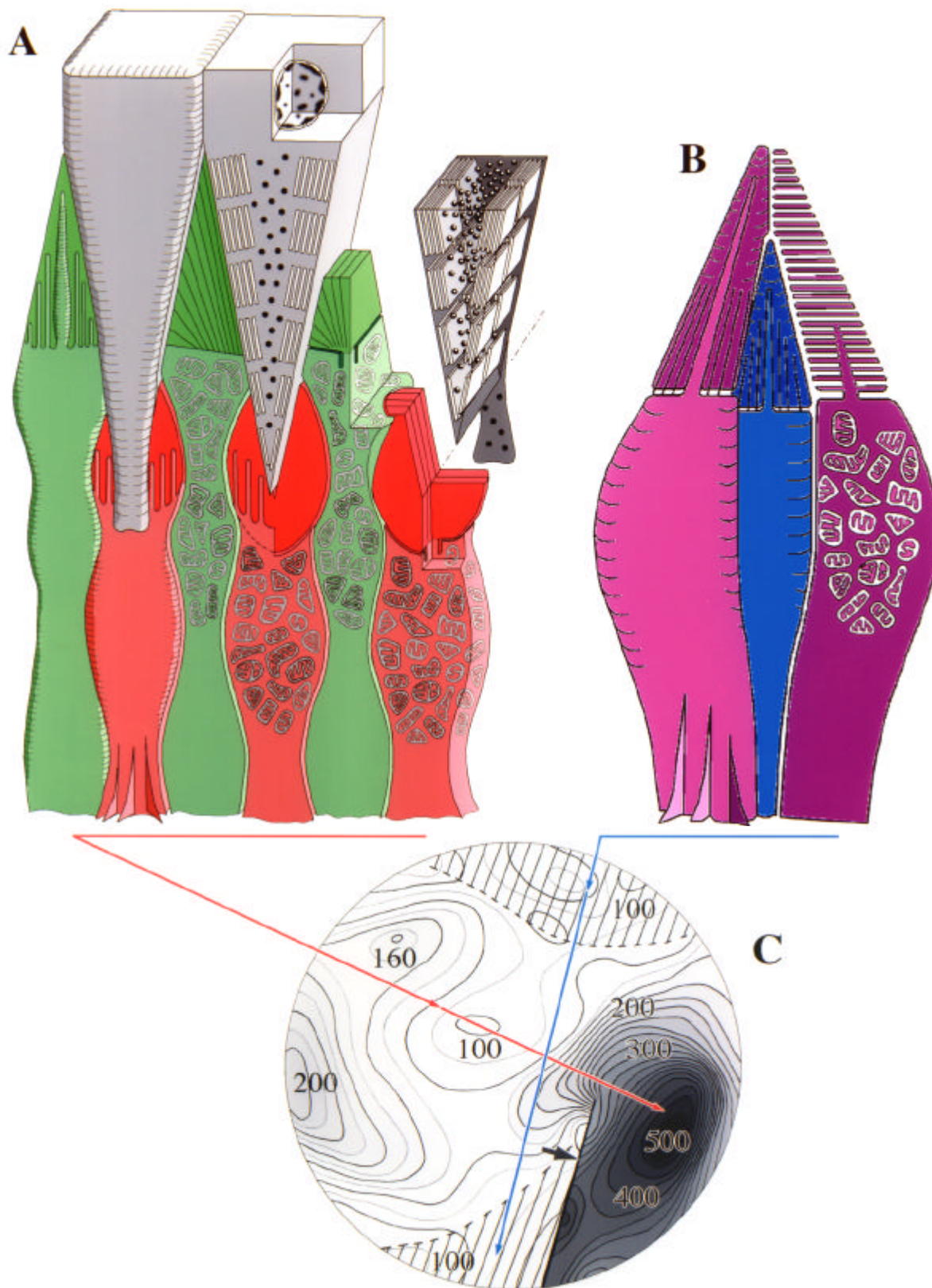
**Abbildung 3.25: Übergang vom Dreifachzapfen (dorsal) zum Polycone (Fundus)**  
**Tangentialschnitte - TEM**

**A)** Drei Photorezeptorreihen verlaufen senkrecht durch das Bild. In der Übergangszone zwischen Dreifachzapfen und Polycones (vgl. Abb. 3.26C) treten unregelmäßige Zapfengruppierungen auf, z.B. Einfach- (**1**), Dreifach- (**3**) und Fünffachzapfen (**5**), sowie Zapfen zwischen den Reihen (\*). > Stäbchenellipsoide. **Balken:** 5µm, Endvergrößerung 3350x.

**B)** Zur zentralen Komponente eines Dreifachzapfens gesellt sich ein einzelner Zapfen (\*).

**Balken:** 2.5µm, Endvergrößerung 3700x.

**C)** In einem Gebiet relativ regelmäßigen Dreifachzapfen-Vorkommens befindet sich ein einzelner Zapfen „außer der Reihe“ (\*). **Balken:** 2.5µm, Endvergrößerung 3700x.



**Abbildung 3.26: Grafische 3D-Rekonstruktion der Strukturelemente eines Polycone (A) und eines Dreifachzapfens (B), sowie Schema zur Topographie der Zapfentypen (C).**

**grün** lange Zapfen, **rot** kurze Zapfen, **schwarz** Pigmentepithelzelle, **blau** zentrale Komponente des Dreifachzapfens, **lila** laterale Komponenten des Dreifachzapfens.

Die schraffierten Bereiche relativ geringer Zapfendichten in **C** enthalten Dreifachzapfen - im Fundus und in den beiden Areae findet man nur Polycones (vgl. Abb. 3.5B).

## 3.2 Die „äußere plexiforme Schicht“ von *Engraulis encrasicolus* und andere neuroanatomisch untersuchte Bereiche

### 3.2.1 Das Muster der Zapfenterminalen in der ventro-temporalen Retina

Betrachtet man das regelmäßige Muster der Zapfenmyoide knapp skleral der OLM (Abb. 3.27C), so drängt sich die Vermutung auf, daß sich diese Ordnung vitread durch die äußere Körnerschicht fortsetzen und sich folglich in „tieferen“ Schichten der Retina wiederfinden lassen sollte - so z.B. auf der Ebene der synaptischen Kontakte der Zapfen zu den Sekundärneuronen in der äußeren plexiformen Schicht.

Auf den ersten Blick scheint die dichte Kernpackung der ONL wenig Ordnung zuzulassen. Die Somata der Zapfen und besonders die der Stäbchen liegen dicht an dicht und verdrängen die Axone der Photorezeptoren in scheinbar zufälligen, zumindest aber schwer bestimmbar Richtungen. Dieses Bild ergibt sich für viele tangentielle und für schiefe Schnittebenen, nicht jedoch für genau radial geführte Schnitte, die in geeigneten Winkeln zu den Photorezeptorreihen verlaufen (Abb. 3.2A). Anhand ausgewählter radialer Schnittebenen (semidünn) und mit Hilfe von Tangentialschnittserien durch die ONL (ultradünn) lassen sich im gegebenen Raumelement der Retina Gruppen von Zapfen über ihre gesamte radiale Erstreckung verfolgen (Abb. 3.27).

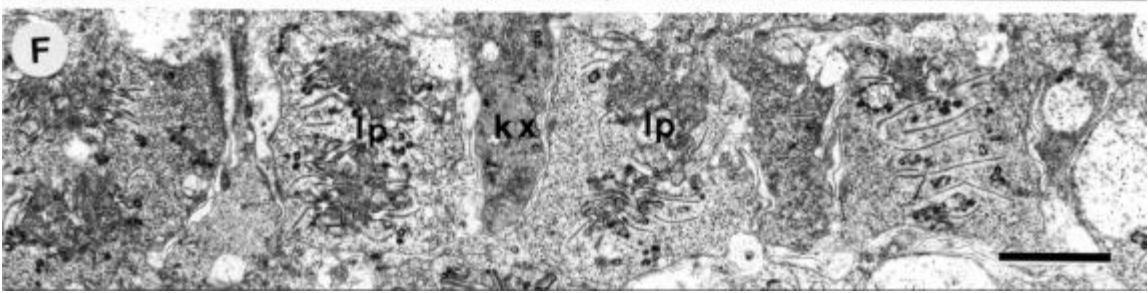
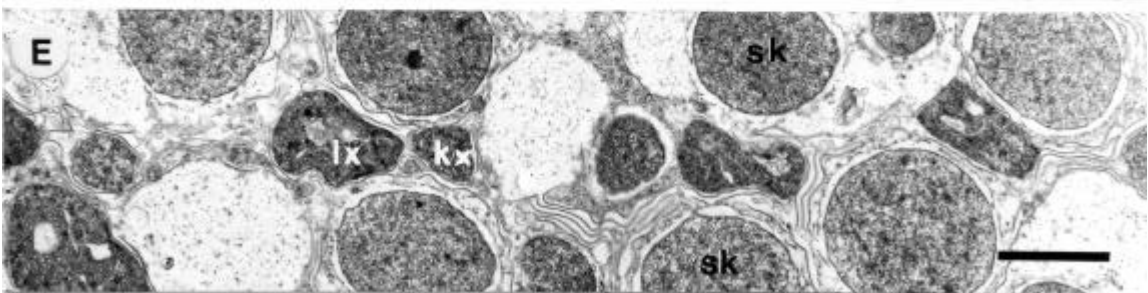
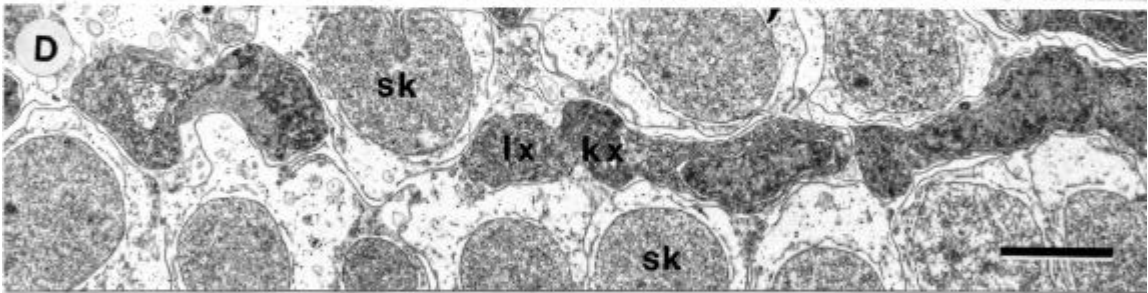
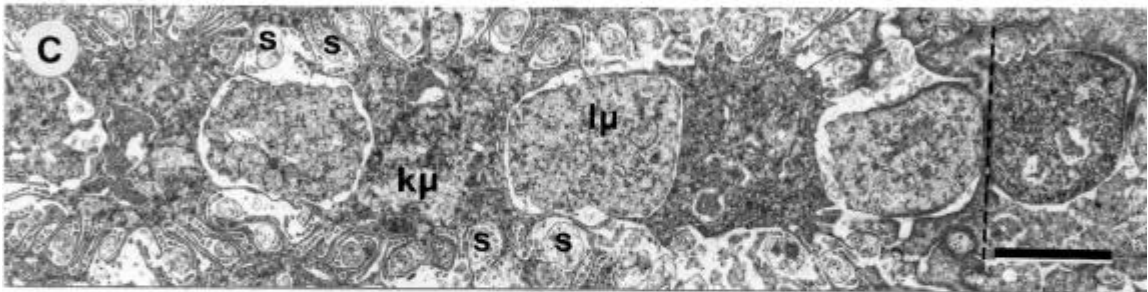
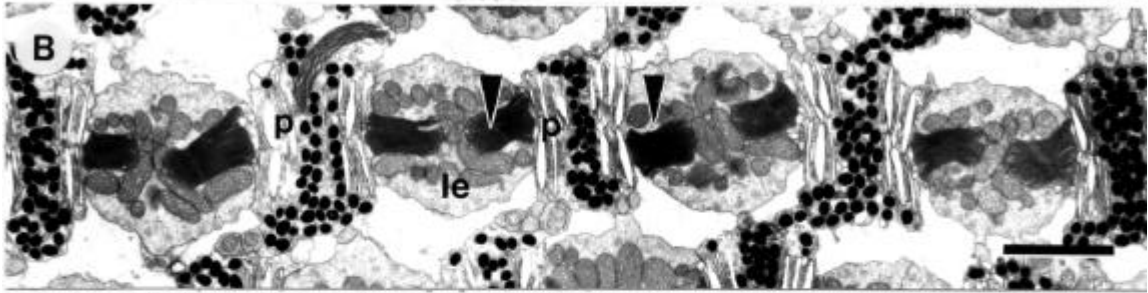
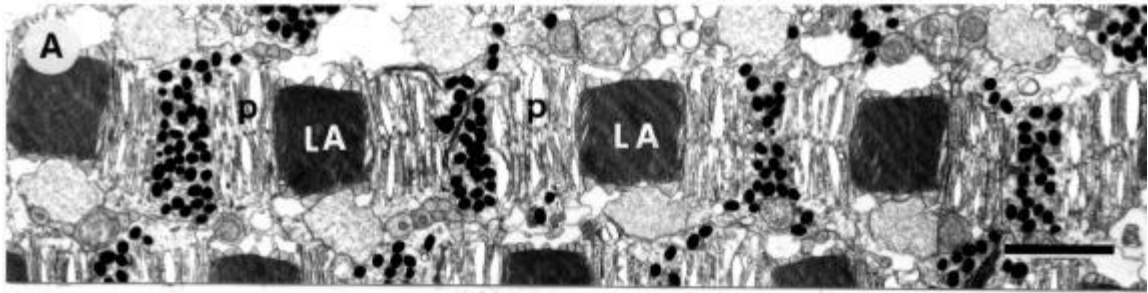
Unmittelbar vitreal der OLM zeigt die Kernregion der langen Zapfen noch das „Schachbrettmuster“ der um einen Rezeptor gegeneinander verschobenen Polycones. Die Kerne der kurzen Zapfen liegen dabei einige Mikrometer weiter vitreal als die der langen Zapfen. Vitreal des Zellsomas verschmälert sich der runde bis unregelmäßig ovale Querschnitt eines Zapfens auf minimal 1µm und wird - vor allem abseits des Zapfendichtemaximums - von den Kernen der Stäbchen

---

#### Abbildung 3.27: Verfolgung der Zapfenaxone durch die ONL zu den Terminalen >

Tangentialschnitte durch einen Polycone von skleral nach vitreal auf verschiedenen radialen Horizonten: Außenglieder der langen Zapfen (A), Außenglieder der kurzen Zapfen (B), Zapfenmyoide (C), Zapfenaxone der skleralen ONL (D), Zapfenaxone der vitrealen ONL (E), Pediclebasen der langen Zapfen (F). Balken A-F: 2.5µm.

**kµ** Myoid kurzer Zapfen, **kx** Axon kurzer Zapfen, **LA** Außenglied langer Zapfen, **le** Ellipsoid langer Zapfen, **lµ** Myoid langer Zapfen, **lp** Pedicle langer Zapfen, **lx** Axon langer Zapfen, **p** Fortsatz einer PE-Zelle, **s** Stäbchenmyoid, **sk** Stäbchenkern, **Ú** Außengliedloben eines kurzen Zapfens, ----- „äußere Grenzmembran“ (OLM).



gegenüber einem exakt radialen Verlauf minimal verschoben (Abb. 3.27D, E). Die relative Position der Anschnitte benachbarter Zellen ändert sich dabei zwischen aufeinanderfolgenden tangentialen Schnittebenen nicht. Das Zytoplasma der Zapfenaxone ist von mittlerer (lange Zapfen) bis relativ hoher Elektronendichte (kurze Zapfen) und enthält neben granulären und fibrillären Ultrastrukturen vor allem Mitochondrien (Abb. 3.27 D,E; vgl. auch Abb. 3.29A mit 3.29B).

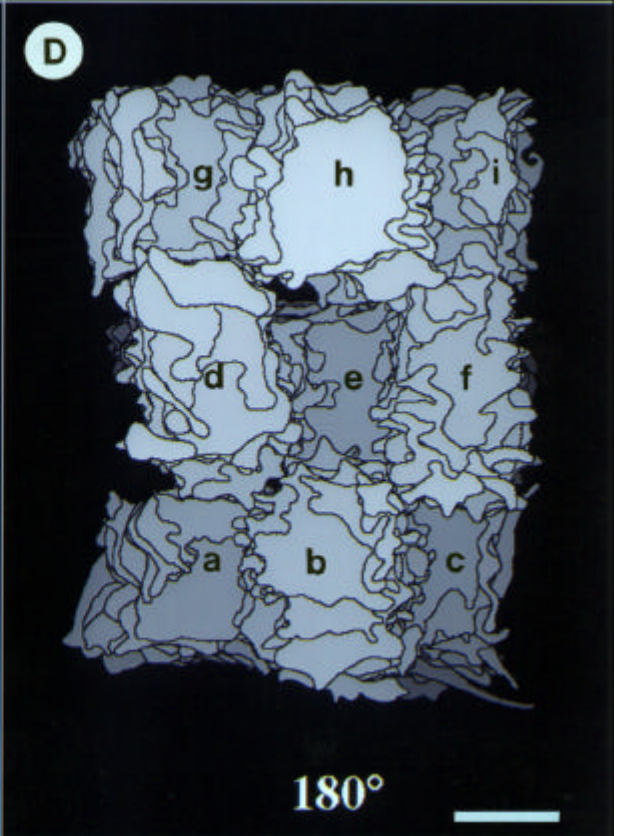
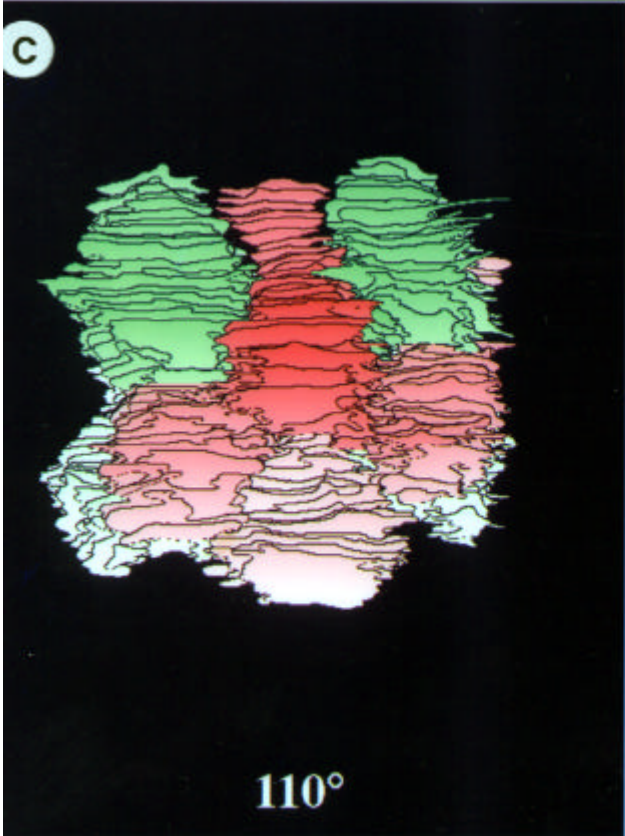
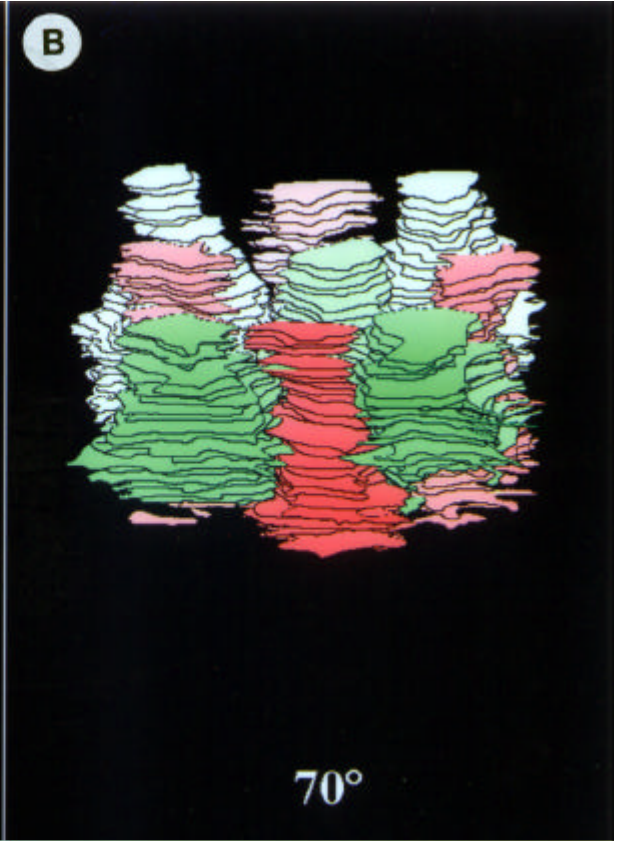
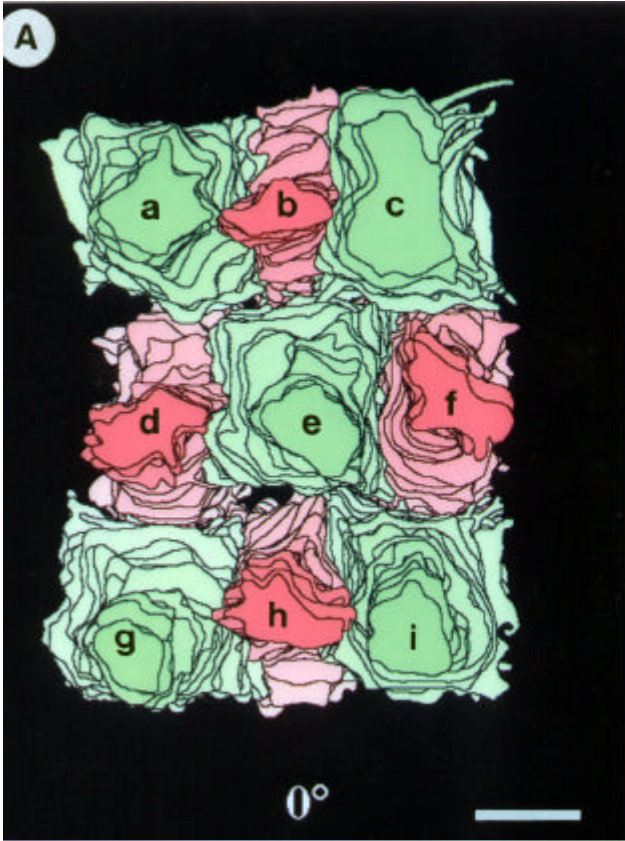
In der skleralen Hälfte der äußeren plexiformen Schicht weiten sich die Zapfen zu ihren synaptischen Endigungen - auch „Pedicles“ oder „Füßchen“ genannt - auf. Diese Füßchen sind in erster Näherung pyramidale Gebilde mit rechteckiger bis quadratischer Querschnittsfläche und enden vitreal mit einer relativ scharfen, leicht unregelmäßig geformten Kontur (Abb. 3.29A,B; 3.38A). Tangential geführte Schnittserien enthüllen das räumliche Muster der Zapfenterminalen und zeigen markante Unterschiede im Feinbau zwischen kurzen und langen Zapfen auf. Die eindeutige Zuordnung eines Pedicleanschnittes zum zugehörigen Zapfentyp erlaubt dabei erst die serielle Rekonstruktion (Abb. 3.27; 3.28).

Außerordentlich bemerkenswert und für dieses Kapitel sowie Kap. 4.5.1 von besonderer Bedeutung ist nun der Befund, daß die Zapfenfüße in der skleralen OPL genau das gleiche regelmäßige „Schachbrettmuster“ aufweisen wie die skleral der OLM gelegenen Anteile dieser Zellen. In einer tangentialen Schnittebene einige Mikrometer vitreal der Stäbchenendigungen (Abb. 3.29C) liegen die Zapfenpedicles kompakt angeordnet - etwa in der Art eines Parketts oder Pflasters - wobei die Anschnitte der langen Zapfen hier (nahe ihrer Basis) eine größere Fläche einnehmen als die der kurzen. Wählt man einen Schnitt, der in der Serie um wenige Mikrometer weiter vitreal und damit jenseits der Basen der Füßchen der langen Zapfen liegt, verändert sich das Bild (Abb. 3.29D): Hier besitzen die Pedicles der kurzen Zapfen basisnah ihren größten Querschnitt, haben abgerundete Ecken und bilden kurze laterale Rippen.

---

**Abbildung 3.28: 3D-Rekonstruktion von Zapfenterminalen aus der Area temporalis >**

Aus einer lückenlosen Tangentialschnittserie durch die sklerale Hälfte der äußeren plexiformen Schicht wurden die Zellkonturen von 9 benachbarten Zapfenpedicles extrahiert (a-i) und zu einem 3D-Datensatz arrangiert (vgl. Kap. 2.4.2). Gezeigt werden vier ausgewählte Projektionen: von skleral (**A**: 0°), von „schräg oben“ (**B**: 70°), von „schräg unten“ (**C**: 110°) und von vitreal (**D**: 180°). **rot** Pedicles der kurzen Zapfen, **grün** Pedicles der langen Zapfen. Deutlich erkennbar sind das Schachbrettmuster der Terminalen und die unterschiedlichen Terminationsebenen (Substrata) der beiden Zapfentypen in der äußeren plexiformen Schicht. Die Substratifikation läßt besonders deutlich der Blick auf die vitrealen Flächen der Pedicles erkennen (**D**: lange Zapfen dunkelgrau im Hintergrund, kurze Zapfen hellgrau im Vordergrund). **Balken**: 2µm.



Zwischen ihnen liegen quadratische Räume mit Anschnitten der Sekundärneuronendendriten, die die langen Zapfen kontaktieren. Bildlich gesprochen betont somit Abb. 3.29C die weißen Flächen des „Schachbrettes“ ( $\cong$  den Basen der langen Zapfen), Abb. 3.29D dagegen die schwarzen ( $\cong$  den Basen der kurzen Zapfen).

Die beiden Zapfentypen terminieren in zwei deutlich voneinander getrennten Ebenen innerhalb der äußeren plexiformen Schicht, die in der ventro-temporalen Retina einen radialen Abstand von ca. 0.8 bis 1.5 $\mu$ m zueinander haben. Die vitrealen Pediclebasen der langen Zapfen bilden dabei das sklerale, die der kurzen das vitreale Substratum. Die 3D-Rekonstruktion einer lückenlosen Ultradünnschnittserie durch die Zapfenedicles zeigt diesen Sachverhalt sehr deutlich (Abb. 3.28), besonders bei einer Projektion, die den Blick „von unten“ auf die Pedicles gestattet (Abb. 3.28D).

Noch ein weiteres und dabei wesentliches Detail der äußeren Pediclearchitektur konnte die Rekonstruktion der Schnittserie aufdecken: an den Ecken der rechteckigen Pediclebasen sind fingerförmige Ausläufer ausgebildet - sog. „Telodendriten“ (Abb. 3.31F; 3.32F; 3.33; 3.34C). Sie verbinden im Falle der langen Zapfen jeden Photorezeptor mit den entsprechenden Ausläufern der vier diagonal benachbarten Zapfen gleichen Typs (Länge ca. 3 $\mu$ m). Bei den kurzen Zapfen sind diese Telodendriten nicht so deutlich erkennbar und nach den bisherigen Befunden auch nicht in der Regelmäßigkeit ausgebildet wie bei den langen Zapfen (Abb. 3.34D). Die Kontaktstelle zweier Telodendriten zeigt für beide Partner eine elektronendichte Membranstruktur im Sinne einer „gap-junction“ mit einem Interzellularspalt von nur 34nm Weite und einer Flächenausdehnung von bis zu 350nm Durchmesser. Gelegentlich sind diese Zellhaften auch zwischen benachbarten Pedicles einer Zapfenreihe zu beobachten.

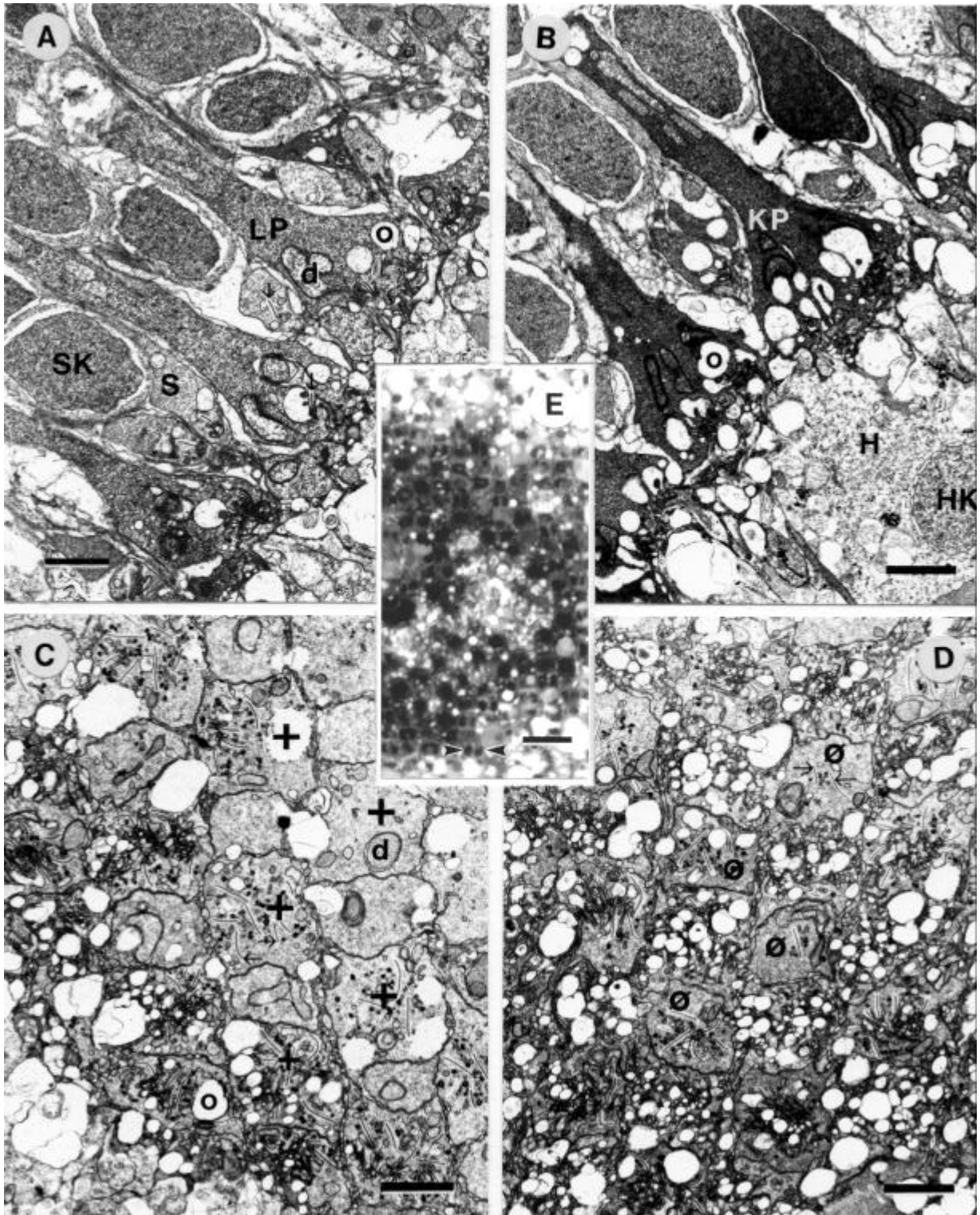
---

**Abbildung 3.29: „Schachbrettmuster“ und OPL-Substrata der Zapfenterminalen** >

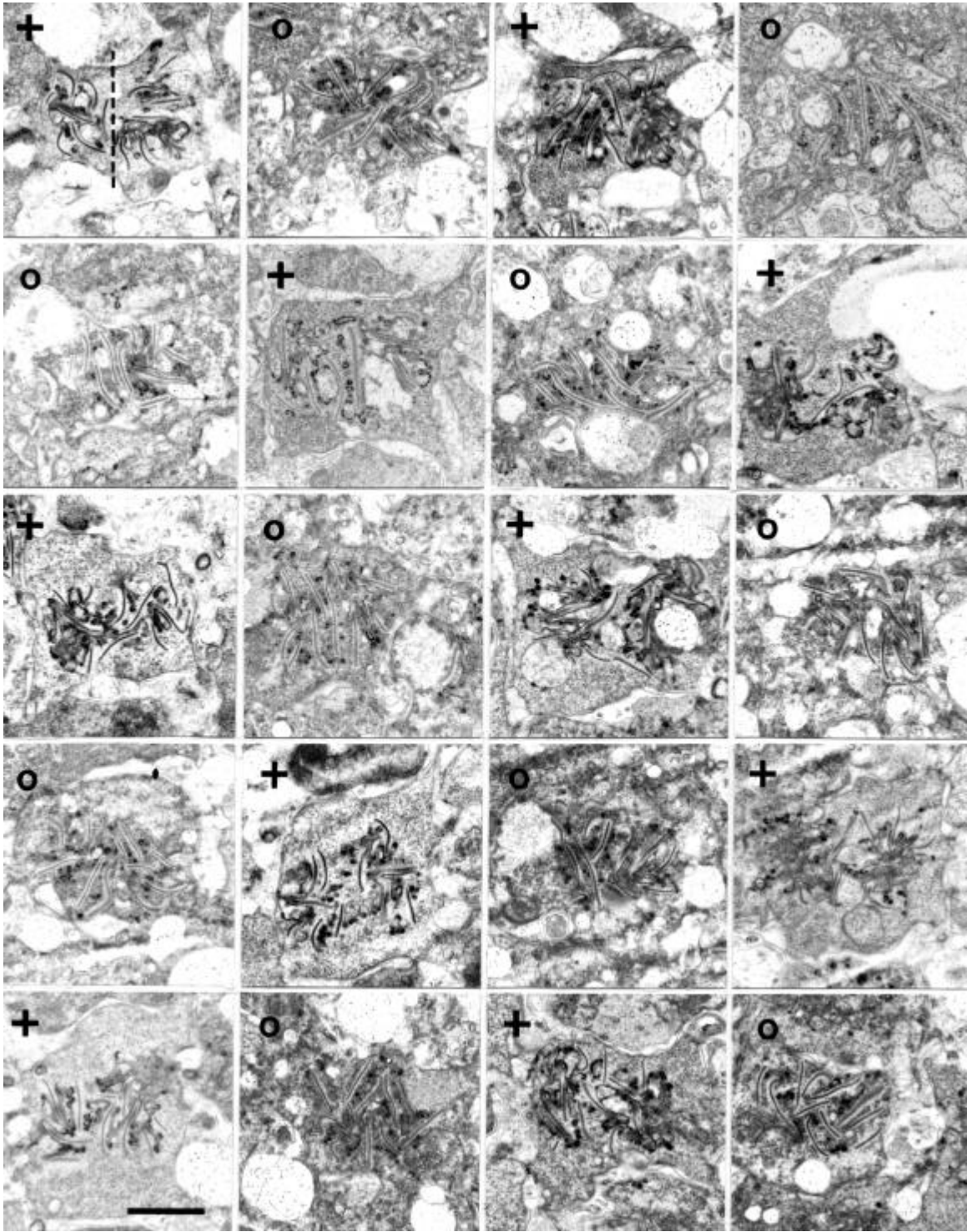
- A) Radialschnitt durch die Pedicles der langen Zapfen - TEM Übersicht, rel. elektronenlicht.
  - B) Radialschnitt durch die Pedicles der kurzen Zapfen - TEM Übersicht, rel. elektronendicht.
  - C) TEM-Tangentialschnitt auf Höhe der Pediclebasen der langen Zapfen (+).
  - D) TEM-Tangentialschnitt auf Höhe der Pediclebasen der kurzen Zapfen ( $\mathcal{A}$ ).
- Polyconeverlauf in C und D vertikal. **Balken** für A-D: 2.5 $\mu$ m.

E) Schon der LM-Tangentialschnitt durch die OPL läßt das Terminalenmuster andeutungsweise erkennen. Die Pedicles der langen Zapfen enthalten je zwei dunkel kontrastierende Strukturen (> <, vgl. TEM: Abb. 3.30/31). Polyconeverlauf vertikal. **Balken**: 10 $\mu$ m.





**d** „Divertikel“, **H** Horizontalzelle, **HK** Horizontalenkern, **KP** Pedicle kurzer Zapfen, **LP** Pedicle langer Zapfen, **o** angeschwollene Horizontalzellendendriten, **S** synaptisches Endköpfchen eines Stäbchens, **SK** Stäbchenkerne, **Ⓜ** „synaptic ribbons“.



**Abbildung 3.30: TEM-Montage zum „Ribbonmuster“ der Zapfenterminalen** <sup>^</sup>

Aus einer tangential geführten Schnittserie durch die OPL der ventro-temporalen Retina der Mittelmeersardelle wurden aus einem kohärenten Feld von 5-4 Pedicles diejenigen Anschnitte ausgesucht und nebeneinander montiert, auf denen die Ribbonfelder nahe der vitrealen Pediclebasen am besten zu erkennen sind. Die Einzelbilder stammen aus verschiedenen Schnittebenen, da die Pedicles von kurzen (o) und langen (+) Zapfen auf gut 1µm radial gegeneinander versetzten Ebenen terminieren und diese „Ebenen“ eigentlich Kugelschalen mit minimalen Unregelmäßigkeiten sind. Die Ribbons der langen Zapfen sind durchwegs zu zwei Gruppen arrangiert (----), die der kurzen lassen keine derartige Gruppierung erkennen. **Balken:** 2µm.

### 3.2.2 Das „Innenleben“ der Zapfenfüße

Die synaptischen Terminalen der Photorezeptoren in der äußeren plexiformen Schicht sind in ihrer Feinstruktur komplizierte Gebilde. Die Zellmembranen der pyramidalen Zapfenfüße und der ovoiden Stäbchen-Endköpfchen werden an ihrer vitrealen Basis von den Dendriten der Horizontal- und Bipolarzellen durch den innigen gegenseitigen Kontakt verformt. Die Invagination dieser Sekundärneurone geschieht bei *Engraulis encrasicolus* prinzipiell in der für Wirbeltier-Photorezeptoren typischen Weise, nämlich unter Bildung sog. „Ribbonsynapsen-Triaden“ (vgl. Kap. 1.2.1). Sie weist aber bei den Sardellenzapfen auch geometrische Eigenheiten auf, die als eine der strukturellen Grundlagen einer hochspezialisierten Netzhaut anzusehen sein dürften (siehe Kap. 4.5). Es folgt die Beschreibung des „Innenlebens“ der Zapfenterminalen aus der Area temporalis - die „normal“ gebauten Stäbchen-Endköpfchen sind schon in Kap. 3.1.10 (Abb. 3.17E-L) beschrieben worden.

Das charakteristische Feinstrukturelement der Ribbon-Synapse von Wirbeltier-Photorezeptoren ist eine rechteckig-plattenförmige Struktur mittlerer Elektronendichte von nur ca. 50nm Dicke. Dieser sog. „synaptic ribbon“ liegt in jedem Zapfenfuß in der Mehrzahl vor (bei *E. encrasicolus* ca. 10 bis 14), hat Kantenlängen zwischen 0.4 und 1.6µm und ist vorzugsweise radial orientiert (Abb. 3.27F; 3.29C,D; 3.30-32). Sowohl in Tangentialschnitten als auch in den meisten radialen Schnittebenen erscheinen die Ribbons als gerade oder gebogene Linien, je nachdem, ob die Platten flach oder verkrümmt sind, und sie besitzen einen ca. 40 bis 70nm breiten Hof geringer Elektronendichte. Eine bevorzugte Winkelorientierung dieser Anschnitte hinsichtlich des Verlaufs der Polycones war nicht nachweisbar, bzw. bei gekrümmten Ribbons auch nicht sinnvoll zu ermitteln. Dennoch liegen die Ribbons der Sardellenzapfen nicht zufällig verteilt im Pedicle, sondern zeigen bei genauerer Betrachtung eine eigentümliche Ordnung:

Die Verfolgung der Zapfenzellen von der OLM bis zur OPL läßt ja - wie im vorigen Kapitel dargestellt - ein schachbrettartiges Pediclemuster zutage treten, wobei den einzelnen Pedicleanschnitten eindeutig der kohärente Zelltyp zugeordnet werden kann. Die Pedicles der langen Zapfen besitzen nun regelmäßig **zwei Gruppen** von Ribbons aus jeweils ca. 5 bis 8 Platten. Die beiden Ribbongruppen liegen links und rechts einer Symmetrieachse, die man sich median durch die Zapfenfüße und dabei parallel zur Zapfenreihe verlaufend vorstellen kann (Abb. 3.30; 3.31). Die Gruppen sind nicht exakt spiegelsymmetrisch, weil die Orientierung der Platten dem Zufall zu

folgen scheint und sie berühren sich zudem in der Mitte mehr oder weniger innig. Dabei lassen sie aber in jedem Fall eindeutig zwei Zentren komplexen Invaginationsgeschehens mit annähernd gleicher Raumausdehnung erkennen. Besonders deutlich ergibt sich dieses Bild auf günstig getroffenen Tangentialschnitten nahe der vitrealen Pediclebasis, wo die Anschnitte der Sekundärneuronendendriten die Ribbons massiv umlagern und in ihrer Gesamtheit an Fläche zunehmen (Abb. 3.31). Subtrahierte man in Gedanken diese Dendriten und betrachtete die Füßchen der langen Zapfen „von unten“ räumlich, so blickte man in zwei Cavitäten mit stark gefalteter Innenwand (Abb. 3.33E,F) - jede Falte der Zellmembran enthielt dabei einen Ribbon. Vice versa muß es zwei Bündel von Sekundärneuronendendriten geben, die von gegenüberliegenden Seiten des Polycone in die synaptische Endigung des Photorezeptors invaginieren.

Für die Pedicles der kurzen Zapfen kann eine derartig markante Ribbonverteilung nicht festgestellt werden. Diese Zapfenfüße haben einen annähernd rechteckigen Querschnitt (die kürzeren Kanten verlaufen parallel zum Polycone) und eine gleichmäßige Verteilung der ca. 10 bis 12 elektronendichten Platten. Der vage Eindruck einer polyconeparallelen Vorzugsorientierung kann entstehen, aber nicht quantifiziert werden (Abb. 3.30 „o“). Das gleiche gilt für eine mögliche Gliederung in zwei breite Ribbongruppen, deren Zentren dann eine Verbindungslinie hätten, die um 90° gegenüber der entsprechenden Symmetrielinie der langen Zapfen gedreht wäre. Leider können zu diesem Punkt bisher keine differenzierteren Aussagen getroffen werden und so muß von einem einzelnen zentralen Dendritenbündel ausgegangen werden, welches einen kurzen Zapfen kontaktiert.

Die Darstellung des Ribbonmusters für ein Feld von 5 · 4 benachbarter Zapfen zeigt Abb. 3.30. Da die Basen der Zapfenterminalen in zwei Horizonten liegen (s. 3.2.1) und sich auch für einen Typ nicht exakt in einer Ebene befinden (wegen der Krümmung der Retina und naturgegebener Unregelmäßigkeiten) ist für diese Montage ein gewisser Aufwand vonnöten. Für jeden Zapfen musste diejenige Ebene aus einer Schnittserie ausgewählt und fotografiert werden, in der das Ribbonfeld seine maximale Ausdehnung zeigt.

Sowohl auf tangential, wie auch auf radial geführten Ultradünnschnitten bzw. Schnittserien lassen sich für beide Zapfentypen wiederkehrende feinstrukturelle Details der Ribbonsynapsen finden und beschreiben (Abb. 3.31; 3.32):

Der zytoplasmatische Inhalt der Pedicles erscheint in erster Linie vesikulär (synaptische Vesikel,  $\varnothing$  ca. 30-35nm), enthält aber neben den schon beschriebenen Ribbons auch glattes ER. Flankiert werden die Ribbons auf beiden Seiten von kompliziert geformten dendritischen Ausläufern der Sekundärneurone. Diese Gebilde nähern sich den Platten - von ihnen getrennt durch die Zapfenmembran und mindestens den elektronenlichten Hof - auf ca. 50 bis 100nm und kontaktieren dabei z.T. mehrere Ribbons gleichzeitig (Abb. 3.31).

Die Elektronendichte des Dendritenplasmas variiert stark, je nach Quellungszustand (und evtl. auch in Abhängigkeit vom Zelltyp). Vor allem skleral neigen sie in den gegebenen Präparaten zu massiven blasigen Anschwellungen bei geringer Elektronendichte. Auffällig sind überdies zahlreiche kleine, extrem elektronendichte Bezirke der Dendritenmembran mit geringem Krümmungsradius, die räumlich als kleine Noppen verstanden werden können (sog. „spinules“: z.B. Abb. 3.34A).

Die folgenden Doppelseiten zeigen Ausschnitte aus tangential und radial geführten, lückenlosen Ultradünnschnittserien durch je einen Pedicle eines langen Zapfens (Abb. 3.31/32) sowie 3D-Rekonstruktionen aus Umrißzeichnungen der vollständigen Radialschnittserie (Abb. 3.33).

---

### Abbildung 3.31

#### TEM-Tangentialschnittserie durch eine Zapfenterminale

(S.150)

Gezeigt werden 6 Ebenen aus der vitrealen Hälfte eines Pedicle (langer Zapfen) im Abstand von je ca. 90nm. Beachte die Telodendriten an den Ecken der Pediclebasis und die schrittweisen Umrißveränderungen der Ribbons sowie der Horizontalzellendriten.

Labeling in 3.31F: <> Ribbons, ® Telodendriten, Ú postsynaptische Verdichtungen, **h** Horizontalzellendriten. **Balken:** 1µm.

---

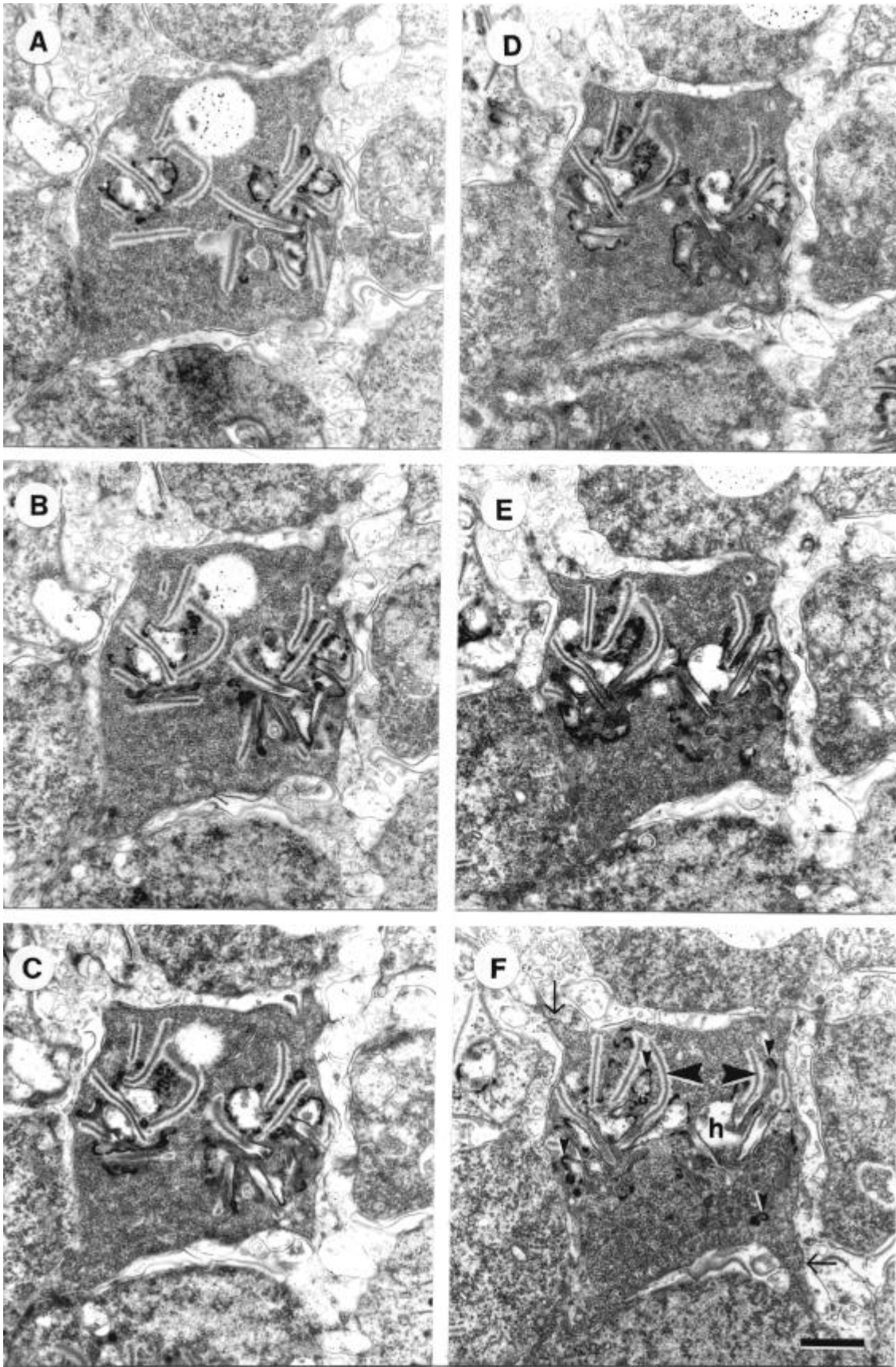
### Abbildung 3.32

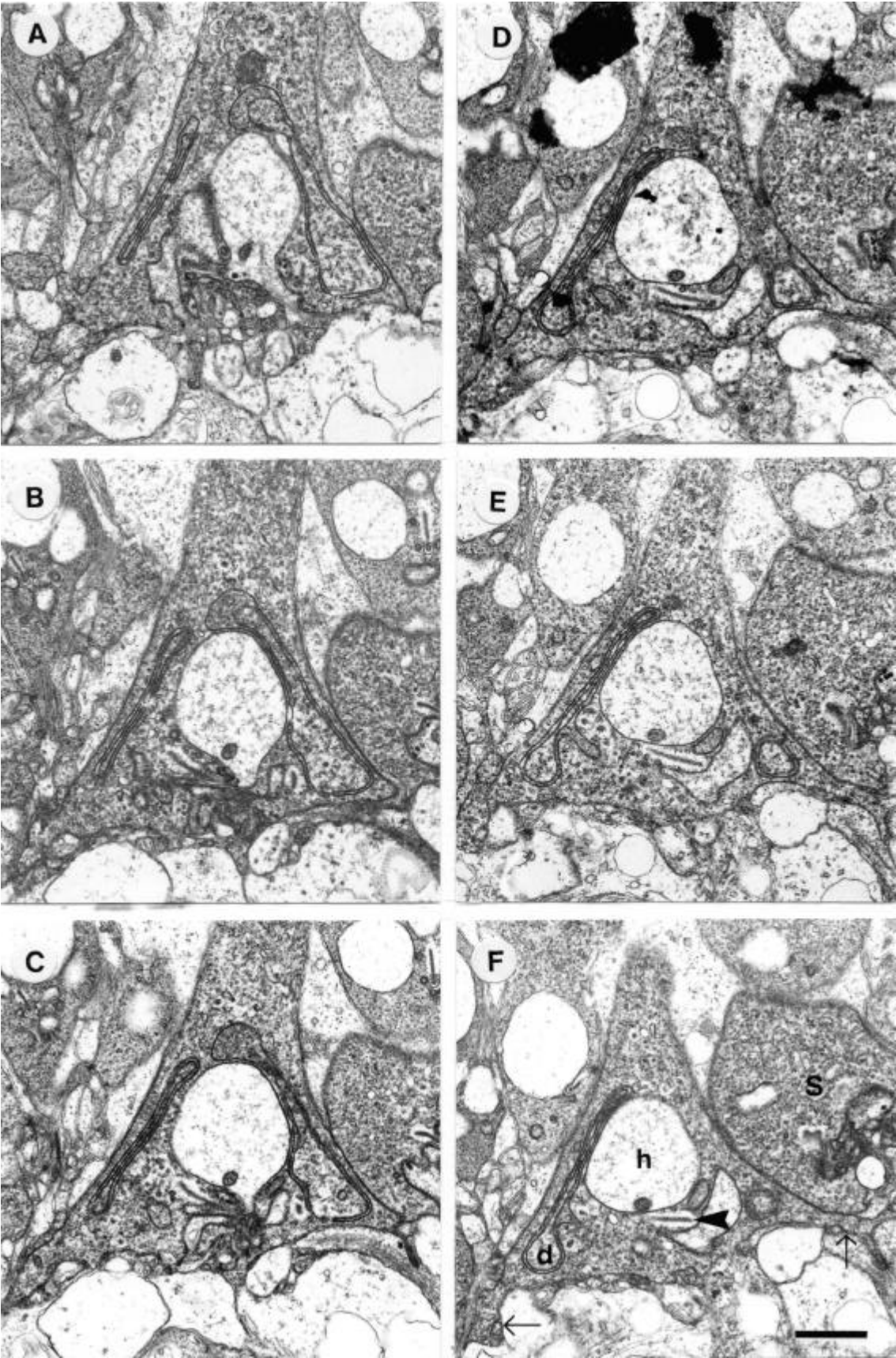
#### TEM-Radialschnittserie durch eine Zapfenterminale

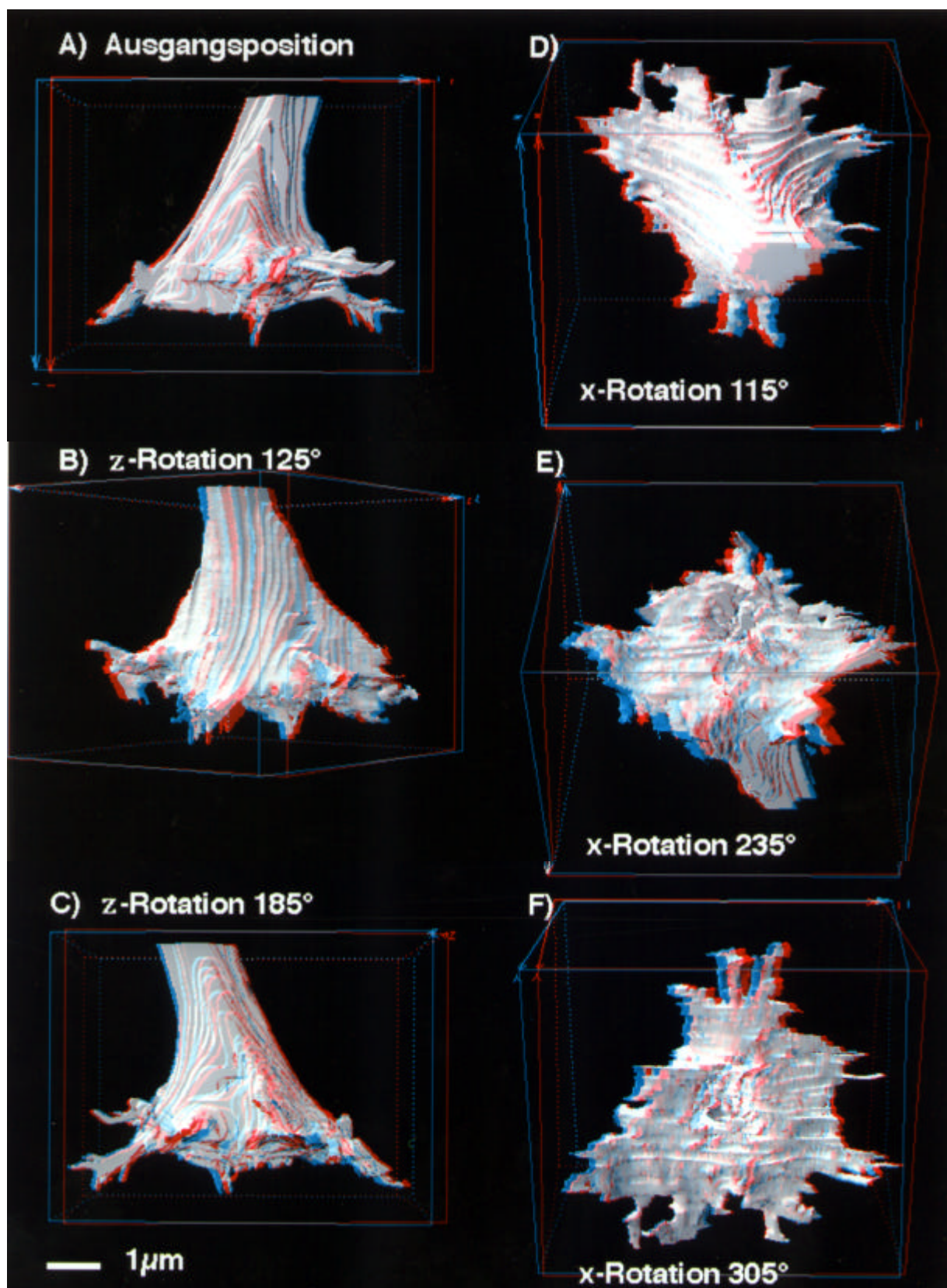
(S.151)

Gezeigt werden 6 Ebenen aus dem Zentrum eines Pedicle (langer Zapfen) im Abstand von ca. 90nm. Beachte die Telodendriten an der Pediclebasis und die schrittweisen Umrißveränderungen des Pedicles, der Ribbons, der Divertikel und der Horizontalzellendriten.

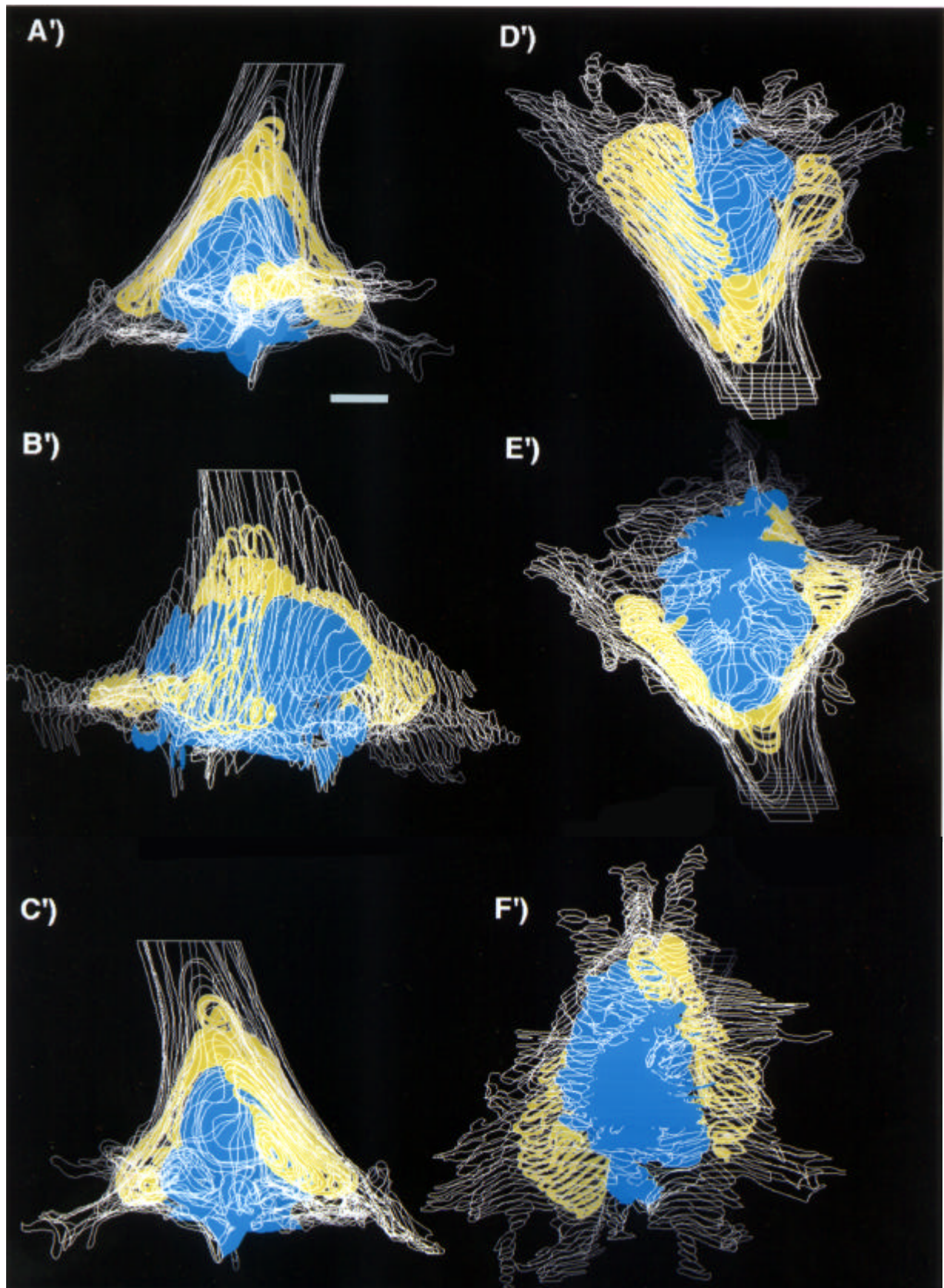
Labeling in 3.32F: < Ribbon, ® Telodendriten, **d** Divertikel, **h** Horizontalzellendrit, **S** Stäbchenterminale. **Balken:** 1µm.











< **Abbildung 3.33**

**3D-Rekonstruktionen aus der Radialschnittserie** (Abbildungslegende zu S. 151/152)

Von 56 Schnittebenen durch einen Pedicle (lückenlose, radial geführte Ultradünnschnittserie durch den Fuß eines langen Zapfens) wurden die Zellmembrankonturen manuell extrahiert und computergestützt zu einem 3D-Datensatz arrangiert. Gezeigt werden ausgewählte Projektionen der Pedicleoberfläche (**A-F**) und von den Kavitäten im Inneren des Pedicle (**A'-F'**).

**blau:** Sekundärneuronendendriten, **gelb:** Divertikel. **Balken:** 1µm.

**A/A'** Ausgangsposition

**D/D'** x-Achsen Rotation 115°/145°

**B/B'** z-Achsen Rotation 125°

**E/E'** x-Achsen Rotation 235°

**C/C'** z-Achsen Rotation 185°

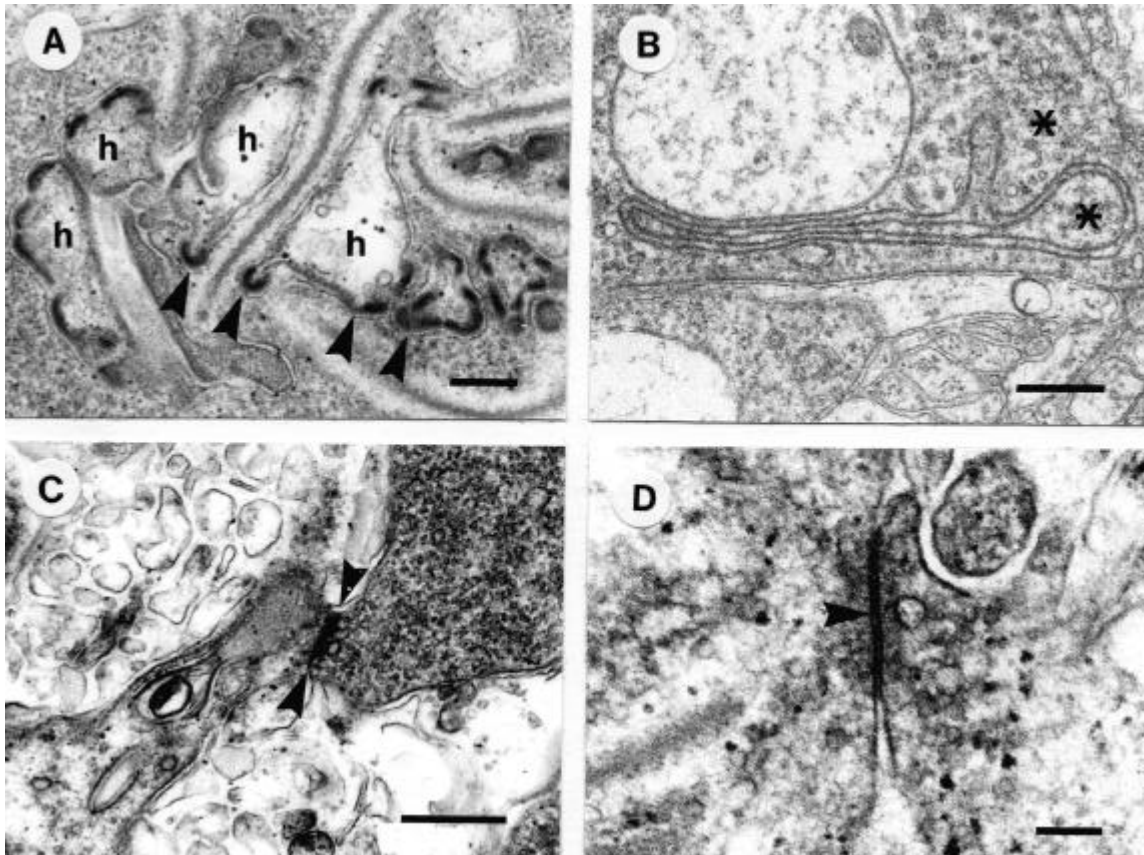
**F/F'** x-Achsen Rotation 305°

Zur Betrachtung der 3D-Anaglyphen (Abb. 3.33A-F) muß die Rot-Grün-Brille verwendet werden, die sich im Rückendeckel befindet (rote Folie vor das linke Auge!).

---

Eine Variante des intrapediculären Membranfaltensystems sind sogenannte „Divertikel“. Es handelt sich dabei um mehr oder weniger abgeflachte Einstülpungen (durch Photorezeptoren oder Sekundärneuronen?), die sich lateral bis skleral im Pedicle befinden und die ihrerseits vom Pedicleplasma so weit invaginiert werden, daß von ihnen nur ein schmaler, taschenförmiger Saum übrig bleibt (Abb. 3.32; 3.33A'-F': gelb eingefärbte Strukturen; 3.34B).

Der Versuch, die Anschnitte von potenziellen Horizontal- und Bipolarzellendendriten, sowie von Divertikeln anhand von Ultradünnschnittserien räumlich genau zu verfolgen, gelang am neuroanatomisch unbehandelten Material leider nur streckenweise bzw. nur unvollständig (siehe auch Kapitel 3.2.4 und 4.8).



**Abbildung 3.34** Details zu den Zapfenpedicles (TEM)

Ü

**A)** Die Pfeilspitzen weisen auf noppige Verdichtungen („spinules“) an der postsynaptischen Membran der Horizontalzeldendriten (**h**) innerhalb eines Zapfenfüßchens.  
Tangentialschnitt, **Balken:** 250nm.

**B)** Nahansicht eines „Divertikels“ im Radialschnitt durch ein Zapfenfüßchen (vgl. Abb.3.32E): durch Invagination des Pedicleplasmas (\*) erhält der Divertikel ein schlauchförmiges Erscheinungsbild. Vgl. Abb. 3.33A'-F': gelb eingefärbte Strukturen. **Balken** 500nm.

**C)** Die Telodendriten diagonal gegenüberliegender langer Zapfen bilden an ihrer Kontaktstelle eine gap-junction aus (>). **Balken:** 500nm.

**D)** Elektronendichte Kontaktstelle zwischen den Telodendriten sich diagonal gegenüberliegender kurzer Zapfen (>). **Balken:** 100nm.

### 3.2.3 Drei Horizonte von Horizontalzellen und Hinweise auf die Verschaltung von H1-Zellen mit den Zapfen

Gemäß dem Grundplan einer Vertebraten-Netzhaut bilden die Somata der Horizontalzellen auch bei der Europäischen Sardelle die am weitesten skleral gelegene Schicht an Sekundärneuronen in der ONL. Die Lage und Verteilung der Horizontalzellen wird im lichtmikroskopischen Bild von ihren dunkel angefärbten Kernen angezeigt (Abb. 3.1A; 3.36D). Sie befinden sich zwischen den Pedicles der Photorezeptoren und den Bipolarzell-Somata und werden von letzteren durch ein relativ breites Doppelband aus Gliamaterial mit tubulärer Feinstruktur getrennt (Müller'sche Stützzellen: radiale Mächtigkeit ca. 10 $\mu$ m,  $\varnothing$  der Tubuli ca. 25-30nm, Abb. 3.35A,G). Auf geeigneten, radial geführten Semidünnschnitten ist zu erkennen, daß die Kerne der Horizontalzellen dort nicht exakt in einer Ebene liegen und daß es auch mittig zwischen den beiden tubulären Bändern abgeflachte Zellkerne gibt (Abb. 3.36D).

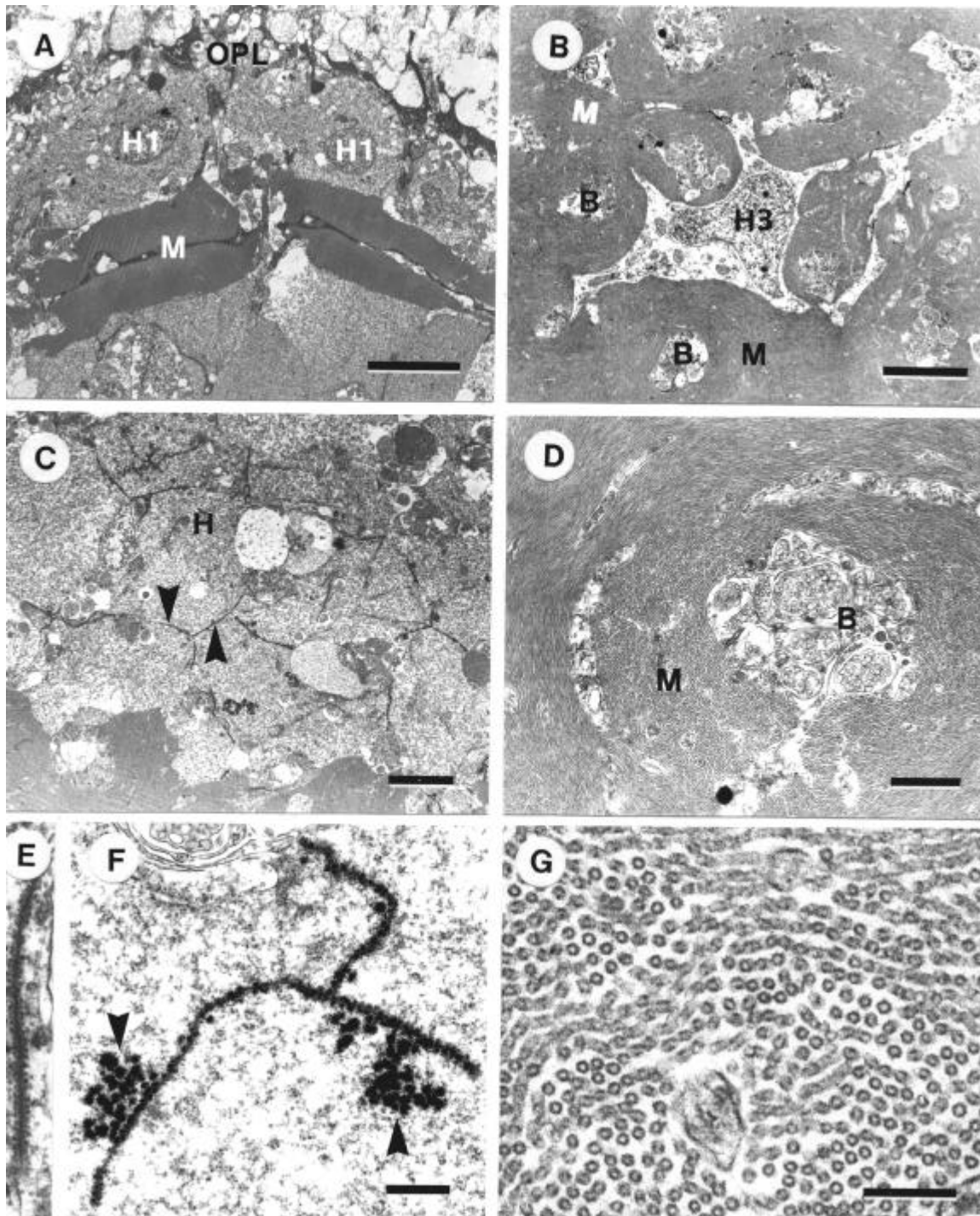
Eine genauere Untersuchung der Dichteverteilung, des Zellmusters und der Etagenbildung der Horizontalzellen in der Area temporalis erforderte die Anfertigung und Auswertung einer Tangentialschnittserie (ultradünn) durch die Region zwischen der OPL und dem oben genannten Glia-Doppelband. Die zeichnerische Extraktion der Zellkerne (Abb. 3.36E) liefert im Wesentlichen drei Erkenntnisse:

- Die Horizontalzellen liegen im untersuchten Raumelement der Retina tatsächlich in mehreren, klar unterscheidbaren Etagen. Da beim Schneiden einer rel. dünnen Netzhautschicht - auch schon bei kleinräumiger Betrachtung - die Krümmung des Augenbechers ins Gewicht fällt, erscheinen in der Schnittfolge zunächst zentral die ersten Zellkerne. Je tiefer man vitread in das Gebiet der Horizontalzellen vordringt, desto mehr Kernanschnitte kommen hinzu, bis sie in der Mitte wieder verschwinden und sich das Bild eines mehr oder weniger konzentrischen Ringes ergibt.

---

#### Abbildung 3.35: Detailaufnahmen aus dem Bereich der Horizontalzellen >

- A) Radialschnitt durch die sklerale Hälfte der ONL - Übersicht (TEM). **Balken:** 10 $\mu$ m.  
B) Tangentialschnitt durch eine H3-Zelle, eingebettet in Gliamaterial. **Balken:** 5 $\mu$ m.  
C) Schrägschnitt durch die Horizontalzellen mit breiten Kontaktzonen (>). **Balken:** 5 $\mu$ m.  
D) Tangentialschnitt durch einen Bipolarzeldendriten im „Gliamantel“. **Balken:** 1 $\mu$ m.  
E) Gap-junction zwischen zwei H-Zellen. Beachte die perlschnurartige Assoziation kugelig elektronendichter Partikel (Häufigkeit ca. 18/ $\mu$ m,  $\varnothing$  ca. 80nm). **Balken** für E und F: 500nm.



F) Gap-junction im Winkel dreier Horizontalzellen. Neben den membranassoziierten Partikeln finden sich Gruppen sehr elektrodichterer Granula von ca. 200nm  $\varnothing$  (>: „Nemosomata“).  
 G) Hochauflösende Aufnahme der Müller-Tubuli. **Balken:** 200nm, Endvergrößerung 74000x.

**B** Bipolarzell-Dendrit, **H** Horizontalzellen, **M** „Müllerfasern“, **OPL** äußere plexiforme Schicht.

Dieser Effekt wiederholt sich auf dem Weg zum und durch das Doppelband noch zwei Mal, wodurch man folglich eindeutig auf drei Kernhorizonte schließen kann - sie werden künftig als H1- bis H3-Horizont bezeichnet. Die H3-Zellen liegen zwischen den beiden Bahnen des „Müller-Doppelbandes“ (Abb. 3.36D; in Abb. 3.36E sind nur die Etagen der H1- und H2-Kerne dargestellt).

- Die Größe der Zellkerne der beiden Horizontalzelletagen unterscheidet sich merklich. Ihre maximalen Querschnittsflächen betragen in der skleralen Etage im Mittel  $30\mu\text{m}^2$ , in der mittleren dagegen  $50\mu\text{m}^2$ . Der Vergleich mit den H3-Kern-Dimensionen wurde aufgrund ihrer sehr unregelmäßigen Form unterlassen.
- Die Horizontalzellichte der Etagen 1 und 2 unterscheidet sich ganz deutlich mit ca.  $71\text{ Zellen}/10^4\mu\text{m}^2$  in der skleralen und ca.  $32\text{ Zellen}/10^4\mu\text{m}^2$  in der vitrealen Lage - das Dichteverhältnis von H1: H2 beträgt somit ca.  $2.2 : 1$ . Der optische Eindruck eines Quadratmusters der H1-Kerne kann durch Messung der Mittelpunktsabstände benachbarter Zellkerne bestätigt werden. Es findet sich eine zweigipfelige Verteilung der Abstände mit Maxima bei  $5.6\mu\text{m}$  und  $7.7\mu\text{m}$ . Der Quotient aus den beiden Maxima beträgt  $0.73$  und liegt nahe am Erwartungswert für die Nächster-Nachbar-Distanzen in einem Quadratmuster von  $1/\sqrt{2} = 0.71$ . Eine grobe Abschätzung der H3-Dichte aus den lichtmikroskopisch ermittelten Kernabständen ergibt ca.  $14\text{ Zellen}/10^4\mu\text{m}^2$ .

Die nächste Frage bezüglich der Organisation der Horizontalzellschicht betrifft die Form und Ausdehnung ihrer Dendritenfelder. Sie ist insbesondere deswegen so interessant, weil ihre Beantwortung erste Schlüsse auf die Verschaltung von Nervenzellen innerhalb der neuronalen Netzes „Retina“ gestatten sollte.

Die Methoden der Wahl sind in diesem Untersuchungsfeld für gewöhnlich neuroanatomische Färbungen gezielter, stochastischer oder systemischer Natur (z.B. intrazelluläre Mikroinjektion, Silberchromatfärbung nach GOLGI bzw. Antikörperfärbung auf Calbindin). Im Rahmen dieser Arbeit wurde versucht, einige dieser neuroanatomischen Methoden in unserer Abteilung zu etablieren und auf die Netzhaut der Sardelle anzuwenden (Kap. 2.3 und 3.2 ab S.165). Leider konnten gerade die Horizontalzellen einzeln bzw. als Zellverband auf diese Weise bisher nicht befriedigend dargestellt werden (siehe Abb. 3.38D,E).

Der Ausweg führte wieder einmal über die sehr zeitintensive feinstrukturelle Rekonstruktion. Aus einer Ebene im Zentrum des H1-Horizontes wurden über-

lappende TEM-Photos mittlerer Vergrößerungsstufe gewonnen und nach graphischer Extraktion der Zell- und Zellkerngrenzen zu einem großen Bild montiert (Abb. 3.36A).

Die Konturen der H1-Zellen verlaufen im Tangentialschnitt sehr unregelmäßig und sind in charakteristischer Weise stark gelappt bzw. eingeschnürt (Abb. 3.36A; 3.37E,F). Peripher nehmen die Horizontalzellen multiple Kontakte zu ihren Nachbarn auf (Abb. 3.35C,E,F; 3.37E,F). In einem Schnitt sind mehr als 20 davon zu finden, insgesamt dürften diese Strukturen mit einem Großteil der Kontaktflächen der H1-Zellen assoziiert sein. Die Membrankontakte sind sehr eng (Interzellularspalt von wenigen nm im Sinne sog. „gap junctions“) und werden auf den Innenseiten der Zellmembranen von kugeligen, elektronendichten Partikeln von ca. 80nm Durchmesser begleitet (Abb. 3.35E,F).

Die Zellen bilden dennoch kein dicht geschlossenes Gewebe, sondern lassen bei ca. 60% Flächendeckung zahlreiche Zwischenräume verschiedener Größe und Form frei, die vor allem von Anschnitten radial verlaufender Horizontalzell (H2)- und Bipolarzell-Dendriten ausgefüllt werden. Erstere verlaufen z.B. in den großen runden Lücken ( $\varnothing$  max.  $8\mu\text{m}$ ), die oft nahe an den H1-Kernen liegen, letztere werden von der Mehrzahl der kleineren, mehr oder weniger peripher gelegenen Lücken umschrieben ( $\varnothing$  minimal  $0.8\mu\text{m}$ ).

Die Dendriten der H1-Zellen entspringen dem Soma typischerweise skleral und in radialer Richtung. Deswegen sollte die Umhüllende der in maximaler Ausdehnung getroffenen Zellanschnitte Auskunft geben über die Größe des zugehörigen Dendritenfeldes. Das Dendritenfeld einer H1-Zelle in der in Abb. 3.36 dargestellten Netzhautregion mißt so im Mittel  $140\mu\text{m}^2$ . Die Somata sind leicht miteinander verzahnt, daher ist nicht auszuschließen, daß sich auch die dendritischen Felder der H1-Zellen etwas überlappen.

Abb. 3.36B zeigt in der gleichen Darstellungsform wie Abb. 3.36A eine Ultradünnschnittebene aus dem Netz der H2-Zellen. Für diesen Zelltyp ergibt sich ein grundsätzlich ähnliches Bild wie für die ca.  $2\mu\text{m}$  weiter skleral gelagerten H1-Zellen. Bei geringerer Zelldichte (s.o.) haben die Somaanschnitte eine größere Flächenausdehnung (im Mittel  $310\mu\text{m}^2$ ) und eine etwas bizarrere Kontur. Auch sie sind miteinander via „gap junctions“ verbunden (in der Zeichnung ist an den Berührungsstellen der Übersicht halber ein Spalt gelassen:  $\times$ ) und lassen ein Lückensystem frei, das etwas gröber ausfällt als das der kleinen Lücken im H1-Netz.

Es finden sich pro Flächenelement auch zahlenmäßig weniger Freiräume. Darin liegen vor allem die Anschnitte von Bipolardendriten (und Müllerzellen?), die hier naturgemäß noch massiver und weniger verzweigt sind als auf der Höhe der H1-Zellen.

Auch die H3-Zellen haben im Tangentialschnitt eine unregelmäßig sternförmige Kontur (Abb. 3.36C), treffen sich aber nur an den Spitzen ihrer horizontalen Ausläufer. Zwischen ihnen befinden sich massive, rundliche Massen von Gliamaterial, welches die radial verlaufenden Ausläufer der Bipolarzellen zu isolieren scheint (Abb. 3.35B,D). Erst die Projektion der Zellumrisse aus mehreren benachbarten Semidünnschnitten liefert eine geeignete Ansicht des H3-Zell-Netzes (Abb. 3.36C).

Eine der wohl interessantesten Fragen zum Bau der Sardellenretina ist die nach der Konnektivität der Photorezeptoren in der OPL. Das regelmäßige Muster der Zapfen, speziell auch auf der Ebene der Pedicles, und die charakteristische Ribbonverteilung in zumindest einem der beiden Zapfentypen (langer Zapfen) lassen vermuten, daß die Verschaltung dieser Photorezeptoren mit den Horizontal- und Bipolarzellen ebenfalls in geometrisch regelmäßiger Art und Weise erfolgen sollte.

---

**Abbildung 3.36: Die 3 Etagen der Horizontalzellen und ihre Zellmuster** >

**A)** TEM-gestützte Montage von 33 H1-Kernen (**n**), 20 davon mit Perikaryon (**p**). Drei benachbarte Reihen der unmittelbar skleral der Horizontalen befindlichen Polycone-Pedicles wurden in die Zeichnung integriert. **l** Pedicle langer Zapfen, **s** Pedicle kurzer Zapfen, \* große Lücke für H2-Dendriten, > kleine Lücken für Bipolardendriten, **x** Zellkontakte, + markiert die Ecken des Ausschnitts, unter dem sich die H2-Zellen von Abb. B befinden, **1** H1-Kern: der gleiche Kern ist in Abb. E markiert. **Balken:** 10µm, Endvergrößerung 1800x.

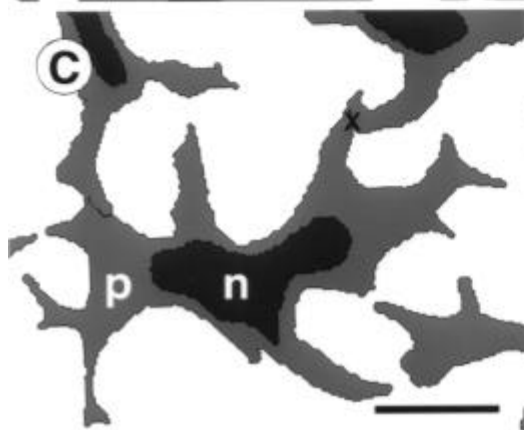
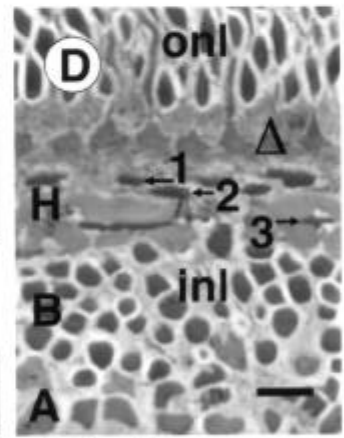
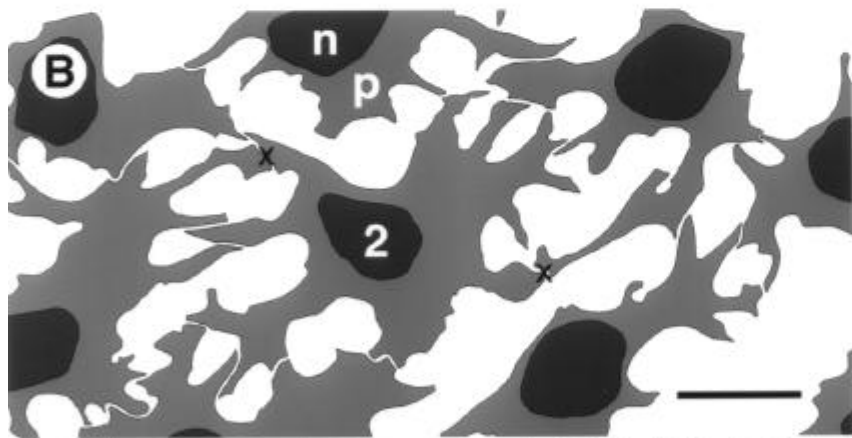
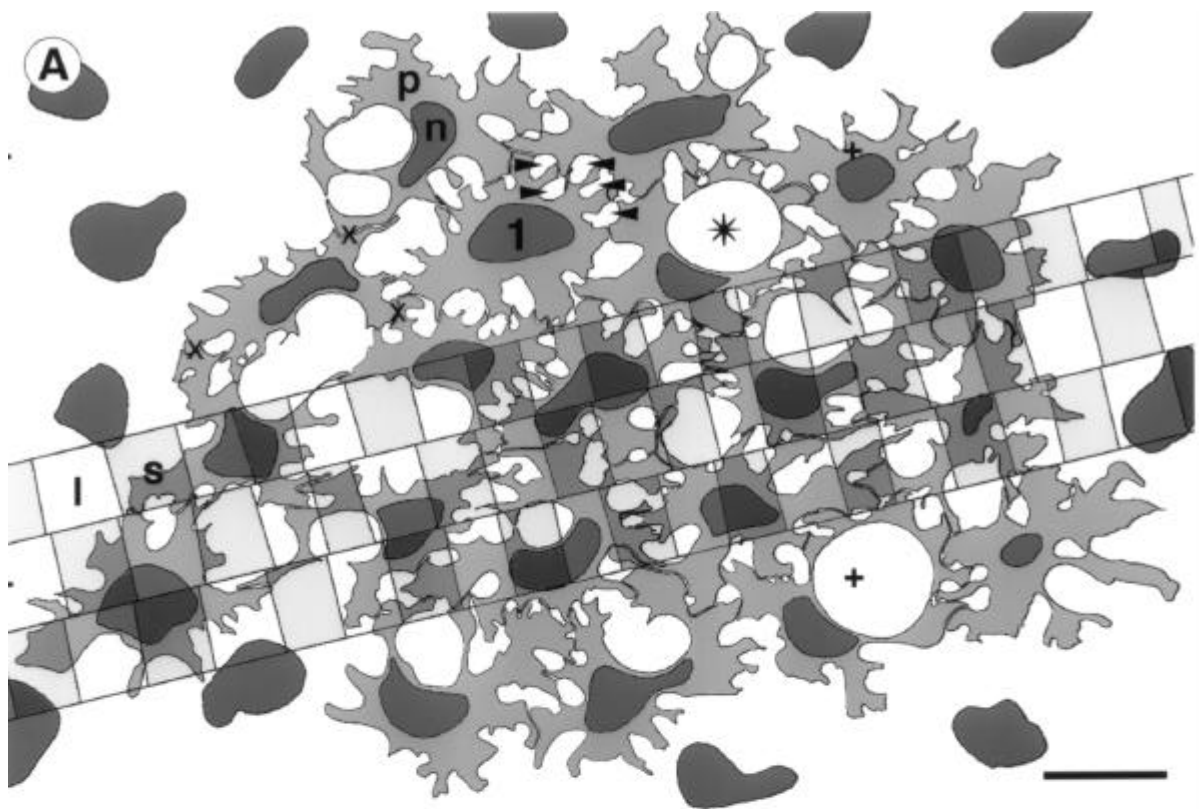
**B)** TEM-gestützte Montage der H2-Zellen, die genau vitreal des mit + markierten Areals in Abb. A liegen. **n** Kern, **p** Perikaryon, **x** gap junctions, **2** H2-Kern: der gleiche Kern ist in Abb. E markiert. **Balken:** 10µm, Endvergrößerung 1800x.

**C)** LM-gestützte Montage von H3-Zellen nach Ermittlung des größten Zellumfanges aus 3 benachbarten Semidünnschnitten. **n** Kern, **p** Perikaryon, **x** gap junctions, **Balken:** 10µm.

**D)** Radialer Semidünnschnitt durch die zentrale Retina von *Engraulis encrasicolus*. **inl** innere Körnerschicht mit den Kernen von Horizontal- (**H**), Bipolar- (**B**) und Amakrinzellen (**A**), **onl** äußere Körnerschicht mit Stäbchenkernen, **D** Zapfenterminale, **1-3** Ebenen der H1- bis H3-Zellkerne. **Balken:** 10µm, Endvergrößerung 800x.

**E)** TEM-gestützte Projektion der Horizontalzell-Kernstrata von skleral gesehen. Die H1-Kerne (**schwarz**) liegen skleral, die H2-Kerne (**grau**) vitreal. **1, 2** und +: Markierungen wie in Abb. A und B. **Balken:** 10µm, Endvergrößerung 900x.





Erste Versuche zur Annäherung an ein Verständnis der neuronalen Verschaltung innerhalb der OPL von *Engraulis encrasicolus* wurden im Rahmen dieser Arbeit unternommen:

Zunächst kann man aus einer tangential geführten Ultradünnschnittserie bei relativ schwacher Vergrößerung die horizontalen Muster der Zapfenpedicles und der H1-Zellen zur Deckung bringen (Abb. 3.36A). Es ist peinlich darauf zu achten, daß die Ausrichtung von aufeinanderfolgenden Schnittbildern zueinander sehr genau erfolgt, um Artefakte durch translationale und/oder rotationale Verschiebungen weitestgehend zu vermeiden. Anhand dieser Montage kann nun bestimmt werden, mit wie vielen Zapfenfüßen eine Horizontalzelle in der untersuchten Retinaregion und bei strikt radialer Dendritenbildung maximal bzw. im Mittel verbunden sein kann.

Abgebildet sind die Umrisse von 20 Horizontalzellen (und weiterer 13 Zellkerne, deren Somata teilweise außerhalb des Bildrahmens liegen würden), sowie ein Raster etwas unregelmäßiger Rechtecke, die die Umrisse von knapp 200 Pedicles repräsentieren sollen. Die 20 Horizontalzellen werden von ca. 115 Pedicles überdeckt - läßt man auch relativ kleine Überlappungen gelten, so steigt der Wert auf ca. 125. Im Mittel fallen so auf jede H1-Zelle 5.7 bis 6.2 Zapfenfüße. Die Terminalen langer und kurzer Zapfen sind dabei offensichtlich gleichberechtigt. Ein Überlappungsindex von 5.6 ergibt sich auch als Quotient der Pedicle- und H1-Zelldichten im untersuchten Raumelement der Sardellenretina ( $400 \text{ Zapfenterminalen}/10^4 \mu\text{m}^2$  vs.  $71 \text{ H1-Zellen}/10^4 \mu\text{m}^2$ ).

---

**Abbildung 3.37: 3D-Projektion einer H1-Zelle mit „ihren“ Zapfenterminalen >**

(Zur Betrachtung von Abb. 3.37A/B verwende man die Rot-Grün-Brille - siehe Rückendeckel)

**A)** Die 3D-Projektion von 60 gefüllten Zellumrissen aus einer Tangentialschnittserie durch eine H1-Zelle vom Zentrum der Kernregion bis zu den skleralen Spitzen ihrer Dendriten vermittelt ein räumliches Bild dieser Zelle. Ebenfalls integriert sind die Umrisse der vitrealen Basen der über der untersuchten H1-Zelle gelegenen Pedicles der langen Zapfen. **Balken:** 5 $\mu\text{m}$ .

**B)** Projektion wie **A** mit den Pedicle-Umrissen der kurzen Zapfen. **Balken** 5 $\mu\text{m}$ .

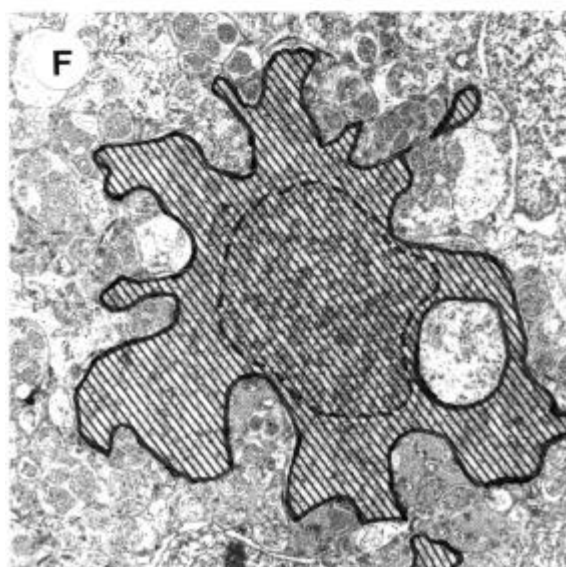
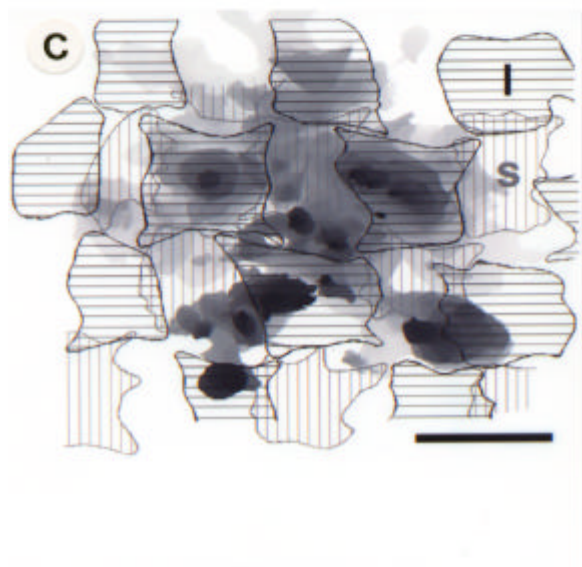
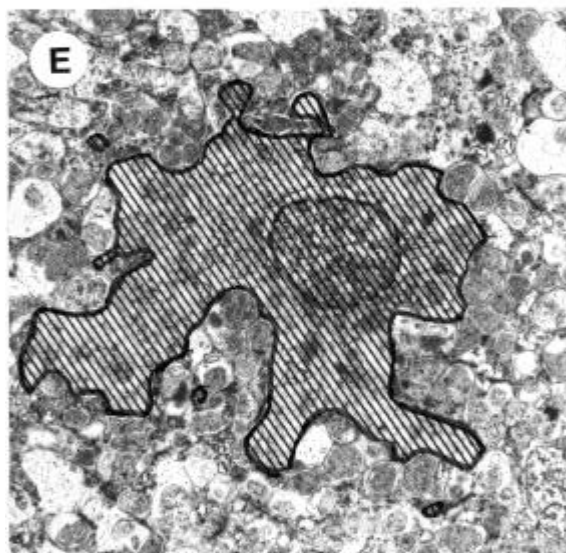
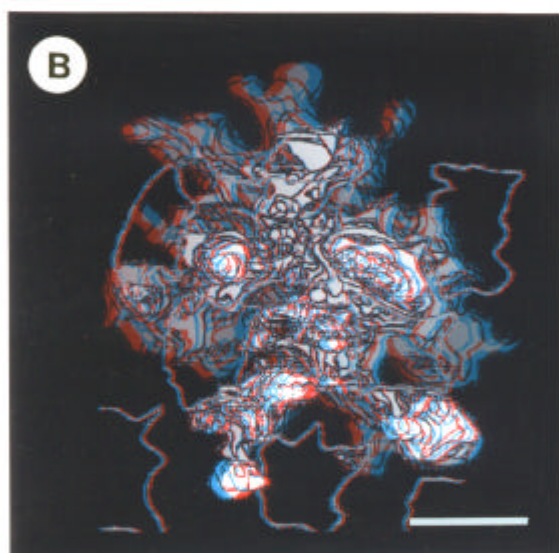
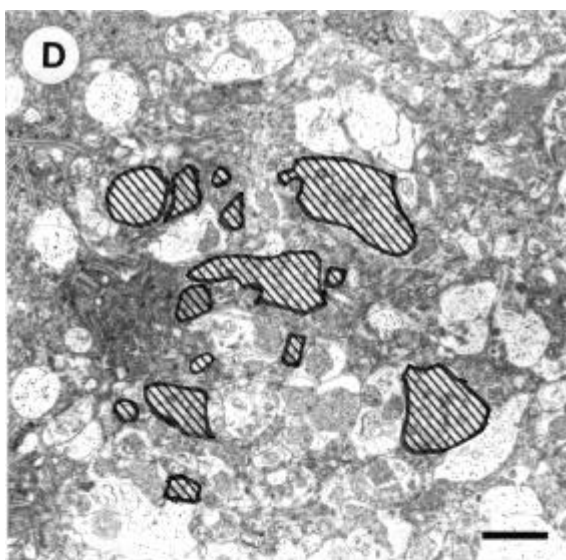
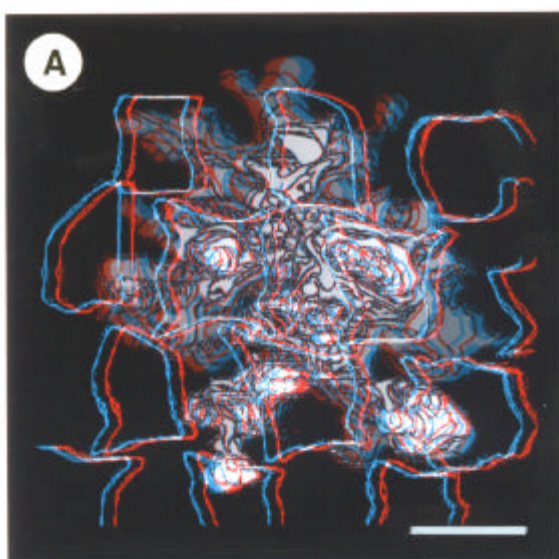
**C)** Schwarz-Weiß-Projektion mit den Pedicleumrissen beider Zapfentypen (**l, s**).

**Balken:** 5 $\mu\text{m}$ . (Vergleiche auch mit den Rohdaten: Abb. 2.5, Seite 71).

**D)** TEM-Photo aus der Serie in Höhe der Pedicles der kurzen Zapfen. H1-Dendriten schraffiert.

**E)** TEM-Photo aus der Serie knapp vitreal des skleralen Kernpoles der H1-Zelle.

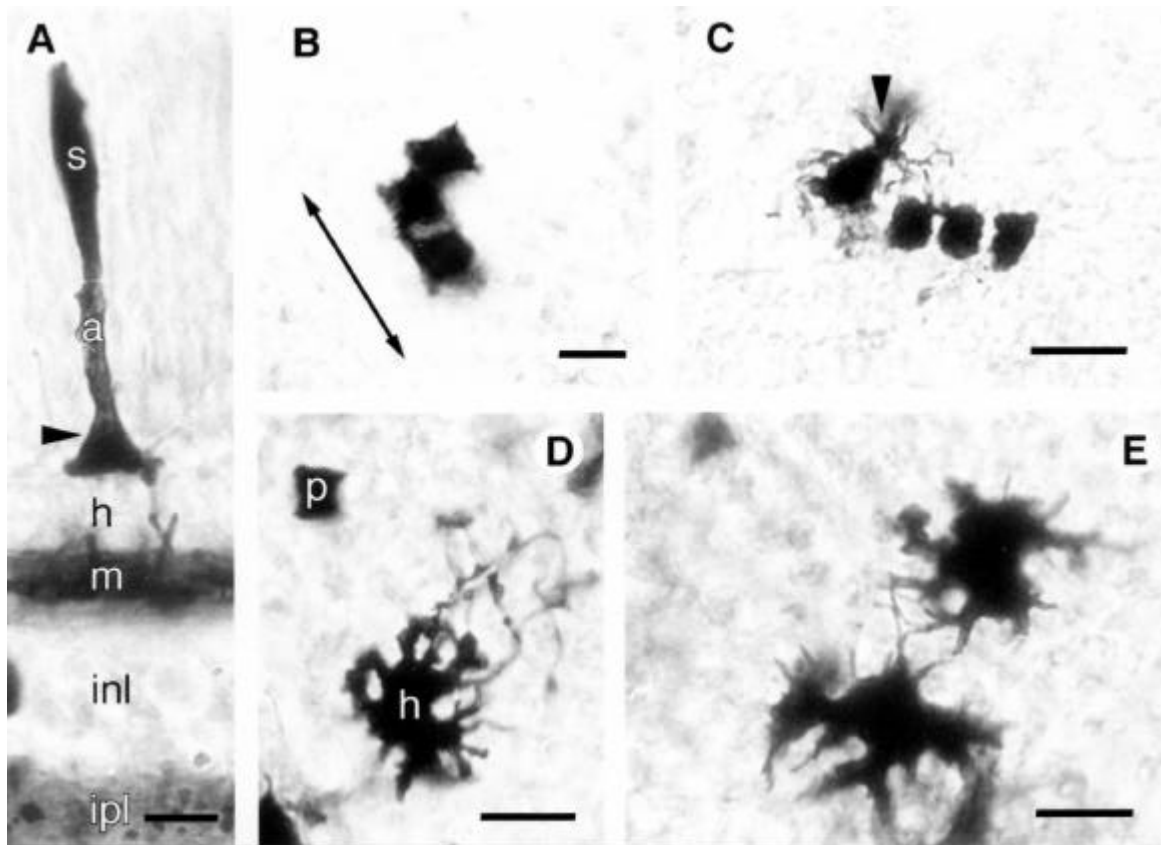
**F)** TEM-Photo vom vitrealen Ende der Serie. **Balken** für **D-F:** 2 $\mu\text{m}$ .



Jeder Zellumriß für sich betrachtet ist von 6 bis 12 Pedicles überdeckt, je nachdem bis zu welchem Grad auch kleinere Überdeckungen berücksichtigt werden. Betrachtet man im Gegenzug die Überdeckung von einzelnen Zapfenfüßen mit Teilen von H1-Umrissen, so ergibt sich, daß von den 78 eindeutig abgedeckten Pedicles ca. 30% mit einer, 50% mit zwei und 20% mit drei H1-Horizontalen in Verbindung stehen könnten. Läßt man sehr kleine Überdeckungen nicht gelten, so erniedrigt sich der Prozentsatz der Triaden zugunsten der Dyaden. Vergrößert man die Darstellung, so wird ersichtlich, daß eine Horizontalzelle in der Regel mit Zapfenfüßen aus 2 oder 3 benachbarten Polycones verbunden sein dürften: 2/3 der Zellen (13) scheinen unter zwei Zapfenreihen zu liegen, 1/3 der Zellen (7) unter drei.

Der zweite Versuch, genaueres über die Verschaltung zwischen Zapfen und Horizontalzellen zu erfahren, bedient sich der hochauflösenden, dreidimensionalen Rekonstruktion einer einzelnen H1-Zelle. Anhand einer lückenlosen, tangential geführten Ultradünnschnittserie von der Kernregion des H1-Horizonts bis hinauf zur Ebene der Terminalen der langen Zapfen wurde versucht, die Zellumrisse der Horizontalzelle und ihrer Dendriten möglichst zuverlässig und möglichst weit nach skleral zu verfolgen (Abb. 3.37).

Die untersuchte H1-Zelle hat in ihrem Kernbereich den typischen, unregelmäßig gelappten Querschnitt, wie er schon von Abb. 3.36A bekannt ist. Je weiter skleral man den Zellumriß verfolgt, desto kleiner wird die Anschnittsfläche und desto stärker schnüren sich die Buchten und Furchen ein, bis sich verschiedene Bezirke voneinander trennen. Diese separierten Flächen, die sich in der Rekonstruktion als kohärent mit der Horizontalzelle erweisen, stellen die basalen Anschnitte der H1-Dendriten dar. Sie lassen sich als Säulen oder „Zipfel“ mit unregelmäßigem und sich skleral verjüngendem Querschnitt beschreiben und bis knapp unter die Pedicle-Basen der langen Zapfen verfolgen (Abb. 3.37D). Die untersuchte Zelle stellt sich mit dieser Methode als 5-gipfeliges Gebilde dar, wobei die Dendritenspitzen in diesem speziellen Fall im Zentrum und an den Balkenenden eines gedachten Kreuzes liegen (mittlerer Abstand ca. 5µm). Die Gipfel sind apikal mehr oder weniger zerfurcht bzw. gespalten und überragen die Ebene der Terminalenbasen der kurzen Zapfen deutlich (Abb. 3.37B). Die Einbindung der Pediclebasen-Umrise beider Zapfentypen in die Rekonstruktion bei sorgfältigem „alignment“ der insgesamt 60 Schnittebenen deutet in überzeugender Weise darauf hin, daß die Dendriten dieser Horizontalzelle selektiv zwischen den Pedicle-Basen der kurzen Zapfen nach skleral ziehen und die Pedicles der langen Zapfen kontaktieren.



**Abbildung 3.38: Golgifärbung von Zapfenterminalen und Horizontalzellen** Ü

A) Soma (s), Axon (a) und Pedicle (▷) eines Sardellenzapfens sind mit Silberchromat gefüllt. Vitreal davon sind Müller-Fasern (m) gefärbt. Die dazwischen gelegenen H1- und H2-Horizonte (h) erscheinen hell. inl: vitrealer Bereich der inneren Körnerschicht, ipl: innere plexiforme Schicht. Radialschnitt, **Balken:** 5µm.

B) Drei benachbarte Zapfenfüßchen aus zwei Polycones (die Zapfenreihen verlaufen in Pfeilrichtung). Beachte die quadratische Form der Pedicles und die an den Ecken spitz ausgezogenen Telodendriten. Tangentialschnitt, **Balken:** 5µm.

C) Vier Zapfenfüßchen im Tangentialschnitt und das Dendritenbäumchen einer Bipolarzelle (Ü). **Balken:** 10µm.

D) Chromatingefüllte Horizontalzelle (h) im Tangentialschnitt - daneben „zum Größenvergleich“ ein Zapfenfüßchen (p). **Balken:** 10µm.

E) Zwei Horizontalzellen aus der Sardellenretina. **Balken:** 10µm.

### 3.2.4 Bipolarzellen

Die Darstellung individueller Bipolarzellen mittels serieller Rekonstruktion am ungefärbten Material führt aufgrund der filigranen Dendritenbäume im „Kabelgewirr“ der OPL in der Regel nicht zu verlässlichen Ergebnissen. Auch der Versuch, diesen Zelltyp mittels intrazellulärer Mikroinjektion zu erreichen gestaltete sich wegen der zentralen Lage in der Retina als sehr problematisch. Erfolgreicher waren dagegen stochastische Verfahren wie die GOLGI-Färbung (Abb. 3.39 C,F) und die DiI-Applikation (Abb. 3.39A,B). Die RICHARDSON-Färbung von Semidünnschnitten enthüllt ebenfalls manchmal - ohne erkennbare Regelmäßigkeit - die Form einzelner Bipolarzell-Dendritenfelder (ohne Abb.).

Anhand der Dendritenbaum-Morphologie lassen sich für *Engraulis* bisher drei Typen von Bipolarzellen unterscheiden:

- Solche mit ovalen, locker verzweigten, exzentrischen und relativ ausgedehnten rezeptiven Feldern - Abbildung 3.39A/A' stellt zwei dieser Zellen dar. Ihre Dendritenbäume haben einen Einzugsbereich von  $>5000\mu\text{m}^2$  unterhalb von 7-8 Polycones. Ein struktureller Bezug zum Photorezeptormuster ist lediglich in der Ausrichtung der Exzentrizitätsachse zu erkennen: die Verbindungslinie zwischen Somaposition und Mitte des Feldes liegt ungefähr senkrecht zum Verlauf der Polycones.

---

#### Abbildung 3.39: Bipolarzellen in der Sardellenretina

>

**A)** 3D-Darstellung zweier exzentrischer, diffuser Bipolarzell-Dendritenbäume nach DiI-Aufnahme (konfokales Lasermikroskop). **Balken:** 50 $\mu\text{m}$ .

**A')** Negative extended-focus Darstellung von **A** und Nachzeichnung der skleral der Dendritenbäume gelegenen der Polycone-Grenzen. **Balken** 50 $\mu\text{m}$ .

**B)** Kontrastverstärkte extended-focus Darstellung eines rechteckigen Bipolarzell-Dendritenbäumchens nach DiI-Aufnahme (konfokales Lasermikroskop). Der Verlauf der Photorezeptorreihen diagonal im Bild und parallel zu den Dendritenkämmen ist andeutungsweise zu erkennen **Balken:** 5 $\mu\text{m}$ .

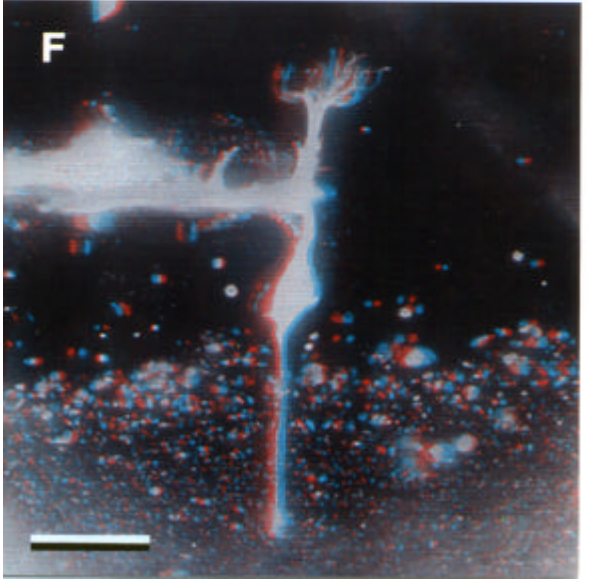
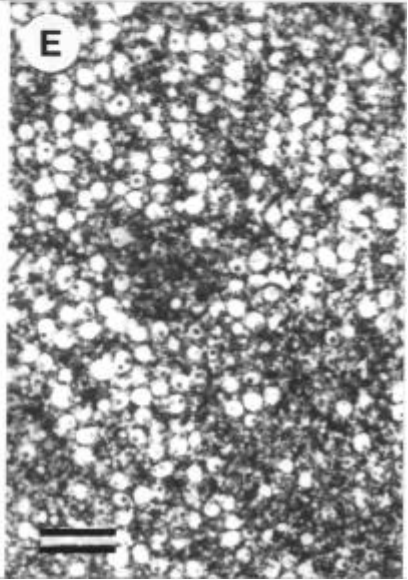
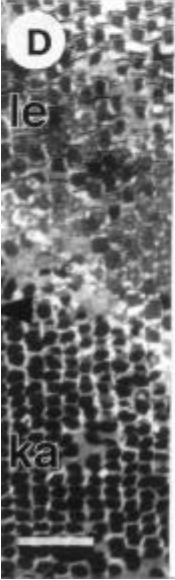
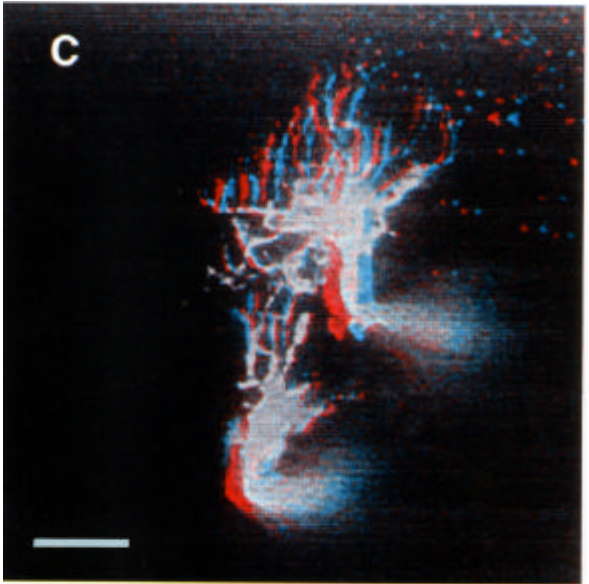
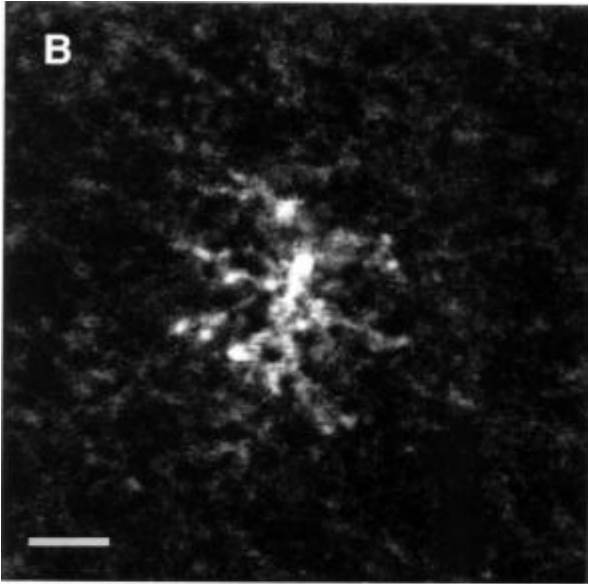
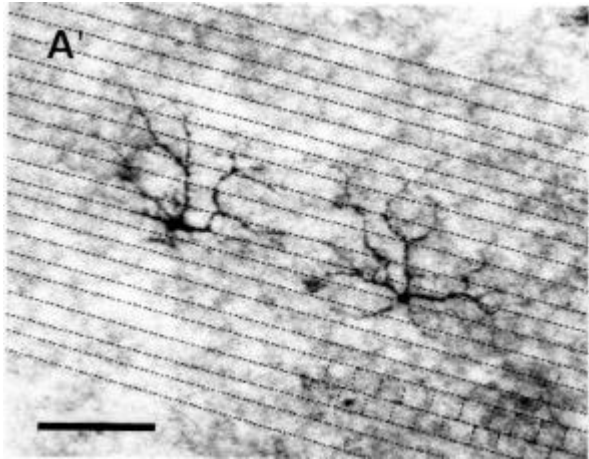
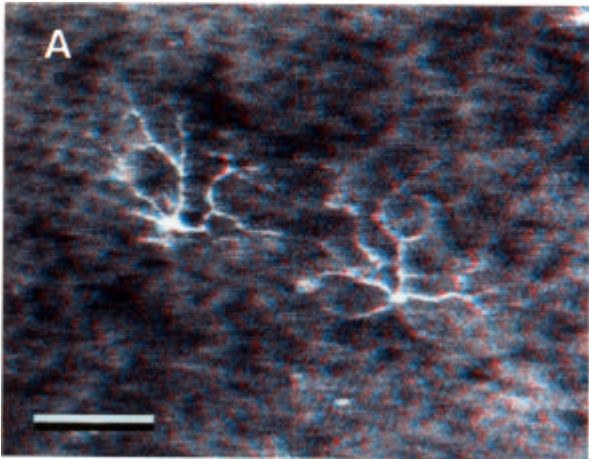
**C)** 3D-Rekonstruktion eines vollständig gefüllten rechteckigen und eines unvollständig gefüllten Bipolarzell-Dendritenbaumes aus einer Serie optischer Schnitte durch ein GOLGI-Präparat mit einem konventionellen Lichtmikroskop. **Balken:** 10 $\mu\text{m}$ .

**D)** Semidünnschnitt (tangential) durch die Photorezeptoren der ventro-temporalen Sardellenretina zum Größen- und Orientierungsvergleich für **E. le** Ellipsoide und Außenglieder der langen Zapfen, **ka** gespaltene Außenglieder der kurzen Zapfen. **Balken:** 25 $\mu\text{m}$ .

**E)** Tangentialschnitt durch das 2. Substratum der IPL. Beachte das Reihenmuster der Bipolarzell-Endköpfchen - die Flächendichte beträgt 50% der Rezeptordichte. **Balken** 25 $\mu\text{m}$ .

**F)** 3D-Rekonstruktion einer komplett gefüllten Bipolarzelle (GOLGI, LM). **Balken:** 20 $\mu\text{m}$ .

Zur Betrachtung der 3D-Projektionen verwende man die Rot-Grün-Brille (→ Rückendeckel).



- Solche mit ovalen, aber zentrischen rezeptiven Feldern (aus RICHARDSON-Färbung, ohne Abbildung).
- Und Zellen mit rechteckigen Feldern relativ geringer Ausdehnung deren Morphologie dem Reihemuster der Photorezeptoren folgt und letzteren dabei vorzugsweise drei parallele „Kämme“ von Dendriten entgegenschickt. Die Darstellung dieses auffälligen und ungewöhnlichen Zelltyps gelang reproduzierbar mit zwei verschiedenen Methoden: die Zelle in Abb. 3.39B (DiI-Diffusion) deckt eine Fläche von ca.  $180\mu\text{m}^2$ , die in 3.39C (GOLGI-Imprägnierung) von ca.  $230\mu\text{m}^2$  ab. Beide Zellen zeigen eine relativ hohe Dendritendichte entlang der Polycone-parallelen Kämme.

Weitere Informationen zur Organisation der Bipolarzellen in der Sardellenretina läßt sich aus einer tangential geführten Semidünnschnittserie durch die neuroanatomisch unbehandelte Netzhaut gewinnen:

Auf Höhe des am weitesten skleral gelegenen, lockeren Substratums der IPL (Substratum 2 nach Kap. 3.1.3, S. 83) erkennt man ein Reihemuster der kugeligen Bipolarzell-Terminalen. Die Reihen verlaufen parallel zu den Photorezeptorreihen und in der gleichen Frequenz. Längs dieser Reihen beträgt die Dichte der Endköpfchen ziemlich genau 50% der Zapfendichte.

### 3.2.5 Amakrine und Ganglienzellen

Für die intrazelluläre Mikroinjektion von Lucifer Yellow in die Sardellenretina mussten die Mikropipetten von vitreal in anfixierte Netzhautstücke eingestochen werden, da sich das skleral gelegene Pigmentepithel in keinem Fall von der Neuroretina lösen ließ. Auf diesem Weg trifft man naturgemäß zuerst auf Ganglienzellen und dann - nach Durchdringung der IPL - auch auf Amakrinzellen. Weiter skleral gelegene Zelltypen konnten aufgrund des mit der Eindringtiefe zunehmenden Einflusses von Autofluoreszenz und Streuung nicht mehr kontrolliert gefüllt werden.

---

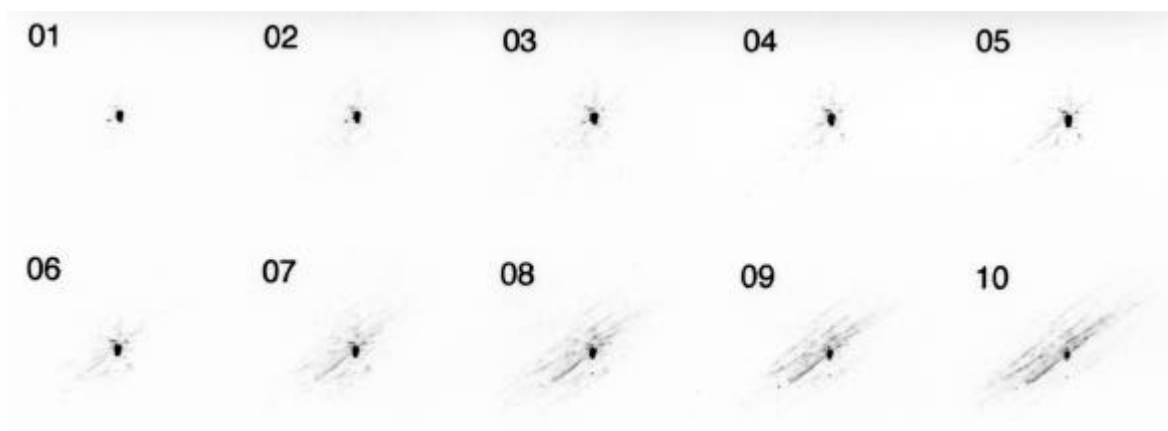
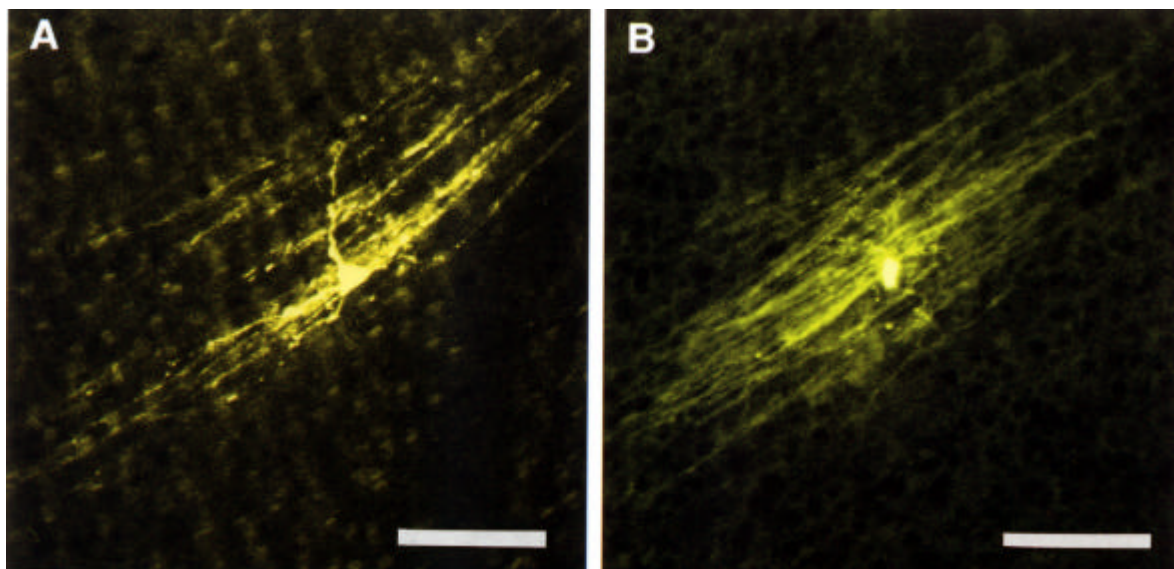
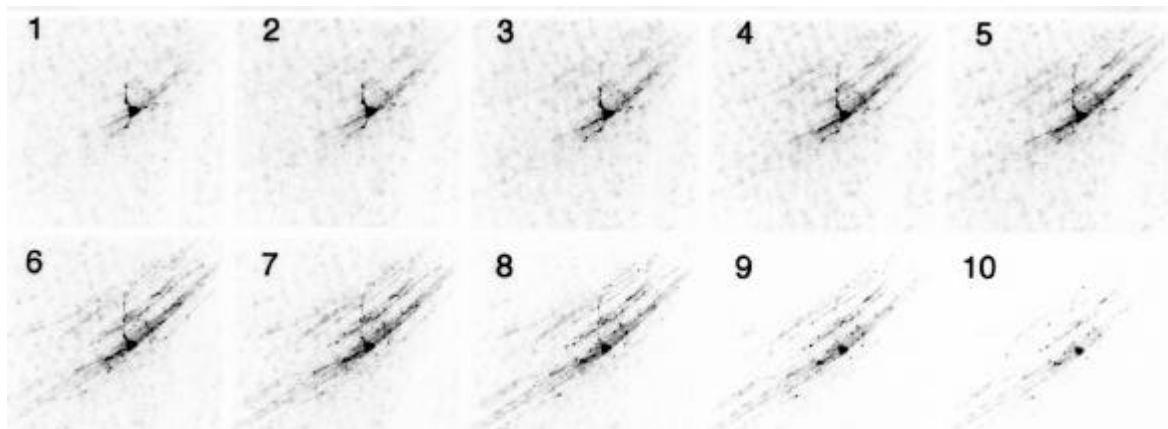
**Abbildung 3.40:**      **Amakrinzellen in der Sardellenretina (Mikroinjektion)**      >

**A)** Extended-focus Darstellung einer mit Lucifer Yellow gefüllten Amakrinzelle (konfokales Lasermikroskop). Eine Auswahl der zugrundeliegenden optischen Schnitte geben Abb. **1-10**.

**B)** Ein zweites Beispiel für eine Amakrinzelle nach der Mikroinjektion.

Grunddatenauswahl: **01-10** (unten). **Balken** für **A** und **B**:  $50\mu\text{m}$ .





Die getroffenen Amakrinzellen zeichnen sich durch ein kantiges Soma und wenige (4-6) Primärverzweigungen aus. Auffällig sind sehr feine, parallele Nervenfasern in der IPL, die sich gleichzeitig mit den Zellkörpern anfärben lassen. Sie scheinen Varikositäten der Primäräste zu entspringen, damit zur Zelle zu gehören und so ein eigenartig geformtes rezeptives Feld zu definieren (Abb. 3.40A,B).

Die getroffenen Ganglienzellen bilden Dendritenbäume im vitrealen Drittel der IPL. Von einer mehr oder weniger horizontal verlaufenden, mächtigen Primärfaser strahlen mehrere Seitenäste ab, die sich ihrerseits mehrfach verzweigen und zunehmend verzüngen. Er entsteht ein relativ weites rezeptives Feld geringer Dendritendichte. Ein Beispiel gibt Abb. 3.41.

---

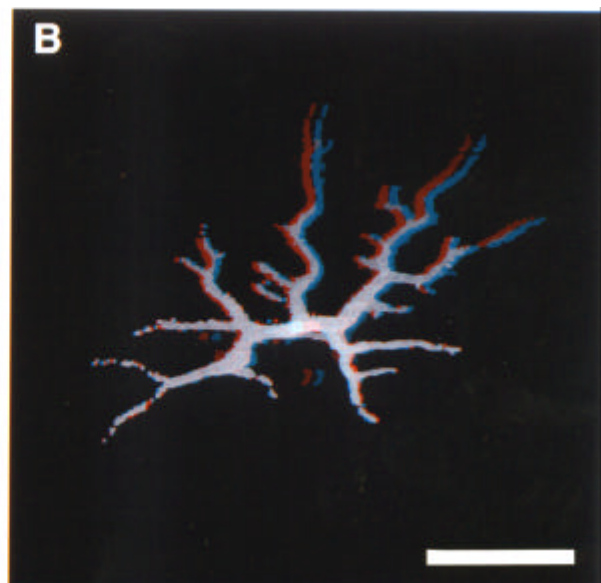
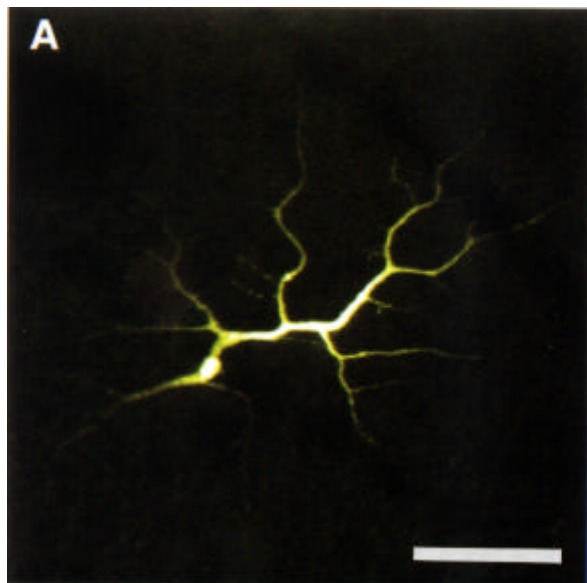
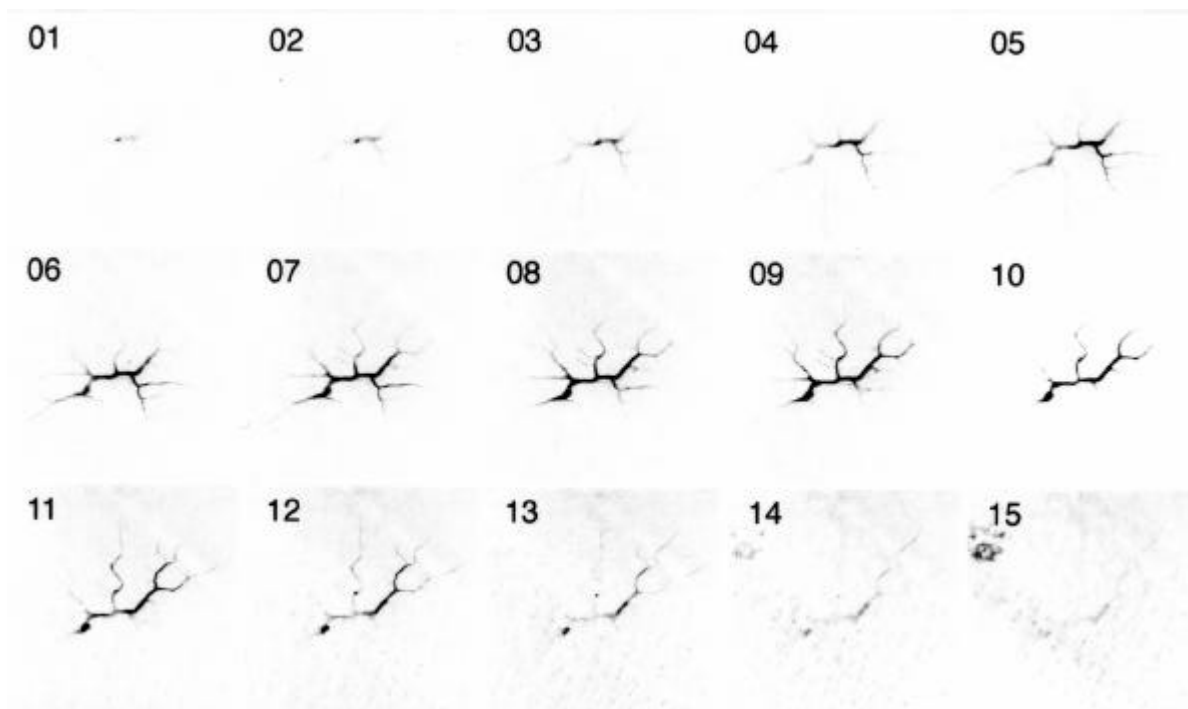
**Abbildung 3.41: Ganglienzelle in der Sardellenretina (Mikroinjektion)** >

**A)** Extended-focus Darstellung einer mit Lucifer Yellow gefüllten Ganglienzelle (konfokales Lasermikroskop). Eine Auswahl der zugrundeliegenden optischen Schnitte geben Abb. **01-15**.

**B)** 3D-Rekonstruktion des Dendritenbaumes aus Umrißzeichnungen von **01-15**.

**Balken** für **A** und **B**: 100µm.

(Zur Betrachtung der 3D-Projektion verwende man die Rot-Grün-Brille → Rückendeckel.)



### 3.3 Die Photorezeptorausstattung und das Pigmentepithel anderer Gattungen innerhalb der Engraulididae

#### 3.3.1 *Anchoviella* sp.

Trotz des hohen Alters des Präparates (über 30 Jahre, s. Tab. 2.1) sind die Netzhautstrukturen noch relativ gut erhalten. Dies gilt auf lichtmikroskopischem Niveau (Abb. 3.42), sowie mit Einschränkungen auch für TEM-Bilder (Abb. 3.43) - wahrscheinlich wurde der kleine Fisch rasch nach dem Fang in Formol fixiert.

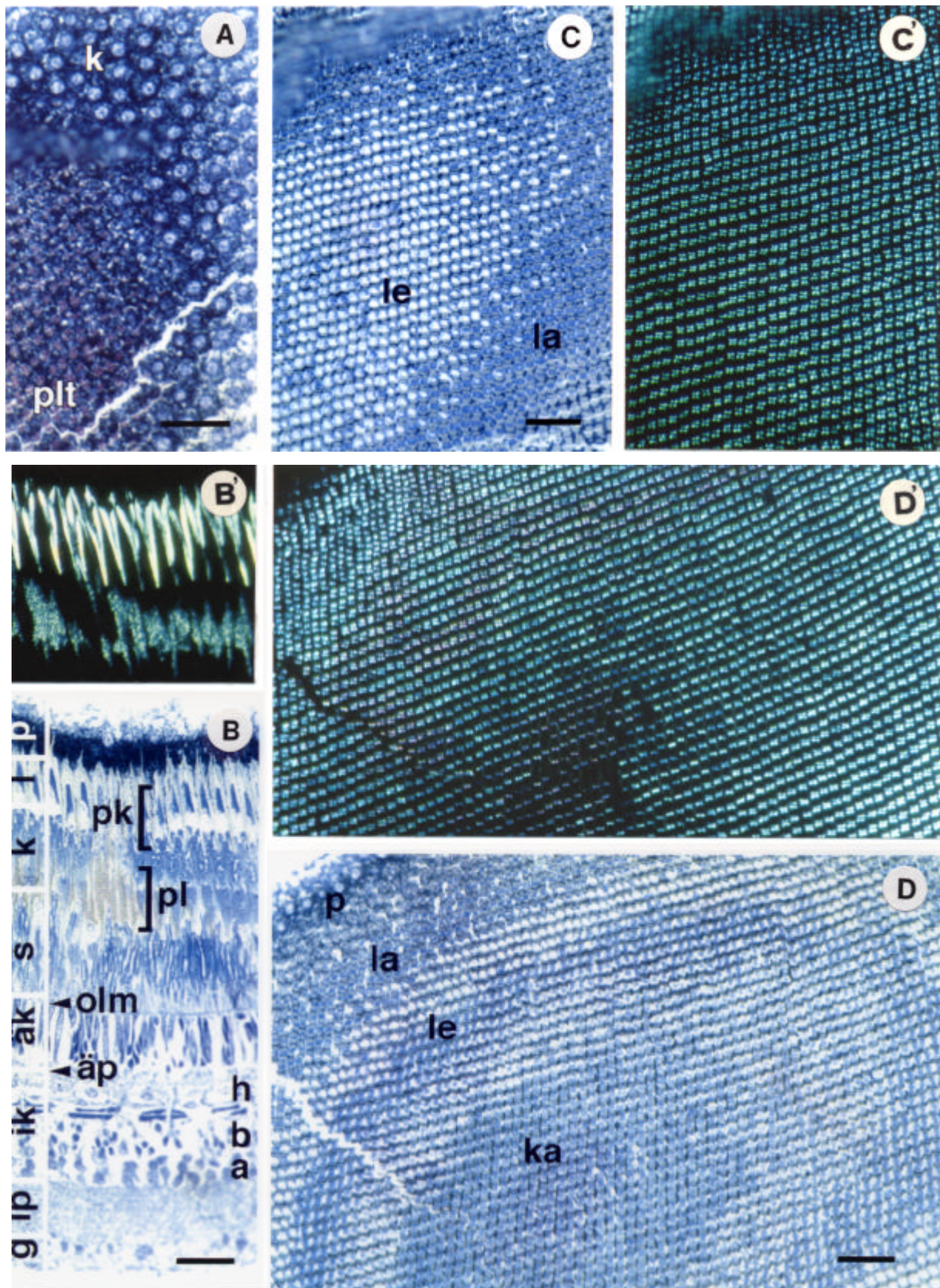
Der Netzhautfundus von *Anchoviella* zeigt bis ins Detail große Übereinstimmungen mit dem aberranten Bau der *Engraulis*-Retina, wie er in Kap. 3.1 dargestellt wurde:

Das untersuchte Netzhautfragment ist dunkeladaptiert (Abb. 3.42B) und zeigt neben der typischen Schichtung der Retina zwei Horizonte von Zapfen und keilförmige Ausläufer der Pigmentepithelzellen. Die PE-Zellen haben basal einen hexagonalen Querschnitt (Abb. 3.42A) und bilden lateral der Keile Loben aus, die sich zwischen den Polycones bis an die vitreale Basis der Ellipsoide der kurzen Zapfen erstrecken (Abb. 3.42B,B'). In den Keilen sind jeweils zwei Doppelbahnen von Guaninplättchenstapeln ausgebildet, deren Mächtigkeit von skleral nach vitreal abnimmt (Abb. 3.42B',D'; 3.43C,D), in den Loben befindet sich Guaninschotter (Abb. 3.42B'). Melanin ist in der Umgebung der Kerne, im Zentrum der Keile und in den lateralen Loben anzutreffen (Abb. 3.42B; 3.43C,D).

---

#### Abbildung 3.42: Aspekte aus der Retina von *Anchoviella* sp. (LM) >

- A) Tangentialschnitt durch das Pigmentepithel. **k** Kernzone, **plt** Ausläufer mit Guaninplättchen.  
B) Radialschnitt durch den Retinafundus von *Anchoviella*. **a** Amakrine, **äk** äußere Körnerschicht, **äp** äußere plexiforme Schicht, **b** Bipolare, **g** Ganglienzellen, **h** Horizontale, **ik** innere Körnerschicht, **ip** innere plexiforme Schicht, **k** kurze Zapfen, **l** lange Zapfen, **olm** „äußere Grenzmembran“, **p** Pigmentepithel, **pk** PE-Keile, **pl** PE-Loben, **s** Stäbchen.  
B') Polarisationskontrast-Aufnahme der oberen (= skleralen) 2/5 von Abb. B. Die Guaninplättchenstapel in den PE-Keilen leuchten hell auf, der Guaningrus in den PE-Loben schwächer.  
C) Tangentialschnitt auf Höhe der langen Zapfen: **le** Ellipsoide, **la** Außenglieder.  
C') Polkontrastaufnahme des gleichen Ausschnittes. Pro PE-Keil finden sich 4 Plättchenstapel.  
D) Tangentialschnitt durch die becherförmige Retina - im Zentrum sind die Außenglieder der kurzen Zapfen getroffen (**ka**), nach peripher folgen weiter skleral gelegene Retinaschichten.  
**la** Außenglieder der langen Zapfen, **le** Ellipsoide der langen Zapfen, **p** Pigmentepithel (basal).  
D') Polkontrastaufnahme des gleichen Ausschnittes. Deutlich erkennt man die vitread (Mitte unten) abnehmende Mächtigkeit der Guaninplättchenstapel. **Balken** für A-D': 25µm.



Eine Besonderheit ist das gelegentliche Auftreten von Plättchen-Triaden (Abb. 3.43C) im skleralen Drittel der PE-Ausläufer von *Anchoviella*, sie wurden bei *Engraulis* nie beobachtet.

Die PE-Keile halten die langen Zapfen einer Zapfenreihe auf Abstand und spalten die Außenglieder der kurzen Zapfen in jeweils zwei Loben. Die Feinstruktur der Zapfen ist nicht besonders gut erhalten: Plasma-Agglutinationen und lokale Unterbrechungen im Membranverlauf „verunstalten“ die TEM-Abbildungen (Abb. 3.43). Dennoch sind die radial orientierten Membranlamellen der Zapfenaußenglieder stellenweise durchaus zu erkennen. Sie verlaufen parallel zum Polycone bei den kurzen Zapfen (Abb. 3.43D) und senkrecht dazu beim langen Zapfen (Abb. 3.43C).

Interessanterweise sind die kompakten, ciliären Verbindungsstrukturen zwischen Ellipsoid und Außenglied der langen Zapfen noch gut zu erkennen. Sogar die 9·2+0 Anordnung der Mikrotubuli und der extrazelluläre Hof sind erhalten (Abb. 3.43B).

---

**Abbildung 3.43: Aspekte aus der Retina von *Anchoviella* sp. (TEM)**

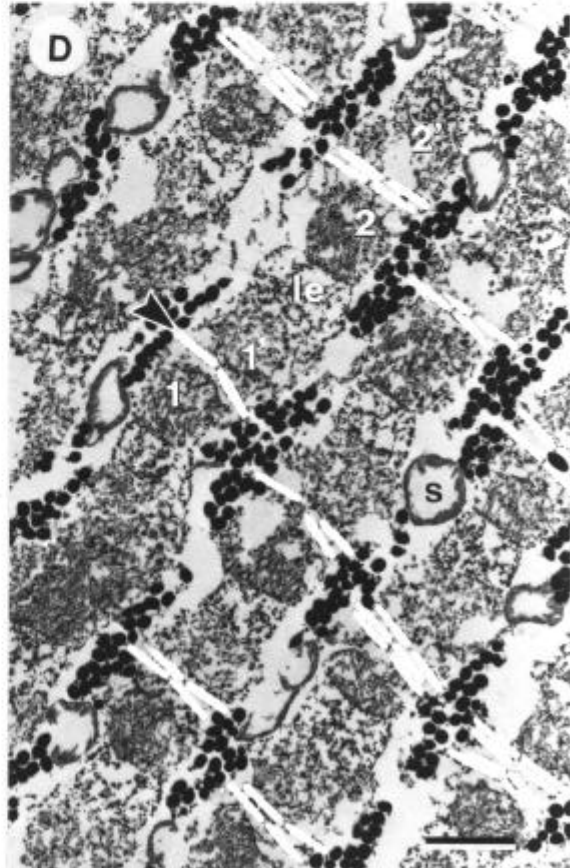
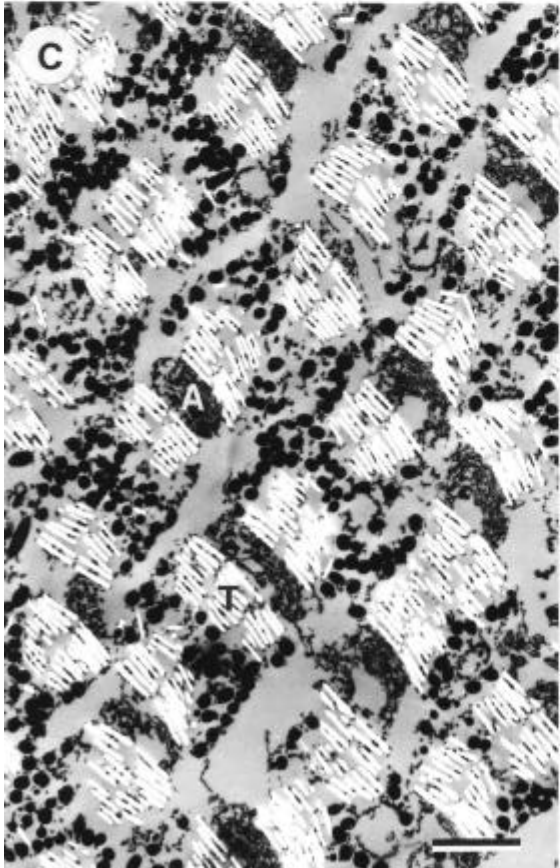
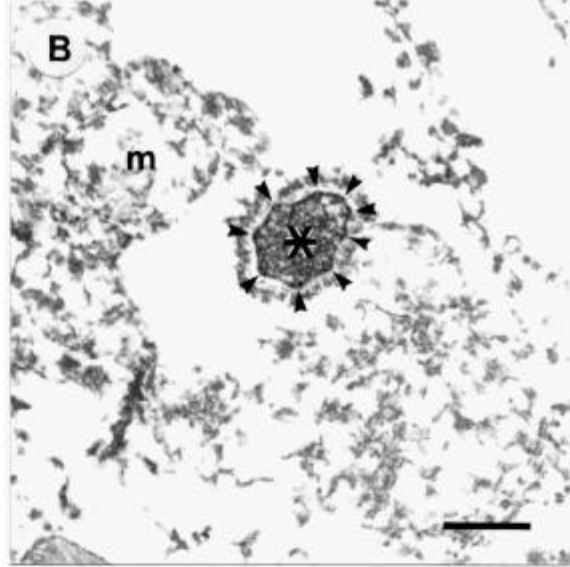
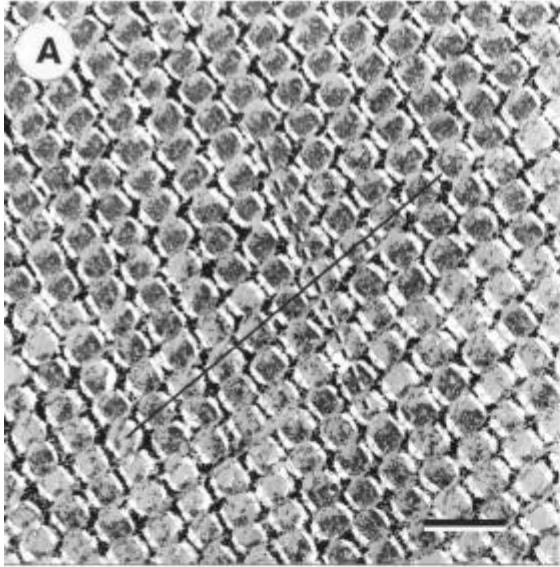
>

**A)** Tangentialschnitt auf Höhe der Ellipsoide der langen Zapfen Die Polycones verlaufen diagonal durchs Bild ( $\frac{3}{4}$ ). Wegen des lateralen Versatzes benachbarter Polycones um  $\frac{1}{4}$  Strukturperiode scheinen durchgehende PE- Vorhänge im Winkel v. ca.  $75^\circ$  z. d. Zapfenreihen zu entstehen (----). **Balken** 10 $\mu$ m.

**B)** Tangentialschnitt durch die Cilienbasis eines langen Zapfens (\*). Andeutungsweise erkennt man die Mikrotubuli-Dupletts (>) und die Mitochondrien des Ellipsoids (**m**). **Balken**: 500nm.

**C)** Tangentialschnitt auf Höhe der Außenglieder der langen Zapfen (**A**). Die Guaninplättchenstapel enthalten hier je 6-10 Kristallite. Neben den typischen Dupletts können auch gelegentlich Tripletts beobachtet werden (**T**). **Balken** 2 $\mu$ m.

**D)** Tangentialschnitt auf Höhe der Außenglieder der kurzen Zapfen. Die zusammengehörigen Loben eines Photorezeptors (**1/1'** bzw. **2/2'**) werden gerade noch durch die Spitzen der PE-Keile (>) auseinander gehalten. Zwischen den Polycones liegen die melaninhaltigen Loben des PE. **le** Ellipsoide der langen Zapfen, **s** Stäbchenaußenglied. **Balken**: 2 $\mu$ m.



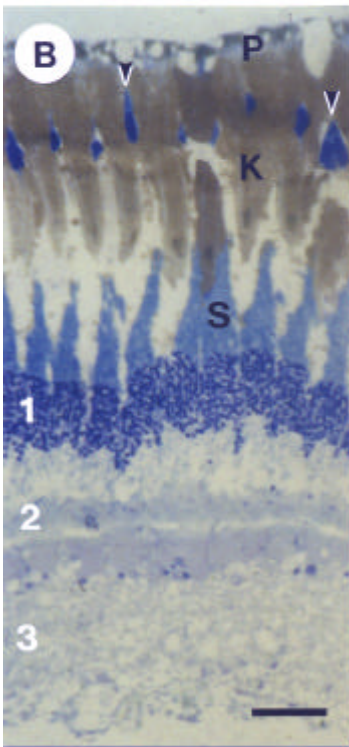
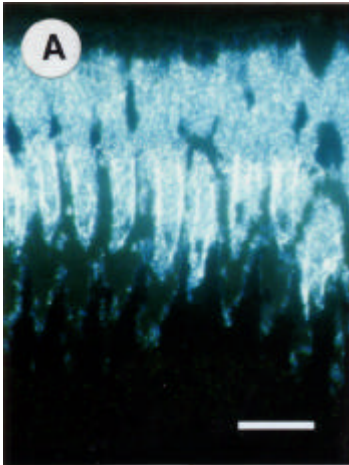
### 3.3.2 *Cetengraulis mysticetus*

Die Untersuchung der monotypischen Gattung *Cetengraulis* liefert innerhalb der Engraulididae ein abweichendes Bild der Retina, besonders bezüglich des Aufbaus und der Anordnung der zapfenförmigen Photorezeptoren. Das untersuchte Präparat stammt bei passabler Struktur-erhaltung aus dem Jahre 1986.

Das **Pigmentepithel** der ventro-temporalen Retina ist bei *Cetengraulis mysticetus* mächtig entwickelt und sendet Reihen stumpf-kegelförmiger Ausläufer nach vitreal in die Schicht der Photorezeptoren. Die PE-Zellen sind nur ganz basal miteinander verbunden, die Ausläufer benachbarter Reihen berühren sich nicht, die benachbarten Ausläufer einer Reihe kaum. Sie sind komplett gefüllt mit Guaninkristalliten, -nadeln und Melaningranula, wobei diese Partikel innerhalb der PE-Zelle eine regelhafte Verteilung aufweisen. Dominierend sind polyedrische Guaninkristallite ( $\varnothing$  ca. 440nm) mit einer äquatorialen Nut, die einen Großteil des PE-Zellumens ausfüllen. Allein im Zentrum der vitrealen Spitze des PE-Kegels werden sie durch Melaningranula ( $\varnothing$  max. 500nm) ersetzt. Der aus den Granula gebildete Pigmentkörper ist nur etwa 12 $\mu$ m lang und hat einen hantelförmigen Querschnitt (Abb. 3.45B,B'), manchmal besitzt er sogar zwei Spitzen. Neben den Guaninpolyedern treten Guaninnadeln mit annähernd rechteckigem, evtl. hexagonalem Querschnitt auf (220nm x 130nm, Länge ca. 2 $\mu$ m) - sie fehlen nur in den am weitesten skleral gelegenen Zellabschnitten. Diese Nadeln sind radial orientiert und bilden 2-3 ringförmige, 1-2 zeilige Palisaden um die zentrale Guaninmasse des PE-Ausläufers (Abb. 3.46D,E). Zwischen diesen Ringen und zum Teil auch außerhalb des peripheren Ringes sind mehr oder weniger häufig auch die polyedrischen Guaninpartikel zu finden. Dort, wo sich die Membranen benachbarter PE-Kegel nahe kommen, liegt die periphere Guaninnadel-Palisade allerdings meist unmittelbar der Innenseite der Zellmembran an.

Die relative radiale Stellung der Photorezeptorklassen (Stäbchen vitreal, Zapfen skleral) weist das untersuchte Netzhautfragment als dunkeladaptiert aus. Die **Stäbchen** befinden sich in den Räumen, die vom vitrealen  $\frac{1}{3}$  der PE-Ausläufer flankiert und vitreal durch die OLM abgeschlossen werden (Abb. 3.44B; 3.45B; 3.46F). So bilden sie in gestaffelter Anordnung keilförmige Massen zwischen den PE-Reihen. Die **Zapfen** liegen auf Höhe des skleralen Drittels der Pigmentkegel zwischen denselben. Dabei sind sie nicht wie die Stäbchen zwischen den PE-Reihen angeordnet sondern in der Reihe eingebettet, d.h. sie werden jeweils von zwei Pigmentepithelausläufern flankiert. Benachbarte Zapfen-PE-Reihen sind um  $\frac{1}{2}$  Periode der Struktureinheit gegeneinander verschoben, so daß ein sekundäres Reihenmuster von Zapfen- und PE-Anschnitten ca. 45° verdreht zu den primären Reihen auftritt. Man könnte auf dieser Schnittebene auch von einem Schachbrettmuster anstelle eines Reihenmusters reden. Die Verschiebung ergibt sich direkt aus dem hexagonalen Muster der PE-Zellen an ihrer Basis. Bei den Zapfen der ventro-temporalen Retina von *Cetengraulis mysticetus* handelt es sich



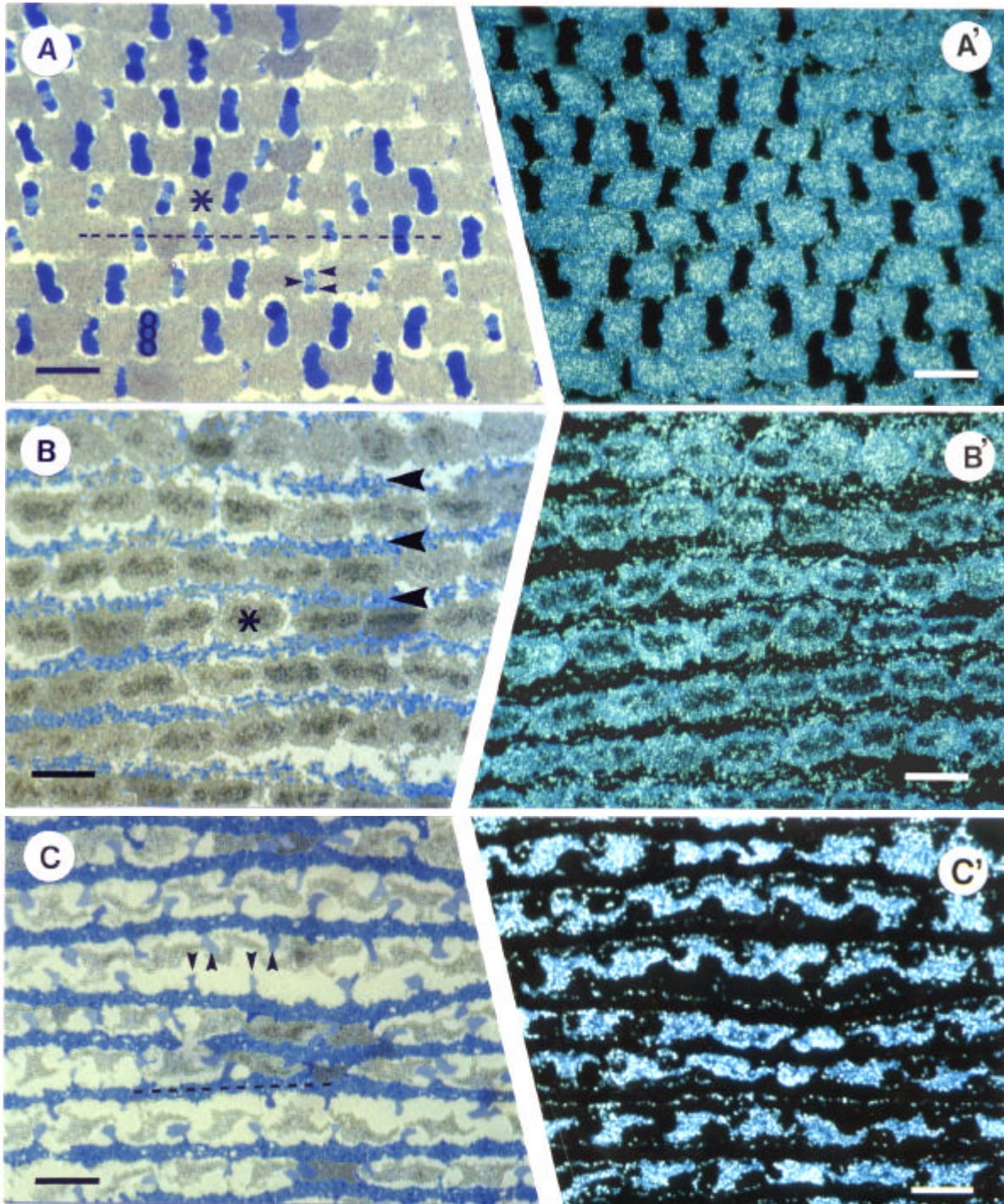


< **Abb. 3.44: Radialschnitt durch den Retinafundus von *Cetengraulismysticetus* (LM)**

**A)** Polkontrastaufnahme der oberen (skleralen) Hälfte von **B)**. Guaninnadel leuchten hell auf, Guanigrus etwas schwächer. **B)** Radialer Überblick der Netzhaut von *Cetengraulismysticetus*: **P** Pigmentepithel (basal), **K** PE-Keile, **S** Stäbchen, **Ú** Zapfenaußenglieder, **1** äußere Körnerschicht, **2** innere Körnerschicht, **3** innere plexiforme Schicht. **Balken** für **A** und **B**: 50µm.

überraschenderweise um „lineare“ Dreifachzapfen („triple cones“), wobei die Verbindungsachse der drei Komponenten durchwegs senkrecht zu den Zapfen-PE-Reihen stehen. Ein kleiner zentraler Zapfen wird von zwei größeren, morphologisch gleichartigen, lateralen Zapfen flankiert. Die Außenglieder der lateralen Zapfen sind ca. 15µm lang, besitzen *cis*-ständige akzessorische Außenglieder, zahlreiche calycale Fortsätze und reichen weiter sklerad als das Außenglied des zentralen Zapfens. In einem nahe der Spitze geführten Tangentialschnitt ergibt sich daher das Bild eines Doppelzapfens (Abb. 3.46A). Auch das Außenglied des kurzen Zapfens besitzt calycale Fortsätze, wo es nicht die lateralen Komponenten berührt und ein akzessorisches Außenglied in *cis*-Stellung zu denen der lateralen Zapfen. Die Ellipsoide der lateralen Zapfen haben einen runden Querschnitt mit einem maximalen Durchmesser von 8µm bei einer Länge von ca. 20µm und enthalten zahlreiche Mitochondrien. Das Ellipsoid des zentralen Zapfens wird von den lateralen Komponenten in einen schmalhantelförmigen bis bikonkav-sattelförmigen Quer-

schnitt gezwungen (z.B. 5µm x 2.5µm), die Inhalte der drei Zapfen sind von vergleichbarer Elektronendichte. In ihrem Mittelteil sind die Myoide der Zapfen sehr schmal (laterale Zapfen 0.9µm, zentraler Zapfen 0.25µm) und verlaufen in einer Rinne zwischen den zwei benachbarten, sich dort berührenden PE-Kegeln entweder zusammen (3) oder getrennt (2+1, Abb. 3.46D/E). Weiter vitreal weiten sich die Myoide der lateralen Komponenten auf (ca. 5µm) und liegen sich auf den einander zugewandten Flanken der Stäbchenmassen - und meist leicht versetzt - gegenüber (Abb. 3.46F). Die Myoide der zentralen Zapfen konnten nicht weiter verfolgt werden. Neben einer gut ausgebildeten äußeren Körnerschicht fällt im Radialschnitt ein mächtiges Doppelband horizontal verlaufender Müllerfasern auf (Abb. 3.44B) - die innere Körnerschicht ist nur schwach entwickelt.



**Abbildung 3.45: Aspekte aus der Retina von *Cetengraulis mysticetus* (LM quer)** ^

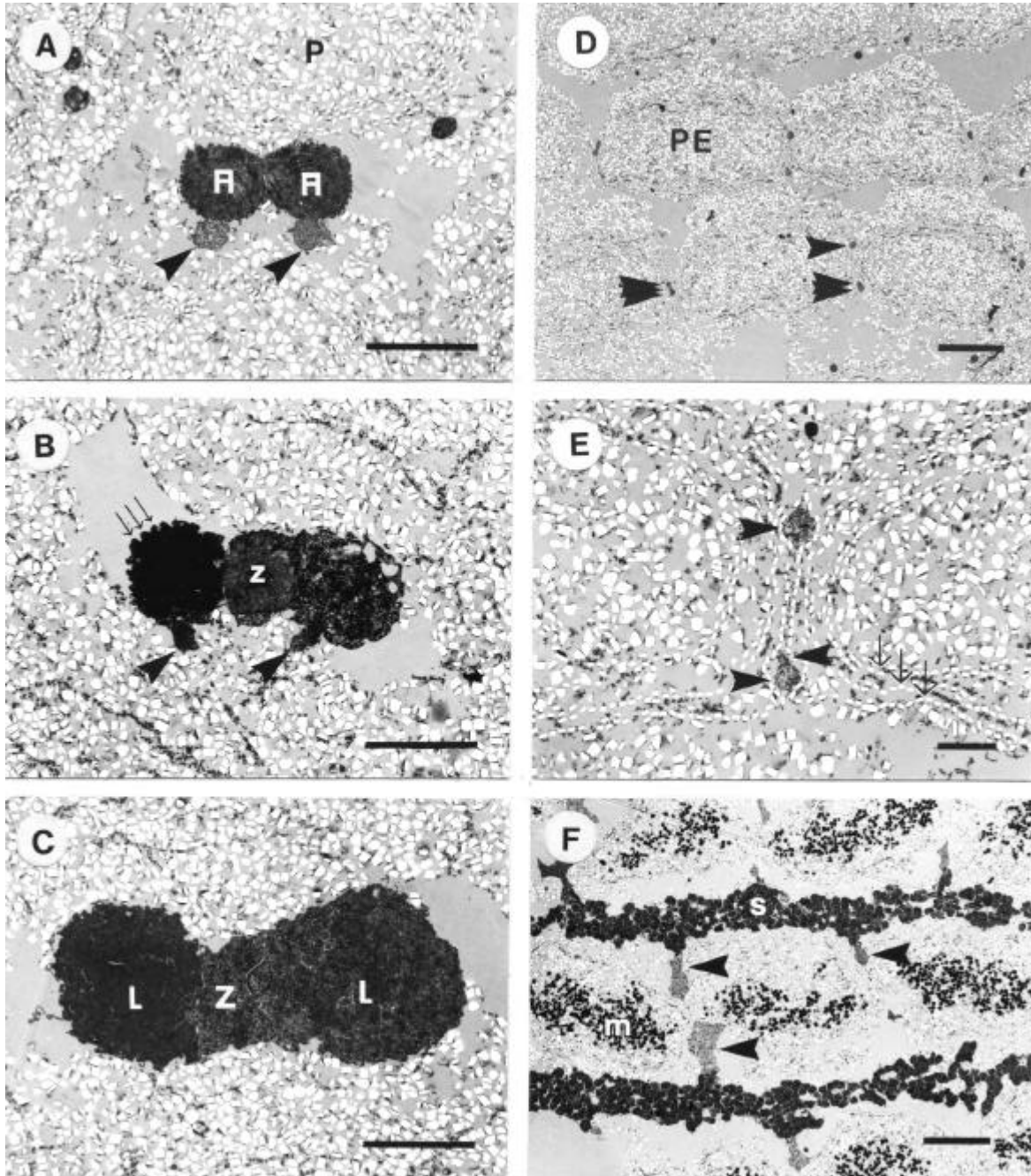
A-C sind Hellfeld-Aufnahmen, A'-C' Polarisationskontrast-Aufnahmen der jeweils identischen Ausschnitte. **Balken:** 25µm.

A/A') Tangentialschnitt auf Höhe der Zapfenaußenglieder (>) und -ellipsoide (ooo).

\* PE-Kegel, ---- Zapfenreihe.

B/B') Tangentialschnitt auf Höhe der melaningefüllten PE-Kegelspitzen (\*), < Stäbchen.

C/C') Tangentialschnitt auf Höhe der Zapfenmyoide (∩ ∩). --- Stäbchen; vgl. mit Abb. 3.46F.



**Abbildung 3.46: Aspekte aus der Retina von *Cetengraulis mysticetus* (TEM)** ^

A-C Tangentialschnittserie durch die skleralen Abschnitte eines Dreifachzapfens. **Balken** 5µm.

A) Schnittebene auf Höhe der Außenglieder der lateralen Komponenten (**A**). > akzessorische Außenglieder in *cis*-Stellung, **p** PE-Zelle mit Guaninkristalliten. B) Schnittebene auf Höhe des Außengliedes der zentralen Komponente (**z**). > akzessorische Außenglieder in *cis*-Stellung, ® calycales Fortsätze. C) Schnittebene auf Höhe der Zapfenellipsoide. **L** laterale Komponenten, **Z** zentrale Komp. D) Tangentialschnitt durch die PE-Kegel auf Höhe der Zapfenmyoide (>). **Balken**: 10µm. E) Detail aus D. ® Ringförmigen Guaninnadelpalisaden, > Zapfenmyoide. **Blk**: 2µm. F) Tangentialschnitt durch die melaningefüllten PE-Kegelspitzen (**m**) - vgl. mit Abb. 3.45C. > Zapfenmyoide, **s** Stäbchen. **Balken**: 10µm.

### 3.3.3 *Lycengraulis batesii*

Trotz der langen Lagerzeit - das Präparat stammt aus dem Jahre 1966 und ist somit ein Jahr älter als der Autor - ist die Struktur der Netzhaut dieses Fisches hinreichend erhalten, um verlässliche Aussagen über ihren Aufbau bis hin zu fein-strukturellen Details treffen zu können.

Die **Zapfen** der untersuchten, helladaptierten Retina sind stark in Desintegration begriffen. Dennoch kann man in Kenntnis der Polycone-Architektur der *Anchoa*- oder *Engraulis*-Retina am lichtmikroskopischen Radialschnitt die Elemente der Zapfenreihen von *Lycengraulis* ausmachen (Abb. 3.47A). Die Außenglieder und Ellipsoide der beiden Zapfentypen erscheinen in der fast genau Polycone-parallelen Schnittebene in vier Etagen unterscheidbarer, wenn auch mehr oder weniger gestörter Textur gegliedert.

Deutlich besser erhalten sind die **Pigmentepithelzellen**. Sie liegen in gegeneinander verschobenen Reihen und stellen, ob ihrer Verzahnung mit den Zapfenreihen einen wesentlichen Bestandteil des Polycone-Komplexes dar. In ihrer skleralen Hälfte und im Zentrum der keilförmigen vitrealen Hälfte enthalten sie ein Gemisch aus Melaningranula ( $\varnothing$  ca. 400nm) und den typischen polyedrischen Guaninkristalliten ( $\varnothing$  ca. 350nm). Entlang der konvergierenden Flanken der PE-Keile beherbergen sie Doppelreihen von Guaninplättchenstapeln (Abb. 3.47C,D). Die Plättchen haben eine Kantenlänge von 1 $\mu$ m bis 3.75 $\mu$ m, eine Dicke von ca. 100nm, einen Abstand von ca. 50nm und sind in Zahlen von 1 (vitrealer Keilspitze) bis >20 (sklerale Verbreitungsgrenze der Plättchen) gestapelt. Im Polarisationskontrast treten sie bei gekreuzten Filtern wegen ihrer doppelbrechenden Eigenschaften noch deutlicher hervor als der Kristallgrus (Abb. 3.47A').

---

**Abbildung 3.47: Aspekte aus der Retina von *Lycengraulis batesii* (LM&TEM)**

>

**A)** Radialschnitt zum Überblick über die skleralen  $2/3$  des Retinafundus von *L. batesii* (LM).

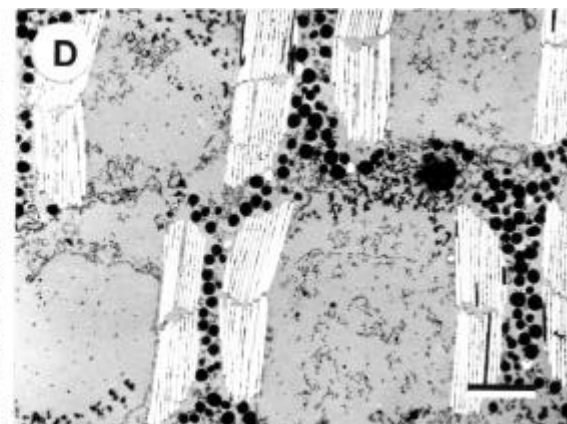
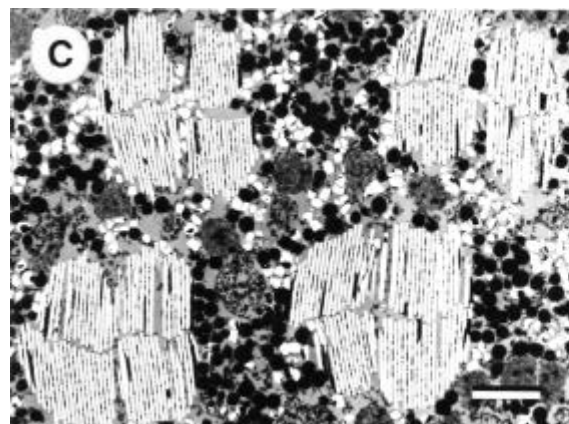
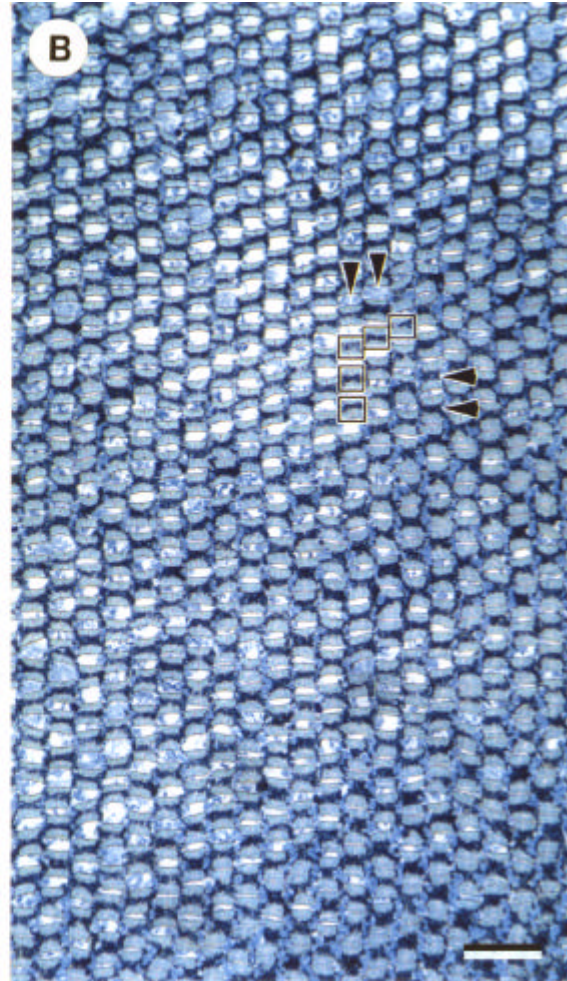
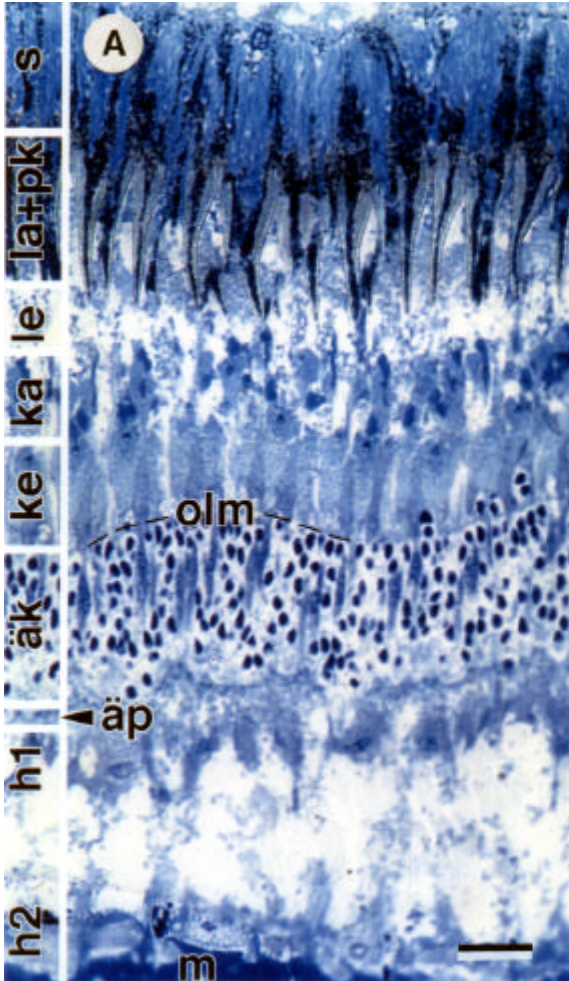
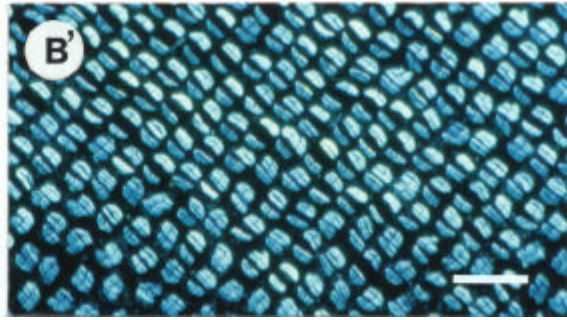
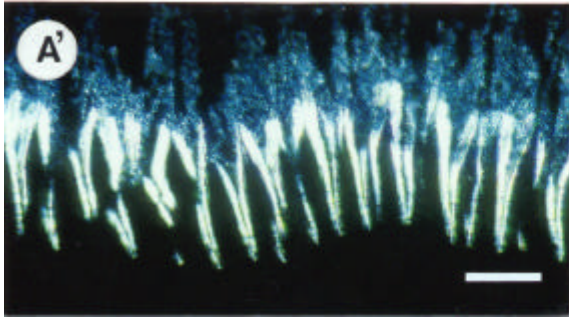
**äk** äußere Körnerschicht, **äp** äußere plexiforme Schicht, **h1** und **h2** Horizontalzellen, **ka** Außenglieder der kurzen Zapfen, **ke** Ellipsoide der kurzen Zapfen, **la+pk** Außenglieder der langen Zapfen und PE-Keile, **le** Ellipsoide der langen Zapfen, **m** Müllerfasern, **olm** „äußere Grenzmembran“, **s** Stäbchenzone der helladaptierten Retina. **Balken** für **A-B'**: 25 $\mu$ m.

**A')** PE-Bereich aus **A** im Polkontrast. Guaninplättchen leuchten hell auf, Guaningrus weniger.

**B)** Tangentialschnitt auf Höhe der langen Zapfen - die Polycones verlaufen vertikal durchs Bild. **o** Umriß eines PE-Keiles, **ñ** Ellipsoide der langen Zapfen, **<** Melanin im PE-Keil.

**B')** Tangentialschnitt durch die PE-Keile im Polarisationskontrast (etwas weiter skleral als **B**).

**C)** Tangentialschnitt durch das sklerale  $1/4$  der PE-Keile (TEM). **Balken** für **C** und **D**: 2.5 $\mu$ m.



### 3.3.4 *Encrasicholina heteroloba*

Die lichtmikroskopische Untersuchung der ventro-temporalen Netzhaut von *Encrasicholina heteroloba* enthüllt für diese Art eine Retinaorganisation, die derjenigen von *Engraulis encrasicolus* sehr nahe kommt. Bei lichtoptisch betrachtet guter Strukturhaltung ist im Radialschnitt (Abb. 3.48A) die typische Schichtung einer Teleostier-Netzhaut und in Tangentialschnitten (Abb. 3.48B, C) das Muster der Photorezeptoren und PE-Zellen gut zu erkennen.

Skleral der OLM finden sich zwei Etagen schlanker, dichtstehender **Zapfen** (z.B.  $300/10^4 \mu\text{m}^2$ ). Etwas ungewöhnlich erscheint der Umstand, daß in den vorliegenden Semidünnschnitten die Zapfenellipsoide dunkler kontrastiert sind als die Außenglieder und nicht umgekehrt, wie es sonst für die RICHARDSON-Färbung typisch ist (vgl. Abb. 3.1B). Dies dürfte eine Folge der speziellen Gegebenheiten der Strukturhaltung sein und soll für die morphologische Betrachtung ohne Relevanz bleiben. Die vitrealen („kurzen“) Zapfen gliedern sich radial wie folgt: Myoid  $6\mu\text{m}$ , Ellipsoid  $13\mu\text{m}$  und Außenglied  $10.5\mu\text{m}$  - die letzteren beiden von etwa gleicher Breite:  $4\mu\text{m}$ . Von den skleralen („langen“) Zapfen erkennt man das Ellipsoid mit  $10\mu\text{m}$  und das Außenglied mit  $17.5\mu\text{m}$  Länge (Breite ca.  $3.25\mu\text{m}$ ). Das Verhältnis von Ellipsoidlänge zu Außengliedlänge ist bei den zwei Zapfentypen also reziprok.

---

#### Abbildung 3.48: Der Retinafundus von *Encrasicholina heteroloba* (LM&TEM)

>

**A)** Radialschnitt durch den Retinafundus von *E. heteroloba* - Überblick LM. **Balken**  $25\mu\text{m}$ .

**ag** Zapfenaußenglieder („lange“ und „kurze“), **äk** äußere Körnerschicht, **äp** äußere plexiforme Schicht, **b+a** Bipolar- und Amakrinzellen, **e** Zapfenellipsoide („lange“ und „kurze“), **g** Ganglienzellen, **h** Horizontale, **ik** innere Körnerschicht, **ip** innere plexiforme Schicht, **k** kurze Zapfen, **l** lange Zapfen, **m** Doppelband aus „Müllerfasern“, **olm** „äußere Grenzmembran“, **s+pk** Stäbchen und PE-Keile.

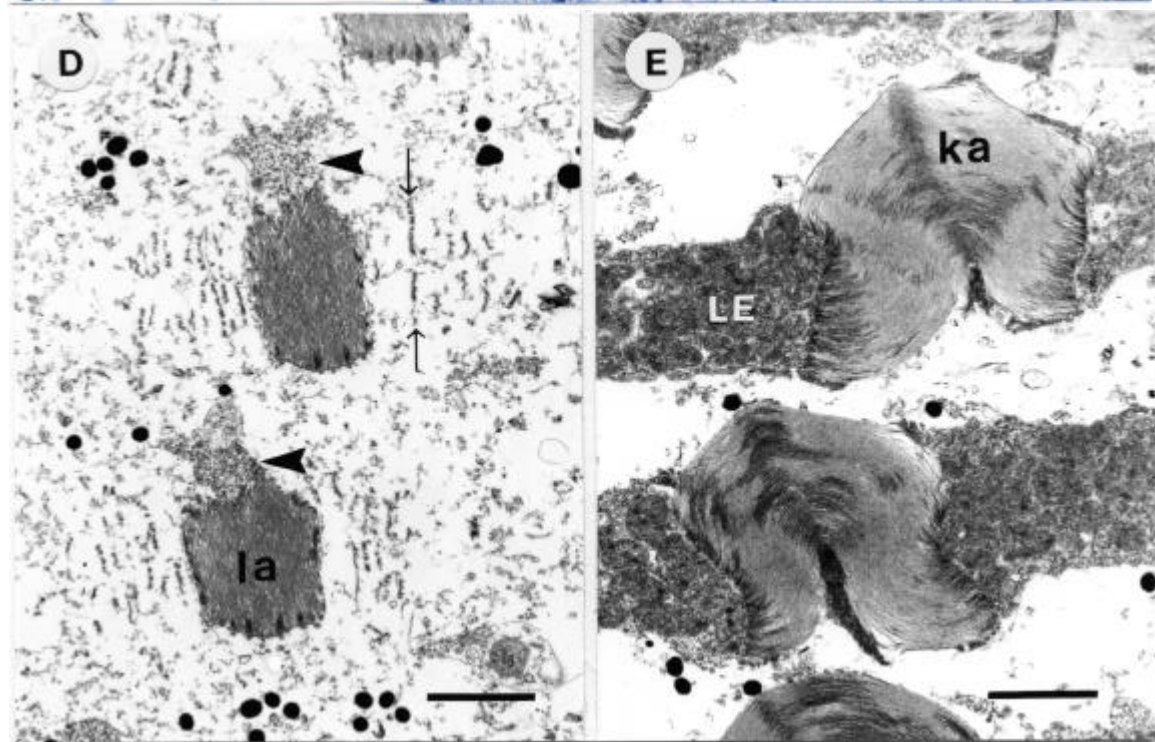
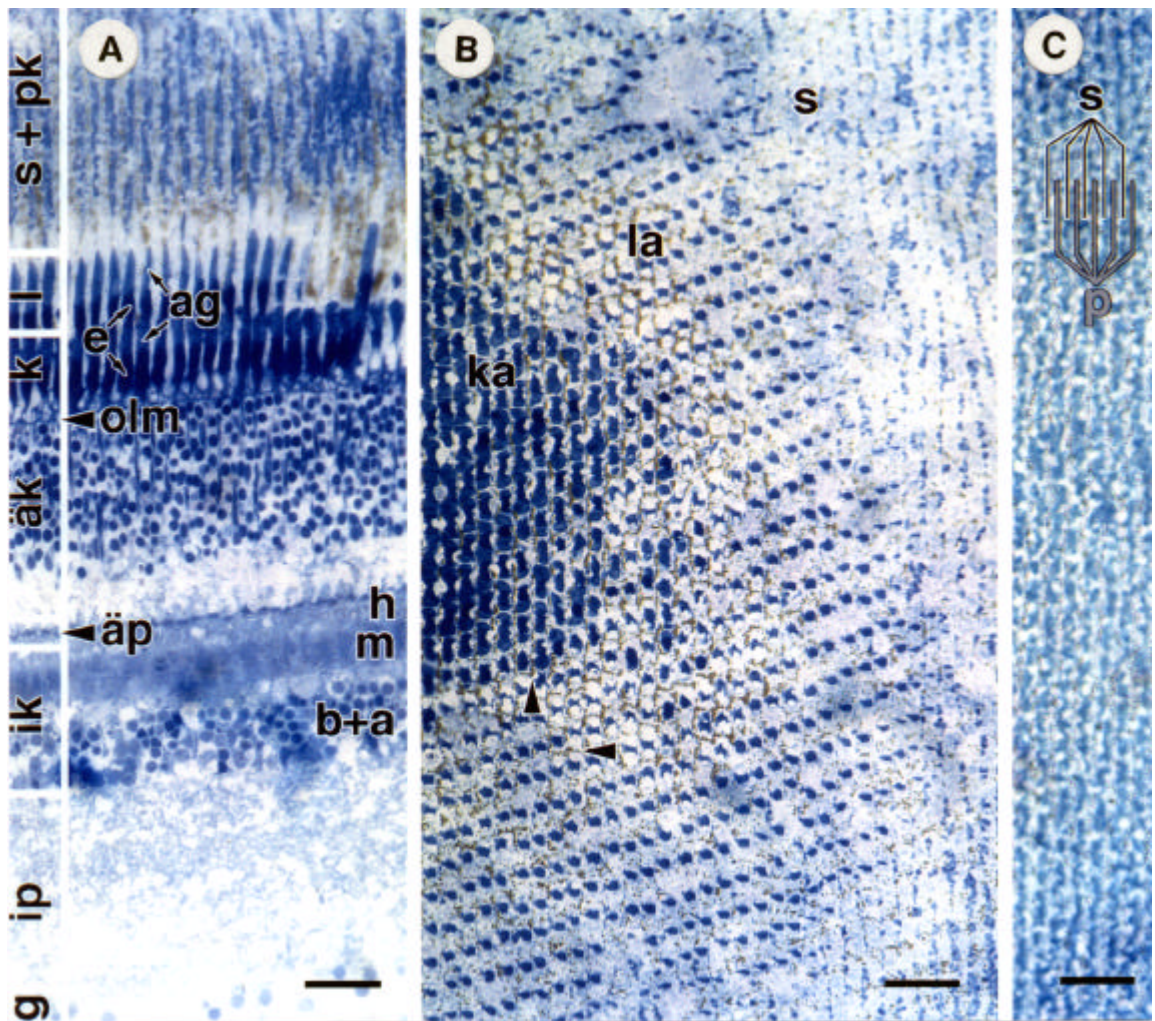
**B)** Tangentialschnitt durch die äußere Retina von *E. heteroloba*. **ka** Außenglieder der kurzen Zapfen (und Ellipsoide der langen Zapfen), **la** Außenglieder der langen Zapfen, **s** Stäbchen,

Ü laterale Loben der PE-Keile, < Melanin im Zentrum der PE-Keile. **Balken**:  $25\mu\text{m}$ .

**C)** Tangentialschnitt auf Höhe der Stäbchen in der helladaptierten Retina. Reihen von PE-Zellen (**p**) und Stäbchen (**s**) wechseln sich ab. **Balken**:  $25\mu\text{m}$ .

**D)** Tangentialschnitt auf Höhe der Außenglieder der langen Zapfen (TEM). Beachte die radial und senkrecht zum Polycone orientierten Membranlamellen der Außenglieder (**la**), die akzessorischen Außenglieder (>) und die andeutungsweise erhaltenen Doppelstapel von Guaninplättchen (→). **Balken**:  $2\mu\text{m}$ .

**E)** Tangentialschnitt auf Höhe der Außenglieder der kurzen Zapfen knapp vitreal ihrer Aufspaltung in zwei Loben (TEM). **ka** Außenglied kurzer Zapfen mit radial und parallel zum Polycone orientierten Lamellen, **LE** Ellipsoid langer Zapfen mit Mitochondrien. **Balken**:  $2\mu\text{m}$ .



Tangential geführte Ultradünnschnitte auf Höhe der Zapfenaußenglieder lassen im TEM wichtige feinstrukturelle Details erkennen: Die Membranfalten des Außenglieds des langen Zapfens sind gegenüber dem Grundplan um bis zu 90° radiad gekippt - stehen also quasi „senkrecht“ - und normal zum Verlauf der Zapfenreihen orientiert (Abb. 3.48D). Sie werden zu beiden Seiten flankiert von Doppelreihen aus Guaninplättchenstapeln. Die Spuren dieser „platelets“ sind im TEM gerade noch zu erkennen, während im lichtmikroskopischen Polarisationskontrast jegliche Hinweise dafür fehlen (das Material aus dem Jahre 1996 ist zwar „jung“, wurde aber zunächst wohl nur in Ethanol konserviert).

Die akzessorischen Außenglieder der langen Zapfen weisen alle in die gleiche Richtung (Abb. 3.48D). Die Schnittebene auf Höhe der PE-Keil-Spitzen zeigt die Außenglieder der kurzen Zapfen am Übergang von ihrer einheitlichen Basis zur zweilappig gespaltenen Zone (Abb. 3.48E). Die Membranfalten sind radial („senkrecht“) und parallel zur Zapfenreihe orientiert. Durch laterale Kompression von Seiten der benachbarten Ellipsoide der langen Zapfen erscheinen sie allerdings im gegebenen Retinabereich  $\Omega$ -förmig verbogen. Die Anzahl der Falten (ca. 90) ist mit der von *Engraulis encrasicolus* vergleichbar (Kap. 3.1.8).

Skleral der Zapfen wechseln sich in einer Schicht von 65-70 $\mu$ m Mächtigkeit schmale radiale Spalten von PE-Ausläufern und Stäbchen ab - auf zwei Zapfen (ein kurzer + ein langer) kommt dabei eine Stäbchenspalte und ein **PE-Ausläufer**. Letzterer endet vitreal etwa auf Höhe der Außenglieder der kurzen Zapfen und enthält über seine ganze Länge Melanin (runde bis längliche Granula,  $\varnothing$  480nm). Das Pigment tritt gehäuft in der vitrealen Hälfte der Ausläufer auf (Zentrum & Loben) und flankiert somit die langen Zapfen über einen Großteil ihrer radialen Erstreckung (ohne Myoid).

Schon am radial geführten Schnitt (Übersicht Abb. 3.48A) ist zu erkennen, daß die Zapfen der *Encrasicholina*-Netzhaut in gekrümmten und mit großer Wahrscheinlichkeit auch konzentrischen, einzeiligen **Reihen** angeordnet sind und daß sie sich innerhalb dieser Reihen auf Höhe der skleralen Zapfen mit den PE-Ausläufern im Verhältnis von 1:1 völlig regelmäßig abwechseln. Dieser Befund bestätigt und verfeinert sich bei der Analyse der Tangentialschnittserie. In der entsprechend gewählten Schnittebene (Abb. 3.48B) alternieren die Anschnitte der langen Zapfen und der PE-Fortsätze innerhalb einer Reihe. Der Abstand der Außenglieder in der untersuchten Netzhautregion beträgt ca. 11.75 $\mu$ m).



Die Struktureinheiten benachbarter Reihen sind gegeneinander um einen gewissen Betrag phasenverschoben (z.B. 16% => jede 6. Reihe beginnt an einer senkrecht zu den Zapfenreihen angebrachten „Nullmarke“ mit dem gleichen Strukturelement), so daß ein sekundäres Reihenmuster gleicher Strukturelemente schräg zum Polycone entsteht (z.B. 65° in Abb. 3.48C).

Wie bei *Engraulis* verjüngt sich bei *Encrasicholina* der PE-Ausläufer vitreal keilförmig und spaltet das Außenglied des kurzen Zapfens partiell in zwei gleiche Loben. Laterale melaninhaltige Loben der PE-Keile ziehen zwischen den Zapfenreihen bis maximal auf Höhe der Ellipsoide der kurzen Zapfen in Richtung der OLM.

Auch vitreal der OLM sind schon lichtmikroskopisch etliche Details der **Retinaschichtung** darstellbar (Abb. 3.48A). Die äußere Körnerschicht ist ca. 50µm mächtig und enthält neben zahlreichen runden Stäbchenkernen die länglichen Zapfenkerne. Es folgt eine schwach kontrastiertere (vermutlich artefaktisch etwas geschwollene) Zone, in der vor allem die Stäbchen-Endköpfchen liegen müssen und dann ein schmales Band (entsprechend einer ca. 2.5µm dicken Kugelschale im 3D) von Zapfenfüßchen.

Zwischen den Zapfenfüßchen und einem 15µm breiten Doppelband horizontal verlaufender Müllerfasern befinden sich zwei Etagen von Horizontalzellen, was sich aus der Lage der H-Zellkerne erschließen läßt. Vitreal des „Müllerbandes“, das von radialen Kanälen für die Bipolardendriten durchbrochen wird, erkennt man verschieden große Zellkerne unterschiedlichen Färbeverhaltens. Die kleineren dunklen Anschnitte sollten Bipolarkernen entsprechen, die ganz vitreal gelegenen, großen, schwach aber homogen gefärbten den Amakrinzellkernen. Die innere Körnerschicht mißt hier ca. 25µm.

Die innere plexiforme Schicht zeigt eine mehr oder weniger deutliche Substratifizierung (zwei „dichte“, sklerale Strata á 20µm und mindestens ein „lockerer“, vitreales Stratum von 40µm Dicke), danach folgen die Ganglienzellkerne und die Ganglienfaserschicht. Die Mächtigkeit dieser Schicht deutet darauf hin, daß die Schnittebene relativ nahe an der optischen Furche liegt.

### 3.3.5 *Stolephorus indicus*

Die Netzhaut der indopazifischen Sardellenart *S. indicus* teilt wesentliche Strukturmerkmale mit den Retinae von *Anchoa* (FINERAN & NICOL 1976), *Anchoviella* (3.3.1), *Engraulis* (3.1), *Lycengraulis* (3.3.3) und *Encrasicholina* (3.3.4). Die Fixierung des Materials ist noch ausreichend, um auf lichtmikroskopischer Ebene beschreiben und vergleichen zu können.

#### Pigmentepithel

Die PE-Zellen von *Stolephorus* enthalten vor allem basal und in den lateralen Loben Melanin (Abb. 3.49A,B) - Guanin ist in feingranulärer Form in den lateralen Loben, in den keilförmigen Ausläufern dagegen in Form quadratischer Plättchen zu finden (Abb. 3.49A',B'). Die Guaninplättchen sind in zwei Bahnen entlang der Keilflanken gelegen und im Querschnitt als Stapelquartette von skleral größerer bzw. vitreal geringerer Mächtigkeit zu erkennen.

#### Photorezeptoren

*Stolephorus* besitzt zwei radial gestaffelte Horizonte von Zapfen, sowie Stäbchen. Ihre Lage vitreal der PE-Loben weist das untersuchte Retinastück als dunkeladaptiert aus (Abb. 3.49A). Die Ellipsoide der langen Zapfen reichen sklerad weit zwischen die PE-Keile, die der kurzen Zapfen gerade bis an deren Basis. Am Tangentialschnitt sind zwischen den Anschnitten benachbarter PE-Keile nur mit Mühe die gespaltenen Außengliedloben der kurzen Zapfen und das schmale Ellipsoid der langen Zapfen zu erkennen. Die Polyconestruktur ist eindeutig vorhanden, die Zellreihen sind aber artefaktisch leicht gestört (Abb. 3.49B,B').

---

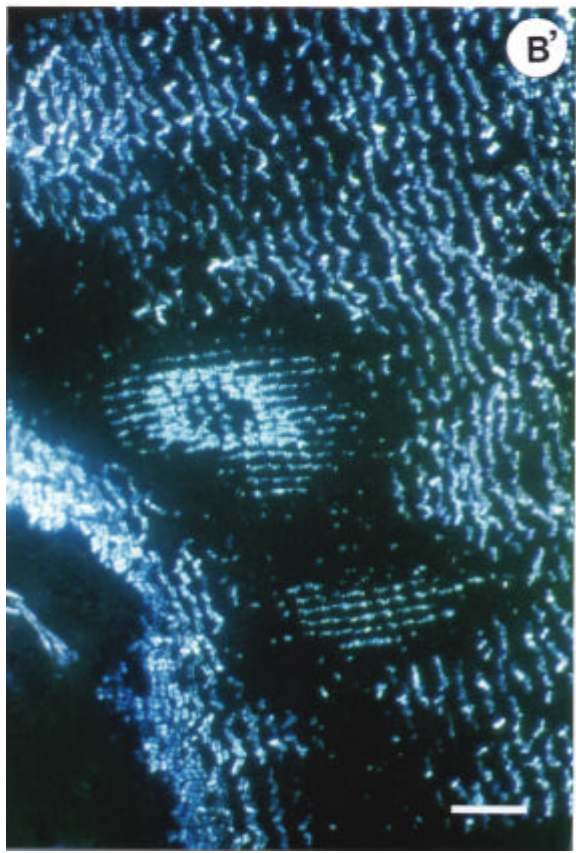
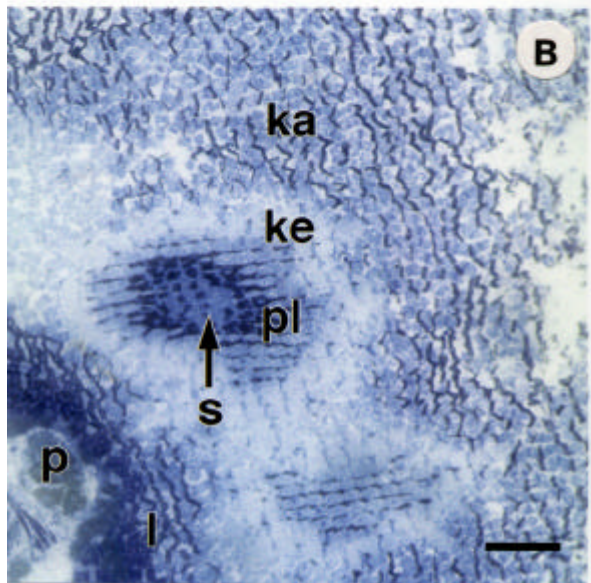
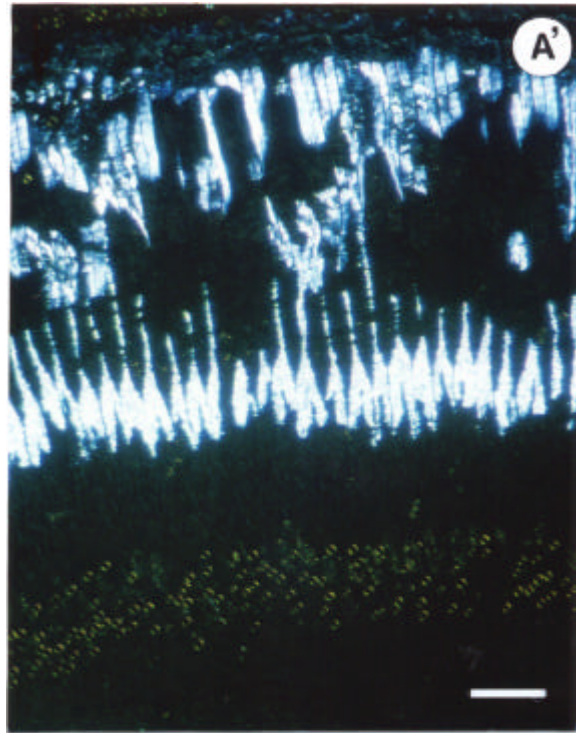
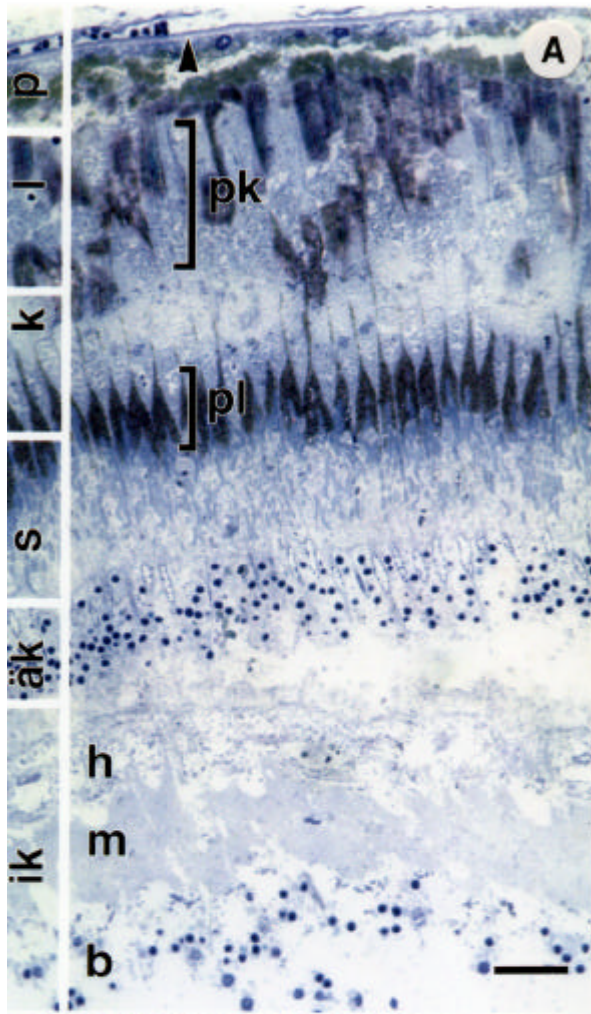
**Abbildung 3.49: Aspekte aus der Retina von *Stolephorus indicus* (LM)** >

**A)** Radialschnitt durch den Retinafundus von *S. indicus*,  $\pm$  senkrecht zum Verlauf der Polycones. **äk** äußere Körnerschicht (deutlich unterscheiden sich die länglichen Zapfenkerne von den runden Stäbchenkernen), **b** Bipolarzellen, **h** Horizontalzellen, **ik** innere Körnerschicht, **k** kurze Zapfen, **l** lange Zapfen, **m** Müllerfasern, **p** Pigmentepithel, **pk** PE-Keile, **pl** PE-Loben, **s** Stäbchen,  $\cup$  Bruch'sche Membran. **Balken** für **A-B'**: 25 $\mu$ m,

**A')** Polarisationskontrast-Aufnahme der äußeren Retina von *S. indicus* (Ausschnitt aus **A**). Die Guaninplättchenstapel in den PE-Keilen leuchten hell auf (je zwei Bahnen quadratischer Kristallite), der Guaninrus in den PE-Loben ebenfalls. Die Stäbchenkerne der äußeren Körnerschicht zeigen in dieser Darstellung einen ringförmigen, gelben Hof.

**B)** Tangentialschnitt durch PE und Photorezeptoren (irreguläre Retinafalte unten links). **ka** Außenglieder der kurzen Zapfen, **ke** Ellipsoide der kurzen Zapfen, **l** lange Zapfen, **p** Pigmentepithelzellen, **pl** laterale Loben der PE-Zellen, **s** Stäbchen.

**B')** Polkontrastaufnahme der gleichen Region. Im Bereich der **ka** finden sich Guaninplättchenstapel (Orientierung vermutlich artefaktisch etwas irritiert), zwischen **ke** und **s** Guaninrus.



### 3.3.6 *Thryssa setirostris*

Die Netzhaut von *Thryssa* zeigt zwischen Bruch'scher Membran und OLM ein **Reihenmuster** der Pigmentepithelzellen und der Photorezeptoren. Das basal hexagonale Muster der **PE-Zellen** (Abb. 3.50A) ändert sich vitreal des apikalen Zellhaftenkomplexes zu einer Reihenanzordnung (Abb. 3.50B-D). Die Ausläufer der Pigmentzellen bilden „Vorhänge“, indem die benachbarten Zellen einer Reihe über ihre gesamte radiale Ausdehnung miteinander verbunden bleiben. Sie verjüngen sich vitread, wobei sich ihr Querschnitt lateral abflacht und sich dabei von sechseckig über oval nach spindelförmig ändert.

Im gegebenen Präparat enthalten die PE-Zellen vor allem basal viel Melanin und Guanin, der Großteil des Zellumens erscheint relativ leer (artefaktisch?, Abb. 3.50D-D''; 3.51A, A'). Die Spitzen der PE-Ausläufer haben im senkrecht zu den Reihen geführten Radialschnitt einen keilförmigen Umriß und sind im vorliegenden helladaptierten Netzhautstück über eine Länge von 27.5µm dicht mit sphärischen bis länglichen Melaningranula vollgepackt (∅ bis 0.5µm, Abb. 3.51B). Im lichtmikroskopischen Hellfeld nicht zu sehen, enthüllt das Polarisationskontrastbild ein faszinierendes Detail: die Melaninmassen der Pigmentepithelkeil-Spitzen werden von doppelbrechenden Guaninpartikeln umrahmt (Abb. 3.50C',D''; 3.51A'). Tangentialschnitte zeigen in elektronenmikroskopischer Auflösung, daß es sich dabei um 2-3 Lagen dünner Guaninnadeln handelt (∅ max. 125nm · 250nm: Abb. 3.51B).

Auch die äußere Körnerschicht wird von den PE-Keilen nahezu vollständig in Reihen gegliedert - auf ihrem skleralen Grat und entlang der Flanken entspringen die Myoide der Stäbchen, die Zapfenfüße (äußere plexiforme Schicht) und die mit ihnen assoziierten Horizontalzellen (innere Körnerschicht) liegen vitreal längsseits der Gräben.

---

#### Abbildung 3.50: Der Retinafundus von *Thryssa setirostris* (LM)

>

A-F Tangentialschnittserie (LM-Hellfeld) durch die äußere Retina von *T. setirostris*. Die Photorezeptorreihen und die Pigmentepithelausläufer-Ketten verlaufen horizontal. **Balken:** 25µm.

A) Schnittebene auf Höhe der Pigmentepithelkerne.

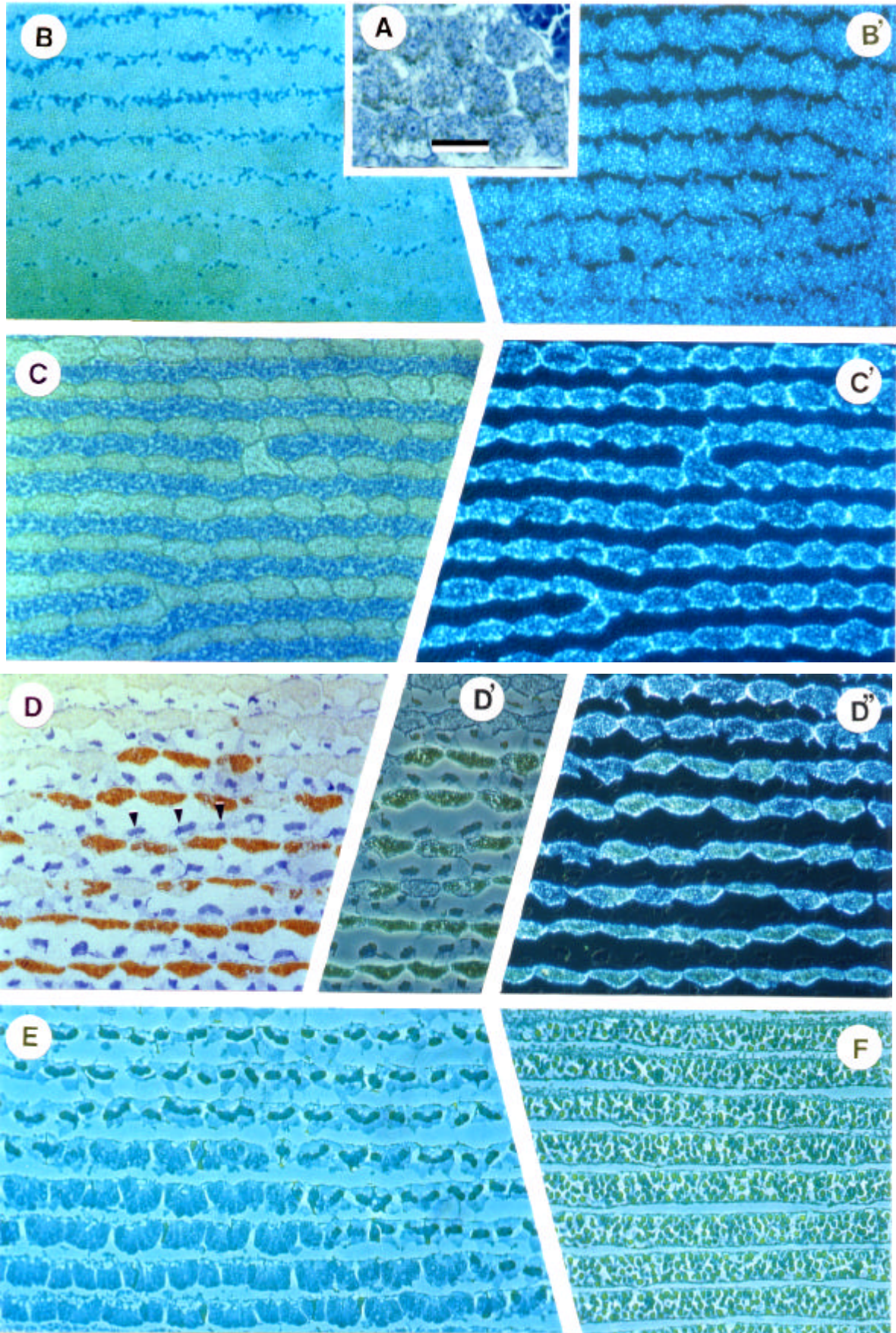
B) Schnittebene an der skleralen Basis der PE-Ausläufer. **B'**) Polkontrastaufnahme von **B**.

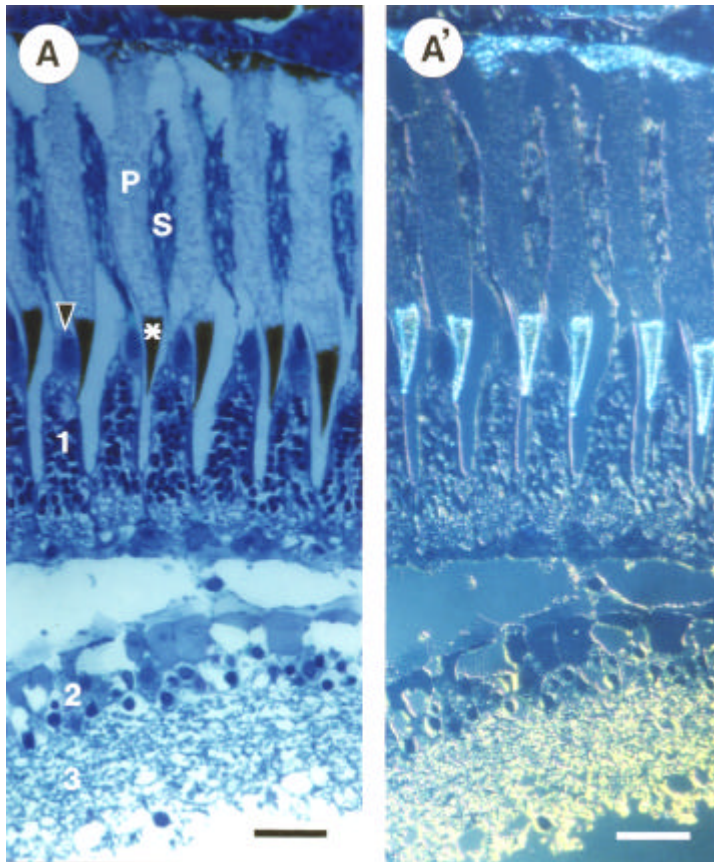
C) Schnittebene auf Höhe der Stäbchen - helladaptiert. **C'**) Polkontrastaufnahme von **C**.

D) Schnittebene auf Höhe der melaningefüllten PE-Spitzen. **D'** Phasenkontrast- und **D''** Polkontrastaufnahme von **D**. Zapfenaußenglieder (>) zwischen den PE-„Vorhängen“.

E) Schnittebene auf Höhe der Zapfenaußenglieder (oben) und Zapfenellipsoide (unten).

F) Schnittebene auf Höhe der regelmäßig gefurchten äußeren Körnerschicht.



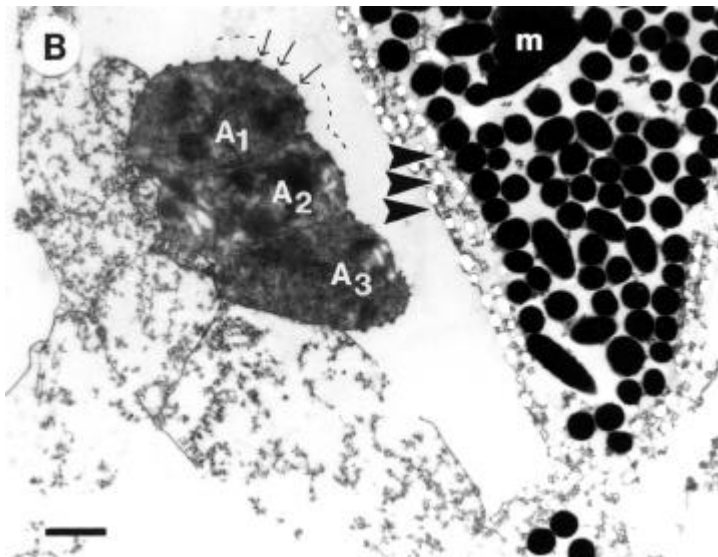


Die Photorezeptoren von *T. setirostris* bilden Reihen zwischen den „Pigmentvorhängen“.

Die **Stäbchen** füllen den Raum zwischen den PE-Fortsätzen skleral ihrer pigmentgefüllten Spitzen bis zu den „junctions“. Die **Zapfen** sitzen auf den skleralen Graten der äußeren Körnerschicht.

Sowohl auf der Ebene der Außenglieder als auch auf der der Ellipsoide sind sie in 3er- bis 5er-Gruppen arrangiert.

Calycale Fortsätze begleiten die Außenglieder – die akzessorischen Außenglieder sind *cis*-ständig, die Ellipsoide messen ca.  $7.5\mu\text{m} \cdot 15\mu\text{m}$ .



**Abb. 3.51 Die Retina von *Thyssa setirostris* (LM radial & TEM tangential)**

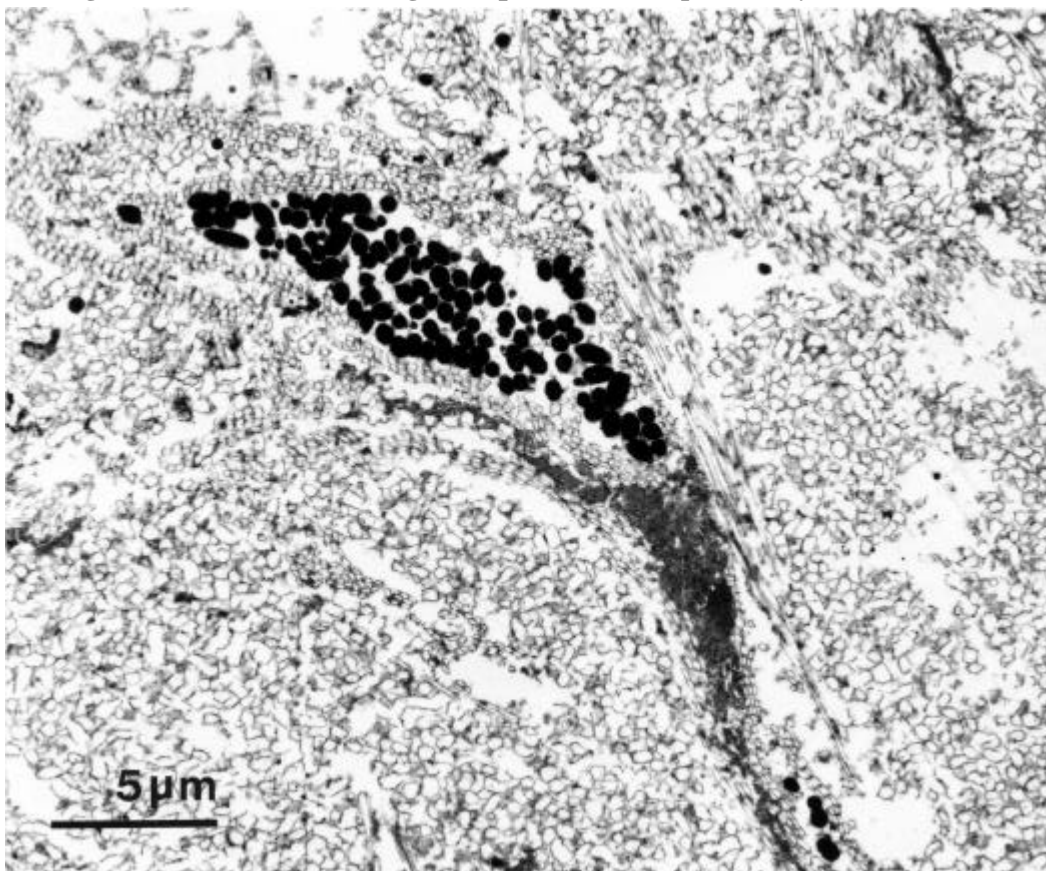
A) Radialschnitt senkrecht zu den PE-Vorhängen (p) - LM Hellfeld. Die Spitzen sind melaningefüllt (\*), s Stäbchen, Ñ Zapfenaußenglied, 1 gefurchte ONL, 2 INL, 3 IPL. A') Polkontrastaufnahme von A. Das Guanin im PE erscheint hell. **Balken** für A und A':  $25\mu\text{m}$ . B) Tangentialschnitt (TEM) durch das Außenglied eines Dreifachzapfens (A<sub>1</sub>-A<sub>3</sub>). m Melanin i. PE, > Guaninnadelpalisaden, >> calycale Fortsätze. **Balken:**  $1\mu\text{m}$ .

### 3.3.7 *Setipinna taty*

Da es trotz redlicher Bemühungen (2.1.1) nicht gelang, frisch fixierte Exemplare der Gattung *Setipinna* aus China zu bekommen, mußte ich auf ein Präparat aus der Sammlung der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft aus dem Jahre 1974 mit sehr schlechter Strukturhaltung zurückgreifen. Die Retina dieses Fisches muß schon vor der Konsevirung in Ethanol massive Abbauerscheinungen gezeigt haben (Auflösung der Schichtung, partielle Mazeration) und wurde vermutlich auch nicht aldehydfixiert. Gesicherte Aussagen zur Struktur und Anordnung der Photorezeptoren können anhand des vorliegenden Materials leider nicht getroffen werden. Zur Feinstruktur des **Pigmentepithels** liegen allerdings verwertbare Bilddaten vor (Abb. 3.52): Die Zellinhalte der PE-Ausläufer sind stellenweise in ihrer ursprünglichen Anordnung zu sehen: polyedrische Guaninkristallite (ca. 450nm) erfüllen den Großteil des Zellumens in regelloser Anordnung. Im vitrealen Teil der PE-Ausläufer mit ovalem bis spindelförmigen Querschnitt (z.B.  $21\mu\text{m} \cdot 7\mu\text{m}$ ) werden sie nahezu vollständig durch längliche Melaningranula ( $450\text{nm} \cdot 1.3\mu\text{m}$ ) ersetzt. Diese Pigmentmasse wird palisadenartig von 3-4 Lagen nadelförmiger Guaninkristallite flankiert. Diese Kristallite sind rhombisch ( $0.1 \cdot 0.2 \cdot 4.5\mu\text{m}$ ) und scheinen radial ausgerichtet in mehr oder weniger geordneten Stapeln vorzuliegen.

Abbildung 3.52: Teilmazeriertes Pigmentepithel von *Setipinna taty* (TEM)

Ú



### 3.3.8 *Coilia nasus*

Von besonderem Interesse für den Vergleich der Netzhautorganisation der Sardellenverwandschaft ist die Unterfamilie der Coiliinae (Grenadieranchovies). Ihre einzige Gattung - *Coilia* - weicht schon äußerlich in einigen Merkmalen vom Bauplan der „typischen“ Sardellen ab, so zum Beispiel durch ihren stumpfen Kopf, den lang ausgezogenen Schwanz und die Form der Flossen (Abb. 1.9). Außerdem lebt sie vorwiegend in Ästuaren und flußaufwärts im Süßwasser.

Da mir hervorragend fixiertes Material aus Japan zur Verfügung stand (s. 2.1.1), mußte ich in diesem besonders entscheidenden Fall nicht auf Sammlungsmaterial zurückgreifen.

An tangential und in Serie radial geführten Semi- und Ultradünnschnitten wurden die Organisation und die Feinstruktur vom Pigmentepithel und von den Photorezeptoren der Art *Coilia nasus* untersucht. Weiterhin war es möglich (im Rahmen der Diplomarbeit von Christoph HAACKE) verschiedene Entwicklungsstadien der Augen dieser Art - von der eben geschlüpften Larve bis hin zum Adult - zu studieren.

Die Pigmentepithelzellen und die Photorezeptoren bilden in der ventro-temporalen Retina erwachsener Grenadieranchovies ein regelmäßiges **Reihenmuster** aus. Die **PE-Zellen** stehen in einzeiligen Reihen und bilden mächtige Ausläufer in die Schicht der Photorezeptoren aus (Abb. 3.53A,A'). Diese PE-Fortsätze haben in ihrer skleralen Hälfte einen näherungsweise rechteckigen Querschnitt mit konvex gekrümmten Flanken (max.  $13.5\mu\text{m} \cdot 15\mu\text{m}$ ; Abb. 3.55A), der aber in der Mitte ihrer radialen Ersteckung durch die dazwischen geschobenen Zapfen unregelmäßig deformiert sein kann. In der vitrealen Hälfte ist der Querschnitt der PE-Zellen oval und verjüngt sich vitread, so daß die Zellen benachbarter Reihen divergieren (Abb. 3.53A; 3.54A-C; 3.55D-F).

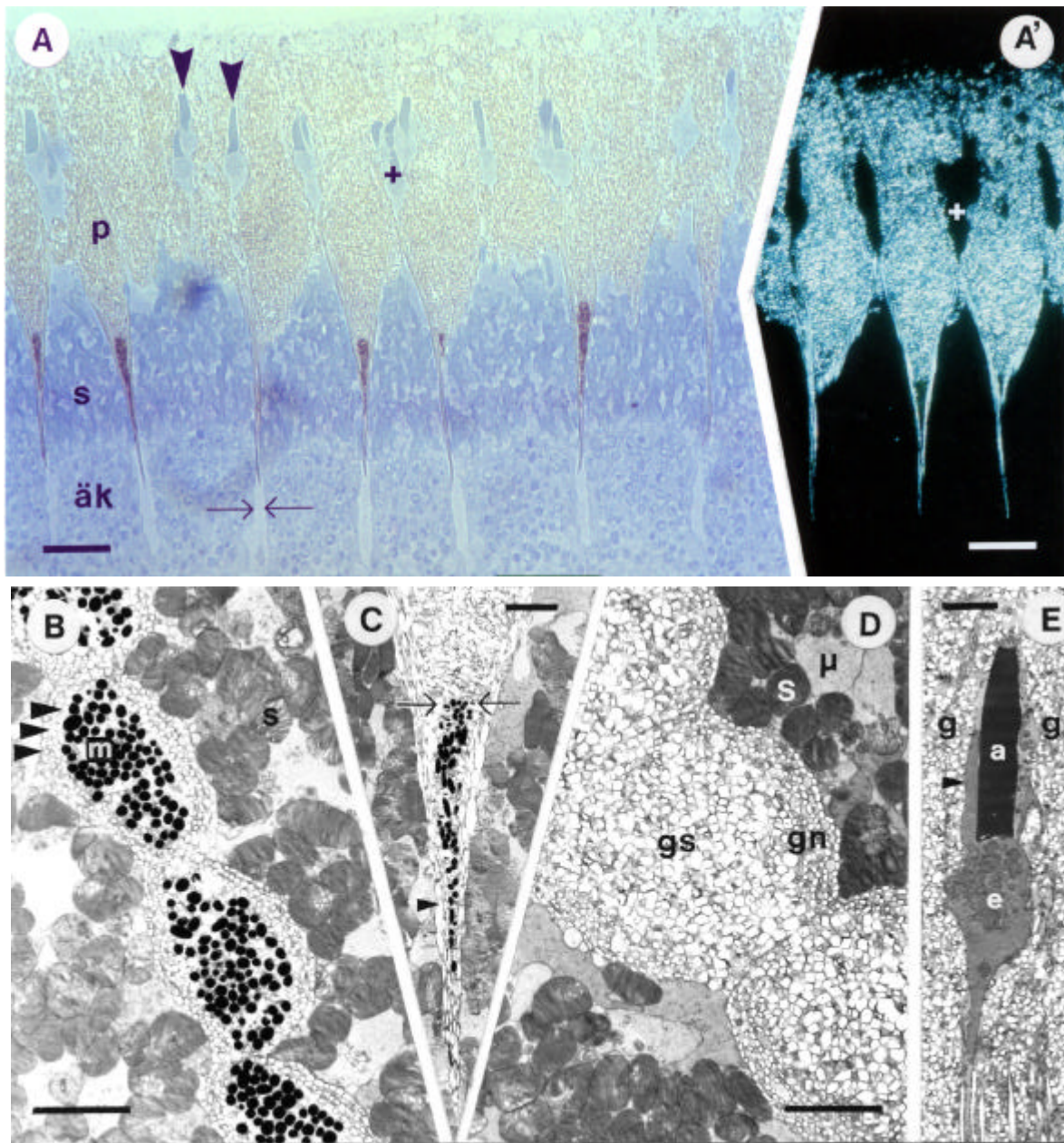
---

#### Abbildung 3.53: Aspekte aus der Retina von *Coilia nasus* (LM radial + TEM) >

A) Radialschnitt durch den Fundus der äußeren Retina von *C. nasus* senkrecht zum Verlauf der PE-„Vorhänge“ (LM, Hellfeld). **äk** äußere Körnerschicht mit Gräben ( $\otimes \rightarrow$ ), **p** PE-Keil, **s** Stäbchen, **Ú** Zapfen. **Balken** für **A** und **A'**:  $25\mu\text{m}$ .

A') Ausschnitt aus **A** im Polkontrast. Guanin „leuchtet“ hell auf - besonders die Nadeln an den Flanken der vitrealen Hälfte der PE-Ausläufer. + markiert in **A** und **A'** eine identische Stelle.





**B)** Tangentialschnitt durch die melaningefüllten PE-Keilspitzen (TEM). Die Melaningranula (**m**) werden auf dieser Ebene von 3 elliptischen Palisaden aus Guaninnadeln (>) umgeben.

**s** Stäbchenaußenglieder. **Balken:** 5µm.

**C)** Radialschnitt durch die Spitze eines PE-Keiles. Beachte die scharfe Grenze zwischen den Melaningranula und dem Guaninschotter (® - ). > Guaninnadeln. **Balken:** 5µm.

**D)** Tangentialschnitt durch den „Bauch“ der PE-Ausläufer. Beachte den Größenunterschied der Guaninkristallite zwischen Guaninschotter (**gs**) und Guaninnadeln (**gn**) - letztere bilden Palisaden in der Zellperipherie. **μ** Zapfenmyoide, **s** Stäbchenaußenglieder. **Balken:** 5µm.

**E)** Tangentialschnitt durch einen Zapfen - er liegt dicht eingebettet im Guanintapetum (**g**). **a** Außenglied, **e** Ellipsoid, > akzessorisches Außenglied. **Balken:** 5µm.

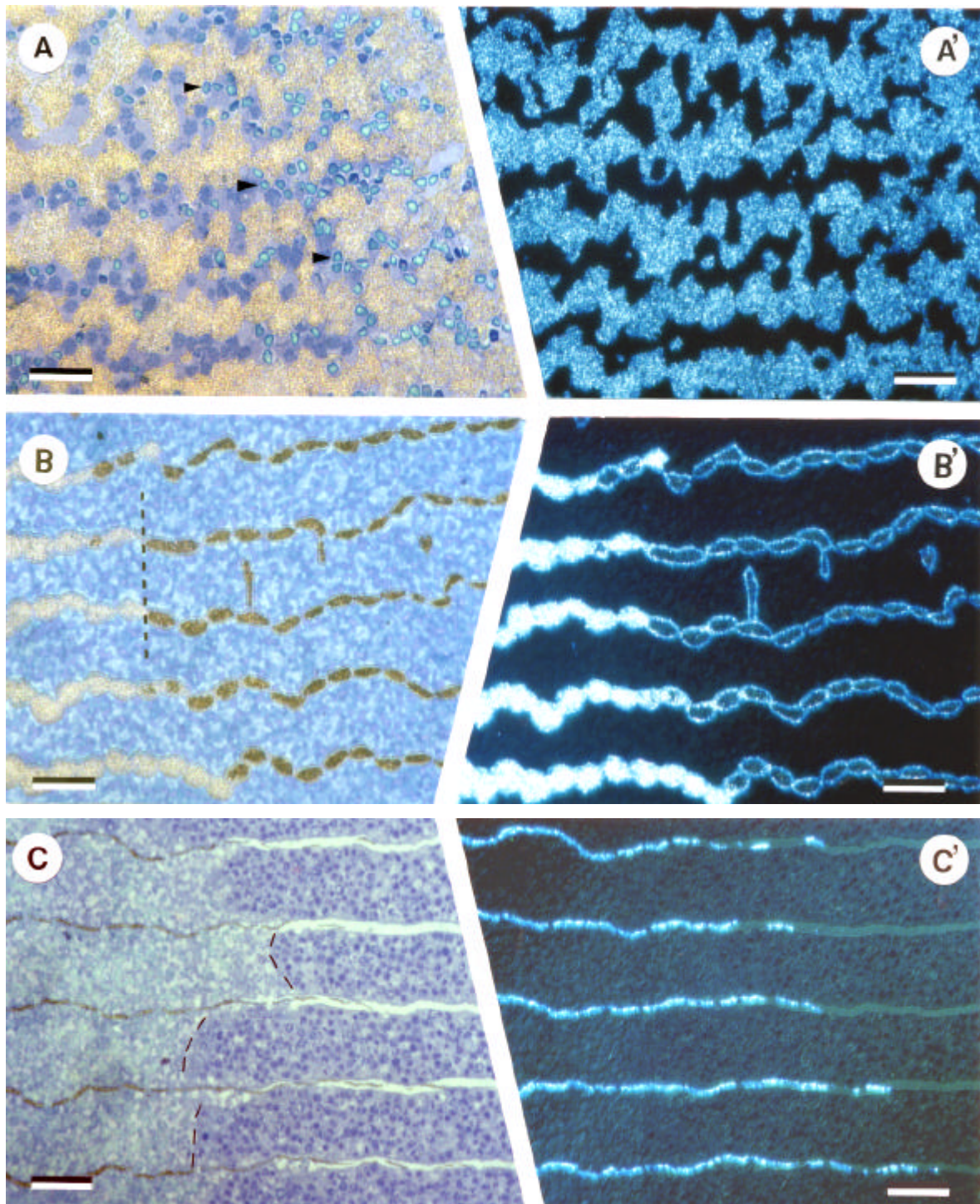
Die Ausläufer benachbarter Zellen einer Reihe bleiben auf ganzer Länge miteinander verbunden, ihre Kontaktfläche ist eben und erscheint daher im Tangentialschnitt als gerade Linie (Abb. 3.53D). Auf diese Weise werden keilförmige PE-„Vorhänge“ gebildet, deren Flanken einen mehr oder weniger welligen Verlauf haben (z.B. Abb. 3.54B). Sie reichen bis in die äußere Körnerschicht, die vitreal der „Vorhänge“ durch 5µm breite und 40µm tiefe Gräben in ca. 20-30µm · 40µm mächtige Streifen unterteilt wird (Abb. 3.53A; 3.54C).

Das Lumen der PE-Zellen - vor allem vitreal der Kernzone - ist zum überwiegenden Teil erfüllt von polyedrischen Guaninkristalliten (Ø ca. 500nm: Abb. 3.53A'/D). Peripher in der vitrealen Hälfte der PE-Ausläufer liegen radial und parallel zur Zellmembran ausgerichtete Guaninnadeln (hexagonaler Querschnitt von ca. 150nm · 300nm, Länge wenige µm: Abb. 3.53B-D) in bis zu vier Lagen. In der Spitze der PE-Ausläufer wird die zentrale Masse aus Guaninkristalliten abrupt und weitgehend durch sphärische bis längliche Melaningranula ersetzt (Länge der Pigmentfüllungen ca. 25µm - 30µm: Abb. 3.53A-C; 3.54B,B'; 3.55F). Die peripheren Guaninnadel-Palisaden reichen, bei abnehmender Zahl der Lagen, bis zur vitrealen Zellspitze.

Die radiale Verteilung der zwei Photorezeptortypen - Zapfen und Stäbchen - zeigt im gegebenen Präparat von *Coilia nasus* das Bild einer vollständig dunkel-adaptierten Retina (Abb. 3.53A; 3.55B-E). Die **Zapfen** liegen weit nach skleral verschoben zwischen den Guaninmassen benachbarter PE-Zellreihen eingebettet. Durch ihre Lage sind auch sie in ein Reihemuster gezwungen, das allerdings nicht sonderlich regelmäßig erscheint - die Außenglieder und Ellipsoide der Zapfen erfüllen den verwinkelten Raum zwischen den Pigmentzellreihen vielmehr in wenig regelhafter Anordnung (Abb. 3.54A; 3.55B,C). Eine Aussage über ein Vorkommen von Doppel- oder Mehrfachzapfen kann für die untersuchten Retinafragmente des Adultus nicht mit Sicherheit getroffen werden. Das Außenglied des Zapfens mißt ca. 18µm in der Länge (≈ 720 Disks: Abb. 3.53E) und hat einen Durchmesser von ca. 3.5µm. Das Ellipsoid ist kugelig (Ø ca. 7.5µm) und von sphärischen Mitochondrien unterschiedlicher Größe erfüllt. Das Myoid ist wenig elektronendicht und auch in der Stäbchenzone als ein etwa 0.9µm weites Kompartiment zu erkennen (Abb. 3.55E,F). Die Zapfendichte beträgt in der dargestellten Region ca. 125 pro 10<sup>4</sup>µm<sup>2</sup>.

Die **Stäbchen** sind in der ventro-temporalen Retina zahlreich vorhanden und erfüllen den Raum zwischen den divergierenden Flanken der PE-„Vorhänge“ und der OLM nahezu vollständig. Sie liegen radial gestaffelt ohne erkennbare Schichtung und lassen Platz nur für die Zapfenmyoide (Abb. 3.53A).

- Diese Seite bleibt zum Zweck einer ansprechenderen Darstellung  
der folgenden Abbildungstafeln 3.54 und 3.55 leer -



**Abbildung 3.54:** Aspekte aus der Retina von *Coilia nasus* (LM tangential) Ü

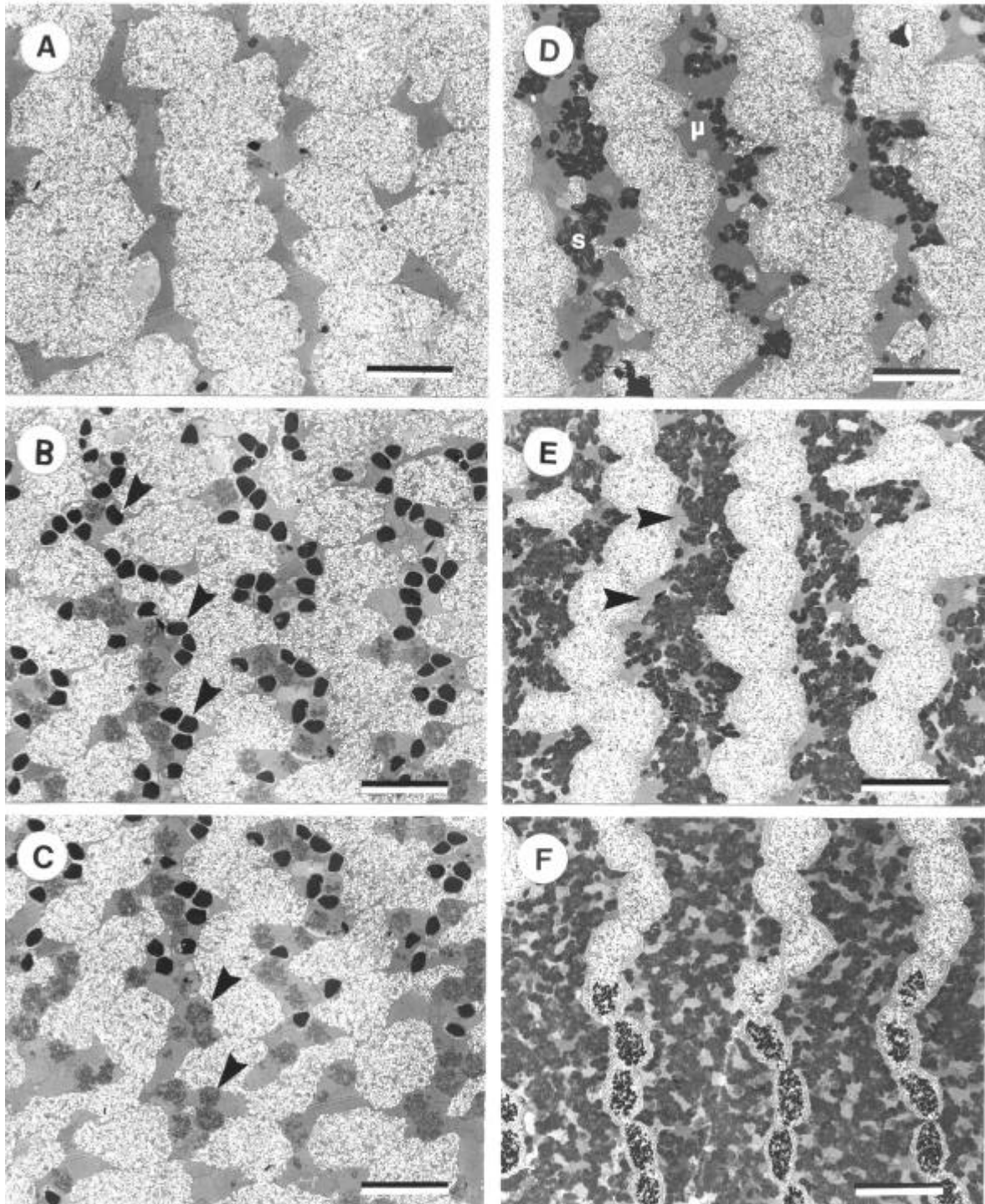
A-C Tangential geführte Semidünnschnittserie durch die äußere Retina von *C. nasus* (Hellfeld),  
 A'-C' zeigen den jeweils identischen Ausschnitt im Polkontrast: Guaninkristallite „leuchten“.

A) Schnittebene auf Höhe der Zapfenaußenglieder (>). **Balken** für A-C': 25 µm.

B) Leicht schiefer Schnitt am Übergang vom Guaninschotter zum Melaninkern der PE-Keilspitzen (---).

B' betont die peripheren Guaninnadeln besonders in den PE-Keilspitzen.

C) Schnittebene (leicht schief) auf Höhe der PE-Keilspitzen. ---- Äußere Grenzmembran.



**Abbildung 3.55: Aspekte aus der Retina von *Coilia nasus* (TEM)**

Ü

Tangentialschnittserie durch sklerale Retinaschichten von *C. nasus*. **Balken** für A-F: 20µm.

A) Schnittebene skleral der Zapfen. Massive Ketten von PE-Ausläufern mit Guaninschotter.

B) Schnittebene auf Höhe der Zapfenaußenglieder (>). Vergleiche mit Abb. 3.54A.

C) Vitreal der Außenglieder der Zapfen erscheinen ihre Ellipsoide (>). PE unregelmäßig.

D)  $\mu$  Zapfenmyoide, s Stäbchenaußenglieder. Peripher im PE erscheinen Nadelpalisaden.

E) Die PE-Ketten verjüngen sich, Stäbchen füllen den Raum dazwischen. > Zapfenmyoide.

F) In den Spitzen der PE-Ausläufer weicht das Guanin dem Melanin. Vgl. Abb. 3.54B.

### 3.3.9 *Lycothrissa crocodilus*

Die Retina des als *Lycothrissa crocodilus* bestimmten Fisches mit der ZFMK-Kennung 19435 (s. Tab. 2.1, S.48) besitzt im Vergleich zu den anderen untersuchten Vertretern der Engraulididae eine völlig andersartige Netzhautarchitektur. Der radial geführte Übersichtsschnitt weist sie als helladaptiert aus (Abb. 3.56C: Stäbchen skleral - Zapfen vitreal) und enthüllt ihre Schichtung. Im Bereich der Zapfenaußenglieder und leicht skleral davon deuten Unregelmäßigkeiten im Verlauf der Strukturen auf partiell schlechte Strukturhaltung hin, was sich im TEM allgemein bestätigt (gerissene Membranen, Plasmaagglutination). Der Fisch wurde zwar „erst“ 1991 aus einem südvietnamesischen Fluß gezogen, aber offensichtlich nicht gründlich bzw. nicht rasch genug fixiert. Trotzdem läßt sich der Aufbau der Retina noch relativ gut beschreiben.

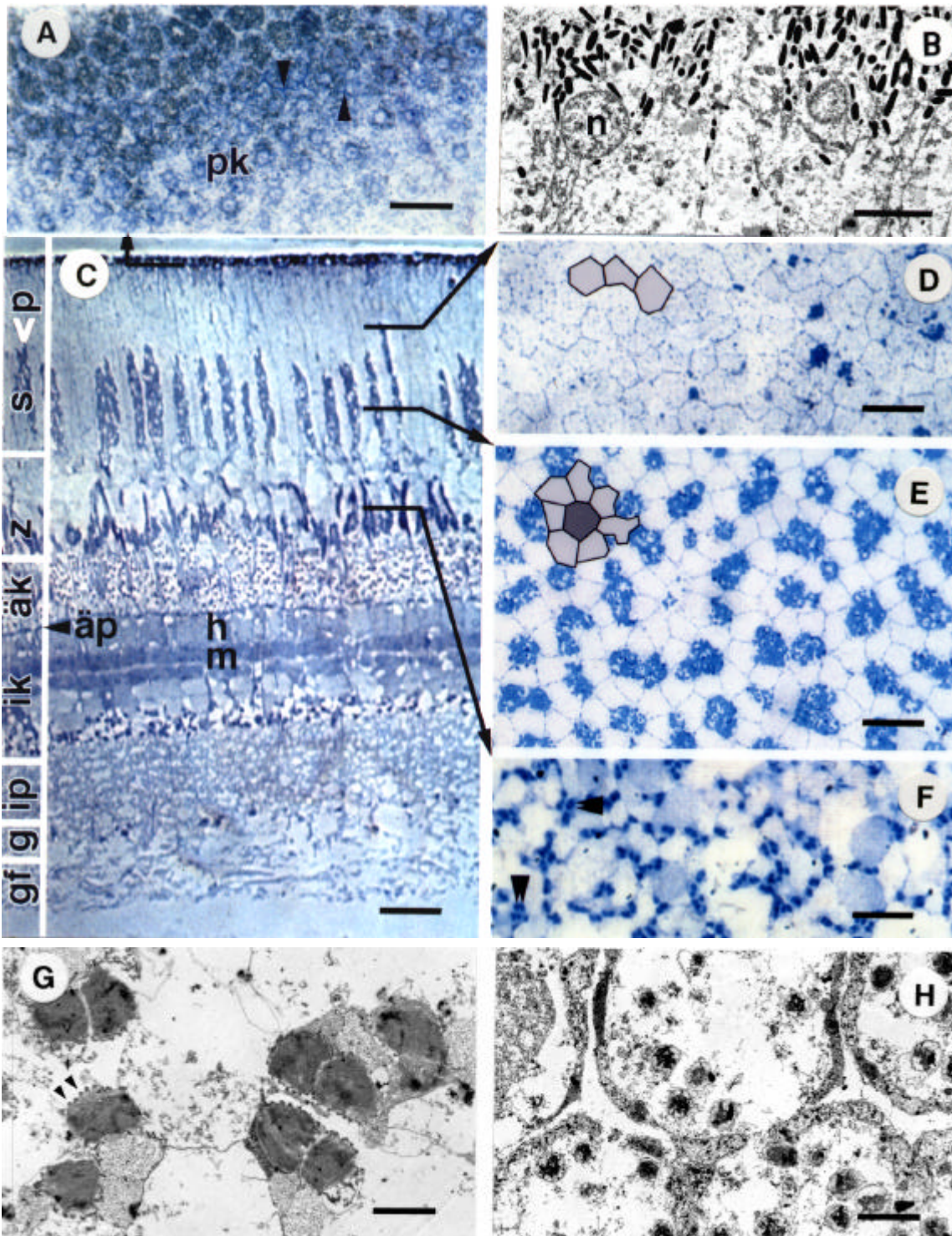
Die **Pigmentepithelzellen** haben basal einen hexagonalen Querschnitt und bilden Ausläufer bis hin zu den Außengliedern der Zapfen. Diese Ausläufer behalten in der skleralen Hälfte ihren sechseckigen Querschnitt (Abb. 3.56A,D) und die nahtlose Verbindung zu allen Nachbarn bei und erfüllen so den Raum des angegebenen Retinahorizonts vollständig. Weiter skleral werden sie - bei gleichbleibender Anzahl - von den **Stäbchen** auseinandergedrängt (Abb. 3.56E). Die Stäbchen liegen dabei zu Bündeln ( $\varnothing$  ca. 10-15 $\mu$ m, Länge bis 120 $\mu$ m) gepackt zwischen den PE-Ausläufern. Je nachdem von wievielen Zellen ein Stäbchenbündel flankiert wird, besitzt es 5-8 ebene Flanken. Die PE-Ausläufer haben hier gegenüber ihrem Ursprung einen kleineren, verzerrten Querschnitt und bilden im Tangentialschnitt ein Netzmuster, das die Stäbchenbündel auf Abstand hält (meist genau um die Breite eines PE-Ausläufers). Nur skleral (!) der PE-Kerne enthalten die Zellen geringe Mengen länglicher Melaningranula (Abb. 3.56A,B). Hinweise auf Guaninreflektoren finden sich weder licht- noch elektronenmikroskopisch (in vivo aber keinesfalls ausgeschlossen!). Die Anordnung der **Zapfen** ist im vorliegenden Präparat ohne ein eindeutiges Ordnungsprinzip. Es scheint so, als wären ihre Außenglieder netzförmig um die am weitesten vitreal gelegenen Portionen der PE-Ausläufer arrangiert (Abb. 3.56F). Sie sind schlank (Länge ca. 30 $\mu$ m,  $\varnothing$  2.3 $\mu$ m) und scheinen durchwegs als Doppelzapfen vorzuliegen. Bei elektronenmikroskopischer Auflösung sieht man auch die calycalen Fortsätze und *cis*-ständige akzessorische Außenglieder (Abb. 3.56G). Die Ellipsoide sind sehr schlecht erhalten.

Interessant ist, daß sich das Bündelmuster der Stäbchen in der äußeren Körnerschicht in gewisser Weise fortsetzt: die OLM bildet keine Ebene, sondern ist so in die äußere Körnerschicht eingezogen, daß letztere in Form dichtstehender „Noppen“ ( $\varnothing$  z.B. 20 $\mu$ m: Abb. 3.56H) untergliedert wird.

---

**Abbildung 3.56:**      **Aspekte aus der Retina von *Lycothrissa crocodilus*** >

Die Abbildungen sind im Text besprochen. (A) Ú Ú apikaler Zellhaftenkomplex der PE-Zellen, **pk**



Kernregion der PE-Zellen. (B) n PE-Zellkern. (C) ak äußere Körnerschicht, ap äußere plexiforme Schicht, g Ganglienzellschicht, gf Ganglienfaserschicht, h Horizontale, ik innere Körnerschicht, ip innere plexiforme Schicht, m „Müllerfasern“, <p PE-Ausläufer, s Ebene der Stäbchen, z Ebene der Zapfen. (D/E) hellgrau: PE-Zellen, dunkelgrau: Stäbchenbündel. (F) >> Außenglieder der Doppelzapfen. (G) Zapfenaußenglieder, > calycale Forts. (H) Gebündelte ONL. Balken für A und D-F: 25µm, für B und H: 5µm, für C: 50µm, für G: 2.5µm.

### 3.3.10 Zusammenfassung der Strukturbefunde

Aus den Untersuchungsergebnissen der Arbeitsgruppe von Prof. SMOLA zur Netzhautstruktur der Clupeoidei lassen sich bisher sechs Typen von Rezeptormustern bzw. Rezeptor-Pigmentepithelzell-Architekturen definieren (vgl. HEB et al. 1999):

- Das Zapfengrundmuster der Clupeidae besteht aus Doppelzapfen in Reihenordnung, zwischen die Einzelzapfen eingestreut und mit ihnen in der Area zu einem 2:1-Quadratmuster arrangiert werden. In Zusammenarbeit mit Roland ESER (Zulassungsarbeit 1998) konnten entsprechende Literaturangaben zu den Clupeinae und Alosinae bestätigt und auf die Dorosomatinae und Pellonulinae ausgeweitet werden (Abb. 3.57A).
- Ebenfalls zusammen mit Roland ESER wurde für einen Vertreter der Pristigasteridae ein Muster aus (Doppel?-)Reihen von Einzelzapfen gefunden, getrennt durch geschlossene, lineare Vorhänge aus guaninhaltigen Pigmentepithelzellfortsätzen (Abb. 3.57B).
- Die von *Anchoa* bekannte Polycone-Architektur findet sich außer bei *Engraulis* noch bei weiteren Gattungen der Engraulidinae, nämlich bei *Lycengraulis*, *Stolephorus*, *Anchoviella* und *Encrasicholina* (Abb. 3.57C). Für *Engraulis* fanden sich auch Regionen mit Dreifachzapfen.
- Die Gattung *Coilia* (Coiliinae) bildet Polycones aus alternierenden langen und kurzen Zapfen „normaler“ Gestalt und Lamellenorientierung zwischen geschlossenen, linearen Vorhängen aus guaninhaltigen PE-Fortsätzen. Die Entwicklung der *Coilia*-Retina wurde zusammen mit Christoph HAACKE studiert (Diplomarbeit 1998): Abb. 3.57D. Das gleiche Muster zeigt *Thryssa* und höchstwahrscheinlich *Setipinna*.
- *Cetengraulis* (Engraulidinae) bildet lineare Dreifachzapfen zwischen isolierten, guaninhaltigen PE-Fortsätzen (Abb. 3.57E).
- Bei *Lycothrissa* werden die Photorezeptoren (Doppelzapfen und Stäbchen) zwischen polygonalen, kohärenten PE-Fortsätzen gebündelt (Abb. 3.57F).

Zur Übersicht über das System der Clupeoidei und der Engraulididae siehe Abb. 1.6 (S. 29) und Abb. 1.9 (S. 40).

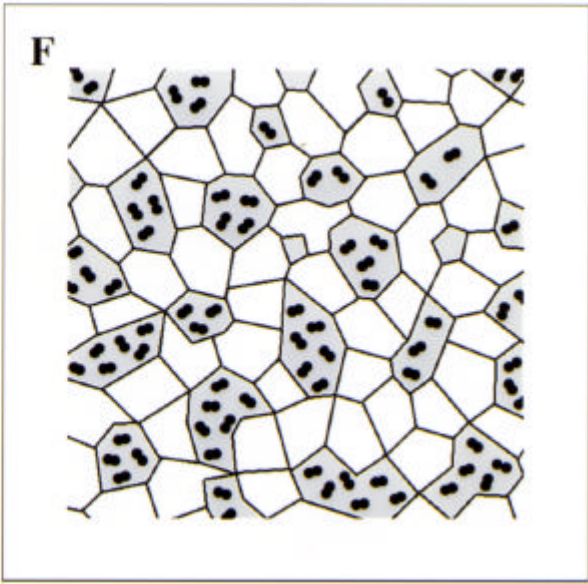
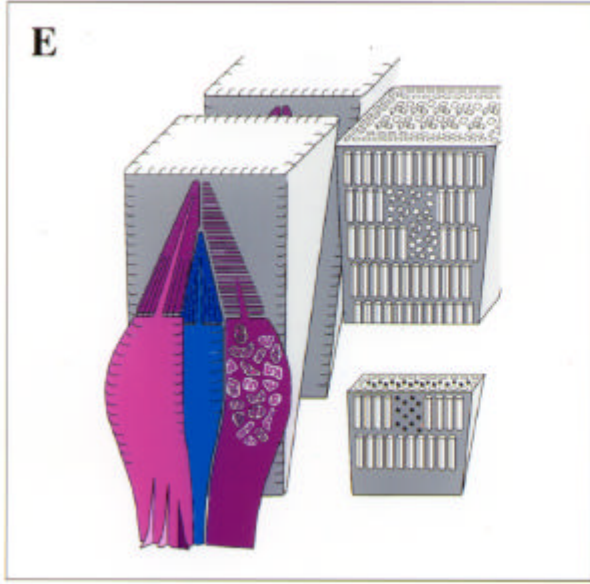
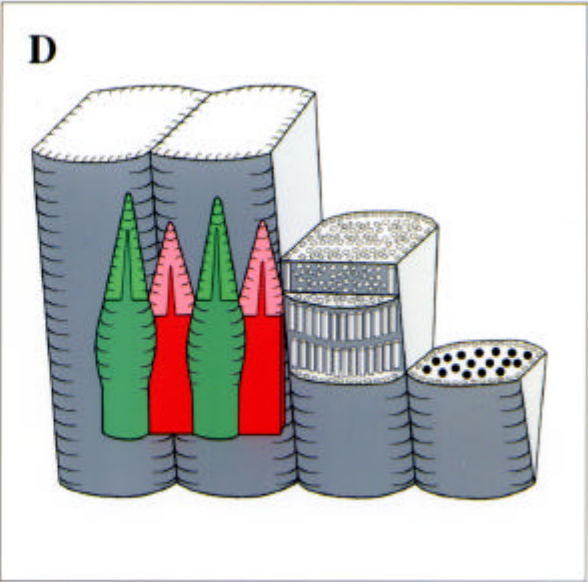
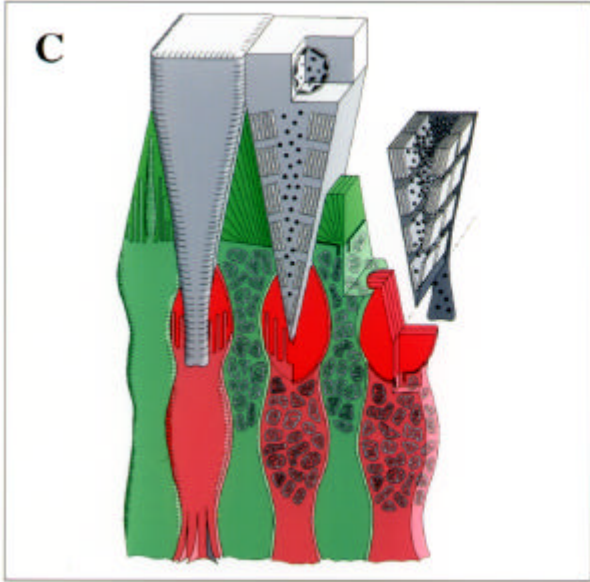
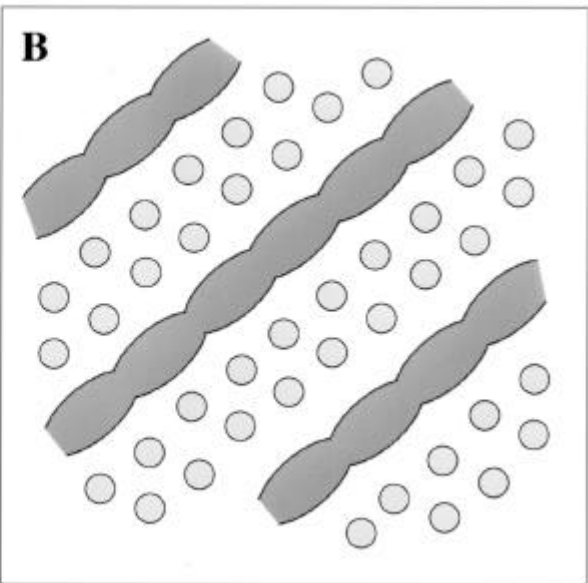
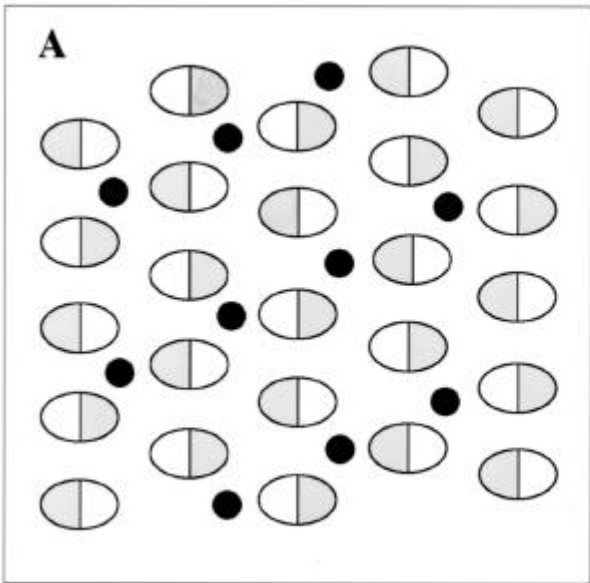
---

#### Abbildung 3.57: Photorezeptor- und PE-Muster bei Heringsfischen

- A) Doppelzapfenreihen mit Einzelzapfen bei den Clupeidae - z.B. *Dorosoma*.
- B) Einzelzapfenreihen zwischen PE-Vorhängen bei *Ilisha* (Pristigasteridae).
- C) Die Polycones der *Anchoa/Engraulis*-Gruppe (Engraulidinae).
- D) Die Polycones der *Coilia*-Gruppe (Coiliinae und Engraulidinae).
- E) Dreifachzapfen zwischen isolierten PE-Keilen bei *Cetengraulis* (Engraulidinae).
- F) Gruppenretina von *Lycothrissa* (Engraulidinae).

>





## 4. Diskussion

### 4.1 Strukturelle Abweichungen der Sardellenretina vom Grundplan.

Im Kapitel 1.2 wurde der Grundplan des Wirbeltier- bzw. Teleostierauges skizziert und auf die Variabilität einiger Teilaspekte seiner Organisation hingewiesen. Will man die Bauplaneigentümlichkeiten der Sardellenretina vor diesem Hintergrund diskutieren, so muß man folglich zwischen Merkmalen unterscheiden, die allgemein für Fischaugen zutreffen, solchen die ihresgleichen nur bei mehr oder weniger verwandten bzw. ähnlich spezialisierten Gruppen wiederfinden lassen und Merkmalen, die speziell bei den Sardellen - und vermutlich nur dort - ausgebildet sind.

#### Eidonomie und Anatomie der Augen

Bei äußerlicher Betrachtung gleichen die **Augen** von *Engraulis encrasicolus* denen vieler anderer Arten, z.B. bezüglich ihrer Lage im Schädel, ihrer runden Gestalt und ihrer großen Pupillen. Die Silberhaut (Argentea) der Iris setzt die Spiegeltarnung der Körperflanken auf den relativ großen Augen fort, ihre dorsale Pigmentierung entspricht der dunklen Tarnfärbung des Fischrückens (DENTON 1970). Als eine Besonderheit mag man das sog. „Fettlid“ auffassen, das das Auge distal vollständig einschließt und dessen Außenseite kontinuierlich mit der Kopfoberfläche des Fisches verläuft. In dieser geschlossenen Form gilt es als eigentümlich für die Sardellen (z.B. WALLS 1942), kommt aber mit mehr oder weniger ausgeprägter zentraler Öffnung auch bei anderen Familien mit pelagischer Lebensweise vor. Es handelt sich dabei um eine transparente, aber keineswegs fettige Duplikatur des Integuments, deren Funktion unterschiedlich gedeutet wird: Bei schnell-schwimmenden Fischen könnte das Fettlid die Bildung von Wasserwirbeln vermindern oder einfach die Cornea schützen (BONE & MARSHALL 1985, O'CONNELL 1963), es könnte die Brechkraft des Auges erhöhen oder sogar im Dienste der Wahrnehmung polarisierten Lichtes stehen (STEWARD 1962; siehe auch 4.6.2).

Der nasal exzentrische Pupillenrand („aphakischer Raum“) dürfte zum einen die Achse der Linsenbewegung bei der Akkomodation anzeigen (FERNALD 1989), zum anderen das frontale Gesichtsfeld etwas vergrößern. Dafür sprechen auch die nasal erweiterten, mit transparentem Fettlidgewebe gefüllten Orbitae. Die Augenmuskeln sind bei der Sardelle relativ schwach entwickelt, der besonders filigrane Musculus anterior rectus spricht für eine nur geringfügige okulomotorische Stabilisierung des Sehfeldes in horizontaler Richtung beim Schwimmen.

Auch in seinem inneren Aufbau erscheint das Sardellenauge „normal“ gebaut. Die Elemente des dioptrischen Apparates liegen in einem Augenbecher, der von der Netzhaut inwändig weitgehend vollständig und meist glatt ausgekleidet ist - hin und wieder finden sich jedoch auch Wellen und/oder Falten in der Retina. Sie treten unregelmäßig auf und sind daher in ihrer Position und Ausdehnung nicht vorhersagbar - es läßt sich nicht entscheiden, ob diese Unregelmäßigkeiten altersbedingt oder etwa pathogener Natur sind. Ähnliche Falten sind z.B. für den gemeinen Seehund *Phoca vitulina* beschrieben (JAMIESON & FISHER 1971) und werden als Anomalität ohne Anpassungswert gedeutet.

Die Austrittsstelle der Ganglienzellaxone stellt sich bei der Aufsicht auf die Innenseite des Augenbeckers der Sardelle eigentümlicherweise als eine gerade Linie dar. Der Beginn des Tractus opticus ist also bei *Engraulis* nicht wie bei den meisten Vertebrata inclusive des Menschen in Form eines runden „blinden Flecks“ ausgeprägt, sondern als sogenannte „optische Furche“ oder „embryonic fissure“. Diese optische Furche ist innerhalb der Engraulididae als gerade, vom ventralen Netzhautrand temporad in den Fundus ziehende Linie bekannt, bei den übrigen untersuchten Clupeiformes ist sie dagegen als gebogene Linie ausgebildet (konvex zur dorso-nasalen Seite, z.B. O'CONNELL 1963).

Ein gekrümmter Verlauf der optischen Furche wird in der Regel durch ein asymmetrisches, nasal beschleunigtes Retinawachstum erklärt (z.B. bei CAMERON & EASTER 1993 für den Sonnenbarsch *Lepomis cyanellus*; siehe auch EASTER 1992). Eine gerade Linie bei *Engraulis* passt dagegen gut zu dem Befund, daß sich am Retinarand mehr oder weniger synchron konzentrische Ringe von Photorezeptoren abgliedern - die Positionierung der optischen Furche im ventro-temporalen Quadranten und ihre Schräglage lassen sich durch die deutlich unterschiedlichen Zapfenquerschnitte zu beiden Seiten der Furche (siehe Abb. 3.4E), den Einschub mehr oder weniger breiter Stäbchenreihen und den gelegentlichen Einschub „zusätzlicher“ Zapfenreihen in der nasalen Hälfte der Retina erklären.

Der Tractus opticus zieht auf der Rückseite des Augenbeckers als mehrfach gefaltetes Nervenband dorso-caudad zum Zwischenhirn. Diese Art der Fältelung scheint bei Knochenfischen häufig vorzukommen und ist die Folge eines geordneten Ablagerungsgeschehens von Ganglienzellaxonen beim Wachstum der Retina (RUSOFF & EASTER 1980; EASTER et al. 1981).

## Die Retina

Die **Neuroretina** der adulten Europäischen Sardelle enthält Zapfen und Stäbchen und kann somit als „Retina duplex“ ausgewiesen werden. Da sie dieses Merkmal mit den weitaus meisten Wirbeltierarten teilt, ist es als ein Grundplanmerkmal zu werten. Der Besitz von photopischem und skotopischem System lässt die Anpassung von *E. encrasicolus* an einen weiten Bereich von Beleuchtungsintensitäten erkennen und damit auf ein entsprechend weites Aktivitätsfenster in Raum und Zeit schließen. O'CONNELL (1963) bemerkt darüber hinaus, daß die *Engraulis*-Retina im Artenvergleich relativ dick ist und so bei einer relativ großen Zapfen- und Sekundärneuronenzahl pro Volumenelement der Netzhaut „zu hohen integrativen Leistungen befähigt“ sein sollte.

Ein schon spezielleres Merkmal ist das allgemeine Muster der Photorezeptoren. Lokal betrachtet erscheint es als ein Muster paralleler Zapfenreihen und Stäbchenbahnen. Es finden sich zwar innerhalb der Teleostei häufig Beispiele von Zapfenreihen, z.B. bei den Clupeidae, es handelt sich hierbei aber durchwegs um Reihemuster voneinander primär unabhängiger Doppelzapfen (vgl. 1.2.2). Global betrachtet sind die Photorezeptorreihen der Sardelle in der Form konzentrischer Ringe angeordnet. Die Erklärung für diesen Zustand läßt sich wohl in seiner Morphogenese finden: Während des Flächenwachstums der Retina werden von der Ora serrata zentripetal Zellreihen abgegliedert, die sich sukzessive um das zentrale (= älteste) Ende der optischen Furche legen (siehe 4.3 und SCHOLLES 1979; EASTER 1992). In anderen Fällen kann das randliche Wachstum dagegen auch zu radiären Reihemustern führen (MÜLLER 1952).

Die Kartierung der Photorezeptor-Flächendichten innerhalb einer Netzhaut enthüllt ein Gebiet stark erhöhter Zapfendichte (bei verminderter Stäbchendichte) im ventro-temporalen Quadranten der Retina. Das Vorkommen einer solchen „Area“ und ihre Lage sind in der für die Sardelle beschriebenen Ausprägung bei Knochenfischen nichts ungewöhnliches (Kap. 1.2.2). Die großen interspezifischen Schwankungen gerade dieser Merkmale erlauben hier allerdings keine sinnvolle Definition eines Grundplans. Auch der Mensch besitzt übrigens eine stäbchenfreie Zapfenarea in zentraler Lage (Fovea mit ca.  $3000 \text{ Zapfen}/10^4 \mu\text{m}^2$ , ERGGELET 1932: Abb. 61) mit einem packungsbedingten Wabenmuster der Zapfenquerschnitte. Die zweite, in etwa halbmondförmige Zapfenverdichtung nahe des nasalen Retinarandes der Sardelle dürfte dagegen eine Struktur sein, die nur einigen Gattungen der Unterfamilie Engraulidinae eigen ist (siehe 4.7.1). Von anderen Beispielen sekundärer Areae - z.B. bei *Salvenius*, *Esox* und *Labidesthes* - berichtet O'CONNELL (1963). Abseits der sekundären Area ist bei *Engraulis* die Zapfendichte der Retinaperipherie geringer als im Fundus. Dies sollte wiederum als ein Sardellen-

spezifisches Merkmal zu werten sein, da bei anderen Clupeoidei, z.B. *Sardinops* (O'CONNELL 1963: fig. 5) eine dazu inverse Situation vorliegt.

Während die Stäbchen der Sardelle eindeutig „normale“ Stäbchen sind, also im Detail dem Grundplan entsprechen, sind die verschiedenen Zapfentypen als ungewöhnliche bis extrem aberrante Bildungen einzuordnen. Für die **Polycones**, die bei *E. encrasicolus* vorherrschende Zapfenform, sind mindestens fünf sehr ungewöhnliche Eigenschaften zu benennen:

- Die gleichmäßige und enge strukturelle Kopplung der Zapfen im Polycone, bestehend im innigen Kontakt benachbarter Zellen und in der Ausbildung von subsurface-Zisternen, deutet stark auf ein funktionelles Kontinuum hin, zumindest über gewisse Strecken. Es ist bisher nicht bekannt, ob es außerhalb der Sardellenverwandtschaft weitere Fälle mit durchgehenden Reihen gekoppelter Zapfen (= Polycones) gibt - FINERAN & NICOL (1978) halten sie für einzigartige und daher für nur bei den Engraulididae realisierte Strukturen.
- Das gespaltene, mehr oder weniger herzförmige Außenglied des kurzen Zapfens ist einzigartig für eine Teilgruppe der Engraulididae (siehe auch 4.7.1). Eine radiale Aufteilung von Zapfenaußengliedern in 1 bis 3 Lamellensäulen wird von COHEN (1963) für die Taube beschrieben, ist aber mit den Gegebenheiten bei *Engraulis* nicht direkt vergleichbar. Die Keilform des Außenglieds des langen Zapfens ist in ähnlicher Weise als strukturell durch die Form der PE-Keile bedingt zu verstehen. Die Einbindung der Zapfen in den Polycone gibt ihnen von der OLM bis zur Spitze einen mehr oder weniger rechteckigen Querschnitt und läßt nur zwei von vier Seiten frei für den Kontakt mit dem Liquor. Aus diesem Grund sind auch die calycalen Fortsätze in zwei Gruppen getrennt. Zwar gibt es auch im Falle von Doppelzapfen einen formgebenden Einfluß der Partner aufeinander, er beschränkt sich aber auf den Bereich der Innenglieder (z.B. CAMERON & PUGH 1991).
- Die Membranfalten der Außenglieder der beiden am Polycone beteiligten Zapfentypen stehen nicht senkrecht zur radialen Zellachse, wie es der Grundplan vorgeben würde, sondern schräg (langer Zapfen) bis parallel dazu (kurzer Zapfen). Diese äußerst ungewöhnliche Orientierung ist bisher nur bei Vertretern der Engraulididae gefunden worden. Hinweise auf teilweise radial verlaufende Lamellen finden sich für die Photorezeptoren der Seescheide *Ciona intestinalis* (EAKIN 1973: fig. 19) und für die Zapfen eines tagaktiven Geckos (PEDLER & TANSLEY 1963), randlich umgebogene Stäbchen-Disks wurden bei der Katze und beim Menschen beobachtet (TOKUYASU &

YAMADA 1959) und auch die Photorezeptorlamellen von Pinealorganen können teilweise parallel zur Einfallrichtung des Lichtes liegen (z.B. beim Neunauge: EAKIN 1973, fig. 53). Weitere Folgen der radialen Orientierung sind die vergleichsweise langen Membranfalten (>20µm beim kurzen Zapfen anstatt z.B. max. 4µm beim Muraenzapfen: HEß et al. 1998), eine relativ geringere Anzahl an Lamellen pro Zelle im Vergleich mit normal gebauten Zapfen mittlerer Außengliedlänge (z.B. 60-75 beim kurzen Zapfen und ca. 200 beim langen Zapfen vs. ca. 400 beim Muraenzapfen) und der etwa quadratische Querschnitt der Außenglieder, insbesondere beim kurzen Zapfen. Üblicherweise erscheinen Zapfenaußenglieder im Tangentialschnitt rund (z.B. BORWEIN 1981: fig. 2.8).

- Der kurze Zapfen scheint *in statu nascendi* mit radial verlaufenden Außengliedlamellen gebildet zu werden und besitzt kein akzessorisches Außenglied. Letzteres wird sonst bei den Zapfen praktisch immer angetroffen (MUNK & ANDERSEN 1962; BORWEIN 1981; DOWLING 1987; WAGNER 1990).
- Die Membranfalten benachbarter Zapfen im Polycone stehen im rechten Winkel zueinander. Diese sicher funktionell begründete Orientierung (s. 4.4.3 und 4.6) ist völlig regelmäßig und wird durch die enge strukturelle Kopplung der Polycone-Elemente aufrecht erhalten. Auch dieses Merkmal ist als typisch für bestimmte Sardellenarten anzusehen.

Die neben den Polycones auftretenden linearen **Dreifachzapfen** am dorsalen und ventralen Netzhautrand der Europäischen Sardelle und ihre Übergangsformen zu den Vielfachzapfenreihen sind ebenfalls Strukturen, die nicht weit verbreitet sind bzw. wiederum auf wenige Gattungen innerhalb der Engraulididae beschränkt sein dürften. Zwar sind die einzelnen Komponenten des Dreifachzapfens von „normaler“ Feinstruktur, doch würden die weitverbreiteten Einfach- und Doppelzapfen eher den Grundplan der Teleostei repräsentieren. Da Dreifachzapfen aber selten und in der Regel regional begrenzt auftreten (Kap. 1.2.2), die meisten Knochenfischretinae bisher aber nur fragmentarisch untersucht wurden, können verallgemeinernde Aussagen zu diesem Thema nur mit Vorsicht getroffen werden. Der interspezifisch unterschiedliche Bau von „triple cones“ spricht immerhin dafür, daß dieser Zapfentyp mehrfach unabhängig evolviert wurde und daher in der hier beschriebenen Form (Abb. 3.26) als apomorphes Merkmal der Sardellen zu werten ist. Bei *Engraulis* wird ein kurzer zentraler Zapfen von zwei langen lateralen Komponenten flankiert, bei der Elritze *Phoxinus laevis* dagegen liegt eine hierzu inverse Situation vor (LYALL 1957b). Die sporadisch auftretenden Dreifachzapfen bei *Alosa* (Clupeidae: ALI & ANCTIL 1976, Tafel 25.4) sind nicht linear, bestehen aus drei in etwa gleich mächtigen Partnern und dürften daher nicht homolog zu denen von *Engraulis* sein.

Das **Pigmentepithel** von *E. encrasicolus* bildet über weite Strecken keilförmige Ausläufer mit Melanin, die sich vitread zwischen die Photorezeptoren schieben. Insofern entsprechen sie einem Bauplan, der von fast allen Fischen eingehalten wird (bis auf pigmentlose Höhlen- und Tiefseearten: BONE & MARSHALL 1985). PARKER (1932) geht davon aus, daß eine Pigmentepithelzelle bei Fischen in der Regel einen vitrealen Fortsatz ausbildet - bei der Sardelle muß dagegen angenommen werden, daß eine PE-Zelle bis zu vier Keile formt (Abb. 3.19B).

In zwei auffälligen Merkmalen ist das PE der Sardelle allerdings als „extravagant“ und daher nicht konform mit einem allgemeingültigen Grundplan anzusehen: **1.** In der geometrisch sehr regelmäßigen Architektur der radialen Zellausläufer und **2.** im Besitz eines retinalen Spiegeltapetums aus Guanin.

Für gewöhnlich reichen bei den Knochenfischen die Ausläufer des PE je nach Adaptationszustand mehr oder weniger weit zwischen die Photorezeptoren (maximal bis zur OLM) und umhüllen die Außenglieder der Zapfen mützenförmig - sie „respektieren“ sozusagen die Form der Zapfen. Ihre Membran nimmt dabei insgesamt einen langgestreckten Verlauf mit unregelmäßig geformtem Querschnitt an. Die PE-Ausläufer der Sardelle dagegen sind sehr präzise **keilförmig** gebaut, mit zwei ebenen und dabei konvergierenden Membranabschnitten. In ihrer Verzahnung mit den Polycones sind sie vollständig in das Reihemuster integriert und bestimmen zu einem hohen Grade die Form der rezeptiven Abschnitte der langen und kurzen Zapfen - die Keilform der PE-Ausläufer ist wiederum in enger struktureller und funktioneller Kopplung mit dem retinalen Tapetum zu verstehen (4.4.2; 4.4.3). Keilförmige PE-Ausläufer in Verbindung mit einem Tapetum sind sonst bisher nur beim Zander beschrieben (*Stizostedion*: ZYZNAR & ALI 1975).

Guanin als Zellinhalt des retinalen Pigmentepithels ist nach dem heutigen Stand des Wissens auf relativ wenige Fischarten beschränkt (1.2.1). Es tritt dort, wie bei der Sardelle auch, in Form von schlanken Nadeln und/oder polyedrischen Kristalliten auf und kann als diffuser Reflektor die Lichtausbeute des Auges erhöhen (siehe 4.4.2). Bei einigen Sardellengattungen tritt Guanin in einer weiteren Form auf, nämlich als flache, rechteckige **Kristallplättchen**. Diese sind in den Ausläufern der PE-Zellen mit erstaunlich hoher Regelmäßigkeit angeordnet, wirken als gerichtete Interferenzspiegel (4.4.2) und bestimmen ihrerseits - zumindest indirekt - die Form der Pigmentepithelkeile. Diese Plättchen sind taxonomisch sicher als eine Spezialbildung der Sardellen-Netzhaut zu werten. Punktuell treten ähnliche Spiegel mit einer typischen Dicke von 70-110nm auch in den retinalen

Tapeta bestimmter Tiefseefische (*Scopelarchus*: LOCKET 1971a; *Omosudis*: FREDERIKSEN 1976), Mollusken (*Pecten*: LAND 1965, 1966b), Chelicerata (z.B. Salticidae: FOELIX 1992) und in den Fischschuppen auf (DENTON & LAND 1971). Sogar Protisten mit „Vielschicht-Interferenzreflektoren“ aus Guanin hat man gefunden (*Porpostoma notatum*: KUHLMANN & SELBACH 1998).

Auch ist die funktionelle Bedeutung dieser Spiegelreflektoren im Sinne eines „Zapfentapetums“ (4.4.3) unter den Knochenfischen mit retinalem Tapetum als sehr ungewöhnlich - wenn nicht gar einzigartig - zu werten.

Eine regional unterschiedliche Gestaltung des Tapetums, wie sie bei der Sardelle gefunden wird, ist auch bei anderen Fischen zu beobachten (z.B. WUNDER 1930; PARKER 1932). Es zeichnet sich hier die wohl allgemeingültige Grundtendenz ab, das Tapetum in der dorsalen Retina, die ja in die dunklere Hemisphäre des Sehraumes blickt, besonders wirksam auszuprägen.

#### **4.2 Vergleich der Ergebnisse mit den bisherigen Daten zu den Engraulididae**

O'CONNELL (1963) geht aufgrund seiner lichtmikroskopischen Studien an den Retinae von *Engraulis mordax* und *Anchoa compressa* davon aus, daß die untersuchten Engraulididae ein Reihemuster von Doppelzapfen ausbilden. Mit höchster Wahrscheinlichkeit handelt es sich bei den „Doppelzapfen“ der ventro-temporalen Retina um Anschnitte der langen Polyconezapfen, bei denen der dorso-nasalen um Dreifachzapfen. In Unkenntnis der Feinstruktur und aufgrund eher ungünstiger Schnittebenen war dieser Fehler wohl nicht zu vermeiden.

Basierend auf den gemittelten Messwerten von 17 Teilflächen erstellt O'CONNELL eine wahrscheinliche Dichtekarte der „Doppelzapfen“ von *E. mordax*. (ibid, fig. 9). Die Topographie dieser Dichteverteilung entspricht qualitativ und quantitativ weitgehend den Ergebnissen aus der vorliegenden Arbeit für *E. encrasicolus* (Abb. 3.5). Für Dichtezählungen in der ventro-temporalen Retina wird, da ja auf jeden langen Zapfen ein kurzer kommt, kein Fehler gemacht, die Werte der dorso-nasalen Retina dürften aber bei O'CONNELL um bis zu 33% zu niedrig liegen. Im Folgenden werden die Daten vor O'CONNELL auf Einzelzapfenwerte und die in der vorliegenden Arbeit verwendete Flächeneinheit  $10000\mu\text{m}^2$  umgerechnet (z.B. 230 Doppelzapfen/  $0.0064\text{mm}^2 \rightarrow 720$  Zapfen/ $10^4\mu\text{m}^2$ ) - die Werte für die Europäische Sardelle sind in Klammern hinter denen für die Nordpazifische Sardelle angegeben:



Eine ausgeprägte Area temporalis mit einem Dichtemaximum von 720(520) Zapfen pro  $10^4 \mu\text{m}^2$  prägt den ventro-temporalen Quadranten und wird einseitig durch die optische Furche beschnitten. Der Wert für die zweite, nasale Verdichtung liegt bei 250(200)/ $10^4 \mu\text{m}^2$ , für den Fundus bei ca. 80(100-130)/ $10^4 \mu\text{m}^2$  und für die dorsalen bzw. ventralen Randbezirke bei minimal 90(90-110)/ $10^4 \mu\text{m}^2$ . Die Werte, die O'CONNELL für *E. mordax* angibt, sind also v.a. in den Areae etwas höher, als die in dieser Arbeit für *E. encrasicolus* gefundenen, doch bestätigen sich die beiden Karten prinzipiell gegenseitig. Die Diskrepanz der absoluten Meßwerte zwischen O'CONNELL und HEß ließe sich z.B. durch den Artunterschied und/oder einen möglichen Altersunterschied der untersuchten Tiere erklären. Der Dichtekarte für *E. encrasicolus* ist aufgrund der relativ großen Zahl an Meßwerten (77 Fragmente) ein etwas höherer Wahrscheinlichkeitsgehalt bezüglich des wirklichkeitsnahen Verlaufes der Dichtelinien zuzuschreiben. Die Dichtefluktuationen in der dorsalen Retinahälfte können ein individuelles Merkmal des untersuchten Fisches sein. Die Restunsicherheit O'CONNELLs über die Lage des Area-Zentrums (mitten im ventro-temporalen Quadranten oder eher randlich) kann ausgeräumt werden, vorausgesetzt die zwei besprochenen Arten gleichen sich in diesem Punkt. Verglichen mit *Anchoa compressa* scheint die Area temporalis sowohl bei *E. encrasicolus*, als auch bei *E. mordax* bezüglich der Dichtemaxima und der Dichtegradienten deutlicher ausgeprägt zu sein (vgl. 1.3.2).

Vorsicht ist geboten beim interspezifischen Vergleich von absoluten Zapfendichten und Sehschärfen: Es wird als allgemeingültig angesehen, daß die Zapfendichte eines Retinabezirks mit zunehmender Augengröße sinkt (MÜLLER 1952; LYALL 1957a; O'CONNELL 1963). Ein aussagekräftiger Artenvergleich kann deswegen nur an Tieren mit gleicher Augengröße gemacht werden. Trotz abnehmender Zapfendichte kann ja im wachsenden Auge die Sehschärfe zunehmen (Projektion eines Raumwinkels auf eine zunehmend größere Retinafläche), wie es z.B. in unserer Arbeitsgruppe für *Coilia nasus* gezeigt werden konnte (Diplomarbeit C. HAACKE; Abb. 4.2C).

Eine Kartierung der Stäbchendichte wird von O'CONNELL nicht vorgenommen und mit Abb. 3.6 der vorliegenden Arbeit für Sardellen somit erstmals vorgestellt. Stäbchendichtekarten finden sich in der Literatur selten (z.B. MUNK 1966b;

Die Tabellen 4.1 bis 4.3 geben Vergleichsdaten zu den Zapfendimensionen, Schichtdicken und Zelldichten in den helladaptierten Retinae von *E. mordax* und *A. compressa* (nach O'CONNELL 1963) sowie *E. encrasicolus* (aus dieser Arbeit).

**Tabelle 4.1: Vergleich der Zapfendimensionen**

Angaben in [µm]	<i>Engraulis encrasicolus</i>		<i>Engraulis mordax</i>		<i>Anchoa compressa</i>	
	nasal	temporal	nasal	temporal	nasal	temporal
Länge Außenglied	14 / 22	18 / 25	12	21	16	22
Länge Innenglied	24 / 35	25 / 56	21	23	23	26
∅ Ellipsoid	4 / 9	5 / 4	10	4	8	6

für *E. encrasicolus* wurde differenziert: kurzer Zapfen / langer Zapfen

**Tabelle 4.2: Vergleich der Schichtdicken**

Angaben in [µm]	<i>Engraulis encrasicolus</i>		<i>Engraulis mordax</i>		<i>Anchoa compressa</i>	
	dn	vt	dn	vt	dn	vt
Rezeptoren	57	81	60	82	72	114
ONL	48	34	26	29	30	42
OPL	12	11	14	19	12	12
INL	35	57	14	17	14	18
IPL	65	71	-	-	26	22
GL	10	12	7	7	6	6
GFL*	16	30	24	29	48	36

\* stark abhängig vom Abstand zur optischen Furche ! **dn** dorso-nasal, **vt** ventro-temporal

**Tabelle 4.3: Vergleich der Zelldichten**

Angaben in Zellen pro 10 <sup>4</sup> µm <sup>2</sup>	<i>Engraulis encrasicolus</i>		<i>Engraulis mordax</i>		<i>Anchoa compressa</i>	
	dn	vt	dn	vt	dn	vt
Zapfen	130	525	128	538	160	238
Stäbchen	5500	3000	6130	3295	6309	5039
Horizontale	-	ca. 128	47	175	69	116
Bipolare	-	ca. 1300	598	1563	495	1088
Amakrine	-	ca. 420	227	450	284	359
Ganglienzellen	-	ca. 70	50	161	97	227

- nicht bestimmt

**dn** dorso-nasal, **vt** ventro-temporal

FREDERIKSEN 1976), was zum einen an der Fragestellung, zum anderen am Schneideaufwand liegen mag. Die Stäbchendichtewerte der Sardelle liegen für Teleostei im Normbereich und decken sich recht genau mit den entsprechenden Befunden für *E. mordax*. Der Vergleich der Meßwerte O'CONNELLs für die Zapfendimensionen, Schichtdicken und Zelldichten für *E. mordax* und *A. compressa* mit den entsprechenden Werten für die Europäische Sardelle ergibt größenordnungsmäßig weitgehende Übereinstimmungen (Tab. 4.1-4.3), im Detail fallen allerdings folgende Abweichungen auf:

- Die Zapfenlängen müssen für die kurzen Zapfen gemessen worden sein.
- Die ONL scheint bei *E. mordax* dünner zu sein als bei *E. encrasicolus*.
- *E. encrasicolus* besitzt eine vergleichsweise mächtige INL und IPL.
- Die Ganglienzelldichte für *E. encrasicolus* ist in der ventro-temporalen Retina vergleichsweise niedrig.
- für ONL, INL und IPL sind die Schichtdickenverhältnisse vt/dn invers !

Die ausführlichen Beschreibungen zur Feinstruktur von Sardellenzapfen von FINERAN & NICOL (1976-1978) beziehen sich in erster Linie auf zwei Arten der Gattung *Anchoa* - vergleichbare Strukturen werden von den gleichen Autoren aber auch für *Engraulis mordax* und *Stolephorus* sp. angedeutet. Die vorliegende Arbeit bestätigt prinzipiell die aberrante Polycone-Architektur von *Anchoa* für *E. encrasicolus*, sie zeigt aber auch Unterschiede auf und gibt zu einigen Teilaspekten eine genauere bzw. weitergehende Analyse:

- Nach FINERAN & NICOL verlaufen die Polycones von *Anchoa* durchwegs in dorso-ventralen Bahnen durch die Retina, so daß die Außengliedlamellen der langen Zapfen allesamt parallel zur Längsachse des Tieres zu liegen kämen, die der kurzen senkrecht dazu. Diese vereinfachende Annahme läßt sich für *Engraulis encrasicolus* allenfalls auf den Retinafundus oder allgemein bei kleinräumiger Betrachtung anwenden, weil die Krümmung der konzentrischen Zapfenreihen (Abb. 3.4) dann wenig auffällt. Da sich die beiden Gattungen in der Architektur und in der Dichteverteilung ihrer Zapfen sehr ähneln, ist es durchaus wahrscheinlich, daß dies auch für den Verlauf der Polycones von *Anchoa* zutrifft. Die Autoren geben die Lage des akzessorischen Außengliedes der langen Zapfen mit „an der temporalen Flanke des Zapfens“ an - wenn die exaktere Beschreibung in Anlehnung an die Verhältnisse bei *E. encrasicolus* hingegen „an der Polycone-Innenkurve“ lautet, dann stammt das untersuchte Netzhautfragment aus dem nasalen Bogen der *Anchoa*-Netzhaut.

- Neben den Polycones finden die o.g. Autoren bei *E. mordax* auch Netzhautregionen mit Einfach- und Doppelzapfen in variabler Zusammensetzung ohne assoziierte Guaninplättchen im PE. Die untersuchte Region wird zwar nicht genauer definiert, es ist jedoch zu vermuten, daß es sich um die peripheren dorsalen bzw. ventralen Retinasektoren handelt, in denen bei *E. encrasicolus* Dreifachzapfen und Übergangsstadien zu den Polycones gefunden wurden (Abb. 3.23-3.25). Dreifachzapfen wurden für Vertreter der Engraulididae ansonsten bisher nicht beschrieben.
- *Anchoa* besitzt PE-Keile, die neben den Melaningranula auch polyedrische Guaninkristallite enthalten, wie sie auch im Retinafundus, nicht aber in der Zapfenarea von *Engraulis encrasicolus* zu finden sind. FINERAN & NICOL nehmen zwar erklärtermaßen keine regional differenzierte Beschreibung der Netzhautarchitektur von *Anchoa* vor, beobachten aber Unterschiede in den Mengenverhältnissen von Guanin zu Melanin innerhalb der Retina (z.B. relativ wenig Guanin in der ventro-temporalen Retina). Möglicherweise fehlt den PE-Keilen der *Anchoa*-Zapfenarea ebenfalls der Guaningrus.
- Die AL-Lamellen von *E. mordax* seien nicht in der Präzision radial orientiert, wie sie bei *Anchoa* zu finden sind. Diese Aussage ist sicher wahr, wenn man sie nicht verallgemeinert, sondern auf die untersuchte Netzhautregion bezieht. Auch im Fundus von *E. encrasicolus* findet man Lamellen, die im vitrealen Bereich des AL weitgehend normal orientiert sind, während die Areazapfen denen von *Anchoa* in puncto radialer Lamellenorientierung durchaus gleichen. FINERAN & NICOL geben nicht an, an welchem Netzhautareal von *E. mordax* sie ihre „exploratorischen“ Daten gewonnen haben. Eine regionale Differenzierung erfolgt auch für *Anchoa* nur insofern, als daß tangential orientierte AL-Lamellen vor allem am Retinarand zu finden waren.
- FINERAN & NICOL äußern 1976 die Vorstellung, daß die Membranlamellen in den Außengliedern der kurzen Zapfen „in zwei Sets von beiden Seiten her interdigitieren“, während die Lamellen der langen Zapfen „einer Seite“ des Außengliedes entsprängen. Die hier an *Engraulis* gewonnenen Daten korrigieren und präzisieren dieses Bild vor allem dahingehend, daß die AK-Lamellen zwar distal sekundäre Loben bilden, dabei aber keineswegs auf mehr oder weniger komplizierte Weise interdigitieren (Abb. 3.13C; 4.2) - vorausgesetzt, die beiden Gattungen gleichen sich in diesem Punkt. Die Anzahl der Membranfalten pro AK ist bei *Anchoa* mit 100-120 höher als bei *Engraulis* (70-80). Dies mag der Grund sein, warum FINERAN & NICOL die AK von *E. mordax* als „weniger gut entwickelt“ bezeichnen.

- Die für *Anchoa* mehrfach erwähnte Erweiterung des perimitochondrialen Raumes in den Zapfenellipsoiden kann bei *E. encrasicolus* nicht nachvollzogen werden, bzw. unterscheidet sich nicht signifikant vom Feinstrukturbild, das in der Literatur für andere Teleostei gegeben wird.
- Punktförmige Zellhaften zwischen den Ellipsoiden benachbarter Zapfen innerhalb eines Polycone wie sie FINERAN & NICOL für *Anchoa* beschreiben, konnten bei *E. encrasicolus* nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden, ebensowenig Brückenstrukturen zwischen den ER-Zisternen, die im PE die Guaninplättchen beherbergen.

Die partikulären Einschlüsse der PE-Zellen ähneln sich bei *Anchoa* und *Engraulis* sowohl in ihrer Geometrie, als auch in ihren Dimensionen - nur die Querschnitte der Guaninnadeln erscheinen bei *Engraulis* größer. Dieser Umstand spricht dafür, daß diese intrazellulären Gebilde weniger artspezifischen Modifikationen folgen, als vielmehr allgemeingültigen biophysikalischen Gesetzen unterliegen (Tab. 4.4).

**Tabelle 4.4: Dimensionen von PE-Partikeln**

	<i>Anchoa mitchilli</i>	<i>Engraulis encrasicolus</i>
Melanosomen	0.4µm · 0.4µm & 0.3µm · 1-3.5µm	max. Ø: 0.4µm max. Länge: 2.6µm
Guanin-Polyeder	ca. 0.5µm	ca. 0.4µm
Guanin-Nadeln	61nm · 120nm · 3-4µm	120nm · 220nm · 2µm
Guanin-Plättchen		
Kantenlänge:	1.5-3µm	1.5-2µm
Dicke:	82-83nm	70-95nm
Abstand:	112nm	70-115nm
Stapeldicke	1-15	1-15

Minimale Unregelmäßigkeiten in der Spiegelanordnung führen FINERAN & NICOL auf Artefakte der EM-Präparation zurück. Geringe Schwankungen dürften aber auch in vivo mehr oder weniger zufällig auftreten oder gar „beabsichtigt“, z.B. zur Verbreiterung des Reflexionsspektrums (s. Abb. 4.4B).

ZUEVA (1980) liefert die ersten elektronenmikroskopischen Abbildungen aus der Netzhaut von *Engraulis encrasicolus ponticus* nebst einer schematischen Darstellung vom räumlichen Bau der *Engraulis*-Polycones (s. Abb. 1.8).

ZUEVA gibt an, daß die Lamellen der AL bei *Engraulis* im Gegensatz zu *Anchoa* im Wesentlichen tangential, d.h. „normal“ orientiert seien. Diese Aussage ist nach den Befunden der vorliegenden Arbeit sicher als nicht richtig zu bewerten und gründet in der Nichtbeachtung struktureller Unterschiede in verschiedenen Retinaregionen. Das untersuchte Netzhautfragment zeichnet sich neben der o.g. Lamellenorientierung durch Guaningrus in den PE-Keilen aus und entstammt deswegen nicht dem Zentrum der Area.

Die radiale Kippung der distalen AL-Membranfalten wurde bemerkt, aber im 3D-Schema fehlerhaft dargestellt: ZUEVA gibt der Vorstellung Ausdruck, daß diese Membranfalten ausgehend von ihrer Basis am akzessorischen Außenglied vitread kippen und nicht sklerad (vgl. dagegen Abb. 3.10A und 1.7) - zudem würde das akzessorische Außenglied nicht lateral, sondern innerhalb des Polycone zu liegen kommen. Ebenfalls etwas mißverständlich ist die Darstellung zum Membranverlauf an der Spitze der AK-Lamellen.

**NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN (1998b)** bestätigen in ihrer Arbeit zur vergleichenden Physiologie der Retinae von *Engraulis mordax* und *Clupea harengus pallasii* die typische aberrante Feinstruktur der Sardellenzapfen auch für den „Nördlichen Anchovy“. Zum gleichen Ergebnis führen die Schnittbilder, die ich selbst zu einem Vertreter dieser Art angefertigt habe (ohne Abbildung). Die Breite der Stäbchenbänder zwischen den Polycones weist darauf hin, daß die Autoren ein Retinafragment aus dem Fundus untersucht haben.

### **4.3 Hinweise auf die Morphogenese der Polycones**

Es lassen sich **vier** unterschiedliche Wege beschreiten, um Informationen über die Genese der aberranten Polyconestrukturen der Sardellen zu gewinnen.

1) Zum einen kann man versuchen, verschiedene Entwicklungsstadien der Sardelle vom Embryo bis zum Adultus bezüglich ihrer Augenfeinstrukturen zu untersuchen. Diese Möglichkeit war mir in Ermanglung der Zugriffsmöglichkeiten auf larvale Sardellen aus dem Mittelmeer im Zuge der vorliegenden Arbeit nicht gegeben. Dieser Ansatz konnte jedoch im Rahmen des Projektes „Verwandtenvergleich“ (Kap. 3.3) auf eine Sardellenart aus der Unterfamilie der Grenadieranchovies, nämlich *Coilia nasus*, angewandt werden (Diplomarbeit von Christoph HAACKE; siehe auch 3.3.8).

In der Literatur finden sich zwei Hinweise auf Retinastrukturen larvaler Anchovies: FINERAN & NICOL (1978) berichten von zylindrischen, langen Zapfen mit transversalen (d.h. „normal“ orientierten) Membranlamellen in der larvalen Retina von *Anchoa mitchilli* - Stäbchen seien zu diesem Zeitpunkt noch nicht ausgebildet. NICOL et al. (1973, fig. 1) zeigen dagegen in einer vergleichenden Untersuchung über die Tapeta einiger Knochenfische einen TEM-Radialschnitt durch die Netzhaut eines juvenilen *A. mitchilli*: deutlich sind in den PE-Keilen neben Melaningranula die typischen Guaninplättchen in Stapeln von bis zu 8 Kristalliten zu erkennen, ebenso die radial orientierten Membranlamellen der Zapfenaußenglieder („lange“ Zapfen entsprechend ihrer Position zwischen den PE-Keilen). Es scheint damit schon relativ früh ein ausdifferenzierter Polycone vorzuliegen. Da die Autoren aber keine genauen Angaben über das Alter bzw. die Länge des Fisches und über die untersuchte Netzhautregion machen, läßt sich dieser Befund leider nicht sinnvoll in eine Entwicklungsreihe eingliedern.

2) Zweitens sollte die Morphogenese der Photorezeptoren auch innerhalb eines Auges des Adulttieres nachvollziehbar sein (FERNALD 1989), da das Flächenwachstum der Retina in erster Linie von der Ora serrata ausgeht (z.B. MÜLLER 1952; JOHNS 1977; POWERS & RAYMOND 1990) und man daher vom Netzhautrand zum Zentrum fortschreitend einen Differenzierungsgradienten von Nervenzellen und Zellschichten finden kann: embryonale Zellen befinden sich ganz peripher, ausdifferenzierte Zellen erst in einem gewissen Abstand zur Ora serrata.

Am Netzhautrand des ventro-temporalen Quadranten der Sardelle bilden sich die Zapfenreihen direkt in der Form konzentrischer Ringe. Es treten hier also keine Einzel- oder Doppelzapfen zu Zellketten zusammen, wie von FINERAN & NICOL (1978) vermutet, vielmehr bestehen die endgültigen Zellkontakte und die quadratischen Zellquerschnitte schon in der Proliferationszone und die erste Reihe junger Zapfen besitzt schon subsurface-Zisternen. Ihre Ausbildung wird also sehr früh induziert, z.B. durch den „hautnahen“ Kontakt mit den Nachbarzellen, noch bevor die Außenglieder ausgebildet sind und damit auch bevor ihnen eine Funktion bei der Lichttransduktion zukommen kann. Neben der radialen Polarität der Zapfen (vom Außenglied zum synaptischen Füßchen) gibt es noch eine Art lateraler Polarität mit morphogenetischer Wirksamkeit: sie plaziert die akzessorischen Außenglieder der langen Zapfen alle auf der gleichen Seite der Zapfenreihe, nämlich auf der zum Fundus weisenden und damit der Ora serrata abgewandten Seite (vgl. z.B. LOCKET 1971a: fig. 4).

Die Ausbildung der **Außenglieder der langen Zapfen** (AL) geschieht zunächst auf die für Wirbeltiere „normale“ Weise mit tangential orientierten Membranlamellen (vgl. YOUNG

1974; OBATA & USUKURA 1992; siehe auch TOKUYASU & YAMADA 1959; LATIES et al. 1976), die jungen AL sind schlank und von noch geringem Querschnitt (Abb. 3.22F; 4.1A). Die Querschnittszunahme dürfte in der Art geschehen, daß basal am AL zunehmend größere Lamellen vom Cilienschaft abgegliedert werden, während die am weitesten skleral gelegenen Lamellen abgebaut und vom PE resorbiert werden. In diesem Zusammenhang erscheinen die vesikulären Desintegrationserscheinungen der Zapfenaußenglieder (auch bei den AK: Abb. 3.13C) von Interesse. Die Vesikel sind nicht notwendigerweise artefaktisch, sondern eher Abbaustadien von Membranlamellen (vgl. FINERAN & NICOL 1978) und damit als Zeichen für einen hohen Membranumsatz zu verstehen. Die konstant konische Form der Zapfenaußenglieder bei Wirbeltieren scheint überhaupt mit dieser Art des „disk-shedding“ zu korrelieren, während bei den zylindrischen Stäbchen ganze Scheibchenpakete abgestoßen werden (ANDERSON & FISCHER 1975; ANDERSON et al. 1978).

Gleichzeitig mit der Ausbildung formstabiler PE-Keile kippen die Membranlamellen der AL in zunehmend radiad orientierte Lagen. Dies geschieht von skleral nach vitreal fortschreitend (Abb. 3.22A-E) und mit dem offenen Ende nach skleralweisend. Zudem stehen die Membranlamellen am „steilsten“ ganz skleral im AL, dort wo am wenigsten Platz zur Verfügung steht (Abb. 4.1.B,C). Es erscheint plausibel, daß die Kippung passiv aufgrund des Platzmangels erfolgt: Die Voraussetzungen dafür, nämlich ein unnachgiebiges Widerlager durch die Guaninplättchenstapel und eine beständige räumliche Beziehung zwischen den AL und den Flanken der PE-Keile, sind gegeben. Die Wechselwirkung, die das Einwachsen der PE-Ausläufer strikt längs entlang der Zapfenreihen bewirkt und einen stabilen Kontakt zwischen den zwei Zelltypen herstellt, läßt sich aus den Strukturbefunden nicht ableiten, so konnten z.B. keine Zellhaften zwischen PE-Zellen und Zapfen nachgewiesen werden.

Andererseits ist es sicherlich ein induktiver Effekt der AL, der zur Ausbildung der Guaninplättchen in den PE-Keilen führt: Die Plättchen finden sich ausschließlich in unmittelbarer Nachbarschaft zu den AL, dort wo sie von vitreal in die PE-Zellen invaginieren - es müssen also primär Wechselwirkungen zwischen den AL und den Flanken der PE-Keile sein, die die ungewöhnlichen architektonischen Merkmale dieser Zellen hervorrufen.

Der Querschnitt des AL wechselt im Verlauf der Ausdifferenzierung des Polycone von rund nach viereckig, seine Form von kegelig nach keilförmig, die calycaalen Fortsätze werden dabei in zwei Gruppen getrennt (Abb. 4.1B,C). Die Membranlamellen richten sich auf und werden bis auf das 3-fache der



ursprünglichen Länge gestreckt. Diese Streckung erfordert einen ungewöhnlichen Mechanismus, denn sie ist nur dann möglich, wenn auch am geschlossenen Ende derjenigen Lamellen, die sich nicht mehr in der ganz basalen Bildungszone des AL befinden, noch Membranmaterial eingebaut werden kann (Abb. 4.1D). Auf der anderen Seite verleihen die regelmäßig gepackten Spiegelplättchen den PE-Ausläufern starre, ebene Flanken, die sich vitread keilförmig verjüngen müssen, um sich zwischen die Ellipsoide der langen Zapfen schieben zu können.

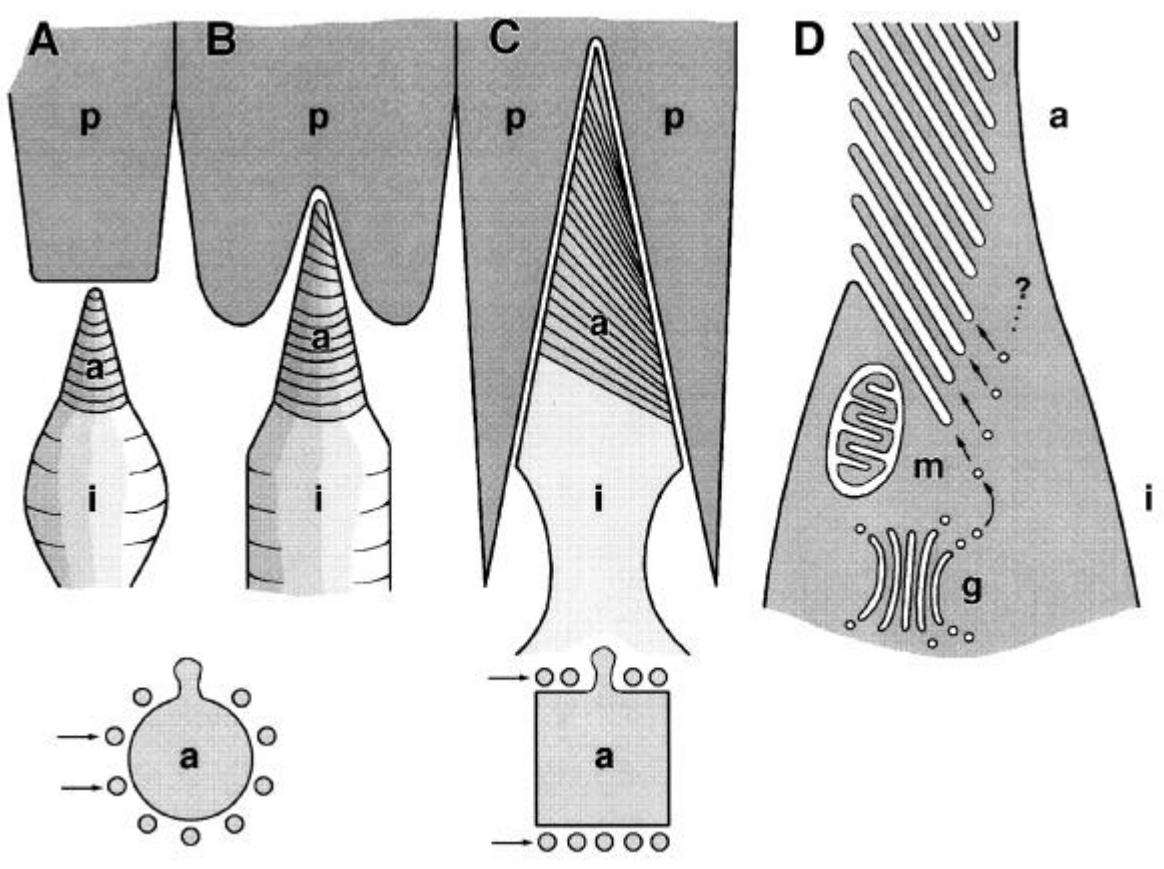


Abbildung 4.1: Vorschlag zur Morphogenese der langen Zapfen

Ü

- A) Langer Zapfen nach Ausbildung d. Außengliedes, noch ohne formgebenden Einfluß des PE.
- B) Kontaktaufnahme mit dem PE: die skleralen Lamellen richten sich auf.
- C) Reifer Zapfen im formgebenden Umfeld der PE-Keile. Es erfolgt eine Gruppierung der calycalen Fortsätze (®).
- D) Modell zum vesikulären Membrannachschub in das Außenglied des langen Zapfens.

a Außenglied, i Innenglied, p Pigmentzelle, m Mitochondrium, g Golgi-Apparat und Vesikel

Die Morphogenese der **Außenglieder der kurzen Zapfen** bleibt weitgehend rätselhaft, da sie sich nicht ohne weiteres aus dem „Normalfall“ ableiten läßt. Die Befunde aus dem ventro-temporalen Retinarand von *Engraulis encrasicolus* sprechen dafür, daß die Membranlamellen der AK in statu nascendi schon radial orientiert sind. Sie entspringen einem zentral gelegenen Cilium auf seiner gesamten Fläche, so daß ein akzessorisches Außenglied gar nicht ausgebildet werden kann (siehe Abb. 3.15: Pos. 2430nm). Dieser Zustand sollte sich sekundär vom Grundtyp des Wirbeltierphotorezeptors abgeleitet haben ( $\Rightarrow$  modifiziertes Verbindungscilium), ähnelt aber gleichzeitig dem als ursprünglich angesehenen, ciliären Photorezeptor der Ascidien (EAKIN 1973: fig. 19).

Alle Membranlamellen wachsen bei *E. encrasicolus* gleichmäßig in die Länge und neue Membranlamellen können solange ergänzt werden, bis das AK in etwa die Breite des Ellipsoids hat. Da die geschlossenen Enden der Membranlamellen vitreal in unmittelbarer Nähe der Cilienbasis verbleiben, steht der Nachlieferung von Membranmaterial nichts im Wege (Abb. 4.2A).

Die endgültige Form des AK wird wie beim AL durch strukturelle Wechselwirkung mit dem „zugehörigen“ PE-Keil bestimmt: hier wird es allerdings im Bereich der PE-Keil-Spitze median in zwei Loben gleicher Form und gleichen Volumens geteilt. Es läßt sich dabei nicht entscheiden, ob der Keil ein bestehendes AK spaltet oder ob das AK den unnachgiebigen Keil einfach umwächst. Das Membranfaltensystem ist jedenfalls zum Keil hin (wie auch nach skleral) offen und die beiden Loben der einzelnen Lamellen entspringen vitreal der Keilspitze eindeutig einer ungeteilten Basis (Abb. 3.13B; 4.2A). Es ist zu bedenken, daß der zweilappige Aufbau des AK möglicherweise ohne funktionelle Bedeutung ist (s. 4.4.3) und einfach aus mechanischen Zwängen in einer Platzmangelsituation erwächst.

Auch an den äußeren Flanken des AK (vom PE-Keil abgewandt) öffnet sich sein Membranfaltensystem. An vielen Stellen, von skleral nach vitreal fortschreitend, scheinen die geschlossenen Enden der Membranfalten mit der umhüllenden Membran zu verschmelzen, d.h. die extrazellulären Lumina öffnen sich gegen die Außenwand, so daß sich jeder AK-Lobus nocheinmal in zahlreiche „Sekundärloben“ unterschiedlicher Mächtigkeit gliedert (Abb. 4.2B). Die Möglichkeit, daß die umhüllende Membran in die bestehenden Membranfalten invaginiert und an deren offenen Enden mit ihnen verschmelzen, erscheint extrem unwahrscheinlich (Abb. 4.2C) - in diesem Fall müsste sich der AK-Lobus durch Einschub neuer Lamellen bei vorgegebenem Minimalabstand verbreitern, was am untersuchten Material nicht zu beobachten ist.

3) Ferner kann die Regionalisierung der Netzhaut bezüglich ihrer Zapfenformen und Zapfenmuster herangezogen werden, um eine Vorstellung davon zu bekommen, wie die Polycones entstehen könnten.

Folgt man beispielsweise einer Zapfenreihe aus dem Bereich der dorsalen Dreifachzapfenzone in Richtung der temporalen oder nasalen Retina, so findet sich jeweils ein schmales Übergangsgebiet zwischen Dreifach- und Vielfachzapfen (Abb. 3.25). Der Einschub isolierter Einfachzapfen findet dort ebenso statt, wie die Ausbildung von Mehrfachzapfenkomplexen, in denen sich kleine und große Zapfen regelmäßig ab-

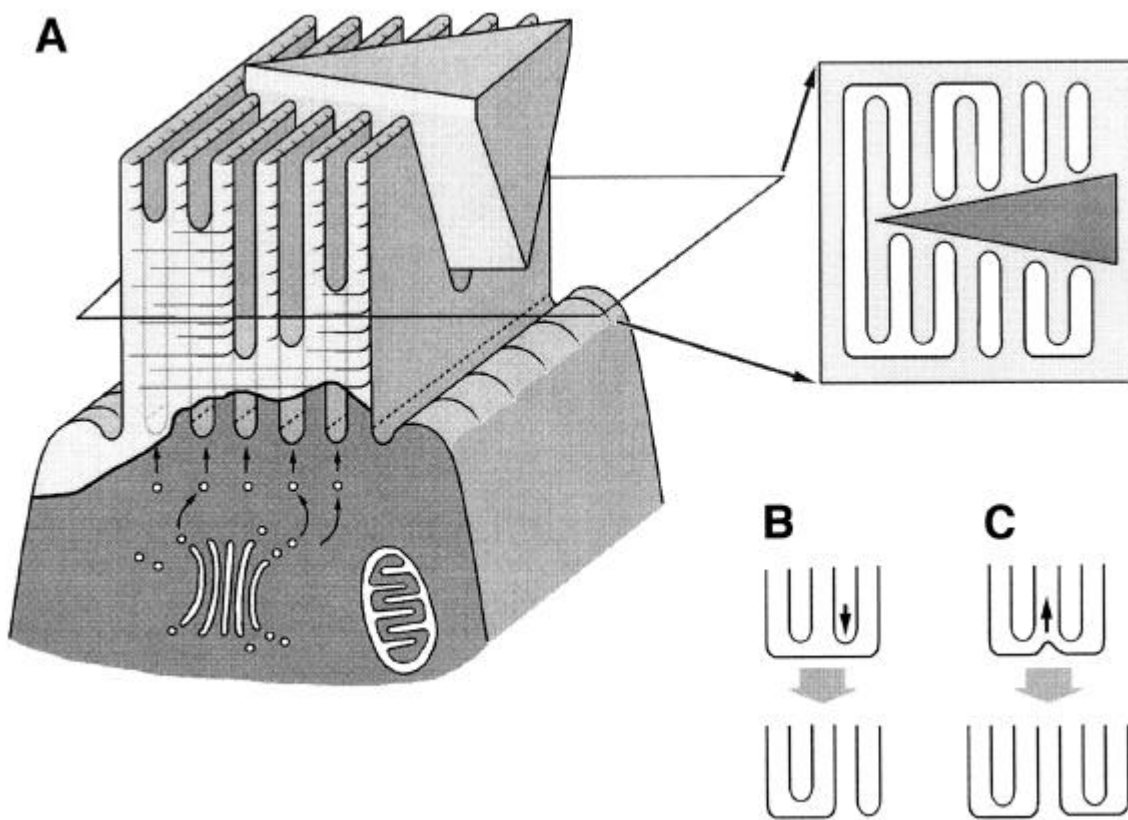


Abbildung 4.2: Vorschlag zur Morphogenese der kurzen Zapfen

Ü

A) 3D-Schema zum Aufbau des Außengliedes eines kurzen Zapfens: Ein PE-Keil spaltet das Außenglied in zwei Loben, die Lamellen sind lateral unterschiedlich tief eingeschnitten. Der Lamellenaufbau kann basal auf ganzer Breite erfolgen.

B) Wahrscheinlicher Mechanismus der Sekundärlobenbildung durch Membranfusion „nach außen“ (→).

C) Unwahrscheinlicher Mechanismus der Sekundärlobenbildung durch Membranfusion „nach innen“ (→) - eine entsprechende Verbreiterung des Außengliedes wird nicht beobachtet.

a Außenglied, i Innenglied, p Pigmentzelle, m Mitochondrium, g Golgi-Apparat und Vesikel

wechseln. Ob letztere durch Fusion kleinerer Einheiten entstehen oder schon an der Ora serrata in dieser Form abgegliedert werden, läßt sich aus den vorliegenden Untersuchungen nicht ableiten. In jedem Fall weist diese Betrachtung auf die Möglichkeit der Polyconebildung durch koordinierte Fusion hin, wobei die lateralen (großen) Zapfen der Dreifachzapfen mit den langen Zapfen des Polycone homologisierbar sein sollten, die zentralen (kleinen) mit den kurzen Zapfen des Polycone. Vermutlich sind Einschub und Fusion von Einzelzapfen in ein bestehendes Doppel- oder Dreifachzapfenmuster die ursprünglichen Mechanismen zur Bildung von Vielfachzapfenreihen (vgl. z.B. Vierfachzapfenbildung bei der Elritze *Phoxinus laevis*: LYALL 1957b) und die initiale Abgliederung von Polycones an der Ora serrata der ventro-temporalen Retina ein abgeleiteter Zustand. Die komplexe strukturelle Beziehung von PE und Zapfen beim Übergang zum Polycone (s.o.) würde beispielsweise den Einschub eines PE-Ausläufers zwischen die Außenglieder der lateralen Komponenten des Dreifachzapfens erfordern. Im Bereich der Dreifachzapfen zeigt das PE noch keinen formgebenden Einfluß auf die Photorezeptoren - die Außenglieder der Dreifachzapfen werden lediglich von den Ausläufern zweier benachbarter PE-Zellen umrahmt.

Vergleicht man die Feinstruktur der Polycones aus der dorso-nasalen Retina mit der der Area-Polycones, so finden sich Hinweise, die den Vorschlag zur Morphogenese der AL unterstützen, so wie er unter Punkt 2 dieses Kapitels formuliert ist: die Membranlamellen der AL werden ursprünglich in tangentialer Orientierung gebildet und richten sich erst weiter skleral auf, wo es zwischen den PE-Keilen „eng“ wird. Der größere Öffnungswinkel der Keilspiegel in der dorso-nasalen Retina gibt den AL dort gegenüber denen der Area temporalis mehr Raum, zumindest vitreal. Zudem ist das Größenverhältnis der beiden Zapfentypen im Polycone abseits der Area ähnlich dem in der Dreifachzapfenregion.

Eine signifikante Gruppierung der Zapfenkerne vitreal der OLM zu Zweiergruppen, wie von ZUEVA (1980) für die Schwarzmeersardelle angegeben, ließ sich in der vorliegenden Studie nicht bestätigen. ZUEVA hält Quadratmuster bzw. Doppelzapfenketten für die unmittelbaren Vorläufer der Polycones.

4) Ein ganz anderer Ansatz, Einsichten in die Polycone-Entstehung zu gewinnen, ist der Versuch, aus den unterschiedlichen Strukturbefunden zur äußeren Retina mehr oder weniger verwandter Arten eine hypothetische Entwicklungsreihe aufzustellen und in Erwägung zu ziehen, daß die Morphogenese individueller Polycones ihre Evolution in wesentlichen Zügen rekapituliert: zum Thema „Evolution“ siehe Kapitel 3.3 und 4.7.2.

## 4.4 Funktionsmorphologische Interpretation der Strukturbefunde zu den Zapfen und Pigmentepithelzellen

Die folgenden Überlegungen betreffen funktionelle Aspekte der äußeren Sardellenretina, die sich aus den Strukturdaten ableiten lassen. Schwerpunktmäßig werden dabei die Polycones der Area temporalis behandelt (4.4.2 und 4.4.3).

Die komplexe und höchst regelmäßige Organisation der skleralen Netzhautabschnitte von *Engraulis encrasicolus*, vom Zapfenmuster über die Orientierung der Außengliedlamellen bis zu den präzise ausgerichteten Guaninreflektoren der PE-Ausläufer, ist mit Sicherheit nicht als ein Produkt des Zufalls anzusehen. Die Diskussion über die Funktion des gesamten Systems und seiner Komponenten erscheint daher angebracht.

### 4.4.1 Die Photorezeptoren - allgemeine Aspekte

#### Retina duplex

Die äußere Retina der adulten Sardelle enthält Zapfen und Stäbchen. Diese „Retina duplex“ deutet auf ein breites Intervall nutzbarer Lichtintensitäten hin und auch auf die Fähigkeit zu retinomotorischen Bewegungen (s. 1.2.1). Zwar konnte im Rahmen dieser Arbeit die Retinomotorik von *Engraulis encrasicolus* nicht systematisch untersucht werden - die Überlebenszeiten waren bei den gegebenen Bedingungen zu gering, um Tiere bis zur vollständigen Dunkeladaption hältern zu können - doch gibt es eindeutige Hinweise, die ihr Vorhandensein belegen:

Abb. 3.2A zeigt eine partiell dunkeladaptierte Sardellenretina im Radialschnitt. Detaillierte Darstellungen der dunkeladaptierten Netzhaut von *E. mordax* finden sich bei O'CONNELL (1963: fig. 10) und von *Anchoa* bei FINERAN & NICOL (1978: fig. 6). Die Netzhaut von *E. encrasicolus* muß sich bei nahezu identischer Architektur sehr ähnlich verhalten, wie die ihrer nächsten Verwandten.

Das photopische System sollte vor allem tagsüber und in flacheren Wasserschichten seine volle Leistung entfalten, das skotopische dagegen das Fenster visuell gesteuerter Aktivitäten in den Schwachlichtbereich öffnen. Letzteres nützt den Fischen sowohl in tieferem Wasser (die Sardellen halten sich im Winter vorzugsweise über dem Schelfboden in Tiefen um die 150m auf: SCHUBERT 1970), als auch in der Nacht. Nachtaktives Verhalten in mond hellen Nächten bei weitgehender Auflösung der Schwarmstruktur ist für Sardellen wohlbekannt - es dürfte dabei das aufsteigende Nachtzoo plankton als Nahrungsquelle erschlossen werden. Aus diesem Grund kann an den Tagen um Vollmond im Mittelmeer auch keine rentable Lichtfallenfischerei stattfinden.

## Horizontale Regionalisierung der Retina und "Areae"

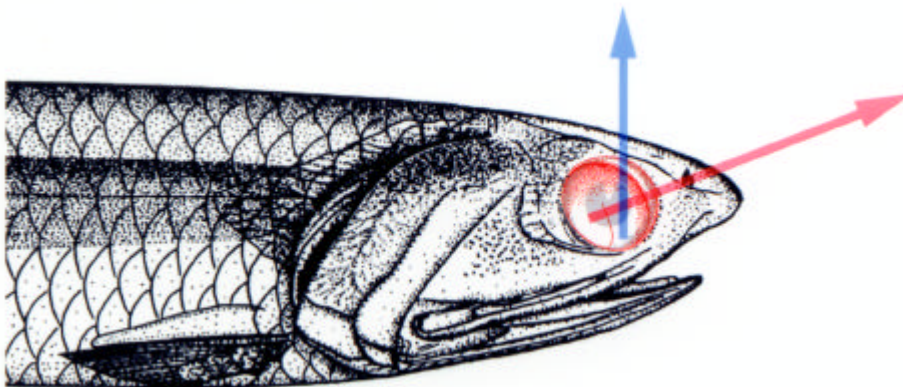
Auch die Regionalisierung der Netzhaut bezüglich der Photorezeptordichten und bzgl. des Zapfen-zu-Stäbchen-Verhältnisses hat funktionelle Implikationen. Dieses Verhältnis fällt bei der Sardelle im dorsalen Bogen zugunsten der Stäbchen, im ventro-temporalen Quadranten zugunsten der Zapfen aus. Folglich überwiegt in dem Netzhautbereich, der in die untere („dunklere“) Hemisphäre blickt, das skotopische System, während dagegen das obere („hellere“) Gesichtsfeld von relativ mehr Zapfen bedient wird (Abb. 3.5/6). Auch O'CONNELL (1963) findet bei 6 Knochenfischarten temporal eine hohe Zapfendichte, die mit einer geringen Stäbchendichte korreliert. Es scheint ein allgemeingültiges Prinzip zu sein, daß die Zapfendichteverteilung innerhalb einer Retina positiv vom Lichtangebot bestimmt ist - die Stäbchen nehmen den Platz ein, der ihnen bleibt (ALI & KLYNE 1985). Der Befund diskreter Verdichtungszone innerhalb der Retina - sog. „Areae“ - gibt Anlaß zu weiteren funktionellen Deutungen:

Die Zapfenarea im ventro-temporalen Quadranten mit ihren schlanken, dicht stehenden Zapfen ermöglicht auf Photorezeptorebene eine im Vergleich zur übrigen Retina relativ hohe Winkelauflösung und damit eine hohe potentielle Sehschärfe (minimal ca. 3.5 Winkelminuten bei *Engraulis*; vgl.  $<0.5'$  bei *Homo*). Die Sehschärfe ist abhängig von der Rezeptordichte pro Flächeneinheit und von der Augengröße (genauer vom Abstand der Linsenmitte zur Retina) oder anders gesagt von der Rezeptordichte pro Sehwinkel. Letzlich ist natürlich auch die Dichte der Zapfenbipolaren und Ganglienzellen in der Area für die maximal erreichbare Raumfrequenzauflösung dieser Retinaregion ausschlaggebend - je geringer die Konvergenz, umso schärfer kann gesehen werden.

Nach O'CONNELL (1963) ist die Sehschärfe von *Anchoa* und *Engraulis* im Artenvergleich damit eher unterdurchschnittlich (vgl. z.B. POWERS & EASTER 1978). Seine Untersuchungen an der pazifischen Sardine *Sardinops caerulea* zeigen, daß die relativen Dichteunterschiede verschiedener Netzhautregionen während des Wachstums erhalten bleiben und somit die Dichtekarte der Zapfen hier als konstantes artspezifisches Merkmal gelten kann, daß sich aber die absoluten Dichtewerte bei einer Verdopplung des Linsendurchmessers fast halbieren. In der Konsequenz scheint es sinnvoll im Artenvergleich nicht mit absoluten Werten, sondern mit Verhältniszahlen zu arbeiten.

Die Blickrichtung der „Area temporalis“ ist nasad bis naso-dorsad, damit liegt der Schwerpunkt der photopischen Raumfrequenzempfindlichkeit („Sehschärfe“) im vorderen bis vorne-oben gelegenen Gesichtsfeld (Abb. 4.3). Dies entspricht genau dem Bereich, in dem für die jagende Sardelle bei horizontaler Schwimmlage Beuteorganismen zu erwarten sind. Auf diese Weise dürften Zooplankter wie z.B. Copepoden in Bewegungsrichtung des Fisches und/oder von schräg unten gegen den hellen Hintergrund der oberen Wasserhemisphäre schnell und genau geortet werden können. In dieser Richtung liegt der binokulare Überlappungsbereich der beiden Gesichtsfelder - auch die Transparenz der Fettlider nasal der Augen läßt auf ein forciertes „Nach-Vorne-Blicken“ schließen (vgl. CAMERON & EASTER 1993).

Da die Lichtenergie, die auf eine bestimmte Fläche projiziert wird, in der Area auf deutlich mehr Zapfen verteilt wird als in einem gleichgroßen Areal des Retinafundus, geht die erhöhte Sehschärfe auf Kosten der Empfindlichkeit (geringe Konvergenz vorausgesetzt). Die hochauflösende, binokulare Fixierung von Objekten im vorderen Gesichtsfeld ist daher gemeinhin eine Leistung des photopischen Systems unter Starklichtbedingungen.



---

**Abbildung 4.3: Die Blickrichtungen von Zapfen- und Stäbchenarea**

Ü

Vordere Körperhälfte von *E. encrasicolus* nach WITHEHEAD et al. 1988. Am eröffneten Augenbecher ist die Blickrichtung der Zapfenarea (roter Pfeil) und Stäbchenarea (blauer Pfeil) illustriert.

Das eindeutig mit den Zapfen assoziierte Spiegeltapetum dürfte allerdings den Arbeitsbereich der Area temporalis bezüglich des Faktors Lichtintensität wirkungsvoll erweitern (s. 4.4.2).

Die geringe Stäbchendichte in der Zapfenarea ist sicherlich eine Folge der optimierten Rezeptorpackung und damit aus funktioneller Sicht ein sekundäres Merkmal dieser spezialisierten Netzhautregion. Interessanterweise findet man bei *E. encrasicolus* die höchste Stäbchendichte in der ventralen Retina nasal der optischen Furche (Abb. 3.6). Dieser Bereich ist flächiger als die Zapfenarea und zeigt einen weniger steilen Dichtegradienten - dennoch tritt er so markant hervor, daß man von einer Art „Stäbchenarea“ sprechen kann. Es erscheint plausibel, daß ein Raum erhöhter Winkelauflösung für das skotopische System dorsal des Tieres liegt, weil unter Schwachlichtbedingungen (z.B. Mondlicht) am ehesten von dort ausreichend Licht für mehr oder weniger scharfe Abbildungen zu erwarten ist.

Ein weiterer funktionsmorphologisch relevanter Aspekt der Netzhautregionierung ist die Verteilung verschiedener Zapfentypen in der Sardellennetzhaut. Während über weite Strecken ausschließlich Polycones zu finden sind, gibt es am dorsalen wie auch am ventralen Netzhautrand Gebiete mit Dreifachzapfen (Abb. 3.26), sowie schmale Übergangszonen zwischen den beiden Mustern. Über die Funktion der Dreifachzapfen können hier nur drei Vermutungen abgegeben werden:

1. Der morphologische Unterschied zwischen der zentralen und den beiden lateralen Komponenten, vor allem bezüglich ihrer Größe und Elektronendichte, könnte mit einer unterschiedlichen Spektralempfindlichkeit der Außenglieder einhergehen und damit auf Farbkontrastbildung hinweisen (vgl. LYALL 1957b; THORNTON & PUGH 1983).
2. Die beiden gleich gestalteten lateralen Komponenten dürften nach der gleichen Argumentationsweise auch physiologisch gleichartig sein (vgl. z.B. BURKHARDT et al. 1980) - ein Beweis dafür steht allerdings aus.
3. Der große Ellipsoidquerschnitt des Zellverbundes macht den „triple cone“ lichtempfindlicher als einen einzelnen Zapfen aus dem Polycone (Lichtfallenwirkung, vgl. MUNZ & MCFARLAND 1977). In der dorsalen Dreifachzapfenregion passt diese Architektur gut zur Lichtverteilung im Pelagial, die Funktion der ventralen Dreifachzapfenregion läßt sich vor diesem Hintergrund nicht deuten.



Der gleiche Effekt ist übrigens auch für die Polyconezapfen verschiedener Netzhautbezirke zu erwarten. Die vergleichsweise großen Ellipsoidquerschnitte der Funduszapfen müßten diese Sehzellen lichtempfindlicher machen als es die schlankeren Areazapfen sein können - freilich auf Kosten der potentiellen Sehschärfe. Der Ellipsoidquerschnitt eines langen Zapfens kann im Fundus ca. 6 bis 8x größer sein als in der Area.

## **Reihenmuster**

Schließlich folgt aus der alternierenden Reihenanordnung der Zapfen und Stäbchen bei Sardellen, besonders für das photopische System außerhalb der Area temporalis, eine lokale Asymmetrie der Rezeptordichteverteilung: längs des Polycone sind die Zapfenabstände relativ gering (z.B.  $6\mu\text{m}$  in Abb. 3.2D), quer dazu dagegen bis zu 2.2x größer (z.B.  $13\mu\text{m}$  an der gleichen Stelle).

Möglicherweise wird diese Asymmetrie durch die Konvergenz der Zapfenschaltkreise verwischt, anderenfalls könnte sie aber auch bis auf die Ebene der Ganglienzellen erhalten und von funktioneller Bedeutung sein: Im Zentrum der Netzhaut verlaufen die Polycones über weite Bereiche näherungsweise vertikal. Es ist einerseits denkbar, daß im lateralen Gesichtsfeld des Tieres vertikale Strukturkomponenten oder Bewegungen längs des Polycone besser aufgelöst werden können als horizontale.

Das Gegenteil ist aber ebenfalls vorstellbar: beim schnellen Vorwärtsschwimmen streichen Objekte wie z.B. Planktonpartikel und partikuläres organisches Material (POM) fast ausschließlich in horizontaler Richtung am Auge vorbei. Die Analyse dieser Bewegungen könnte besonders gut gelingen, wenn das Bewegungskontrastsehen vor allem durch sukzessive Erregung benachbarter Polycones vermittelt wird. Zapfen benachbarter Polycones sind gegeneinander optisch und elektrisch besser isoliert als benachbarte Zapfen innerhalb eines Polycones, demnach sollten sich ihre Signale deutlicher trennen lassen bzw. deutlicher getrennt bilden.

#### 4.4.2 Das Pigmentepithel - Eigenschaften von Interferenz-Keilspiegeln

##### Radiale Zonierung der PE-Zellen

Die keilförmigen Zellen des retinalen Pigmentepithels der Sardelle zeigen in ihrem Inneren einen charakteristischen radialen Gradienten der feinstrukturellen Komponenten. Diese strukturelle Zonierung läßt **drei Abschnitte** erkennen, die sich auch funktionell unterscheiden müssen:

Der **basale** Abschnitt, zwischen der Bruch'schen Membran und dem apikalen Zellhaftenkomplex mit dem Zellkern, zahlreichen Mitochondrien und ER-Zisternen, sowie Myeloidkörperchen und Lysosomen dürfte die metabolisch aktivste Zone der PE-Zellen sein. Die angeführten Zellkompartimente lassen auf Synthese-, Abbau- und Transportleistungen schließen und zwar sowohl für die PE-Zelle selbst, als auch im Dienste der Photorezeptoren (MOYER 1969; FINERAN & NICOL 1977).

Der **Mittelteil** der PE-Zelle reicht vom apikalen Zellhaftenkomplex bis zum skleralen Rand des PE-Keils. Nach FINERAN & NICOL (1977) ist allein dieser Zellabschnitt während der photomechanischen Bewegungen formveränderlich und dient zudem als Materialspeicher: Er enthält zahlreiche Melaningranula (vor allem in der ventralen Retina) und Guaninpolyeder (vor allem im Fundus und dorsal). Guaninplättchen treten im Mittelteil der PE-Zelle nicht auf, sie markieren vielmehr den dritten Abschnitt, den PE-Keil.

Der „mittlere Abschnitt“ ist im Bereich der Area temporalis von *E. encrasicolus* praktisch nicht nachweisbar. Selbst in der helladaptierten Retina - man könnte kontrahierte Zapfen und elongierte PE-Fortsätze erwarten - reicht der starre Keil mit seinen skleralen Guaninplättchenstapeln bis an den apikalen Zellhaftenkomplex heran. Dieser Umstand unterstützt die Vorstellung, daß in einer fast stäbchenfreien Area keine ausgeprägten photomechanischen Bewegungen der Zapfen und PE-Zellen stattfinden, weil auch keine ausgeprägte Retina duplex vorliegt (zur Erinnerung: die Retinomotorik beginnt in der Larvalentwicklung erst mit dem Einbau von Stäbchen in die zunächst akinetische Zapfenretina: AREY 1915; BLAXTER & JONES 1967; ALI & WAGNER 1975b; RAYMOND 1985).

Vitreal laufen die PE-Fortsätze zu einem **Keil** aus, der an Volumen und radialer Ausdehnung die Hälfte (dorso-nasale Retina) bis ca. 80% (ventro-temporale Retina)

**Tabelle 4.5: Funktionelle Deutung der Zellkompartimente des basalen PE**

Kompartiment	Funktion
basales Labyrinth	Stoffaustausch mit der Chorioidea zur Selbstversorgung und Versorgung der Photorezeptoren *
Zellkern	Informationsquelle für Bau- und Energiestoffwechsel *
Mitochondrien	Energiebereitstellung, z.B. f. Synthesen und Retinomotorik *
ER-Zisternen	Synthese, z.B. von Guanin und Melanin *
Myeloidkörper	evtl. schnell zugreifbarer Speicher für Membranmaterial bei der Membranzerteilung während der Retinomotorik. FINERAN & NICOL (1977) finden sie besonders häufig im dunkeladaptierten Auge, wo die Gesamtfläche der retrahierten PE-Keile reduziert ist.
Lysosomen	aufgerollte Membranzerteilung in den Lysosomen sprechen für den Abbau von Photorezeptormembranen („shedding“). FINERAN & NICOL (1977) finden Hinweise, daß das v.a. zu Beginn der Helladaptation passiert, wenn die Stäbchen im basalen PE ankommen. Weiterhin wird der Abbau und die Rückführung zelleigener Komponenten stattfinden.

\*) siehe Lehrbuch: z.B. MOYER 1969, DOWLING 1987

der Pigmentepithelzelle einnimmt. Dieser Zellabschnitt ist geprägt durch gestapelte Guaninplättchen, die den konvergierenden Flanken des Keiles anliegen, sowie einem je nach Retinaregion wechselnden Gehalt an Guaninrus und Melaningranula. Die Verzahnung der PE-Keile mit den Zapfen des Polycone und die höchst regelmäßige Anordnung der Spiegelplättchen sind für die optischen Eigenschaften dieser Strukturen ausschlaggebend und werden von der Retinomotorik nicht wesentlich gestört (FINERAN & NICOL 1977).

Im Gegensatz zum Mittelteil der Zelle sind die Keile also statische Gebilde, deren strukturelle Stabilität die Formkonstanz der ungewöhnlichen Außenglieder der Sardellenzapfen und die sehr gleichmäßigen Plättchenabstände des Interferenzreflektors (s.u.) erst ermöglicht. Zwar sind die Zapfen und das Spiegeltapetum in der dunkeladaptierten Retina höchstwahrscheinlich nicht in Funktion, doch würde eine tagesrhythmische Verschiebung und Reorganisation der beteiligten Strukturen dem gegebenen Organisationsniveau vermutlich nicht zuträglich sein. FINERAN & NICOL (1977) beschreiben für *Anchoa* verbrückende Proteinstrukturen zwischen den ER-Zisternen, die die Guaninreflektoren bilden und beherbergen und vermuten in ihnen letztlich die „Abstandhalter“ zwischen den ER-Kompartimenten - diese Verbindungsstrukturen waren am untersuchten *Engraulis*-Material nicht nachweisbar.

Zu beiden Seiten des PE-Keiles finden sich dynamische Zellabschnitte, sog. „laterale Loben“. Sie sind im helladaptierten Status vitread elongiert, enthalten Melaningranula und Guaninnadeln und schirmen die rezeptiven Bereiche der Polycones gegen seitlich ein- bzw. austretende Lichtstrahlen ab. Im dunkeladaptierten Status sind diese Loben bei *Anchoa* eingezogen (FINERAN & NICOL 1977: fig. 14+15), was im Analogieschluß auch für *Engraulis* gelten dürfte, zumindest für die retinomotorisch aktiven Polyconegebiete außerhalb der Area temporalis.

Eventuell übernehmen die Loben auch einen Teil der nutritiven und resorptiver Funktion des PE für die Photorezeptoren, da sie nicht so dicht mit Partikeln gefüllt sind wie die Zentren des mittleren und des keilförmigen Zellabschnittes. Darüber hinaus ist es denkbar, daß die durch kristalline Diffusionsbarrieren eingeschränkte Versorgungsfunktion des PE kompensiert wird durch eine verhältnismäßig starke Ausprägung des Hyaloidgefäßnetzes an der inneren Grenzmembran und durch die relativ mächtige Chorioidaldrüse.

### **Regionale Zonierung des PE**

Schon beim Blick in den aufpräparierten Augenbecher der Sardelle fällt auf, daß die ventralen Netzhautabschnitte dunkler erscheinen als die zentral bis dorsal gelegenen. Besonders dunkel erscheint die Retina temporal der optischen Furche im Bereich der Zapfenarea. Betrachtet man das intakte Fischauge bei starkem Auflicht, so leuchtet die Pupille infolge diffus vom Tapetum reflektierten Lichtes vor allem dann auf, wenn man von ventral kommend die dorsale Netzhauthälfte beleuchtet („eye shine“: Abb. 3.20B) - dorsale Blickwinkel lassen kein Augenleuchten in Erscheinung treten.

Diese makroskopischen Phänomene finden ihre Erklärung auf der histologischen Ebene, und zwar im regional unterschiedlichen Gehalt an Guaninrus und Melaningranula. Während im Bereich der Polycones die Kristallplättchen überall etwa gleich häufig sind, ist das Verhältnis von polyedrischen Guaninkristalliten zu Melaningranula in der dorso-nasalen Retina sehr groß, in der ventro-temporalen dagegen sehr niedrig (vgl. Abb. 3.20C mit 3.20D). Dieser Umstand läßt sich als Anpassung an den typischen intraretialen Beleuchtungsgradienten eines pelagischen Fisches bei horizontaler Schwimmlage deuten (siehe z.B. DENTON 1970) und korreliert weitgehend mit dem regional ebenfalls unterschiedlichen Stäbchen-zu-Zapfen-Verhältnis.

Das diffuse Guanine-Tapetum erhöht die Lichtausbeute vor allem für das skotopische System im lateralen und unteren (dunkleren) Blickfeld, während das Melanin besonders im Bereich der nach oben „blickenden“ und damit relativ stark beleuchteten Zapfen- und Stäbchenareae Streulicht reduziert und dadurch die Sehschärfe unterstützt.

Ein weiterer Aspekt der Tapetumregionierung ist auch der vom Zentrum der Area temporalis zum Fundus hin zunehmende Öffnungswinkel der Keilspiegel (von ca. 10° nach ca. 20°). Dieser Umstand ist gekoppelt an die sich ändernden Zapfenproportionen und führt in der angegebenen Richtung zu abnehmender Sehschärfe bei zunehmender Lichtsammelwirkung. Im Vergleich zu den rauhen Tapeta der Mormyridae (MCEWAN 1938), die Gruppen von einigen Zapfen zusammenfassen und im Bereich der PE-Ausläufer-Spitzen lichtunempfindliche Flächen haben, ist die Limitierung der Sehschärfe durch die Architektur des rauhen Tapetums bei der Sardelle zu vernachlässigen (siehe auch 4.4.3).

## Melanin

Das Pigmentepithel der Sardelle enthält, wie das der meisten Wirbeltierarten, Melaningranula. Das dunkle Pigment in den PE-Ausläufern dient in der Regel sowohl der Abschirmung der gerade inaktiven Photorezeptoren (vgl. Abb. 1.2C), als auch der optischen Isolierung der Zapfenaußenglieder unter Starklichtbedingungen: nicht-axiales Streulicht wird absorbiert und somit die potentiell erreichbare Sehschärfe erhöht (DOWLING 1987). Die beiden genannten Aufgaben dürften auch vom Melanin der Sardelle wahrgenommen werden, allerdings in abgewandelter Form:

Unter Starklichtbedingungen liegen die Stäbchen auch bei den Sardellen skleral verschoben zwischen den Ausläufern des PE „versteckt“ und profitieren dort von der Lichtschutzfunktion der elongierten PE-Loben. Da die räumliche Beziehung zwischen PE-Keilen und Polycone-Zapfen auch in der dunkeladaptierten Retina nicht aufgegeben wird (FINERAN & NICOL 1977), können die Zapfen der Sardelle abweichend vom Regelfall unter Schwachlichtbedingungen nicht im PE verborgen werden. Dies erscheint nicht unbedingt nachteilig, da ein Schutz des photopischen Systems vor Bleichung unter diesen Bedingungen gar nicht nötig ist (bzw. eventuell gar nicht erstrebt: siehe 4.6.3) und die Inaktivierung der Zapfen schon weitgehend durch die Elongation der Myoide stattfinden dürfte (MILLER & SNYDER 1972 ).

Die optische Isolierung von Zapfen durch Melanin kommt bei *Engraulis encrasicolus* besonders im Bereich der Area temporalis zum Tragen. Aufgrund der relativ hohen Dichte schlanker Zapfen sind auch die PE-Keile schmal und zeigen geringe

Öffnungswinkel - vor allem in dieser Netzhautregion ist das Zentrum der Keile dicht mit länglichen Melaningranula gefüllt. Die Anteile axial eintreffenden Lichtes, die von den Guaninplättchen nicht zum langen Zapfen reflektiert werden, sowie paraxiales Streulicht, das schräg zu den Polycones ankommt, kann auf diese Weise effektiv absorbiert werden. Auch die melaninhaltigen lateralen Loben der PE-Keile unterstützen auf entsprechende Weise die potentiell hohe Winkelauflösung der Area. Das Vorliegen länglicher Melaninkörnchen erscheint besonders zweckmäßig, da diese bei gegenseitigem radialen Versatz Licht effektiver abschirmen als sphärische Gebilde - gerade in der Platzmangelsituation, der die lateralen Loben zwischen den eng benachbarten Zapfenreihen ausgesetzt sind.

Bewegliche Loben erweitern die funktionellen Freiheitsgrade der ansonsten relativ starren PE-Architektur. Dies könnte ein Spezialfall des verallgemeinernden Befundes von PARKER (1932) sein, der für „fixierte“ PE-Ausläufer mit okklusiblen Tapetum eine in geringem Maße verbleibende Spitzenbeweglichkeit beschreibt.

Die Vorstellung von einem okklusiblen Tapetum, d.h. von einer tagesperiodischer Abschirmung der Guaninreflektoren durch Melanin, wie sie MCEWAN (1938) für *Engraulis encrasicolus* und O'CONNELL (1963) für *Anchoa compressa* und *E. mordax* äußern, muß aufgrund der elektronenmikroskopischen Befunde über die PE-Zellen von Sardellen aufgegeben, bzw. stark modifiziert werden. In der Tat werden Melaningranula im Zuge der photomechanischen Bewegungen radial verschoben - dies geschieht jedoch sicherlich nicht, wie O'CONNELL annimmt, quer durch das Guaninmaterial hindurch (dafür sind die Kristallite zu dicht gepackt und die PE-Keil-Organisation zu starr), sondern ausschließlich entlang der lateralen Loben. Das Melanin dient somit nicht der Abschirmung des Tapetums, sondern „wie üblich“ der Isolierung der rezeptiven Einheiten gegeneinander (gerade in der dorsalen Retina gibt es besonders wenig Melanin, obwohl das diffuse Tapetum mächtig entwickelt ist).

## **Guanintapetum**

Das Pigmentepithel der Sardelle enthält **drei** verschiedene Formen von Guaninkristalliten als Grundlage eines komplexen Tapetum lucidum:

**Polyeder, Plättchen und Nadeln.** Die chemische Natur dieser Gebilde wurde z.B. von MCEWAN (1938) aus einfachen Löslichkeitstest und Farbreaktionen erschlossen. ZYZNAR & NICOL (1973) weisen mit spektrochemischen Methoden nach, daß es sich bei den Spiegelplättchen junger Anchovies um reines Guanin handelt.

Allgemein betrachtet handelt es sich um ein Tapetum vom „rauhem“ Typ (nach ZYZNAR 1975a), bei dem das einfallende Licht nicht nur ein zweites Mal durch die Schicht der Photorezeptoren zurückgeworfen wird, sondern mehrfache Reflexionen zwischen mehr oder weniger radial orientierten Reflektoren erfährt. Die weitere Klassifizierung kann nicht pauschal nach „Diffusor“ oder „Planspiegel“ erfolgen, da beide Eigenschaften parallel vorliegen, sondern es muß ein eigener „Sardellentyp“ beschrieben und in der funktionsmorphologischen Diskussion differenzierter betrachtet werden. Im Folgenden wird die potentielle Bedeutung der verschiedenen Guaninformen getrennt analysiert:

Die winzigen polyedrischen Guaninkristallite, der sog. „**Guaningrus**“, sind die strukturelle Grundlage eines diffusen Reflektors. Durch die dicht gepackte Anordnung dieser Elemente entstehen innerhalb eines PE-Ausläufers unzählige Phasenübergänge von optisch niederbrechendem (Zytoplasma:  $n=1.33$ ) zu optisch hochbrechendem Material (Guanin:  $n\approx 1.83$ , LAND 1966b) in regelloser Anordnung. Die äquatoriale Furche oder „Nut“ der Kristallite erhöht die Anzahl der für die Reflexion effektiven Flächen. Resultat ist ein diffuser und spektral breitbandiger Reflektor, der makroskopisch weiß erscheint, und hauptsächlich im Dienste des skotopischen Systems stehen dürfte. Dafür sprechen mehrere Gründe:

- Guaninpolyeder sind im nahezu stäbchenfreien Zentrum der Zapfenarea praktisch nicht vorhanden.
- Für axiale Lichtstrahlen, die längs eines Polycone auf die Zapfenaußenglieder treffen, ist das diffuse Tapetum von den Guaninplättchen (s.u.) quasi „maskiert“.
- Für axiale und schräge Lichtstrahlen, die zwischen bzw. vor den Polycones auf die dunkeladaptierten Stäbchenreihen treffen, bildet der Guaningrus einen weißen Hintergrund im Sinne eines mehr oder weniger „glatten“ Tapetums. Ein zweiter Durchgang des Lichtes durch die Außenglieder der Stäbchen in axialer Richtung dürfte die Lichtausbeute etwa auf das 1.4-Fache erhöhen - eine mittlere Photopigmentdichte und nahezu ideale Spiegelung vorausgesetzt (vgl. ZYZNAR 1975b: fig. 1+2) - bzw. die Empfindlichkeitsschwelle des skotopischen Systems entsprechend absenken. Die durch diffuse Reflexion leicht verminderte Abbildungsschärfe sollte bei der üblicherweise hohen Konvergenz von Stäbchenschaltkreisen nicht ins Gewicht fallen. Zudem würden schiefe Reflexionswinkel „nebenbei“ die Lichtausbeute nochmals leicht erhöhen, da das Licht einen längeren Weg durch die Schicht der Stäbchenaußenglieder zurücklegen kann. Für intermediäre Adaptationszustände, bei denen die Stäbchen noch nicht vollständig vitreal der Guaninmassen, sondern teilweise noch zwischen ihnen zu liegen kommen, können Mehrfachreflexionen die Lichtausbeute weiter steigern („rauhes“ Tapetum).

- Das diffuse Tapetum kann auch im helladaptierten Status den Stäbchen dienen, und zwar indem es die Abschirmfunktion des Melanins ergänzt. Im Fundus und im Bereich der dorso-nasalen Retina ist zwar nur wenig Melanin vorhanden, im helladaptierter Zustand ist es vor allem in den lateralen Loben der PE-Keile konzentriert (Abb. 3.16D-F). Dadurch werden die Stäbchenbänder und das diffuse Tapetum schon mehr oder weniger gut gegen starkes Licht abgeschirmt. Wenn die Stäbchen weit nach skleral zwischen die PE-Keil-Ketten geschoben und von ihnen umschlossen sind, kann Licht auch wegen der dichtgepackten Guaninkörnchen nicht bis zu den Stäbchenaußengliedern vordringen - die Lichtintensität sinkt schnell mit der Eindringtiefe in den Diffusor (vgl. Puderzucker oder Milch).

Die **Guaninplättchen** der PE-Keile sind ein Schlüsselmerkmal der Sardellenretina und geben Anlaß zu besonders interessanten funktionsmorphologischen Überlegungen. Ihr formgebender Einfluß bei der Ausbildung der Polycones wurde schon in Kap. 4.3 diskutiert - im Folgenden sollen ihre bekannten, sowie ihre potentiellen optischen Eigenschaften angesprochen werden. Für ein prinzipielles Verständnis werden zunächst Vereinfachungen im Sinne der geometrischen Optik erlaubt, die schließlich teilweise wieder etwas relativiert werden müssen (Ende Kap. 4.4.3).

Längs der beiden konvergierenden Flanken eines PE-Keiles liegen diese quaderförmigen, kristalloiden Körper jeweils in zwei parallelen Reihen dicht nebeneinander und in bis zu 15 Lagen übereinander (REM: Abb. 3.18B; TEM: Abb. 3.7). Die Anordnung dieser Plättchen ist von bestechender Regelmäßigkeit und führt zu einer Abfolge planparalleler Phasengrenzen zwischen Guanin und Zytoplasma. Da diese beiden Medien im optischen Fenster des elektromagnetischen Spektrums weitgehend transparent sind und da sie sich deutlich im Brechungsindex unterscheiden ( $\Delta n=0.5$ ), werden eintreffende Lichtstrahlen an den Phasengrenzen in Abhängigkeit vom Einstrahlwinkel mehr oder weniger stark gebrochen und/oder reflektiert (Abb. 4.4B).

Eine ausführliche theoretische Abhandlung über die Eigenschaften von Nichtleiter-Interferenzreflektoren findet sich bei HUXLEY (1968) - etwas anschaulicher wird das Thema anhand biogener Reflektoren im Integument silbriger Fische (DENTON & NICOL 1965a,c; DENTON 1970), in den chorioidalen Tapeta von Knorpelfischen und Priacanthiden (DENTON & NICOL 1964; NICOL & ZYZNAR 1975) oder im *Pecten*-Auge (LAND 1965; 1966a,b) behandelt. Zum Verständnis der Funktion des Sardellentapetums ist auch hier ein kleiner Exkurs in die theoretischen Grundlagen der Interferenzreflektoren angebracht:



Die optische Dicke der Medien ( $OD = \text{geometrische Dicke} \cdot \text{Brechungsindex}$ ) liegt im vorliegenden Fall gerade in der Größenordnung der Wellenlängen des sichtbaren Lichtes und ist zudem für Guanin ( $70 \text{ bis } 95 \text{ nm} \cdot 1.83 = 128 \text{ bis } 174 \text{ nm}$ ) und Zytoplasma ( $70 \text{ bis } 115 \text{ nm} \cdot 1.33 = 93 \text{ bis } 172 \text{ nm}$ ) annähernd gleich. Die abwechselnden Schichten können dadurch - im Sinne der sog. „ $\lambda/4$ -Platten“ eines nahezu idealen Interferenzreflektors mit breitem spektralem Reflexionsmaximum - bevorzugt mit Licht von  $4 \cdot \lambda/4 = \lambda = \text{ca. } 370 \text{ bis } 700 \text{ nm}$  in Wechselwirkung treten (z.B. BOYS 1924, zitiert bei DENTON & LAND 1971). Für bestimmte Wellenlängen und in Abhängigkeit vom Einstrahlwinkel kommt es durch konstruktive Interferenz an benachbarten Phasengrenzen zur Reflexion, andere dagegen interferieren destruktiv und werden durchgelassen (Abb. 4.4A,B).

Die Reflektivität eines derartigen Interferenzreflektors steigt mit der Anzahl paralleler Phasengrenzen rasch an, so daß ein Plättchen (= zwei Phasengrenzen) im Bereich des spektralen Plateaus um  $\lambda_{\text{max}}$  nur 4% des senkrecht einfallenden Lichtes reflektiert, ein Stapel von 7 Plättchen dagegen schon 96.6% - vergleichbar einem Silberspiegel (Abb. 4.4C).

Die Keilform der PE-Ausläufer erzwingt eine Abnahme der Stapeldicke von skleral nach vitreal. Damit geht ein radialer Gradient der Reflektivität entlang der Spiegelflächen der PE-Keile einher: im skleralen Winkel zwischen zwei benachbarten Keilen ist die Reflektivität am höchsten, im Bereich der Außenglieder der kurzen Zapfen (AK) an der Keilspitze dagegen so gering, daß der Keil dort bedingt als transparent gelten darf (siehe auch 4.4.3). Die Transparenz gilt auch bei den relativ flachen Einstrahlwinkeln der 1. Reflexion, da Totalreflexion beim Übergang vom optisch dünneren (Zytoplasma) ins optisch dichtere Medium (Guanin) nicht auftritt. Gerade in der vitrealen Hälfte der Area-PE-Keile wird somit die optisch isolierende Bedeutung der zentral gelegenen Melanin granula offensichtlich, die dort diejenige Fraktion des Lichtes absorbieren können, die von den Plättchen durchgelassen wird. Die geometrisch bedingte Zunahme der Stapeldicke nach skleral scheint auch der in gleicher Richtung steigenden Wahrscheinlichkeit für steile Reflexionswinkel (siehe Abb. 4.5) gerecht zu werden: die sklerale Hälfte der Keilspiegelflächen wird von mehr als 5 Plättchen pro Stapel gebildet (Abb. 3.7), folglich liegt gerade im Bereich der Außenglieder der langen Zapfen (AL) ein sehr effektiver Reflektor vor.

Zwei benachbarte PE-Ausläufer bilden mit ihren einander zugewandten Spiegelflächen einen zur Pupille hin offenen Keilspiegel. Einfallende Lichtstrahlen müssen in diesem Keilspiegel in charakteristischer Weise hin und her geworfen werden: bei jeder Reflexion nimmt der Reflexionswinkel (gemessen zum Lot auf die Spiegelfläche) um den Betrag des Keilspiegel-Öffnungswinkels ab, bis der Strahl umkehrt und nach einigen Reflexionen mit zunehmendem Reflexionswinkel den Keil wieder verläßt (Abb.

4.5A-D). FINERAN & NICOL haben diese Art von Mehrfachreflexion in ihrer Arbeit von 1977 schon postuliert, aber nicht visualisiert und auch nicht genauer diskutiert.

Die Mehrfachreflexion von Lichtstrahlen im Keilspiegel führt, gegenüber einer unverspiegelten Netzhaut, zu einer erheblichen Verlängerung der Absorptionsstrecke im Bereich der AL und zu einer Energiekonzentrierung in deren skleraler Hälfte (Abb. 4.5C,D). Das zeigt uns, daß das Spiegeltapetum die Lichtausbeute gerade für die langen Zapfen drastisch erhöhen muß und unterstreicht seine Bedeutung für das photopische System. Die Aussage von HAWRYSHYN & MCFARLAND (1987), das PE der Anchovies würde die Lichtausbeute lediglich wegen eines „double pass“ erhöhen, entspricht jedenfalls nicht der tatsächlich zu erwartenden Situation.

---

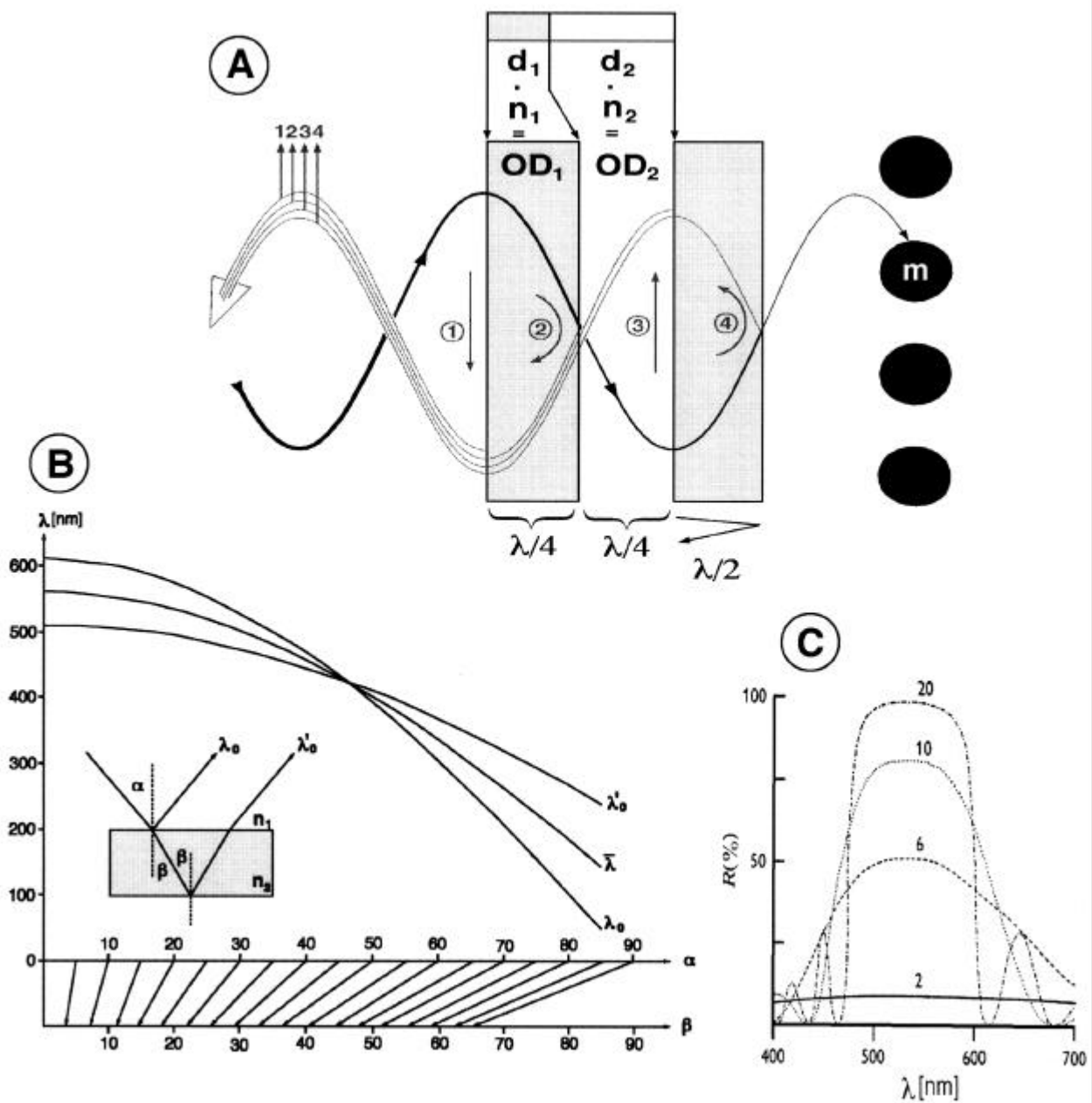
**Abbildung 4.4: Vielschicht-Interferenzreflektor**

>

**A)** Das **Prinzip der konstruktiven Interferenz** am Nichtleiter-Interferenzreflektor, für den Fall senkrechter Lichteintrahlung: Zytoplasma ist weiß, Guanin grau dargestellt, die optische Dicke der beiden Phasen beträgt jeweils  $OD_i = d_i \cdot n_i$ . Die Bedingung für konstruktive Interferenz bei gegebener Wellenlänge  $\lambda$  ist eine kombinierte optische Dicke (OD) des Schichtenpaares „Guanin + Zytoplasma“ von  **$OD_{ges} = OD_1 + OD_2 = \lambda/2$**  bzw. eine gesamte optische Weglänge bei der Reflexion von  $\lambda$ . Die an der Phasengrenzen reflektierten Elementarwellen schwingen dann phasengleich, ihre Amplituden **(1-4)** addieren sich verlustfrei. Es ist zu beachten, daß bei der Reflexion an der Phasengrenze vom optisch dünneren ins optisch dichtere Dielektrikum (①,③) ein Phasenwechsel von  $\lambda/2$  stattfindet (siehe z.B. LAND 1966b). Durchgelassenes Licht wird hier von Melaningranula (**m**) absorbiert.

**B)** Schiefe Einstrahlwinkel ( $\alpha \neq 0^\circ$ ) verschieben das Maximum 1. Ordnung des Reflexionsspektrums zu kürzeren Wellenlängen (vgl. DENTON & NICOL 1964; FINERAN & NICOL 1977):

**$l_o = 2 \cdot OD_{ges} \cdot \cos(\alpha)$** . Aufgrund des Snellius'schen Brechungsgesetzes:  **$n_1/n_2 = \sin(b)/\sin(a)$** , tritt die Reflexion in beiden Medien unter verschiedenen Winkeln auf, folglich auch eine zweite Spektralkurve ( $\lambda'_o$ ). Der Effekt ist nach LAND (1966b) ein verbreiteres



Reflexionsmaximum mit einem intermediären Gipfel ( $\lambda$ ), was der optische Eindruck in solchen Fällen bestätigt. Die dargestellten Spektralkurven basieren auf Meßwerten am Spiegeltapetum von *E. encrasicolus* (z.B. aus Abb. 4.9: Guanin 70nm, Zytoplasma 115nm) unter Berücksichtigung des Umstandes, daß in kontrastierten Schnitten das Guanin herausgelöst und der verbleibende Spalt mehr oder weniger aufgeweitet ist (vgl. Abb. 3.16A mit 3.16B).

C) Reflexionsspektren eines typischen biogenen Interferenzreflektors bei senkrechter Einstrahlung in Abhängigkeit von der Stapeldicke (für *Pecten* aus LAND 1966b). Mit zunehmender Zahl an Phasengrenzen (2, 6, 10, 20 bzw. jeweils der halben Zahl an Spiegelplättchen) steigt die Reflektivität (R) deutlich an und die Flanken des Maximums 1. Ordnung steilen sich auf.

Dieses „Zapfen-Tapetum“ wird vom diffusen Guanintapetum (s.o.) zu keinem Zeitpunkt in seiner Funktion behindert, da letzteres skleral der Plättchenstapel zu liegen kommt. In der dunkeladaptierten Retina ist das Spiegeltapetum zwar auch dem Restlicht exponiert, wird dann allerdings weniger den stark elongierten Zapfen dienen können, sondern allenfalls minimal zur Steigerung der Quantenausbeute der Stäbchen beitragen.

Subtilere Effekte des Interferenz-Keilspiegels im Tapetum der Sardelle betreffen die spektrale Reflexionscharakteristik der Plättchenstapel und den Polarisationsgrad des reflektierten Lichtes. Beide ändern sich bei jedem Reflexionsereignis mit dem Reflexionswinkel.

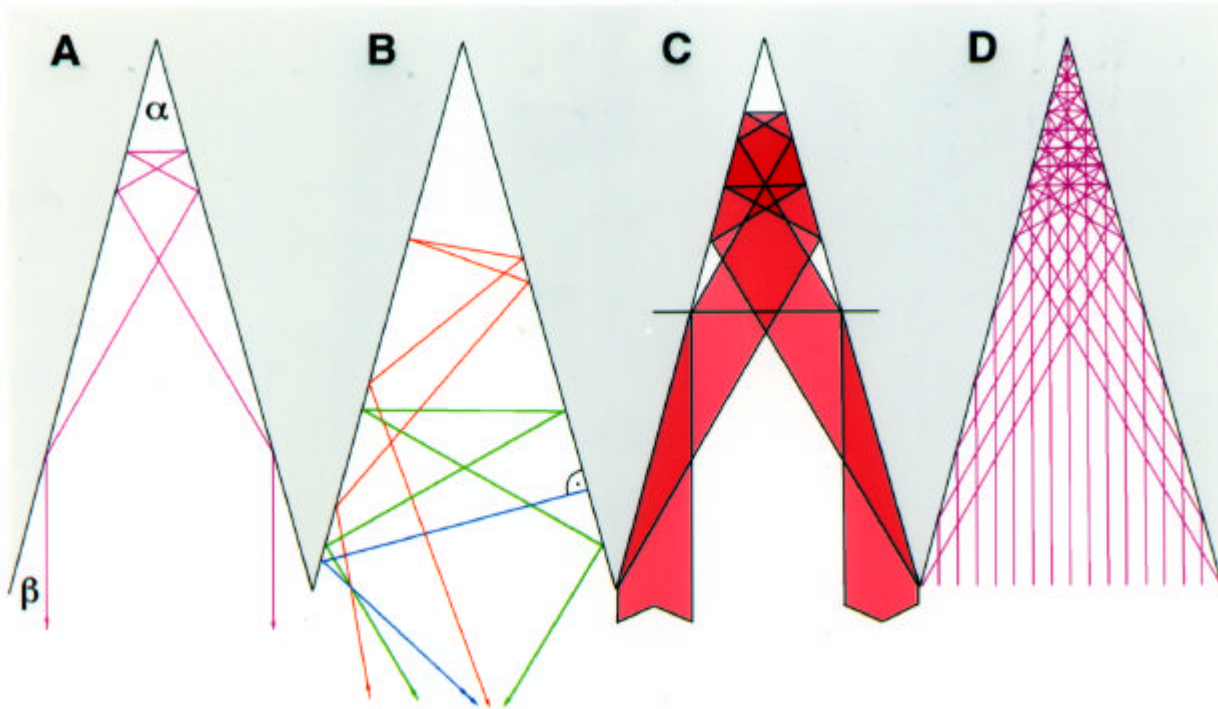
Die Messungen und Simulationen von FINERAN & NICOL (1977) zum Reflexionsspektrum der *Anchoa*-Retina deuten auf eine Adaptation des gesamten Spiegelsystems auf Wellenlängen um  $\lambda \approx 570\text{nm}$  - entsprechend dem gelbgrünen Licht, das im trüben Küstenwasser überwiegt. Ähnliche Werte sind aufgrund der entsprechenden PE-Architektur auch für die Mittelmeersardelle zu erwarten: z.B.  $\lambda_{\text{max}} \approx 560\text{nm}$  für die senkrechte Einstrahlung (Tab. 4.6). Dieser Wert markiert auch das Maximum des photopischen Aktionsspektrums von *Engraulis* (BORISOV & PROTASOV 1960).

**Tabelle 4.6**

Kompartiment	d [nm]	n	OD [nm]	$\lambda_0$ [nm]
Zytoplasma	115	1.33	153	-
Guanin	70	1.83	128	-
Gesamtsystem	-	-	281	<b>562</b>

**d** Schichtdicke, **n** Brechungsindex, **OD** optische Dicke - vergleiche mit Abb.-Text 4.4A.

Erstaunlich ist, wie die hohe Regelmäßigkeit der Plättchendimensionen und der Plättchenabstände aufrechterhalten wird. Letztere können entweder über Brückenstrukturen (FINERAN & NICOL 1977: fig. 29) oder über eine gut kontrollierte Osmolarität eingestellt werden (zum Effekt des Quellungszustandes des Zytoplasmas auf die spektralen Eigenschaften von Interferenzspiegeln siehe LAND 1966; DENTON & LAND 1971).



**Abbildung 4.5: Strahlenoptische Eigenschaften von Keilspiegeln**

Ü

**A)** Tritt ein Lichtstrahl parallel zur optischen Achse in einen Keilspiegel ein, so sinkt der Reflexionswinkel gemessen am Einfallslot mit jedem Reflexionsereignis um den Betrag des Keilspiegel-Öffnungswinkels  $\alpha$  (d.h. er trifft immer „steiler“ auf), bis der Strahl umkehrt (d.h. die Eindringtiefe ist begrenzt) und schließlich wiederum achsenparallel aus dem Keil austritt. Bei einem unverspiegelten Keil wäre der Lichtweg innerhalb des Keiles drastisch geringer.

**B)** Schiefe Einstrahlwinkel  $\beta$  führen zu abgewandelten Strahlengängen mit verringerter Eindringtiefe. Ist  $\beta$  ein ungeradzahliges Vielfaches von  $\alpha$ , so ist der Strahlengang symmetrisch und der Ausstrahlwinkel  $\beta' = -\beta$  (grün), bei geradzahligem Vielfachen von  $\alpha$  kehrt der Strahl auf gleichem Wege um (blau), bei allen Zwischenwinkeln gilt  $\beta \neq \beta'$  (rot).

**C)** Die Überlagerung der Wege eines randlich in den Keilspiegel einfallenden Strahlenbündels zeigt die Konzentration von Lichtenergie in der hinteren Hälfte des Keils (angezeigt durch den horizontalen Strich) - dort befindet sich im Sardellen-Polycone das Außenglied des langen Zapfens.

**D)** Andere Darstellung der Lichtkonzentrierung bei „Beleuchtung“ der gesamten Keilöffnung.

Vergleichbar und doch anders liegen die Verhältnisse im Interferenz-Keilspiegel der posterioren Hauptretina mesopelagialer Knochenfische der Gattung *Scopelarchus* (LOCKET 1971a): je sechs dreikantige PE-Ausläufer umrahmen Gruppen von je ca. 20 Stäbchen. Die PE-Ausläufer enthalten mehrere regelmäßige Lagen von Guaninreflektoren, deren Form graduell von Nadeln (peripher) zu Plättchen (zentral) übergeht.

Besonders spannend ist in diesem Zusammenhang die Funktionsweise eines ähnlich aufgebauten Keilspiegels mit einer semipermeablen Flanke in den Photophoren des mesopelagialen, lichttarnenden Knochenfisches *Argyropelecus arculeatus* (DENTON 1970: fig. 13c). Die Mehrfachreflexionen mit zunehmend steileren Reflexionswinkeln führen zu einer Abstrahlcharakteristik, die der Lichtverteilung der Umgebung sehr nahe kommt (Abb. 4.6B).

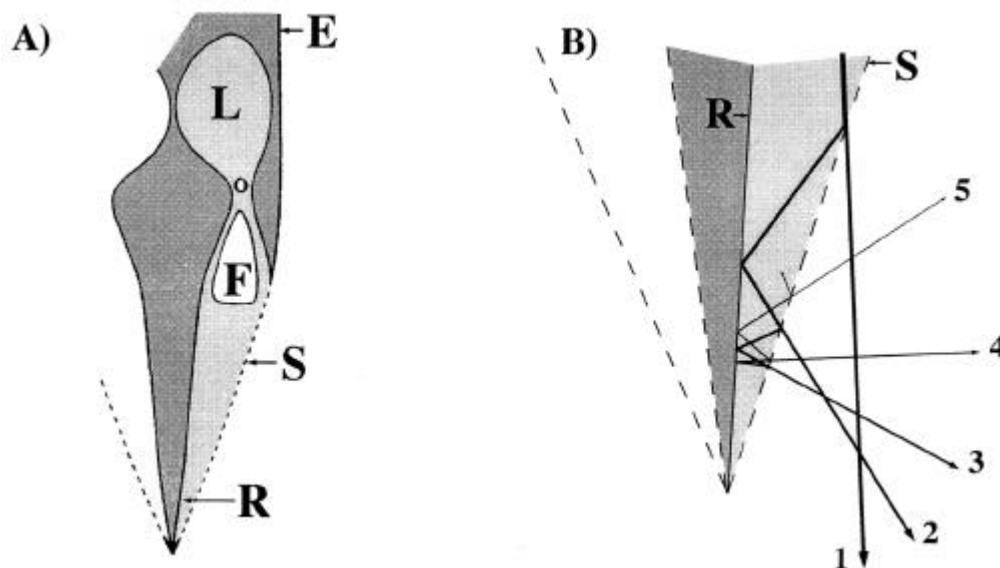


Abbildung 4.6: Keilspiegel-Deflektor einer Tiefseefisch-Photophore

A) Schematischer Querschnitt durch die ventrale Körperhälfte des mesopelagialen, lichttarnenden Knochenfisches *Argyropelecus arculeatus*. Zu beiden Seiten liegen Leuchtammern mit nachgeschalteten Filtern und Deflektoren (verändert nach DENTON 1970: fig. 12c).

B) Der Strahlengang zwischen den konvergierenden Flanken des Deflektors folgt dem gleichen Prinzip, welches im tapetalen Keilspiegel der Sardellenretina realisiert ist (vgl. Abb. 4.5A,B). Der „Trick“ ist in diesem Fall eine semipermeable Flanke, die eine sich nach oben hin graduell abschwächende Abstrahlcharakteristik ermöglicht (verändert nach DENTON 1970: fig. 13c).

**Dunkelgrau:** opaques Körpergewebe, **hellgrau:** transparente Kammern der Photophore, **E** Epidermis, **F** Filter, **L** Lichtkammer, **R** Guaninreflektor, **S** semipermeabler Reflektor, **1-5** Lichtstrahler aufeinanderfolgender Reflexionen, die zunehmend abgeschwächt den Fischkörper verlassen.

Wegen der vielen schiefen Reflexionswinkel, wie sie unter realen Bedingungen auftreten müssen, sollte sich eine Verbreiterung des Reflexionsspektrums des Gesamtsystems in den kurzwelligeren Bereich ergeben (z.B. 485nm bei 35°). Im Unterschied zu den tangential orientierten Reflektoren chorioidaler Tapeta bei denen eine Reflexion mehr oder weniger nah am Einfallslot stattfindet (bei relativ präziser spektraler Abstimmung auf das Umgebungslicht), sind die ersten Reflexionen im Zapfentapetum der Sardellen sehr flach. Das spektrale Reflexionsmaximum ist hier rechnerisch so stark blauverschoben, daß es keine Relevanz für den sichtbaren Bereich des Spektrums haben kann. Hier tritt deshalb wohl die Bedeutung des Interferenzspiegels als **Polarisator** in den Vordergrund. Bevorzugt wird die parallel zur Spiegelfläche schwingende Komponente des einfallenden Lichtes reflektiert, maximale Polarisation tritt für das Wasser-Guanin-System bei einem Reflexionswinkel von  $\alpha=54^\circ$  auf (DENTON 1970). Die senkrecht zur Spiegelfläche schwingende Komponente wird durchgelassen (hebt die Bedeutung des Melanins im Keilzentrum). Diese Eigenschaften des Keilspiegels werden im folgenden Unterkapitel 4.4.3 eingehender diskutiert.

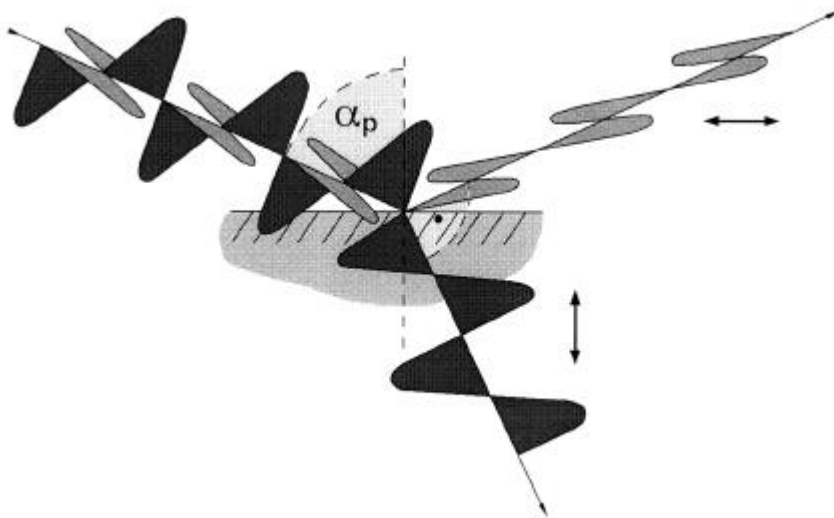


Abbildung 4.7: Polarisation bei der Reflexion für  $90^\circ < \alpha < 0^\circ$

Ü

Bei der schiefen Reflexion von „unpolarisiertem“ Licht an Nichtleiteroberflächen wird bevorzugt die oberflächenparallel schwingende e-Vektor-Komponente (hellgrau) reflektiert - die dazu senkrechte Komponente (dunkelgrau) wird dagegen gebrochen. Maximale Polarisation tritt für die Wasser-Guanin-Grenzfläche beim BREWSTER -Winkel  $\alpha_p = 54^\circ$  auf (z.B. CRAWFORD 1984).

**Nadelförmige Guaninkristallite** finden sich in der helladaptierten Sardellenretina in den lateralen Loben der PE-Keile. Ihre palisadenartige Anordnung entlang der Zellmembran (die Längsachsen radial, die breitesten Facetten parallel zur Zellmembran; Abb. 3.16D,E) dürfte die funktionelle Deutung zulassen, daß sie eine wirksame seitliche Verspiegelung der Keilspiegellumina darstellen. Sie können so das Eindringen vor seitlich einfallendem Streulicht in die Zapfenaußenglieder vermindern bzw. auch das Austreten von paraxialen Strahlen aus einem Keilspiegel und so die optische Isolierung der Zapfeneinheiten in Polycone-normaler Richtung unterstützen.

Diese Art peripherer Nadelpalisaden ist auch in den PE-Ausläufern derjenigen Engraulididae realisiert, die keine Interferenzspiegel aus Plättchen ausbilden (*Cetengraulis*, *Thryssa*, *Setipinna*, *Coilia*; Kap. 3.3). In der Netzhaut des bathypelagischen Knochenfisches *Omosudis lowei* ist gar ein ausgesprochenes Guanin-nadeltapetum ausgebildet (FREDRIKSEN 1976: fig. 18): Die Außenglieder der Photorezeptoren - Zapfen wie Stäbchen - werden dort von mehreren konzentrischen Palisaden dichtstehender, radial orientierter Guaninnadeln in den PE-Ausläufern flankiert.

Das Auftreten verschiedener Kristallformen könnte an der Beimengung anderer Substanzen zum Guanin liegen (ZYZNAR & NICOL 1973), an der unterschiedlichen Form der ER-Kompartimente, in denen sie gebildet werden, oder an einem unterschiedlichen chemischen Milieu ( $\Delta c$ ,  $\Delta pH$ ) in den Kompartimenten. Diese Faktoren wären jeder für sich oder in Kombination dazu geeignet, das Kristallgitter, die Wachstumsgeschwindigkeit u./od. die „freien“ Wachstumsrichtungen der Kristallite zu bestimmen. Ein bevorzugter Bildungsort für Nadeln scheint die Peripherie der PE-Fortsätze nahe der Zellmembran zu sein und der Kristallform-Gradient im retinalen Tapetum von *Scopelarchus* (LOCKET 1971a: fig. 18) weist darauf hin, daß die Ausbildung unterschiedlicher Kristallformen von einem chemischen Gradienten herrühren könnte, der entweder im PE-Ausläufer *per se* entsteht, oder durch die unmittelbare Nachbarschaft der Photorezeptoren induziert wird. Damit wären die Spiegelplättchen Derivate der Nadeln.



#### **4.4.3 Zur Funktion der langen und kurzen Zapfen im Area-Polycone**

Zwei verschiedene Zapfentypen - „lange“ und „kurze“ - bilden in alternierender, völlig regelmäßiger Folge den Polycone. Sie unterscheiden sich in ihrer radialen Position innerhalb der äußeren Retina, was zu einer zweilagigen Stratifizierung all derjenigen „klassischen“ Retinaschichten führt, die Anteile der Zapfen enthalten: Die Außenglieder, die Ellipsoide, die Kerne und auch die synaptischen Terminalen der Zapfen kommen daher immer in zwei leicht gegeneinander versetzten Horizonten zu liegen. Weiterhin unterscheiden sich die beiden Zapfentypen in ihrem Kontrastverhalten bei der EM-Präparation und ganz besonders in der Form und im Feinbau ihrer Außenglieder. Mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit kann daraus geschlossen werden, daß sie sich auch physiologisch unterscheiden.

Zum einen könnten unterschiedliche Rhodopsine vorliegen und die Grundlage für ein photopisches Zweifarbensystem bilden. Morphologisch verschiedene Zapfentypen und meist auch die Partner von Doppelzapfen besitzen Pigmente mit unterschiedlichen Absorptionsmaxima (LYALL 1957b; WAGNER 1975; MARC & SPERLING 1976; HAESSENDONCK & MISSOTTEN 1979; siehe dagegen BURKHARDT et al. 1980). Zum anderen sprechen mehrere Gründe dafür, daß die beiden Zapfentypen zwei orthogonale Kanäle zur modalitätsspezifischen Analyse linear polarisierten Lichtes darstellen. Diese Vermutung wurde erstmals von FINERAN & NICOL (1976) geäußert, aufgrund der folgenden drei Argumente:

- 1) Radial orientierte Membranlamellen der Außenglieder.
- 2) Orthogonale Lamellenorientierung der beiden Zapfentypen.
- 3) e-Vektor-selektive Reflexion am Guanintapetum.

Die postulierten Pol-Kanäle könnten nach feinstrukturellem Umbau aus einem „normalen“ Zweifarbenmechanismus hervorgegangen sein und ihn sogar noch beinhalten, z.B. im Sinne einer Farbcodierung der Polarisationsinformation. Die Möglichkeit, daß Polarisationskontrastbilder farbig gesehen werden könnten, ziehen z.B. ZUEVA (1980) und PARKYN & HAWRYSHYN (1993) in Betracht. Nach dieser Hypothese dürften die bestehenden höheren Sehzentren mit oder auch ohne Modifikationen für das Polarisationskontrastsehen übernommen werden, beispielsweise dann, wenn Farbkontraste im trüben, spektral relativ „eintönigen“ Wasser nur schwer gebildet werden können (vgl. DUNTLEY 1963; EASTER 1975; LYTHGOE 1975; WATERMAN 1989).

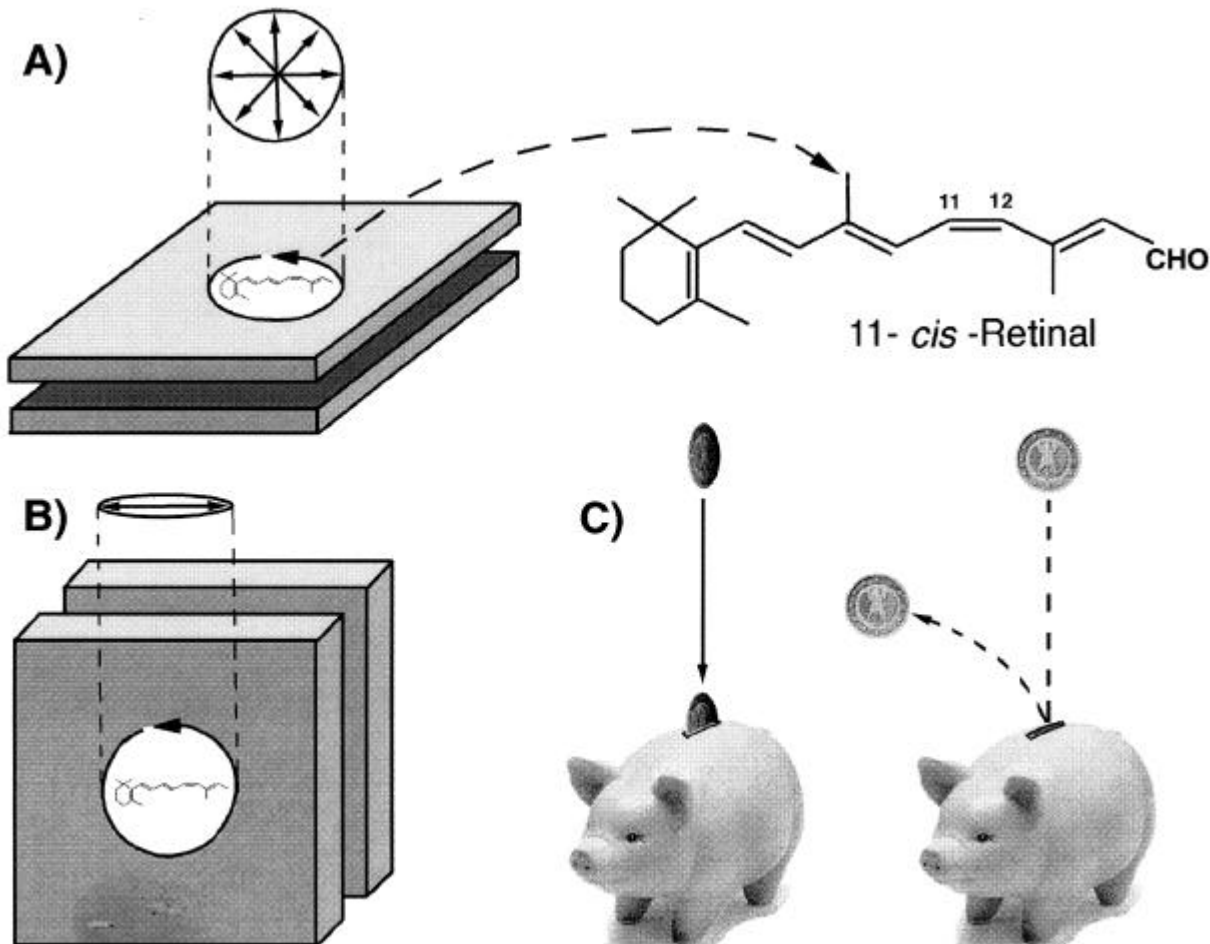
## zu 1) Radial orientierte Membranlamellen der Außenglieder

Die molekulare Architektur, wie sie für die Außengliedmembranen der Wirbeltier-Photorezeptoren angenommen werden darf (z.B. STRYER 1990: Abb. 39.47), erlaubt eine thermische Rotation und Translation des lichtabsorbierenden Dipols 11-*cis*-Retinal genau in der Membranebene (CONE 1972; POO & CONE 1974; LIEBMAN & ENTINE 1974). Die länglichen Terpenoidmoleküle decken bei einer Rotation ein „Scheibchen“ mit einem Wirkungsquerschnitt von  $<40\text{\AA}$  ab, wobei zu einem konkreten Zeitpunkt die Dipolorientierungen einer großen Zahl betrachteter Moleküle in der vorgegebenen Ebene gleichverteilt ist (Abb. 4.8A; vgl. dagegen statisches Modell von SCHMIDT 1935). Die  $\pi$ -Elektronenwolke des konjugierten Doppelbindungssystems tritt am effektivsten mit denjenigen Elementarwellen des Lichtes in Wechselwirkung, deren  $e$ -Vektor bei der Ankunft parallel zur Längsachse des Dipols schwingt. Im „normalen“ Wirbeltierauge wird das Licht senkrecht auf die Membranlamellen der Zapfen bzw. Disks der Stäbchen projiziert, folglich ist ihre Antwort unabhängig von Polarisationsgrad und Polarisationsrichtung (WALD et al. 1963; HAWRYSHYN 1992).

Da nun bei *Engraulis* die lichtempfindlichen Membranen der Polyconezapfen mehr oder weniger parallel zum Lichtweg liegen, wie er von der Geometrie des Auges vorgegeben wird, trifft das Licht auf die Kanten der Rotationsscheibchen. Diese sind innerhalb eines Sardellenzapfens alle gleich und zueinander parallel orientiert und bedingen so eine selektive Absorption einer bestimmten  $e$ -Vektor-Komponente des eintreffenden Lichtstrahls (die oben angeführte Gleichverteilung der Dipolorientierungen führt dazu, daß nur ein Teil der Retinalmoleküle zu einem gegebenen Zeitpunkt zur Absorption „bereit“ ist: Abb. 4.8B). Verstärkt wird dieser Effekt durch die strukturell bedingte Doppelbrechung der parallelen Lipidmembranen, die schon für sich  $e$ -Vektor selektive Wellenleiter sind (SCHMIDT 1935; SNYDER & LAUGHLIN 1975). Die Außenglieder der Polyconezapfen werden folglich in physiologischer Beleuchtungsrichtung doppelbrechend und damit zu Analysatoren für linear polarisiertes Licht (FINERAN & NICOL 1976; LAND 1991), wobei die kurzen Zapfen per se etwas selektiver reagieren dürften als die langen (radiale vs. radial geneigte Membranausrichtung). Der Effekt ist meßbar an paraxial beleuchteten Stäbchen (SCHMIDT 1935; LIEBMAN & ENTINE 1968), an den sich berührenden Membranen der Doppelzapfenellipsoide (NOVALES FLAMARIQUE et al. 1998) und neuerdings auch direkt am Membransystem der Polycone-Außenglieder von Sardellen (NOVALES FLAMARIQUE & HAROSI, persönliche Mitteilung). Das gleiche Prinzip macht auch die rhabdomeren Photorezeptoren vieler Evertabrata polarisationsempfindlich (z.B. JANDER & WATERMAN 1960; MOODY & PARRISS 1961; WATERMAN & HORCH 1966; SNYDER 1973).

## zu 2) Orthogonale Lamellenorientierung der beiden Zapfentypen

Eine Sehzelle reagiert als Einheit mit graduiertem Hyperpolarisation auf die im Außenglied transduzierte Lichtenergie (z.B. ALI & KLYNE 1985). Daher kann die Antwort auf eine schwache Bestrahlung mit der adäquaten Qualität ( $\lambda$  nahe dem Absorptionsmaximum) derjenigen einer starken Bestrahlung mit subadäquater Qualität ( $\lambda$  an einer Flanke des Absorptionsspektrums) gleichen (JACOBS 1982). So wie ein einzelner Farbrezeptor folglich nicht zwischen Intensität und Farbe unterscheiden



**Abbildung 4.8:** Polarisationsempfindlichkeit von Rezeptormembranen Ü

A) Das längliche 11-*cis*-Retinal rotiert frei in der Membranebene. Bei einer großen Anzahl von Molekülen finden sich daher im Mittel zu jedem Zeitpunkt alle möglichen Dipolorientierungen mit der gleichen Häufigkeit - die Membran besitzt keine gerichtete Absorptionscharakteristik bezüglich des  $e$ -Vektors senkrecht einfallender Elementarwellen.

B) Da die Rotation des Chromophors nur in der Membranebene erfolgt, sind in der „Kantenaufsicht“ alle Moleküle gleich ausgerichtet. Je nach Drehwinkel erscheint aus dieser Sicht die  $\pi$ -Elektronenwolke des konjugierten Doppelbindungssystems mehr oder weniger lang.

C) Modell für die gerichtete Absorption von Lichtquanten durch „senkrechte“ Membranen.

kann, kann auch ein einzelner „Polarisationsrezeptor“ nicht zwischen Quantenflußdichte und Polarisationsgrad bzw. Polarisationsrichtung differenzieren (z.B. JANDER & WATERMAN 1960).

Die Verrechnung der Signale von Analysatoren, die unterschiedliche Schwingungsrichtungen bevorzugen, könnte dieses „Problem“ lösen und zwar am besten dann, wenn sich die Analysatoren in unmittelbarer Nachbarschaft zueinander befinden (vgl. Doppelzapfen im Gegenfarbenmechanismus: RICHTER & SIMON 1974; FERNALD 1989) und rechtwinklig aufeinander stehende e-Vektoren bevorzugen (2-Kanal-Analysator: FINERAN & NICOL 1976; LAND 1991; NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN 1998b). Praktisch am gleichen Ort würden die e-Vektor-Komponenten des eintreffenden Lichtstrahles (mit typischerweise elliptischer Charakteristik), so scharf getrennt wie es mit zwei Kanälen möglich ist - die Intensität ergäbe sich z.B. aus der Summe der Antworten. Würden die Analysatoren nicht orthogonal zueinander stehen, dann wäre die Trennung von Polarisations- und Helligkeitsinformation weniger genau möglich, der visuelle Eindruck des betrachteten Bildpunktes würde sich mit der Schwimmlage des Fisches ändern.

Feinstruktur und Anordnung der Sardellenzapfen im Polycone, besonders im Bereich der Area temporalis, können in der Tat die erwartete Funktion unterstützen, ja sie lassen sogar eine in diesem Sinne optimierte Lösung vermuten. Abb. 4.9 zeigt anhand zweier ausgesuchter Tangentialschnitte noch einmal die Orientierung der Membranalamellen der Zapfenaußenglieder im Polycone. Nach den oben formulierten Annahmen zur polselektiven Absorption von radial orientierten Außengliedlamellen sollte der kurze Sardellenzapfen am empfindlichsten auf solche Elementarwellen reagieren, deren e-Vektor parallel zum Polycone schwingt, die langen Zapfen dagegen besonders auf dazu um 90° gedrehte Wellenzüge.

---

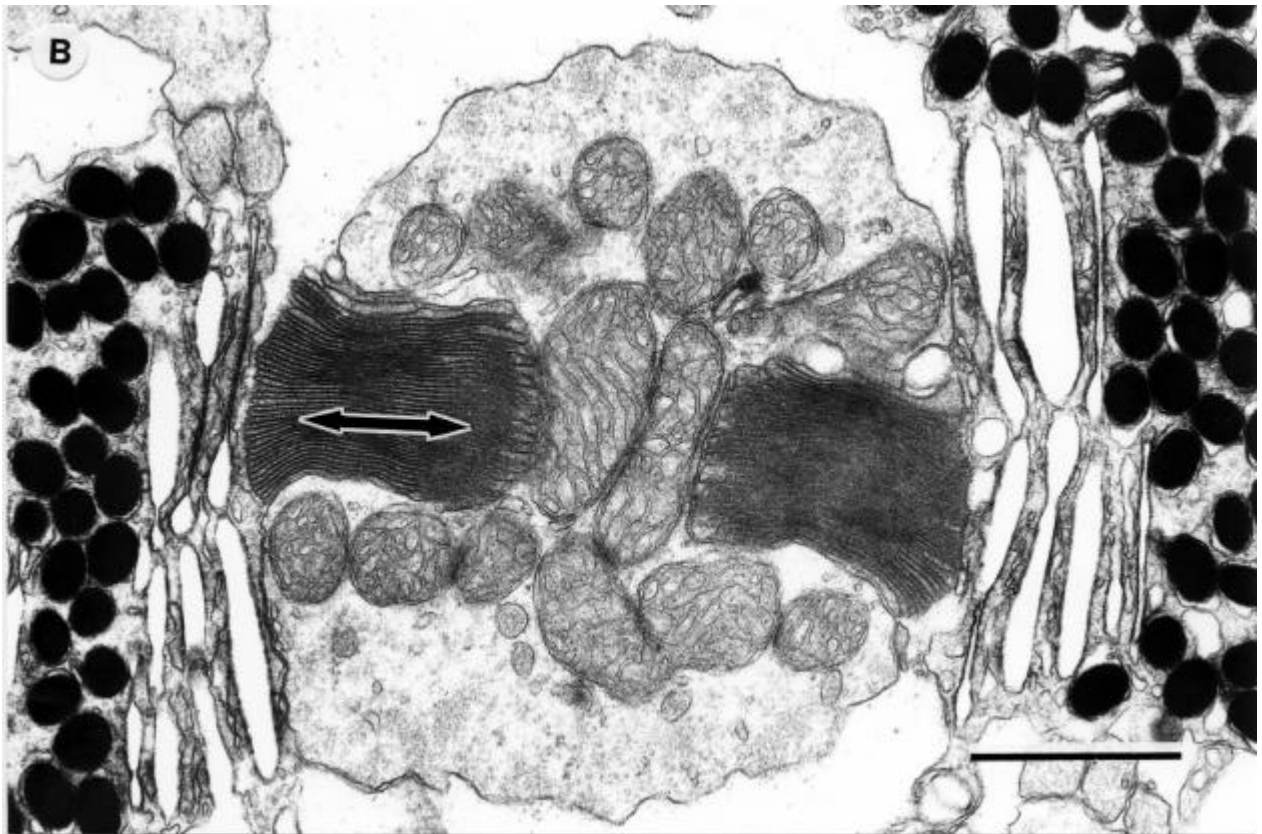
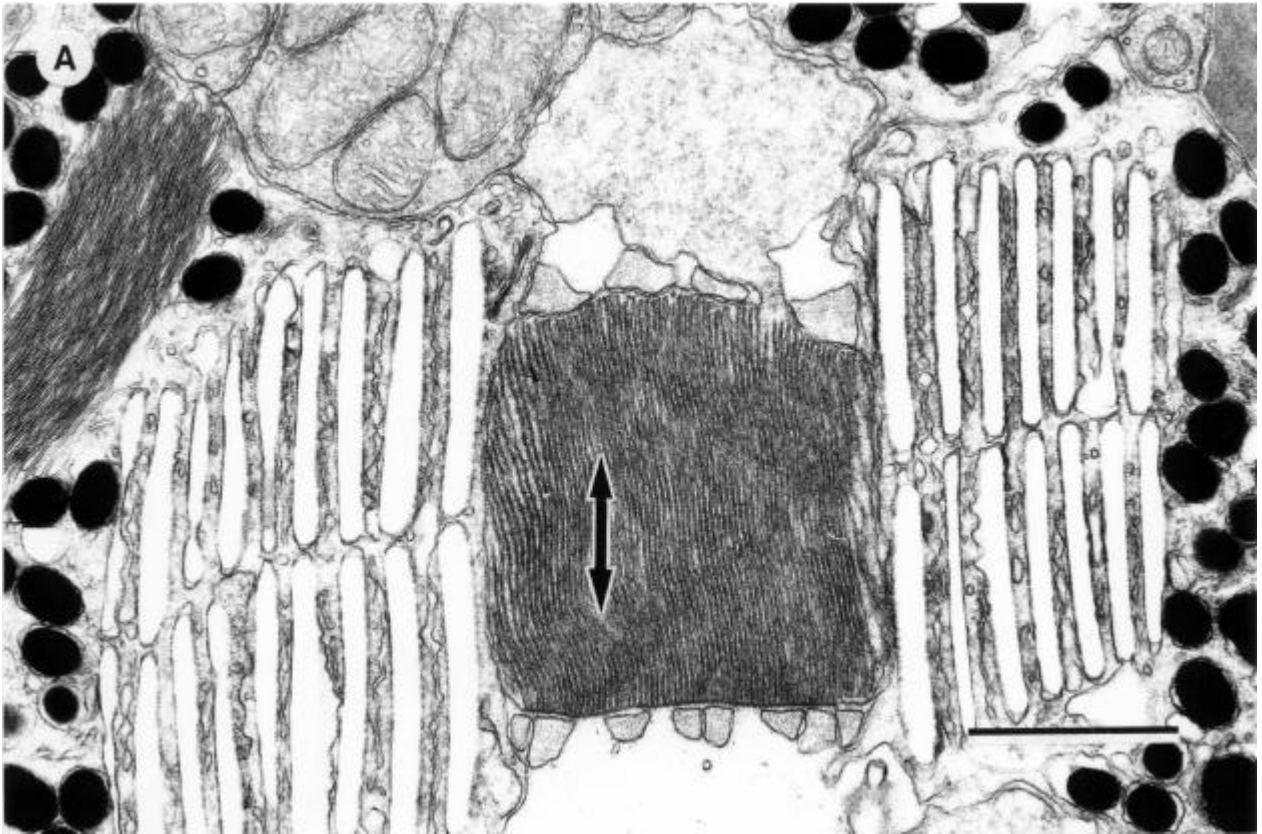
**Abbildung 4.9: Die orthogonale Orientierung der Außengliedlamellen**

>

Tangentialschnitte durch die Außenglieder der Polyconezapfen zeigen deren rechtwinklig zueinander ausgerichteten Membranfaltensysteme - der Polycone verläuft im Bild horizontal (TEM 30000x, **Balken:** 1µm; vgl. Abb. 3.8B,D).

**A)** Die Membranalamellen der langen Zapfen (-) verlaufen senkrecht zum Polycone, parallel zu den Guaninreflektoren und damit senkrecht zu den Lamellen der kurzen Zapfen.

**B)** Das Membranfaltensystem der kurzen Zapfen («) verläuft parallel zum Polycone.



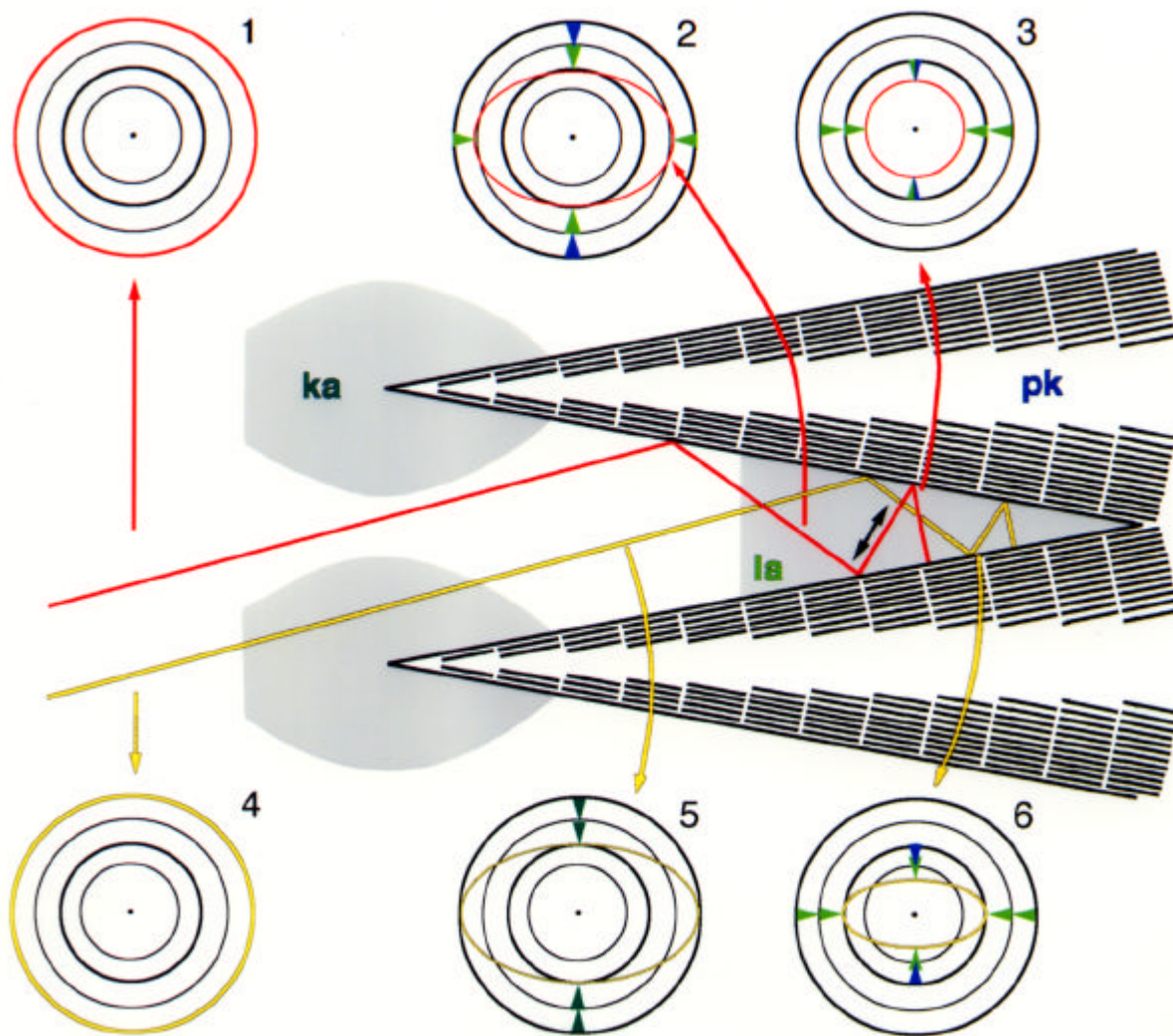
Ein derartiger Mechanismus kann allerdings nur dann eine wirklich e-Vektor-spezifische Sehqualität unterstützen, wenn das primäre Farbkontrastsehen aufgegeben wird (BERNARD & WEHNER 1977; WEHNER & BERNARD 1993):

Polarisationskontrastsehen und Farbkontrastsehen schließen sich nämlich als modalitätsspezifische Sehqualitäten weitgehend aus, sofern sie von den gleichen Rezeptoren geleistet werden sollten. Die Zellen können nicht gleichzeitig und unabhängig voneinander spektrale Informationen und Schwingungsrichtungen vergleichen. NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN (1998b) z.B. vertreten gar die Ansicht, daß beide Zapfentypen im Polycone von *E. mordax* das gleiche Rhodopsin besitzen, also ein monochromatisches photopisches System.

### zu 3) e-Vektor-selektive Reflexion am Guanintapetum

Die Außenglieder der kurzen Zapfen (AK) bilden eine Art „Polfilter“ vitreal des rezeptiven Bereiches der langen Zapfen. Dem Licht, das die kurzen Zapfen passiert hat, fehlt schon ein Teil der Polycone-parallelen Komponente (vgl. Abb. 4.10 und NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN 1998b: fig.7). Die Außenglieder der langen Zapfen (AL) sind per se nur bedingt dazu geeignet, selektiv das zur Zapfenreihe senkrecht polarisierte Licht aufzunehmen. Da ihre Membranlamellen von vitreal nach skleral einen Kippungsgradienten zeigen, absorbieren sie vom direkt einfallenden Licht Anteile aller Schwingungsrichtungen, freilich mit einer gewissen Prävalenz für die Polycone-normale Komponente.

Diese Eigenschaft der langen Zapfen wird mit hoher Wahrscheinlichkeit gleichsinnig verstärkt durch die Architektur und damit durch die Reflexionseigenschaften der PE-Keile (s. 4.4.2 und Abb. 4.10). Bei der Reflexion an Nichtleitern wird bevorzugt Licht mit einem oberflächenparallelen e-Vektor reflektiert. Die Keilspiegel, die die langen Zapfen der Sardelle einschließen, enthalten zueinander parallel ausgerichtete und zum Polycone normal orientierte Guaninplättchen. Licht, das mehrfach zwischen den Flanken benachbarter PE-Keile hin und her reflektiert wird, muß zunehmend die Polycone-parallele Komponente verlieren (Refraktion ins Innere der Keile und Absorption am Melanin), während die Polycone-normale Komponente auf ihrem verlängerten Weg durch das Außenglied des langen Zapfens vermehrt zur Photo-transduktion beitragen kann. Es spielt dafür keine wesentliche Rolle mehr, unter welchen Winkeln das Licht auf die Membranlamellen des langen Zapfens fällt. Aus diesem Grund können auch die AL des Retinafundus, deren Lamellensystem weitgehend tangential orientiert ist, als Antagonisten der benachbarten AK angesehen werden (Zur Kontrastbildung durch e-Vektor-selektive Reflexion s. auch NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN 1998b: fig.8).



**Abbildung 4.10:** Mögliche Effekte der e-Vektor-selektiven Absorption und Reflexion im Polycone der Sardelle

Die Polardiagramme 1-6 zeigen qualitativ die erwarteten Veränderungen in der Polarisationscharakteristik zweier Lichtstrahlen in Wechselwirkung mit den Zapfenaußengliedern und den Guaninplättchen: Der rote Strahl erfährt auf dem Weg von 1 nach 2 eine Abschwächung der Polycone-parallelen Komponente durch Reflexion am Spiegeltapetum (blaue Pfeilspitzen) und eine nicht e-Vektor-selektive (hellgrüne Pfeilspitzen) beim Durchgang durch das Außenglied des langen Zapfens (**la**) senkrecht zum Verlauf der Lamellen ( $\llcorner$ ); von 2 nach 3 läuft der Strahl parallel zu den **la**-Lamellen und damit überwiegt die Abschwächung der Polycone-normalen Komponente. Der gelbe Strahl wird beim Durchgang durch das Außenglied eines kurzen Zapfens (**ka**) zunächst in seiner Polycone-parallelen Komponente abgeschwächt (dunkelgrüne Pfeilspitzen in 5), danach (5→6) kommen wieder das Pol-Tapetum und das **la** zum Zuge: ersteres reduziert v. a. bei den ersten Reflexionen die Polycone-parallele Komponente (blaue Pfeilspitzen), letzteres in Summa besonders die Polycone-normale (hellgrüne Pfeilspitzen).

**pk:** Pigmentepithelkeil mit Guaninplättchen - die Reflektivität steigt mit der Stapeldicke.

## Zwei Bildebenen

Geht man nun davon aus, daß die oben aufgestellten Annahmen über die Funktion der Polyconezapfen weitgehend zutreffen, dann kann man sich die Reizaufnahme in **zwei getrennten Stufen** vorstellen. Es ist zwar für die Sardelle nicht genau bekannt, auf welche Ebene innerhalb der äußeren Retina das Bild der Umgebung scharfgestellt wird - man darf jedoch erwarten, daß die Brennfläche irgendwo zwischen der OLM und den Spitzen der PE-Keile zu liegen kommt (vgl. SCHOLES 1975; FERNALD 1989) und daß wegen der radiad lichtleitenden Eigenschaften der relativ hochbrechenden AK (SCHMIDT 1935) und der effizienten optischen Isolierung der rezeptiven Bereiche der langen Zapfen durch die PE-Keile für beide Zapfenhorizonte eine annähernd gleich scharfe Abbildung zustande kommt.

Die **erste** photopigmenthaltige Retinaebene, auf die das Umgebungslicht vom dioptrischen Apparat projiziert wird, ist die der AK. Dort wird das primäre, ungefilterte Bild „gesehen“ - abgesehen natürlich von Verlusten, die durch die Absorptionseigenschaften der Komponenten des dioptrischen Apparates verursacht werden. In der Area temporalis bedecken die AK (gemessen an ihrer breitesten Stelle) ca. 35-40% der Keilspiegelöffnungsflächen. Für die gleich häufigen langen Zapfen gilt auf der weiter skleral gelegenen Ebene ihrer Außengliedbasen eine Flächendeckung von 25%. Durch die gestaffelte Anordnung der beiden Zapfentypen und ihre dichte Packung ergibt sich in radialer Projektion eine Überlappung ihrer Außenglieder von ca. 45%. Zieht man als effektiv lichtsammelnde Fläche für die langen Zapfen die Öffnung der PE-Keile skleral der Spitzen der AK heran ( $\cong$  einer effektiven Flächendeckung der AL von nahezu 100%), so sinkt der Grad der Überlappung auf 35-40%.

Die Überlappung hat wiederum zur Folge, daß die Außenglieder der langen Zapfen teilweise vorgefiltertes Licht bekommen (vgl. R7 und R8 des Fliegen-Rhabdoms, z.B. WOLFF & READY 1993). Auf einer **zweiten Ebene** der Phototransduktion wird hier also ein sekundäres Bild „gesehen“, dem vor allem ein Teil der Polycone-parallelen e-Vektor-Komponente fehlt. Lichtstrahlen, die achsenparallel oder leicht konvergent in die Öffnung zwischen zwei PE-Keilen eintreten, haben nur ganz zentral und seitlich der AK die Chance, ohne Wechselwirkung mit dem AK das AL zu erreichen (bei strahlenoptischer Betrachtung). Das Licht wird durch Absorption im durchstriffenen Volumen des AK abgeschwächt und in Abhängigkeit vom Absorptionsspektrum des Sehfärbstoffes des AK auch spektral verändert - außerdem wird seine Polarisationscharakteristik, d.h. Polarisationsgrad und Polarisationsrichtung, deformiert: das zunächst runde Polarigramm wird elliptisch (Abb. 4.10).



Es ist ferner noch zu beachten, daß auf Grund der gekrümmten Mantelfläche des AK längs des Polycone nicht in allen Bereichen des „Überlappungsgebietes“ das gleiche Außengliedvolumen über einer gegebenen Fläche der Keilspiegelöffnung zu liegen kommt.

Die Überlappung der Außenglieder der langen und kurzen Zapfen in gestaffelter Anordnung läßt zwei weitere Folgerungen mit möglicher funktioneller Bedeutung zu:

- Es kann eine hohe Zapfendichte erreicht werden, ohne die Querschnittsfläche der Außenglieder zu reduzieren - dies unterstützt gleichzeitig die Sehschärfe (vgl. 4.4.1) und die Empfindlichkeit (vgl. 4.6.3).
- Wenn die AK und die AL das gleiche Photopigment besitzen, ergibt die spektrale Vorfilterung auch im unpolarisierten Licht auf beiden Kanälen unterschiedliche Bilder (vgl. KONG et al. 1980; DENTON & LOCKET 1989) - unterschiedliche Pigmente würden einer optimalen Trennung der Pol-Kanäle entgegenkommen (siehe aber NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN 1998b).

## **Zwei Besonderheiten**

- Eine Besonderheit der langen Zapfen ist ihre Lage zwischen den verspiegelten Flanken zweier PE-Keile. Der polarisierende Effekt zugunsten der Polycone-normalen e-Vektor-Komponente wurde schon diskutiert - bedeutend ist zweifellos auch die **lichtsammelnde Wirkung** der Keilspiegel an sich. Das Licht, das die AL erreicht, ist zwar vom Durchgang durch die AK abgeschwächt, dürfte aber dann von den AL nahezu vollständig absorbiert werden. Durch die Mehrfachreflexion im Keilspiegel wird der Lichtweg im AL erheblich verlängert (Abb. 4.5) und damit die Wahrscheinlichkeit der Wechselwirkung mit dem 11-*cis*-Retinal der AL gegenüber dem der AK wesentlich erhöht. Vermutlich wird so die Filterwirkung der AK mehr als kompensiert (was bei unterschiedlicher Spektralempfindlichkeit der beiden Zapfentypen bzw. bei „sauberer“ Trennung der e-Vektor-Komponenten für eine ausgewogene Erregbarkeit der beiden Kanäle gar nicht nötig wäre) und die langen Zapfen könnten die Hauptrezeptoren für das Dämmerungssehen sein (s. Zapfentapetum 4.6.3).
- Äußerst bemerkenswert ist andererseits die **zweilappige Form** des Außengliedes des kurzen Zapfens („short bilobed cone“). Da anzunehmen ist, daß eine Sehzelle als Einheit reagiert, dürfte die Spaltung des AK in zwei Loben entweder ohne funktionelle Bedeutung sein oder es werden „absichtlich“ die Informationen, die die beiden Loben aus benachbarten Keilspiegeln aufnehmen integriert. Ca. 20-30% des AK-Volumens liegen vitreal der PE-Keilspitze und die geringe Reflektivität der

Keilspitze mit nur 2-3 Lagen von Guaninreflektoren (vgl. 4.4.2) vergrößert das Volumen, das einheitlich beleuchtet wird (auch ist das Lichtabsorptionsvermögen der PE-Keilspitze gering, da dort nur ein schmales melaninhaltiges Band vorliegt). Die Frage, ob ein unterschiedlicher Input in die beiden Lobenspitzen von Bedeutung sein kann, sollte sich mit „nein“ beantworten lassen. Ein kleiner Teil des Lichtes geht nach Reflexion am Tapetum der PE-Keil-Spitze erneut durch das AK, wird aber mit dem Rhodopsin dort relativ wenig in Wechselwirkung treten können, weil die bei der Reflexion bevorzugte Polarisationsrichtung nicht zur Lamellenlage passt.

Die in den Kapiteln 4.4.2 und 4.4.3 angestellten Überlegungen zur Struktur-Funktions-Beziehung der Keilspiegel und Polycones basieren u.a. auf der vereinfachenden Annahme der Gültigkeit der geometrischen Optik. Wollte man sich den theoretisch möglichen Vorgängen in der äußeren Sardellenretina weiter nähern, so müsste man mindestens drei weitere Effekte berücksichtigen:

- die Eindringtiefe der Licht-Elementarwellen in den Interferenzreflektor.
- den Brechungsindex-Unterschied zwischen Zytoplasma und Außenglied und die Wellenleiter-Eigenschaften des letzteren.
- Wellenoptische Effekte für dioptrische Elemente im Größenbereich der relevanten Wellenlängen (s. z.B. KAPANY et al. 1963; MILLER & SNYDER 1972)

### **Die funktionelle rezeptive Einheit**

Da ein Polycone in der Regel einen mehr oder weniger großen Kreis um den Ursprung der optischen Furche beschreibt, ist keinesfalls zu erwarten, daß er insgesamt als rezeptive Einheit reagiert. Die optische und auch synaptische Kopplung von Zapfen im Polycone und teilweise auch zwischen benachbarten Polycones zeigt andererseits, daß benachbarte Zapfen nicht unabhängig voneinander reagieren können. Nach FINERAN & NICOL (1978) besteht zwischen den Partnern eines Doppelzapfens und denen eines Polycone-Komplexes kein Unterschied im optischen Brechungsindex, weshalb sie als optische Einheit reagieren sollten (es ist aber nicht auszuschließen, daß der Unterschied in der Elektronendichte von kurzen und langen Zapfen auch einen dioptrischen Effekt anzeigen könnte).

Daraus ergibt sich die Frage nach der funktionellen rezeptiven Einheit und damit auch nach dem kleinsten auflösbaren Bildpunkt. Diese Frage läßt sich bisher nur auf der Grundlage der bekannten Zapfen- und PE-Architektur und ihrer vermuteten optischen Eigenschaften diskutieren. Für ein tieferes Verständnis sind künftige Forschungen mit neuroanatomischen und elektrophysiologischen Methoden dringend erforderlich, da die funktionelle Einheit letztlich durch die Form und die Verschaltungsselektivität der Dendritenfelder von Sekundärneuronen und Ganglienzellen bestimmt wird. Erste Hinweise können die Strukturbefunde der vorliegenden Arbeit zu den Bipolarzellen der Sardelle schon geben (siehe weiter unten).

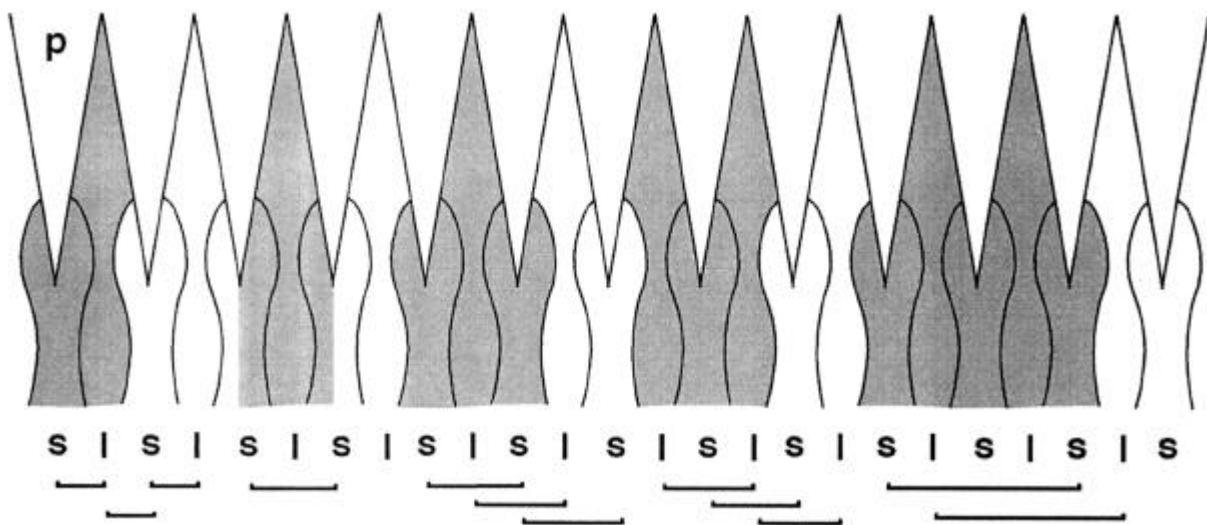
Zur Analyse der Intensität und der Polarisationscharakteristik eines Bildpunktes sind strenggenommen nur zwei Zellen nötig: z.B. ein kurzer und ein langer Zapfen in der Art, wie sie bei *Engraulis* und einigen verwandten Gattungen ausgebildet werden - vorausgesetzt, sie sind nicht erheblich kleiner als das Beugungsscheibchen, das der dioptrische Apparat in der Brennebene für eine punktförmige Lichtquelle erzeugt („Airy's disc“). Der Abstand zwischen den Außengliedern eines Zapfentyps liegt im Bereich der Area mit  $5.5\text{-}6\mu\text{m}$  über der theoretischen Auflösungsgrenze (ca.  $0.6\mu\text{m}$ ) eines Fischauges entsprechender Größe. Vergleichbare Werte ergeben sich für dichtgepackte, „optimierte“ Zapfenmosaik anderer Teleostei (CHARMAN & TUCKER 1973; SCHOLLES 1975; FERNALD 1989).

FINERAN & NICOL (1978) halten den optisch isolierenden Keilspiegel für das bestimmende Strukturelement einer „cone unit“\*. Der Bildpunkt, der von der Öffnung eines Keilspiegels definiert wird, würde in diesem Fall vom Außenglied eines langen Zapfens und von den anliegenden Außengliedloben der beiden benachbarten kurzen Zapfen „gesehen“ werden. Die „cone unit“ aus  $1\text{AL} + 2 \cdot \frac{1}{2}\text{AK}$  würde eine maximale Raumfrequenzauflösung entsprechend der halben Photorezeptordichte gestatten. Diese Version macht es allerdings erforderlich, jeden kurzen Zapfen in zwei funktionelle Hälften zu spalten und eine separate Erregungsausbreitung entlang gegenüberliegender Flanken einer Zelle anzunehmen. FINERAN & NICOL gehen nicht näher auf dieses Dilemma ein, deuten allerdings eine Lösung in Form einer möglichen fünfzelligen Einheit aus zwei kurzen und den drei assoziierten langen Zapfen an (Abb. 4.11).

---

\* Begriffliche Verwirrung kann durch den Gebrauch des Terminus „bifid cone units“ durch NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN (1998b) entstehen: sie verwenden „bifid“ für die zwei Kanäle des orthogonal doppelbrechenden Lamellenfilters und nicht für die gespaltenen Außenglieder der kurzen Zapfen, wie durch FINERAN & NICOL (1976) eingeführt.

Logischer ist in der Tat die Definition überlappender Einheiten aus zwei bis mehreren Rezeptoren, da ein Zapfen mit seinen beiden wesensverschiedenen Nachbarn in völlig gleichartiger struktureller Beziehung steht. Jeder Zapfen - ob kurz oder lang - sollte daher Mitglied mindestens zweier Einheiten sein. Ein langer Zapfen z.B. würde dann sowohl mit dem „links“, wie auch mit dem „rechts“ angrenzenden kurzen Zapfen einen Bildpunkt analysieren können und vice versa (Abb. 4.11). Auch diese Variante würde bei einer 1:1 Verschaltung auf die Ganglienzellen die größte potentielle Sehschärfe unterstützen, nämlich die des Zapfenmusters.



**Abbildung 4.11: Die funktionelle (rezeptive) Einheit im Polycone**

Ü

l langer Zapfen, p Pigmentepithelkeil, s kurzer Zapfen. Denkbare funktionelle Einheiten (siehe Text) sind grau hinterlegt, die Klammern deuten die Möglichkeit überlappender „cone-units“ an.

Am plausibelsten erscheint mir die Annahme, daß je nach Netzhautregion eine unterschiedliche Anzahl benachbarter Rezeptoren und Polycones das rezeptive Feld einer Bipolarzelle bilden, da die Dendritenfelder eines Bipolaren-Typs innerhalb einer Retina bezüglich Größe und Form bekanntermaßen variieren, daß evtl. getrennte Verschaltungen für die beiden Zapfentypen existieren und daß die rezeptiven Felder mehr oder weniger überlappen (→ 4.5.3). Die „cone unit“ von FINERAN & NICOL wäre hier nicht als rezeptive Einheit zu verstehen, sondern eher als dioptrisches Raster.

## Experimentelle Evidenzen

Die funktionsmorphologische Diskussion behält ein spekulatives Moment, solange die auf biophysikalischer Logik beruhenden Schlüsse nicht durch entsprechende Ergebnisse physiologischer Versuche untermauert werden können. Bisher gibt es nur wenige Arbeiten, die Hinweise auf die Sehleistungen lebender Sardellen bzw. auf physiologische Eigenschaften lebendfrischen Gewebes aus der Netzhaut dieser Tiere geben können:

Das gute photopische Farbunterscheidungsvermögen von *E. mordax* im blau-grünen Bereich des Spektrums (PROTASOV et al. 1960; LOUKASHKIN & GRANT 1965) erfordert mindestens zwei Zapfentypen mit unterschiedlichem spektralem Antwortverhalten und legt den Schluß nahe, daß die dominanten Zapfentypen - lange und kurze - sich in ihrem Photopigment unterscheiden. Die Lage des spektralen Empfindlichkeitsmaximums um 560nm wird in erster Linie durch das Absorptionsspektrum der Zapfenrhodopsine vorgegeben sein, kann aber auch von der Reflexionscharakteristik des Spiegeltapetums mit beeinflußt werden (schwerpunkt-mäßig beträfe das dann die langen Zapfen). Die retinalen Tapeta helladaptierter Anchovies der Gattung *Anchoa* zeigen in der Tat ein spektrales Reflexionsmaximum bei  $\lambda \approx 570\text{nm}$  (FINERAN & NICOL 1977: fig. 38) - die am TEM ermittelten Dimensionen der  $\lambda/4$ -Platten passen für die senkrechte Reflexion sowohl für *Anchoa*, als auch für *Engraulis* recht genau zu diesem Meßwert (vgl. Tab. 4.6). Erstaunlicherweise wirkt sich hier die postulierte Blauverschiebung durch schräge Reflexionswinkel (Abb. 4.4B) nicht merklich aus.

Ein etwas anderes Bild ergeben die elektrophysiologischen Daten von NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN (1998b). Die Ableitung des ERG (photopische Summenantwort) vom Tractus opticus von *E. mordax* ergab ein eingipfeliges spektrales Empfindlichkeitsmaximum bei  $\lambda_{\text{max}} = 500\text{nm}$  und für *A. compressa* wurde in vitro ein A<sub>1</sub>-Rhodopsin(gemisch?) mit einem  $\lambda_{\text{max}}$  bei 508nm gefunden (MUNZ 1958; ALI & HEUMANN 1972). Die Diskrepanz der Ergebnisse der verschiedenen Autoren läßt sich bisher nicht ohne weiteres harmonisieren.

NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN (1998b) konnten ferner nachweisen, daß die Sardellenretina polarisationsempfindlich reagiert: die Ableitungen zeigen gegenüber der e-Vektor-Richtung eine 180°-periodische Empfindlichkeitskurve mit einem Maximum für horizontal zur Körperachse schwingendes, linear polarisiertes Licht. Dieser Befund passt zur Orientierung der Außengliedlamellen im Retinafundus - die Polycones verlaufen dort annähernd dorsi-ventral - daher schließen die Autoren auf einen überwiegenden exzitatorischen Beitrag der langen Zapfen. Die Antwort könnte aber auch in der e-Vektor abhängigen Verstärkungswirkung des Spiegeltapetums begründet sein.

Nach der Dunkeladaptation zeigt die Retina von *Anchoa* eine erhöhte Reflektivität mit deutlich verbreitertem Spektrum (FINERAN & NICOL 1977: fig. 39, offenbar wird der diffuse Reflektor nach Rückzug der melaninhaltigen PE-Loben demaskiert). Der Wechsel zum skotopischen Sehen bei *E. mordax* erfolgt nach PROTASOV et al. (1960) bei ca. 0.01 Lux, was dem Zapfensystem der nördlichen Sardelle im Artenvergleich eine durchschnittliche Empfindlichkeit zukommen läßt (vgl. z.B. BLAXTER 1964). Der Umstand, daß die photomechanischen Abläufe der Dunkeladaptation schon bei 1 bis 0.1 Lux einsetzen, weist immerhin auf ein „gewolltes“ Funktionieren der Zapfen im Schwachlichtbereich hin.

## 4.5 Hinweise auf geordnete Verschaltungen in der Sardellenretina

### 4.5.1 Zapfenfüßchen

Die regelmäßigen **Anordnungsmuster** der Zapfen skleral der OLM müssen sich auch auf der Ebene der Zapfenfüßchen wiederfinden lassen (STELL & LIGHTFOOT 1975; HAESSENDONCK & MISSOTTEN 1979; DOWNING & DJAMGOZ 1989). Entsprechend erfolgreich war die Suche nach einem Korrelat des speziellen Polyconemusters der Sardelle auf der Ebene der Zapfenterminalen: Die Pedicles der Area spiegeln das Schachbrettmuster der rezeptiven Zellabschnitte genau wider und stellen so die Grundlage für einen geordneten und sogar geometrisch gerichteten Transport visueller Informationen auf der ersten Verschaltungsebene der Retina dar (Abb. 3.27-29).

Die Synapsenfüßchen der kurzen und langen Sardellenzapfen besitzen deutlich voneinander getrennte **Terminationsebenen** (Abb. 3.28/29 und HEß et al. 1997). Ähnliche OPL-Sublamina sind auch für die Taube (MARIANI 1987) und für den Menschen (AHNELT et al. 1990) beschrieben. Diese Substratifikation läßt auf eine Form selektiver Verschaltung der beiden Zapfentypen schließen, wie etwa die Trennung ihrer elektrischen Information über spezifische Typen von Sekundärneuronen in zwei Kanäle mit orthogonaler Polarisationspezifität (z.B. via Bipolarzellen für kurze Zapfen und Bipolarzellen für lange Zapfen). In die gleiche Richtung weisen Unterschiede in der **Anordnung der Ribbons** in den Synapsenfüßen der beiden Zapfentypen (Abb. 3.30).

Während die Anzahl der Ribbons pro Pedicle im Normbereich liegt (vgl. DOWNING & DJAMGOZ 1989; SCHOLES 1975; WAGNER & ALI 1977), ist die **Gruppierung** von Ribbons im langen Zapfen der Sardelle eine sehr ungewöhnliche Erscheinung: Bei den niederen Vertebraten wird sonst immer eine einzelne zentrale Kavität gefunden (z.B. SCHOLES 1975: Abb. 28). Die **Geometrie** dieser Ribbonanordnung sollte zudem funktionelle Implikationen haben: Sehr wahrscheinlich findet eine dichotome Divergenz der Signale langer Zapfen auf die Horizontal- und Bipolarzellen senkrecht zum Verlauf des Polycone statt (s.u.) und vice versa eine laterale Hemmung durch Horizontale von zwei Seiten. Die Symmetrie deutet auf zwei qualitativ und quantitativ gleichartige Verschaltungszonen hin. Anderenfalls (z.B. bei Zusammenführung auf eine Bipolare) wäre die Ausbildung räumlich getrennter Ausgänge nicht zwingend notwendig.

Die **Telodendriten** der Sardellenzapfen entspringen (zumindest bei den langen Zapfen) den Ecken der quadratischen Pediclebasen und sind auf diese Weise in das Schachbrettmuster integriert. Sie sind verhältnismäßig kurz (3µm gegenüber bis zu 18µm, siehe KRAFT & BURKHARDT 1986) und sollten, neben einer möglichen stabilisierenden Wirkung auf die sehr regelmäßige Anordnung der Zapfenterminalen, elektrische Synapsen bilden (LASANSKY 1972; RAVIOLA & GILULA 1973; KOLB & JONES 1985): Darauf lassen auch bei *Engraulis* elektronendichte Strukturen schließen, die „gap junctions“ entsprechen (Abb. 3.34C,D). Offensichtlich existiert schon auf dieser skleralen Ebene ein Netz lateraler Verbindungen für die horizontale Erregungsausbreitung innerhalb einer Zapfenspezies (vgl. SCHOLES 1975). Die selektive Kontaktaufnahme mit Zapfen des gleichen Typs über Telodendriten wurde bisher selten beschrieben (z.B. BAYLOR & HODGKIN 1973), häufiger werden alle benachbarten Zapfen kontaktiert (NILSSON 1964; SCHOLES 1975; KRAFT & BURKHARDT 1986) oder gar keine (Blauzapfen des Menschen: AHNELT et al. 1990).

#### 4.5.2 Horizontalzellen

Horizontalzellen dienen nach der gängigen Auffassung der Kontrastverstärkung zwischen den Ausgängen mehr oder weniger nahe benachbarter Photorezeptoren durch laterale Inhibition (WERBLIN & DOWLING 1969). Die horizontale Ausbreitung neuroelektrischer Information geschieht über den Zellverband hinweg via gap junctions (KANEKO 1971). Auch bei *Engraulis* sind diese Zellhaften in großer Zahl zu beobachten (Abb. 3.35/36).

## **Etagen**

Bei den Knochenfischen gibt es in der Regel 3 oder 4 radial gestaffelte Lagen von Horizontalzellen, die sich bezüglich der Zellformen und im Verschaltungsmuster mit den Photorezeptoren unterscheiden und damit Bestandteile verschiedener, teilweise interagierender neuroelektrischer Kanäle darstellen (SELVIN DE TESTA 1966; PARTHE 1972; STELL & LIGHTFOOT 1975; HAESSENDONCK & MISSOTTEN 1979; DOWNING & DJAMGOZ 1989).

Die Horizontalzelltypen H1-H3 der Sardelle ähneln bezüglich ihrer Zellform und ihrer radialen Lage denen anderer Teleostei (vgl. z.B. Abb. 3.36A-C mit fig. 2 in STELL & LIGHTFOOT 1975). Aus dem Vorhandensein von drei H-Horizonten läßt sich auf unterschiedliche Kanäle für die Verrechnung von Photorezeptorsignalen schließen. Die Zapfen- und Stäbchenschaltkreise werden bei den Knochenfischen von separaten Horizontalzelltypen bedient (STELL 1967; KANEKO & YAMADA 1972), wobei die am weitesten vitreal gelegene Etage in der Regel Stäbchen-Horizontale sind (z.B. H4-Zellen nach STELL & LIGHTFOOT 1975; „intermediate horizontal cells“ nach CAJAL 1926). Die eng beieinander liegenden, skleralen Etagen H1 und H2 sollten bei *Engraulis* daher nach Lage und Form in Anlehnung an die Literaturbefunde nur mit Zapfen verbunden sein, die abgeflachten H3-Zellen (ganz vitreal gelegen) dagegen als Stäbchen-Horizontale zu deuten sein.

## **Muster**

Die Anordnung von Horizontalzellen und ihre Verschaltungsgeometrie kann sehr regelmäßig sein und mit dem Muster der Zapfenfüßchen korrelieren. Ein stabiles symmetrisches Kontaktmuster zwischen H1-Zellen und Zapfenfüßchen haben z.B. HAESSENDONCK & MISSOTTEN (1979) eindrucksvoll am Leierfisch *Callionymus lyra* demonstriert. Auch in der ventro-temporalen Zapfenarea von *Engraulis* liegt ein mehr oder weniger regelmäßiges Quadratmuster von Horizontalzellkernen vor (Abb. 3.36) - ein regelhafter Bezug zum Muster der Pedicles konnte im Rahmen der vorliegenden Arbeit allerdings nicht nachgewiesen werden. Aufgrund der großen Zahl von gap-junctions zwischen den Horizontalzellen einer Etage („elektrisches Syncytium“) ist anzunehmen, daß der Zellform und dem Zellmuster aus funktioneller Sicht eine eher geringe Bedeutung zukommt.



## Verschaltung

H-Zellen senden von ihrem sternförmigen Profil aus kurze radiale Ausläufer in die Terminalen der Photorezeptoren, um dort lateral oder zentral der „ribbons“ Synapsen zu bilden. Eine der Kernfragen zu möglichen Konnektivitäten innerhalb der OPL ist dabei die nach der Zapfentyp-selektiven Verschaltung verschiedener Horizontalzellpopulationen. Soweit untersucht kontaktieren die H1-Zellen bei den Teleostei unselektiv alle Zapfen innerhalb ihres Dendritenfeldes, die H2-Zellen lassen selektiv die „Rot-Zapfen“ aus und die H3-Zellen kontaktieren ausschließlich die „Blau-Zapfen“ (STELL & LIGHTFOOT 1975; HAESSENDONCK & MISSOTTEN 1979; DJAMGOZ & DOWNING 1988) - die H3-Zellen der Sardelle sind dagegen mit den H4-Zellen anderer Teleostei vergleichbar (s.o.). Andere Modi der OPL-Konnektivität sind bei Knorpelfischen realisiert (TOYODA et al. 1978).

Die räumliche Rekonstruktion einer H1-Zelle (Abb. 3.37) deutet auf eine bevorzugte bis selektive Verschaltung mit 5 langen Zapfen dreier benachbarter Polycones hin. Wenn die H2-Zellen in ähnlicher Weise mit den kurzen Zapfen verbunden sind, dann könnten die lateralen Wechselwirkungen der beiden postulierten e-Vektor-Kanäle (4.4.3) auf separaten Etagen und damit weitgehend voneinander getrennt stattfinden. Diese Spekulation beschreibt eine vergleichsweise ungewöhnliche Situation, würde allerdings elegant die Korrelation von zwei H-Horizonten mit zwei Zapfentypen erklären. Aufgrund der gegenüber den H1 Zellen geringeren H2-Zelldichte und auch wegen der entsprechend geringeren Flächendichte an H2-Dendriten ergäbe sich dabei allerdings eine Asymmetrie im Verschaltungsmodus der beiden Zapfentypen. Die Aufklärung der Horizontalzell-Zapfen-Verschaltungen in der Sardellenretina muß daher an farbstoffmarkierten Zellen fortgesetzt werden (siehe 4.8).

Meistens ist ein Zapfenpedicle mit mehreren Horizontalzellen vom gleichen und/oder verschiedenen Typ verbunden (HAESSENDONCK & MISSOTTEN 1979: benachbarte H1-Zellen; STELL & LIGHTFOOT 1975: z.B. Grün-Zapfen mit H1+H2), dabei sind nicht selten mehrere Ribbons von den Dendriten einer Horizontalzelle „besetzt“. Da die Ribbonanordnung der langen Zapfen bei der Sardelle immer die gleiche ist, unabhängig davon, ob der Pedicle zentral oder randlich über einer H1-Zelle liegt, kommt eine räumlich gerichtete Verschaltung mit H1-Zellen als Grund für die Ausbildung zweier Kavitäten nicht in Frage: Über dem Zentrum einer H1-Zelle sollten alle Ribbons von dieser Zelle kontaktiert werden (evtl. aber auch H2-Kontakte?), über den Grenzlinien benachbarter H1-Zellen könnten die beiden Ribbongruppen mit verschiedenen Zellen verbunden sein - der geringe Grad der Überlappung der H1-Dendritenfelder macht die Konvergenz benachbarter H1-Zellen auf einen Pedicle allerdings nicht besonders wahrscheinlich. Eine vergleichbare Situation deutet sich bei der Plötze (*Rutilus*) an: Eine individuelle H1-Zelle besetzt dort alle Ribbons genau einer Hälfte eines Rot-Zapfenfüßchens (DOWNING & DJAMGOZ 1989: fig. 8A,B).

### 4.5.3 Bipolarzellen

#### Schichtdicken

Regional unterschiedliche Schichtdicken, Zelldichten (v.a. Bipolarzellen) und Schichtproportionen in einer Netzhaut sprechen unter anderem für regionale Unterschiede in den integrativen Leistungen der inneren Retina. Eine relativ zur ONL dünne INL deutet z.B. auf hochkonvergente Verschaltungen hin, da die Photorezeptoren im gegebenen Raumelement nur mit relativ wenigen Sekundärneuronen verbunden sein können. Einem häufig anzutreffenden Zustand vergleichbar (z.B. WALLS 1942; O'CONNEL 1963) finden sich auch in den Retinae der Sardellen dorso-nasal relativ dicke ONLs und ventro-temporal relativ dicke INLs (O'CONNELL 1963; FINERAN & NICOL 1978; vgl. auch Abb. 3.1A mit 3.2B). Demzufolge ist mit hochkonvergenten Verschaltungen in den stäbchenreichen Regionen zu rechnen (ONL dick, INL dünn) und mit besonders informationsdichten, niederkonvergenten Schaltkreisen im Bereich der Zapfenarea (ONL dünn, INL dick).

#### Muster

Verschiedene Bipolarzelltypen projizieren mit ihren Axonterminalen in unterschiedliche, aber genau definierte Tiefen der IPL und so ist die Stratifizierung der IPL in lockere und dichtere Nervenplexus ein Ausdruck einer endlichen Anzahl regelhaft organisierter Verschaltungsmuster zwischen Bipolar-, Amakrin- und Ganglienzellen (siehe z.B. SCHOLLES 1975: fig. 69). Zudem bilden einzelne Bipolaren-Populationen spezifische horizontale Verteilungsmuster, die mit dem der Photorezeptoren korrelieren und auch auf der Ebene der Bipolarterminalen in der IPL wiedergefunden werden können (VRABEC 1966; GOODLAND 1966).

Auch bei der Sardelle sind erste Hinweise auf eine geometrisch regelmäßige IPL-Verschaltungsordnung zu finden:

Das Reihenmuster der Bipolarterminalen in Substratum 2 (Abb. 3.39E) korreliert in der Area temporalis mit dem Reihenmuster der Polycones und die Dichte der Bipolarterminalen beträgt ca. die Hälfte der Zapfendichte. Es ist denkbar (aber noch keinesfalls bewiesen) daß ein zapfenselektiver Bipolarzelltyp im Substratum 2 terminiert, ein anderer im ähnlich aufgebauten Substratum 4. Das Zelldichtenverhältnis der Bipolaren zu den Photorezeptoren in der ventro-temporalen Retina der Sardelle (Tab 4.3) würde sogar zwei Bipolare pro Zapfen zulassen, wenn die Stäbchenbipolaren weniger als  $\frac{1}{4}$  der Population ausmachen (das ist wegen der typischerweise hohen Konvergenz der Stäbchenschaltkreise zu erwarten: STERLING et al. 1986).

## Verschiedene Typen

Arbeiten zur Morphologie der Bipolarzellen und ihrer Verschaltung mit den Photorezeptoren bei Knochenfischen zeigen, daß es in jeder Retina verschiedene Typen mit jeweils eigenem Verschaltungsmuster gibt. Sie unterscheiden sich v.a. in der Form ihrer Dendritenfelder, in der synaptischen Verbindung mit spezifischen Zapfentypen und in ihrer IPL-Terminationstiefe (STELL 1967; SCHOLES & MORRIS 1973; SCHOLES 1975; STELL et al. 1977; WAGNER 1978; ISHIDA et al. 1980; HAESSENDONCK & MISSOTTEN 1984).

Der erste Anlauf zur Darstellung von Sardellen-Bipolaren zeigt auch hier verschiedene Typen, definiert über die Form der Dendritenbäumchen:

**Typ 1** einer vorläufigen Nomenklatur hat relativ weitreichende, exzentrisch-ovale rezeptive Felder (Abb. 3.39A,A'), während **Typ 2** kleinere, rechteckige Felder besitzt (Abb. 3.39B,C).

## Verschaltung

Auch wenn die Bipolar-Photorezeptor-Konnektivitäten für die dargestellten Dendritenfelder noch nicht auf der TEM-Ebene geklärt sind, ist es sicher, daß die Morphologie der Typ 2-Bipolaren dem Reihemuster der Photorezeptoren folgt. Die in Abb. 3.39B/C dargestellten Dendritenbäume besitzen jeweils drei Polycone-parallele „Kämme“ und fassen somit den Output von drei oder vier Photorezeptorreihen zusammen, je nachdem, ob die Dendritengabeln unter oder zwischen den Polycones liegen. Dieser Befund definiert die „cone-unit“ für die untersuchte Stelle als Polycone-übergreifend (vgl. 4.4.3; im übrigen scheint es auch einen Typ von Amakrinzellen zu geben, dessen rezeptives Feld eine Art reihenparalleler Ausrichtung besitzt: Abb. 3.40). Bipolaren-Dendritenfelder mit einem regelhaften Bezug zum Muster der Zapfen zeigen z.B. auch HAESSENDONCK & MISSOTTEN (1984).

Die relativ kleinen Dendritenfelder und ihr filigraner Bau sprechen dafür, daß es sich eher um Zapfen-Bipolare handelt als um Stäbchen-Bipolare: Zum einen besitzen Bipolarzelltypen, die Stäbchen kontaktieren, in der Regel dichte, bürstenförmige Dendritenbäumchen, zum anderen erzwingt die Konvergenz im skotopischen System große rezeptive Felder (SCHOLES 1975).

Beispiele für Bipolarzellen, die nur einen Zapfentyp kontaktieren (z.B. SCHOLES & MORRIS 1973; HAESSENDONCK & MISSOTTEN 1984) geben Anlaß zu der Vermutung, daß es auch bei der Sardelle Bipolaren geben könnte, die jeweils nur den langen oder nur den kurzen Zapfen zugeordnet sind. Wenn es sich bei den Typ 2-Bipolaren um unselektive Zapfenbipolaren handelt, sollten sie die synaptischen Ausgänge aller Zapfen zusammenfassen, die in ihrem rezeptiven Feld liegen (vgl. SCHOLES 1975) - im Fall hochselektiver Bipolaren die Hälfte, entsprechend dem Zahlenverhältnis der beiden Zapfentypen. Da nicht bekannt ist, wieviele Kontakte die Zellen pro Zapfenpedicle machen, kann zu diesem Thema auch anhand der gegebenen Dendritendichte zum jetzigen Zeitpunkt noch keine klare Aussage getroffen werden.

Die Diskussion um die Bedeutung der Ribbonanordnung in den Terminalen der langen Zapfen ist besonders im Zusammenhang mit der Bipolarenverschaltung erfolgversprechend. Während eine geometrisch gerichtete Verschaltung der Zapfen mit den Horizontalzellen funktionell eher unnötig erscheint (s.o.), gilt das Gegenteil für den radialen Informationsfluß via Bipolarzellen. SCHOLES (1975) geht sogar davon aus, daß der Aufbau von Ribbons eben gerade an Rezeptor-Bipolar-Synapsen stattfindet („ontogenetic tropism“).

Besonders in der Area temporalis mit hohen Zapfen- und Bipolardichten sollten gerichtete Zapfenverknüpfungen einer hohen räumlichen Trennschärfe von Bildsignalen und der Möglichkeit des kleinräumigen Vergleichens nützlich sein. Die Dendritengabeln eines Kammes der Typ 2-Bipolaren könnten z.B. in die einander zugewandten Kavitäten der Terminalen langer Zapfen benachbarter Polycones ziehen und so jeweils mit zwei langen Zapfen aus verschiedenen Polycones verbunden sein. Diese Ordnung kann auch bei hoher Bipolarendichte und starker Überlappung der Dendritenfelder erhalten bleiben.

Die Anzahl der Ribbons pro Kavität sollte dann proportional zur Länge der Kämme sein! Die Annahme, daß die beiden Ribbonfelder ein Ausdruck der Divergenz von Zapfensignalen auf verschiedene Bipolarzelltypen ist, sollte zwar in Erwägung gezogen werden, ist aber für die Erklärung symmetrischer und gleichmächtiger Kontaktzonen eher hinderlich.

## Vorschlag zum Mechanismus

Die in der vorliegenden Arbeit favorisierte Idee vom hochauflösenden Polarisations-Kontrastsehen der Sardellen (siehe Kap. 4.6.1), erfordert eine sinnvolle Verrechnung der Bildinformationen, die die Polycone-Außenglieder im Sinne eines 2-Kanal-Analysator aus dem Umgebungslicht herausfiltern. Dies wiederum ist nur möglich, wenn es in der inneren Retina zapfenspezifische und damit Polkanal-selektive Verschaltungen gibt.

Eine Möglichkeit ist die Isolierung zweier Kanäle („Kurzer-Zapfen-Kanal“ und „Langer-Zapfen-Kanal“) bis einschließlich auf die Ebene der Ganglienzellen und eine Verrechnung der beiden Bilder im ZNS - diese Art der Informationsverarbeitung wäre allerdings für eine Wirbeltierretina sehr untypisch. Viel wahrscheinlicher ist die Kontrastbildung durch kleinräumigen Vergleich von Zapfen- bzw. Bipolaren-Antworten im „Bildverarbeitungsrechner Retina“ selbst. Sogenannte „push-pull-Systeme“, bei denen Schaltkreise unterschiedlichen Spektralverhaltens gegensinnig auf einer Ganglienzelle zusammenlaufen, sind offensichtlich die Grundlagen der „centre-surround-Mechanismen“ (BELGUM et al. 1982; LEVICK & DVORAK 1986; SCHILLER 1992) - z.B. der Gegenfarben-Mechanismen bei der Farbkontrastbildung. Entsprechend könnten in der Area temporalis der Sardelle die Antworten der kurzen Zapfen eines relativ kleinen rechteckigen Areal mit denen der langen Zapfen eines mehr oder weniger deckungsgleichen Areal verrechnet werden (s. 4.4.3 - rezeptive Einheit). Die 180°-periodische ERG-Kurve aus dem Tractus opticus von *E. mordax* (NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN 1998b: fig. 2B) deutet auf eine subtraktive Interaktion der Antworten beider Zapfentypen hin. Subtraktive Verrechnung von Zapfensignalen wird auch der Farbkontrastbildung zugesprochen (HURVICH & JAMESON 1955, zitiert bei THORNTON & PUGH 1983; siehe auch RICHTER & SIMON 1974). Allein ein derartiger Mechanismus kann alle möglichen Polarisationsvektoren eindeutig repräsentieren. Wenn das postulierte Polarisationskontrastsehen das Derivat oder ein Bestandteil eines „älteren“ Farbkontrastsehens ist, sollte dessen Verdrahtung in mehr oder weniger abgewandelter Form übernommen worden sein (vgl. HAWRYSHYN & MCFARLAND 1987).

## 4.6 Vermuteter biologischer „Sinn“ der aberranten Strukturen - Polkontrastsehen und Zapfentapetum

Sardellen besitzen relativ große Augen und auch die optischen Loben des Tectums sind mächtig entwickelt, während Vorderhirn und Cerebellum verhältnismäßig klein bleiben (SCHWASSMANN 1965). Das Lateralissystem ist auf die Kopfreion beschränkt - Rumpfsseitenlinien sind bei den Clupeoidei nicht vorhanden (WHITEHEAD 1985). Diese anatomischen Befunde und die Beobachtungen von LOUKASHKIN & GRANT (1965) zum visuell gesteuerten Verhalten von Sardellen heben die Rolle der Augen als der dominanten Sinnesorgane dieser Tiere hervor. Die Diskussion über den biologischen „Sinn“ einer Netzhautspezialisierung erscheint daher in diesem Fall besonders ergiebig.

### 4.6.1 Polarisationskontrastsehen

Die vorherrschende Zapfenform in der Netzhaut der Sardelle ist der Polycone, der nach den biophysikalischen Überlegungen von FINERAN & NICOL (1976-1978), LAND (1991), NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN (1998b) und nach Kap. 4.4 der vorliegenden Arbeit zur Analyse des vorherrschenden e-Vektors und des Polarisationsgrades mehr oder weniger ausgedehnter Bildpunkte geschaffen sein sollte. Das Sehsystem der Sardelle muß also neben den (oder anstatt der) Helligkeits- und Farbinformationen auch noch solche verwerten können, die von der Schwingungsrichtung des Umgebungslichtes getragen werden.

Die praktische Bedeutung einer spezifischen Wahrnehmungsfähigkeit für linear polarisiertes Licht unter Wasser kann für Fische entweder im Bereich der **Orientierung und Navigation** anhand globaler Polarisationsmuster (1) liegen oder in der Objekterkennung durch **hochauflösende Kontrastbildung** (2).

**zu 1)** Die Entdecker der *Anchoa*-Polycones (FINERAN & NICOL 1976) vermuteten zunächst, daß diese Bildungen besonders der Orientierung im Raum oder der Bewegungssteuerung im Schwarm dienen könnten. Nach ihrer Vorstellung vom Verlauf der Zapfenreihen (durchwegs dorsi-ventral) sei eine gute Voraussetzung zur räumlichen Orientierung und zur Navigation anhand unscharfer Weitfeld-Polarisationsmuster gegeben, wie sie über und unter Wasser in der Tat vorkommen:

Das Phänomen der RAYLEIGH-Streuung von Licht an Luftmolekülen führt zu einem charakteristischen Polarisationsmuster am Taghimmel (Abb. 4.12A; SEKERA 1955; BRINES & GOULD 1982; KÖNNEN 1985; COULSON 1988). Die Fähigkeit, sich im Sinne

eines erweiterten „Sonnenkompasses“ unter anderem an diesem Muster orientieren zu können, ist zweifelsfrei für eine Reihe von Arthropoden nachgewiesen (z.B. VON FRISCH 1949, 1953; WATERMAN 1981, 1989; WEHNER 1989a,b, 1994) - selbst bei bedecktem Himmel und in den Dämmerungsphasen.

Das Polarisationsmuster des Taghimmels ist in modifizierter Form durch das SNELLIUS'sche Fenster auch unter Wasser sichtbar (HORVÁRTH & VARJÚ 1995), und zwar vor allem unmittelbar unterhalb der Wasseroberfläche bzw. Luftunterfläche bis in wenige Meter Tiefe. Danach scheinen sich sowohl einige Arthropoden (z.B. Seegrasgarnele: GODDARD & FORWARD 1991), als auch Vertebraten (z.B. junge Lachse: SCHWASSMANN & HASLER 1964; HAWRYSHYN & BOLGER 1990; NOVALES FLAMARIQUE et al. 1992) orientieren zu können. In anderen Fällen kann zwar im Experiment eine Polarotaxis nachgewiesen werden, ein Bezug zum natürlichen Verhalten besteht aber offensichtlich nicht (WATERMAN & FORWARD 1970, 1972; FORWARD et al. 1972; FORWARD & WATERMAN 1973; KLEEREKOPER et al. 1973).

Ein „eigenes“ Polarisationsmuster entsteht jenseits des SNELLIUS'schen Fensters wiederum durch polarisierende Streuung des ins Wasser eindringenden Sonnenlichtes: ein Band maximaler linearer Polarisation (e-Vektor horizontal, Polarisationsgrad bei klarem Himmel bis 60%) kennzeichnet in etwa die Horizontalebene (Abb. 4.12B; WATERMAN 1954; IVANOFF & WATERMAN 1958; LUNDGREN 1971; JERLOV 1976; HAWRYSHYN 1992; NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN 1997a). Es fanden sich in der Literatur keine Hinweise auf die Orientierung von Knochenfischen an diesem Polarisationsmuster - planktonische Crustaceen dagegen sollen es bei der Vertikalwanderungen (UMMINGER 1968) oder zur Lagestabilisierung (BARDOLPH & STAVN 1978) heranziehen.

**zu 2)** Die Ausbildung eines selektiv e-Vektor-empfindlichen Sehsystems kann auch auf die Kontrastbildung zur Objekterkennung abzielen, z.B. gegenüber Feinden, Beuteorganismen oder Artgenossen im Schwarm (LYTHGOE & HEMMINGS 1967; FINERAN & NICOL 1978; HAWRYSHYN 1992). Diese Erklärung wird in der vorliegenden Arbeit bevorzugt - als Argumente dafür seien insbesondere die folgenden fünf angeführt:

- Die Polarisationsosphäre ist unter Wasser radialsymmetrisch um den Beobachter herum ausgebildet (Abb. 4.12B). Im Pelagial kann daher schwerlich eine Vorzugsrichtung ausgemacht werden, die der „Kompaßorientierung“ dienen könnte – allenfalls zu Zeiten niedrigen Sonnenstandes weist das Band stärkster Polarisation unter Wasser eine gewisse Neigung gegenüber der Horizontalen auf (WATERMAN & WESTELL 1956; HAWRYSHYN 1992).

- Das polarisierte Himmelsmuster ist zwar im Flachwasser durch das SNELLIUS'sche Fenster hindurch zu sehen, das jahresrhythmische Wanderverhalten von Sardellen (Winter: küstenfern/tief, Sommer: küstennah/flach; z.B. SCHUBERT 1970; WANG & HONDE 1995; PALOMERA & RUBIES 1996; PAINTING 1999) findet nicht in Oberflächennähe statt, so daß sie sich hierfür eher nicht der Himmelsnavigation bedienen können.
- Die präzise Anordnung der orthogonalen Filter unmittelbar benachbarter Photo-rezeptoren erlaubt auf dieser Ebene eine kleinräumige Analyse der e-Vektor-Richtung einfallender Lichtstrahlen. Eine vergleichbare Anordnung findet sich z.B. auch in der Retina von Cephalopoden (MOODY & PARRISS 1961; SAIDEL et al. 1983), für die ein hochauflösendes Polarisationskontrastsehen nachgewiesen ist (SHASHAR & CRONIN 1996; SHASHAR et al. 1996).

---

**Abbildung 4.12:      Polarisationsmuster und Polarisationskontrast**

>

**A)** Polarisationsmuster des Taghimmels am späten Vormittag, Horizontabstand der Sonne  $60^\circ$ . Die Balken zeigen die Polarisationsrichtung des Himmelslichtes an, ihre Dicke codiert den Polarisationsgrad. Das Gebiet maximaler linearer Polarisation befindet sich im Winkelabstand von  $90^\circ$  zur Sonne (aus WEHNER 1989b).

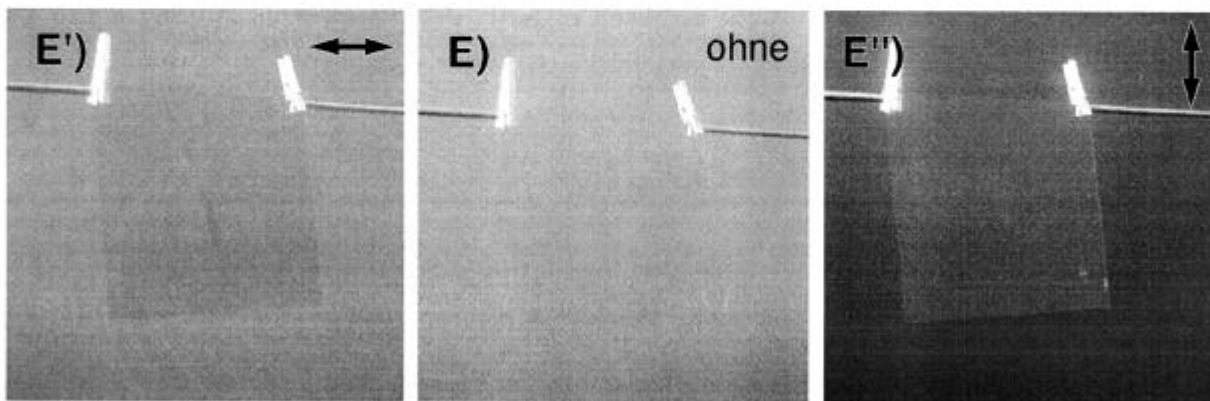
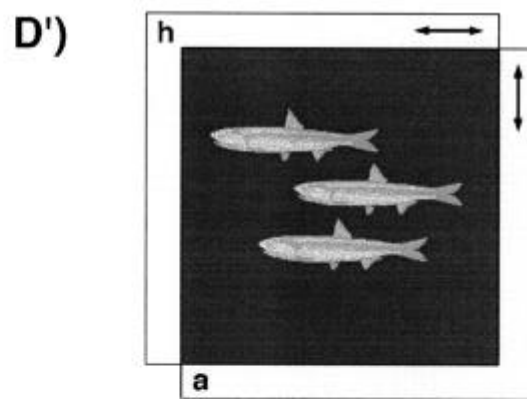
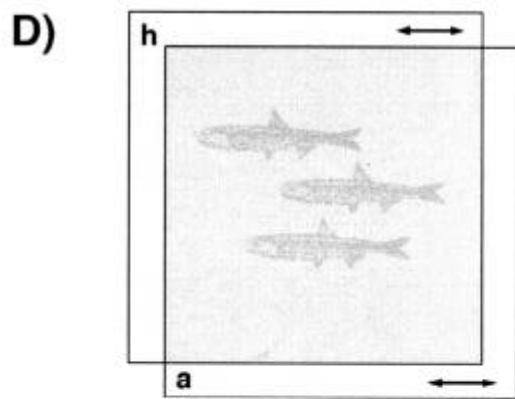
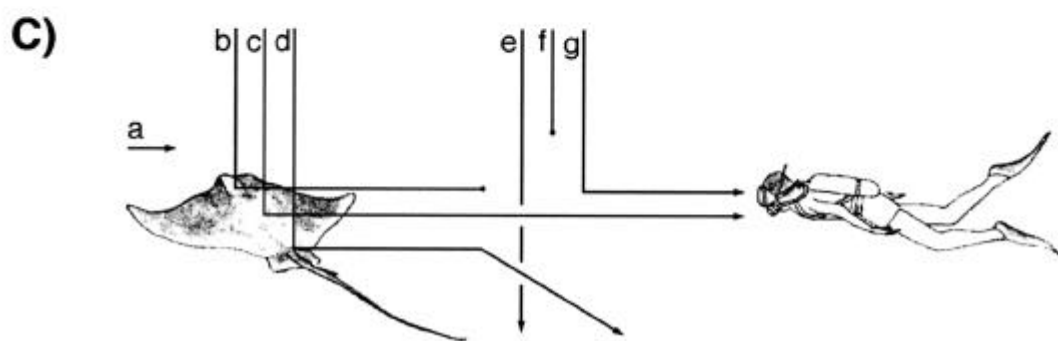
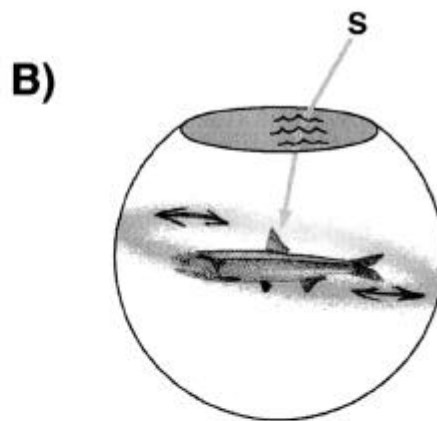
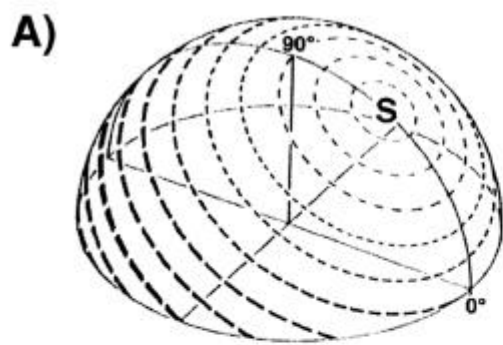
**B)** Polarisationsmuster unter Wasser, Sonnenstand wie in **A**. Ein unscharfes Band maximaler linearer Polarisation ( $\ll$ ) umgibt den Beobachter und ist leicht gegen die Horizontale geneigt (stark verändert nach HAWRYSHYN 1992).

**C)** Mehrere Effekte vermindern unter Wasser den Kontrast zwischen Objektlicht (**c**) und Hintergrundlicht (**a**). Vom Objekt kommendes Licht wird in der Wassersäule absorbiert (**b**), spektral eingeeengt (**c**) und gestreut (**d**) - zusätzlich erreicht Streulicht aus der Wassersäule (**g**) das Auge des Beobachters (aus WATERMAN 1989).

**D)** Modellexperiment zur Übersetzung eines Polarisationskontrastes in den Helligkeitskontrast (durchführbar mit „Fischen“ aus Pergamentpapier zwischen zwei Polarisationsfolien vor hellem Hintergrund): Steht der Analysator (**a**) parallel zum horizontal polarisierten Hintergrundlicht (**h**,  $\ll$ ), dann zeigen die depolarisierenden Objekte nur einen geringen Kontrast (**D**). Bei gekreuzten Filtern heben sich die Objekte dagegen deutlich vom Hintergrund ab (**D'**).

**E)** Unterwasseraufnahmen eines vertikal orientierten Spiegels in horizontaler Blickrichtung (Wassertiefe 5m, Bergsee, Mittagssonne): Ohne Polfilter ist der Spiegel im Pelagial kaum zu erkennen (**E**) - mit vertikal orientiertem Analysator erscheint dagegen der Hintergrund gegenüber dem Objekt abgedunkelt (**E''**), der gegenteilige Kontrast ergibt sich mit horizontalem Analysator (**E'**). (SCUBA-Tauchgang am 11.7.98 mit Dr. R. MELZER und A. BERGHAMMER).





- Die Region, in der die postulierten orthogonalen Kanäle zur Analyse linear polarisierten Lichtes am wirkungsvollsten ausgeprägt sein dürften, ist die Area temporalis, weil die AL-Lamellen dort am deutlichsten radiad gekippt und die AK am besten entwickelt sind. Der „Fokus“ der Polarisationsempfindlichkeit liegt also in einer spezialisierten Netzhautregion und fällt mit dem Areal schärfsten Sehens zusammen.
- Aufgrund des gekrümmten Verlaufes der Polycones würden e-Vektor-spezifische Informationen bei großflächiger Integration von Zapfenausgängen „verwischt“.

Vor allem die letzten drei Argumente legen nahe, daß die besonderen Feinstrukturen des Polycone auf die hochauflösende Analyse polarisierten Lichtes abzielen, und damit auf ein **scharfes Polarisationskontrastsehen**. Für die Ermittlung der Polarisationscharakteristik eines Bildpunktes und für den Vergleich zweier benachbarter Bildpunkte ist die Stellung der Polycones im Raum und bezüglich der Körperachse ohne Bedeutung. Vielmehr ist es für eine hohe Auflösung erforderlich, die Analyse und Verrechnung von e-Vektor-Informationen kleinräumig vornehmen zu können. Die orthogonale Orientierung der Lamellen direkt benachbarter AK und AL (vgl. Abb. 4.9) und eine räumlich gerichtete und regelmäßige Verschaltung der Zapfen in der OPL, wie sie sich nach den Ergebnissen von Kap. 3.2 andeuten (siehe auch 4.5), würden diesen Anforderungen jedenfalls gerecht.

Polarisiertes Licht als Informationsträger ist uns aus menschlicher Warte zwar mangels spezifischer Perzeptionsmöglichkeiten nicht vertraut (siehe aber 4.6.2) - die Vorteile einer Kontrastbildung auf diesem Kanal werden aber demjenigen einleuchten, der die Sichtverhältnisse unter Wasser kennt:

Im Lebensraum der Mittelmeersardelle - dem neritischen Pelagial in einigen Metern Wassertiefe - sind die Sichtweite und der Farbumfang im Vergleich zur Situation an Land stark limitiert. Der Wasserkörper engt durch seine wellenlängenabhängige Absorptionscharakteristik das Transmissionsspektrum des sichtbaren Lichtes in Abhängigkeit von der Wassertiefe und der Beobachtungsdistanz mehr oder weniger stark im „Blaugrünen“ ein (OTT 1988). Zudem erzeugt Streulicht besonders im trüben Wasser ein "Eigenleuchten" des Wasserkörpers, welches schon über kurze Distanzen den Helligkeitskontrast zwischen beobachteten Objekten und dem Hintergrund egalisiert (Abb. 4.12C; vgl. PILGRIM et al. 1989). Schließlich tarnen sich die meisten Bewohner des Pelagials durch Transparenz oder mittels verspiegelter Flanken, um als Räuber und/oder Beute möglichst wenig aufzufallen (FRANZ 1907; DENTON 1970).

Ein Schwarm silbriger Fische erscheint in wenigen Metern Entfernung und in etwa horizontaler Blickrichtung blaugrau vor annähernd gleichhellem, blau-grauem Hintergrund - somit ist er weder im Helligkeits- noch im Farbkontrast gut zu erkennen (Abb. 4.12E; vgl. LYTHGOE & HEMMINGS 1967).

Etwas anders verhält es sich mit dem Polarisationskontrast: Das Hintergrundlicht ist unter Wasser horizontal polarisiert (s.o.), die mehr oder weniger skulpturierten Oberflächen von Organismen depolarisieren aber in Summa das von ihnen reflektierte Licht (z.B. Fischschuppen: DENTON & NICOL 1965b; DENTON 1970; CAMERON & PUGH 1991). Der Polarisationskontrast wird zwar auch durch Streulicht gestört und ist damit anfällig für Auslöschung über größere Distanzen, kann aber zumindest eine Alternative oder Ergänzung zum limitierten Farbkontrastsehen sein: Ist einem Tier die Fähigkeit gegeben, kleinräumige Unterschiede im Polarisationsmuster der Umgebung zu detektieren, so sollte ihm ein "nichtpolarisiertes" Objekt vor "polarisiertem" Hintergrund auffallen können und damit ein erfolgreicher Streich im Wettstreit zwischen Tarnen und Enttarnen gelungen sein (Abb. 4.12D).

Bedenkt man die von adulten Sardellen bevorzugte Ernährungsweise als Planktonfiltrierer (HOBSON 1968) und die für Zooplankter allgemeingültige Tendenz, sich durch Transparenz möglichst „unsichtbar“ zu machen, so wird der Nutzen eines hochauflösenden Polarisationskontrastsehens gerade für diese Knochenfische offensichtlich: die gekrümmte und fein skulpturierte Chitinoberfläche von Copepoden (Einzeltier und Schwarm) depolarisiert das direkt oder gestreut einfallende Sonnenlicht und steht somit in Kontrast zum mehr oder weniger horizontal polarisierten Streulicht des freien Wassers im Hintergrund (LYTHGOE 1972; HAWRYSHYN 1992). Schließlich könnten die Sardellen aber auch den Polarisationsmustern folgen, nach denen sich manche Zooplankter erwiesenermaßen orientieren (WATERMAN 1959; BAYLOR & SMITH 1953). Wie erfolgreich die Engraulididae als visuelle Räuber sind, zeigt zum einen ihr Fresserfolg (Primärinput täglich bis zu 25% des Eigengewichts: BULGAKOVA et al. 1997), zum anderen die Biomasse, die von diesen Tieren alljährlich von Fischern (z.B.  $3.8 \cdot 10^6$  Tonnen im Jahr 1982 nach WHITEHEAD 1985) und Seevögeln „angelandet“ wird.

#### 4.6.2      **Andere Mechanismen zur Wahrnehmung linear polarisierten Lichtes bei den Vertebrata**

Neben Polycones mit radial orientierten Außengliedlamellen gibt es noch andere strukturelle Hinweise bzw. experimentelle Nachweise für ein „Polarisationssehen“ innerhalb der Wirbeltiere und entsprechend auch verschiedene mehr oder weniger schlüssige Ansätze einer mechanistischen Erklärung. In Frage kommen dabei Doppelzapfenellipsoide als elliptische Wellenleiter (CAMERON & PUGH 1991), doppelbrechende Membranstapel an der Kontaktfläche der Doppelzapfenpartner (NOVALES FLAMARIQUE et al. 1998) oder Gegenfarbenmechanismen unter Mitwirkung von UV-Einfachzapfen (HAWRYSHYN und Mitarbeiter seit 1987). Ferner werden extraokuläre Analysatoren wie doppelbrechende Fettlider (STEWART 1962) oder das Pinealorgan (ADLER & TAYLOR 1973) in Betracht gezogen, aber auch entoptische Streuungsartefakte (SNYDER 1973; WATERMAN 1975). Der Fortschritt der Polarisationsforschung an Knochenfischen wird in Tabelle 4.7 illustriert. Offensichtlich haben die Sardellen zum Erwerb einer weiter verbreiteten Sinnesleistung einen besonderen Weg beschritten.

Auf der anderen Seite kann die Stabilisierung der Außengliedmembranen „normaler“ Stäbchen und Zapfen in horizontaler Lage bei den weitaus meisten Wirbeltieren einschließlich des Menschen bedeuten, daß ein Polarisationssehen geradezu vermieden wird, um ein eindeutiges und lageunabhängiges Farbsehen nicht zu vereiteln (vgl. Rhabdom-Twist bei den Insekten: WEHNER et al. 1975; SMOLA & TSCHARNTKE 1979; SMOLA & WUNDERER 1981; WEHNER & BERNARD 1993; LAND 1993).

Völlig blind für den e-Vektor des linear polarisierten Lichtes sind wir allerdings nicht. 1844 entdeckte HAIDINGER ein entoptisches Phänomen, das seither seinen Namen trägt („Haidingers brushes“): Hochgradig linear polarisiertes Licht bewirkt den Seheindruck eines kleinen, unscharfen Kreuzes mit einer blauen und einer goldgelben Achse (siehe auch BOEHM 1940a). Man kann die Empfindung mit einem Polfilter einüben und dann auch mit bloßem Auge am blauen Taghimmel finden - die blaue Achse gibt die Richtung des e-Vektors an. Verantwortlich gemacht wird dafür eine Kombination aus gerichteten Schutzpigmenten in der Macula mit richtungsabhängigen Absorptionseigenschaften und simultanem Farbkontrast (DEVRIES et al. 1953; NAYLOR & STANWORTH 1954; BONE & LANDRUM 1984). Ein zweites entoptisches Pol-Phänomen beim Menschen sind sog. „Periphere Polarisationsbüschel“ oder „Boehms brushes“, die nur bei der Betrachtung sich drehender Polfilter auftreten (BOEHM 1940b).

**Tabelle 4.7: Arbeiten zur Polarisationswahrnehmung der Teleostei**

Jahr	Autor(en)	Gattung (Familie)	Methode
1959	WATERMAN	<i>Pterophyllum</i> (Cichlidae)	spontane Orientierung
1962	STEWART	<i>Clupea</i> (Clupeidae)	Polarimetrie
1965	GROOT	<i>Oncorhynchus</i> (Salmonidae)	spontane Orientierung
1965	DILL	<i>Oncorhynchus</i> (Salmonidae)	operante Konditionierung
1970	WATERMAN & FORWARD	<i>Zenarchopterus</i> (Hemirhamphidae)	spontane Orientierung
1971	DILL	<i>Oncorhynchus</i> (Salmonidae)	operante Konditionierung
1972	WATERMAN	-	Review
1972	WATERMAN & FORWARD	<i>Zenarchopterus</i>	spontane Orientierung
1972	FORWARD et al.	<i>Zenarchopterus</i>	spontane Orientierung
1973	SNYDER	-	Review
1973	FORWARD & WATERMAN	<i>Dermogenys</i> (Hemirham.)	spontane Orientierung
1973	KLEEREKOPER et al.	<i>Carassius</i> (Cyprinidae)	spontane Orientierung
1973	NICOL et al.	diverse, u.a. <i>Anchoa</i>	Struktur
1973	ZYZNAR & NICOL	diverse, u.a. <i>Anchoa</i>	Chemie, Spektroskopie
1974	WATERMAN & AOKI	<i>Carassius</i> (Cyprinidae)	E-Physiologie
1974	WATERMAN & HASHIMOTO	<i>Carassius</i> (Cyprinidae)	E-Physiologie
1975	WATERMAN	-	Review
1976 - 1978	FINERAN & NICOL	<i>Anchoa</i> (Engraulididae)	Struktur, Reflexion
1978	DAVITZ & MCKAYE	<i>Pseudotropheus</i> (Cichlidae)	operante Konditionierung
1979	TAKAHASHI et al.	<i>Carassius</i> (Cyprinidae)	operante Konditionierung
1980	ZUEVA	<i>Engraulis</i> (Engraulididae)	Struktur
1981	WATERMAN	-	Review
1981	KAWAMURA et al.	diverse	spontane Pulsantwort
1986	HAWRYSHYN&MCFARLAND	<i>Carassius</i> (Cyprinidae)	Puls-Konditionierung
1987	HAWRYSHYN&MCFARLAND	<i>Carassius</i> (Cyprinidae)	Puls-Konditionierung
1990	HAWRYSHYN et al.	<i>Oncorhynchus</i> (Salmonidae)	operante Konditionierung
1990	HAWRYSHYN & BOLGER	<i>Oncorhynchus</i> (Salmonidae)	operante Konditionierung
1991	CAMERON & PUGH	<i>Lepomis</i> (Centrarchidae)	Puls-Konditionierung
1991	LAND	-	Review
1991	ROWE et al.	-	Review
1992	HAWRYSHYN	-	Review
1993	PARKYN & HAWRYSHYN	<i>Oncorhynchus</i> (Salmonidae)	E-Physiologie & Review
1995	COUGHLIN & HAWRYSHYN	<i>Oncorhynchus</i> (Salmonidae)	E-Physiologie
1995	NOVALES FLAMARIQUE et al.	<i>Lepomis</i> (Centrarchidae)	Polarimetrie
1996	NOVALES F. & HAWRYSHYN	<i>Oncorhynchus</i> (Salmonidae)	Struktur, E-Physiologie
1997a	NOVALES F. & HAWRYSHYN	<i>Oncorhynchus</i> (Salmonidae)	E-Physiologie
1997b	NOVALES F. & HAWRYSHYN	<i>Lepomis</i> (Centrarchidae)	E-Physiologie
1998a	NOVALES F. & HAWRYSHYN	<i>Catostomus</i> (Catostomidae)	Struktur, E-Physiologie
1998b	NOVALES F. & HAWRYSHYN	<i>Clupea</i> & <i>Engraulis</i>	Struktur, E-Physiologie
1998	NOVALES FLAMARIQUE et al.	<i>Oncorhynchus</i> & <i>Lepomis</i>	Polarimetrie
1996 - 1999	HEß et al.	<i>Engraulis</i> (Engraulididae) und andere Clupeoidei	Struktur

### **4.6.3 Zapfentapetum**

Wenig diskutiert ist bisher der sehr ungewöhnliche Umstand, daß eine Komponente des komplexen Sardellentapetums, nämlich der Interferenzspiegel aus Guaninplättchen, eindeutig und ausschließlich mit den Zapfen assoziiert ist und nicht primär im Dienste des skotopischen Systems steht. Zum einen ist das Spiegeltapetum der Sardelle auch in der stäbchenarmen Area temporalis prächtig entwickelt, zum anderen ist es nicht okklusibel und daher auch und gerade am hellichten Tage dem einfallenden Licht exponiert. Mindestens drei aus der Morphologie ableitbare Eigenschaften sollten ihren Beitrag zum „biologischen Sinn“ dieser Spezialbildung leisten:

#### **1. Polarisator**

Die formgebenden und die polarisierenden Eigenschaften der PE-Keile wurden in den Kapiteln 4.3, 4.4.2 und 4.4.3 diskutiert und unterstützen die Idee vom hochauflösenden Polarisationskontrastsehen, wie sie im ersten Teil dieses Kapitels dargelegt ist - ohne die Guaninplättchen könnten die langen Zapfen nicht als gleichberechtigte Gegenspieler der kurzen Zapfen fungieren (vgl. NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN 1998: fig. 8). Sie müssen ferner an der Metamorphose des Farbsystems zu einem „Polysystem“ beteiligt gewesen sein oder sie sogar ausgelöst haben.

#### **2. Spektral wirksamer Spiegel**

Die Reflexionsspektren des Spiegeltapetums (FINERAN & NICOL 1977: fig. 38,39) zeigen, daß die Plättchenabstände offensichtlich auf blaugrünes Licht getrimmt sind, wie es im Lebensraum der Sardellen vorherrscht. Dieser Umstand ist sicherlich als ein Schritt im allgemeinen Optimierungsgeschehen des Sardellenauges anzusehen und weniger als ein Werkzeug, das Farbkontrastsehen zu verbessern. Dafür ist das spektrale Reflexionsmaximum wegen der vielen, gleichzeitig auftretenden Reflexionswinkel zu breit (vgl. Abb. 4.4B) - dazu passt auch der visuelle Eindruck hellgrünen, „ungesättigten“ Lichtes (FINERAN & NICOL 1977). Eine kontraststeigernde Wirkung kann ein Tapetum aber nur dann haben, wenn einzelne spektrale Komponenten der Lichtinformation selektiv reflektiert werden und nicht bei gleichmäßiger Verstärkung aller Komponenten.

### 3. Lichtfalle

Von besonderer Bedeutung ist die Lichtfallenwirkung der Keilspiegel: Besonders den langen Zapfen ermöglicht sie die hochgradige Ausnutzung des einfallenden Lichtes und erweitert so das Fenster nutzbarer Lichtintensitäten für das photopische System in den Schwachlichtbereich. Dies kann schon für sich allein eine nützliche Eigenschaft sein (s.u.) oder wiederum im Dienste des Polarisationskontrastsehens stehen. Erstens deshalb, weil das einfallende Licht, bevor es die AL erreicht, schon durch die AK reduziert wird und zweitens, weil das Polarisationskontrastsehen gerade in den Dämmerungsphasen begünstigt ist: Der höchste Polarisationsgrad herrscht unter Wasser zur Zeit der Morgen- und Abenddämmerung und die rundum gleichmäßige Helligkeitsverteilung in Abwesenheit der Sonne würde nach NOVALES FLAMARIQUE & HAWRYSHYN (1997a) die Konfusionsmöglichkeit mit dem Helligkeitskontrast minimieren.

Die reine „Aufhellungswirkung“ des Zapfentapetums sollte es dem photopischen System, das bezüglich der Sehschärfe sicherlich leistungsfähiger ist als das skotopische, ermöglichen, auch in relativ schwachem Licht noch effektiv arbeiten zu können. Zudem kann so der reduzierte Wirkungsgrad kompensiert werden, den polselektive Außenglieder im Vergleich zu „normalen“ Außengliedern bezüglich der Quantenausbeute per se haben müssen.

Die Aufhellung lichtschwacher Objekte vor dunklem Hintergrund oder die Aufhellung des Restlichthintergrundes gegenüber einem dunklen Objekt kann in den Dämmerungsphasen, im tiefen Wasser (z.B. im Winter über dem Schelf) oder schon im flacheren Wasser bei starker Trübung nützlich sein, so z.B. für die Sichtbarkeit mehr oder weniger weit entfernter Räuber oder kleiner Beutepartikel. Gerade kleine Objekte sind ja oft deswegen nicht zu sehen, weil durch sie ein rezeptives Feld nur teilweise und unterschwellig beleuchtet wird, während größere Objekte bei gleicher Leuchtdichte aufgrund der Summation konvergent verschalteter Signale auffallen (LYTHGOE 1975).

Lebensraum und Lebensweise der Sardellen halten tatsächlich die o.g. kontrastvermindernden Situationen bereit: Ein deutlicher Hinweis auf die nächtlichen Aktivitäten der Sardellen ist die Effizienz der Lichtfallenfischerei (2.1.2), außerdem ist z.B. durch das „Washington Department of Fish and Wildlife“ die Beobachtung dokumentiert, daß Anchovies nachts in Oberflächennähe jagen, tagsüber dagegen in einigen Metern Wassertiefe ([www.wa.gov/wdfw/fish/forage/anchovy.htm](http://www.wa.gov/wdfw/fish/forage/anchovy.htm)). Trübes Wasser, wie es Sardellen in sandigen Meeresbuchten und Ästuaren antreffen (FINERAN & NICOL 1978), scheint auch

bei Bewohnern trüber Seen einen Evolutionsdruck in Richtung eines Tapetums ausgeübt zu haben (WUNDER 1930), das beim Zander evtl. sogar im Dienste der Zapfen steht (ZYZNAR & ALI 1975).

Sobald das photopische System bei Beleuchtungsstärken unter 0.01lux versagt (PROTASOV et al. 1960), steht der Sardelle dann ein Stäbchensystem zur Verfügung, das durch ein diffuses Tapetum sensibilisiert ist. Das Vorkommen ähnlicher skotopischer Tapeta bei anderen Knochenfischen (siehe 1.2.1) unterstreicht die Nützlichkeit dieser „Erfindung“.

## **4.7 Vergleich der Netzhautstrukturen innerhalb der Sardellen-Verwandtschaft**

Die in der Arbeitsgruppe von Prof. SMOLA erarbeiteten Befunde zum Bau der Netzhaut verschiedener Heringsfische sind in Abb. 3.57 zusammengefasst. Die Auswertung ergibt unter anderem Hinweise zur taxonomischen Feingliederung der Engraulididae (4.7.1) und zur Evolution der Polycones (4.7.2). Schließlich wird versucht, einen Bezug zwischen Retinastruktur, photischen Habitatbedingungen und Lebensweise herzustellen (4.7.3).

### **4.7.1 Bauplanvarianten und taxonomische Deutung**

Der Vergleich der Netzhautarchitekturen im näheren und weiteren verwandtschaftlichen Umfeld der Europäischen Sardelle deckt interspezifische Unterschiede auf, zeigt aber auch gruppenübergreifende Ähnlichkeiten. Beide lassen sich, nach einer Homologiebetrachtung der entsprechenden Merkmale und anknüpfend an die Vorschläge zur taxonomischen Gliederung der Clupeoidei von WHITEHEAD (1985), zur Erstellung einer differenzierteren Systematik heranziehen.

**Innerhalb der Engraulididae** können bisher **vier Strukturvarianten** der Netzhaut beschrieben werden. Eine davon ist bei *Cetengraulis* realisiert, eine bei *Lycothrissa*, die anderen beiden findet man jeweils bei mehreren Gattungen. Letztere werden daher im Folgenden zusammengefasst und nach einer der beteiligten Gattungen als „*Anchoa*-Gruppe“ bzw. „*Coilia*-Gruppe“ benannt.



- Die „*Anchoa*-Gruppe“ besitzt die für *Anchoa* (FINERAN & NICOL 1976-1978) und *Engraulis* (ZUEVA 1980; HEB et al. 1996) beschriebenen Polycones in enger Verzahnung mit dem Spiegeltapetum. Diese Architektur (Abb. 3.57C) ist auch in den Retinae der Gattungen *Anchoviella*, *Lycengraulis*, *Encrasicholina* und *Stolephorus* realisiert und sollte als ein homologes Merkmal und Zeichen enger Verwandtschaft innerhalb der Engraulidinae aufzufassen sein (Autapomorphie), da eine mehrfach unabhängige, konvergente Entstehung dieser beeindruckend komplexen Strukturen extrem unwahrscheinlich ist. Die sechs genannten Gattungen ähneln sich auch in vielen ihrer äußeren Merkmale, wobei *Lycengraulis* etwas bauchiger ausfällt (vgl. Abb. 1.9).
- Die „*Coilia*-Gruppe“ mit den Gattungen *Coilia*, *Thryssa* und sehr wahrscheinlich auch *Setipinna* bildet in der Retina der Adulti lineare PE-Vorhänge, die parallel zu den Zapfenreihen verlaufen und ein rauhes Guanintapetum mit melaningefüllten Spitzen besitzen (Abb. 3.57D). Die genannten Gattungen entstammen zwei Unterfamilien (Coiliinae & Engraulidinae), daher scheint der Schluß plausibel, daß innerhalb der Engraulidinae zumindest die Gattung *Thryssa* näher mit den Coiliinae verwandt ist als die Gattungen der oben definierten „*Anchoa*-Gruppe“ - bei alleiniger Betrachtung der Netzhautmerkmale könnte man sie sogar den Coiliinae zuordnen. Auch nach äußeren Merkmalen würde sich eine weitere Unterteilung der Engraulidinae anbieten, da *Thryssa*, *Papuengraulis* und *Setipinna* den Grenadieranchovies mehr ähneln, als die anderen Gattungen: z.B. langgezogene Afterflosse, skalpellförmige Rückenflosse (außer *Papuengraulis*), verlängerte Brustflossenstrahlen und Rückenknick (nur *Setipinna*), wenig prominente Schnauze. Die Polycones von *Coilia* sind aufgrund der regelmäßigen Abfolge von kurzen und langen Zapfen mit radial leicht gegeneinander versetzten Außengliedern (aber horizontal orientierten Membranlamellen) mit hoher Wahrscheinlichkeit als Homologa der *Anchoa*-Polycones aufzufassen.
- Als Ausreißer muß in diesem Zusammenhang die Gattung *Cetengraulis* mit ihren separaten PE-Keilen und ihren Dreifachzapfen gelten (Abb. 3.57E). Ob sie ein „missing-link“ zwischen der *Anchoa*- und der *Coilia*-Gruppe darstellt (noch keine Guaninplättchen) oder einen völlig eigenen Weg beschritten hat (keine Guaninplättchen mehr), muß dahingestellt bleiben. Es ist z.B. auch möglich, daß sich bei *Cetengraulis* die Dreifachzapfenregion, wie sie auch bei *Engraulis* zu finden ist, in abgewandelter Form über große Teile der Retina erstreckt und der Fisch deswegen als „Eigenbrötler“ innerhalb der *Anchoa*-Gruppe aufzufassen ist - äußerlich ist er den Vertretern der *Anchoa*-Gruppe ähnlicher, als den Grenadieranchovies. Erst eine Untersuchung der gesamten Retina von *Cetengraulis* (Regionierung) wird aufdecken können, ob evtl. auch Polycones vorliegen.

- Ein weiterer „Ausreißer“ ist *Lycotrissa crocodilus*: Die Struktur des PE und die Gruppierung der Photorezeptoren weichen im vorliegenden Präparat von *L. crocodilus* extrem von dem ab, was bei den anderen untersuchten Vertretern der Engraulididae zu finden ist (Abb. 3.57F). Der Einschluß gemischter Zapfen- und Stäbchengruppen zwischen prismatischen Ausläufern des PE mit Guaninfüllung ist dagegen typisch für viele Osteoglossomorpha und manche Elopomorpha (ALI & ANCTIL 1976). Die verblüffende Ähnlichkeit zwischen Abb. 3.56F der vorliegenden Arbeit und dem Tangentialschnitt durch die Retina des Mormyriden *Gnathonemus macrolepithodus* bei MCEWAN (1938: fig. 14) ließ zunächst Zweifel über die Richtigkeit der Artbestimmung aufkommen. Eine Nachbestimmung des südvietnamesischen Flußfisches mit der Inventarnummer 19435 am ZFMK in Bonn konnte diese Zweifel jedoch ausräumen - zudem liegen die Verbreitungsgrenzen der Nilhechte innerhalb des afrikanischen Kontinents. Das Auftreten einer Gruppenretina mit diffusem Guanintapetum bei den Clupeomorpha deutet die Möglichkeit an, daß dieses Merkmal eine Plesiomorphie der drei nicht-euteleosten Knochenfischgruppen ist (vgl. BONE & MARSHALL 1985: Abb. 1.3/4) und - obwohl bei den Clupeomorpha sonst nicht zu beobachten - innerhalb der Engraulidinae in einem Fall „wieder angeschaltet“ wurde. Die Gruppenretina der Scopelarchidae (z.B. LOCKET 1971a) ist dagegen höchstwahrscheinlich eine konvergente Bildung.

Der **Außengruppenvergleich** (Clupeoidei ohne Engraulididae, s. Abb. 1.6), durchgeführt in Zusammenarbeit mit Roland ESER (Zulassungsarbeit 1998), zeigt bisher zwei Varianten in der Architektur der äußeren Retina.

- Alle untersuchten Clupeidae besitzen ein Reihenmuster aus Doppel- und Einfachzapfen, das in der Area in ein Quadratmuster transformiert ist (Abb. 3.57A). Das PE zeichnet sich durch lobopodiale, melaninhaltige Pigmentepithelausläufer aus. In dieser Fischgruppe ist kein Guanintapetum zu beobachten (vgl. NICOL et al. 1973) und auch kein Einfluß des PE auf die Form und das Muster der Photorezeptoren festzustellen. Dies scheinen spezifische Merkmale der Clupeidae zu sein, auch wenn die Untersuchung von Vertretern der Dussumieriinae noch aussteht. Die Frage nach der Homologie des Doppelzapfenmusters der Clupeidae mit einer entsprechenden, bei den Euteleostei weit verbreiteten Rezeptoranordnung (z.B. LYALL 1957b; ENGSTRÖM 1963b; WAGNER 1972) ist nicht trivial zu beantworten. Sind die Muster homolog, dann sollte das Doppelzapfenmuster zum Grundplan der Teleostei gehören, aber mehrfach wieder aufgegeben worden sein, denn im verwandtschaftlichen Umfeld der ursprünglichen, nicht-euteleosten Knochenfische, d.h. bei den Osteoglossomorpha und Elopomorpha, sind Reihen- oder Quadratmuster nur selten zu finden (z.B. bei *Gymnothorax richardsoni*: ALI & ANCTIL 1976: Tafel 23.2). Häufiger erfolgt hier eine Bündelung von Photorezeptoren zu größeren Gruppen (Hiodontidae, Notopteridae: ALI & ANCTIL 1976) oder es liegen nur gleichmäßig verteilte Einfachzapfen vor (verschiedene Anguilliformes: HEB et al. 1998).

- Die Pristigasteridae oder „Beilbauchheringe“ unterscheiden sich von den Clupeidae nicht nur in der Körperform, im Bau der Schwimmblase und in der Anzahl der Schwanzflossenstrahlen (WHITEHEAD 1985), sondern auch im Bau der Retina: Die PE-Ausläufer sind außerhalb der Area zu langen Vorhängen zusammengeschlossen, die skleral der melaningefüllten Spitzen Guanin beinhalten und die Zapfen in ein Reihenmuster zwingen (Abb. 3.57B) - damit ähnelt die Architektur ihrer äußeren Retina deutlich mehr der der Coiliinae, als derjenigen der Clupeidae. Wenn die PE-Vorhänge der Beilbauchheringe und der Grenadieranchovies homologe Bildungen sind, würde dieses Merkmal für die Pristigasteridae ein verwandtschaftlich engeres Verhältnis zu den Sardellen „i.w.S.“ (Engraulididae) als zu den „Heringen“ (Clupeidae) nahe legen und damit erlauben, die Tetratomie der vier Clupeoidei-Familien nach WHITEHEAD (1985; vgl. Abb. 1.6 und 4.13A der vorliegenden Arbeit) aufzulösen. Entsprechend könnte der gemeinsame Besitz von Doppelzapfen und das Fehlen von Guanintapeta die Clupeidae und die Chirocentridae verbinden. Die Bilddaten von ESER (1998: Abb. 3.19B, D) lassen vermuten, daß evtl. auch in der Retina des Pristigasteriden *Ilisha* Doppelzapfenreihen ausgebildet sind, womit ein gewisser Brückenschlag zwischen Clupeidae und Engraulididae stattfinden könnte - leider reicht die Strukturhaltung des 30 Jahre alten Präparats nicht aus für eine eindeutige TEM-gestützte Identifizierung von subsurface-Zisternen.

Abb 4.13 zeichnet anhand der bekannten Netzhautmerkmale einen möglichen Stammbaum und Entwicklungsweg der Clupeoidei unter besonderer Berücksichtigung der Engraulididae nach. Betrachtet man die komplexe Architektur der äußeren Retina der *Anchoa*-Gruppe als abgeleitetes Merkmal und die der *Coilia*-Gruppe als ursprünglicher, so läßt sich für den **Grundplan der Engraulididae** eine Retina mit linearen Mehrfach- oder Vielfachzapfen zwischen guaningefüllten PE-Vorhängen ähnlich der Situation bei *Coilia* (vgl. *Ilisha*) vermuten. Innerhalb der Engraulidinae haben sich dann vor allem Veränderungen in der Lagebeziehung zwischen den PE-Fortsätzen und den Zapfen abgespielt: *Thryssa* und evtl. *Setipinna* mit ihren plesiomorphen Merkmalskombinationen wären ursprüngliche Engraulidinae. Unter den anderen, äußerlich „*Engraulis*-ähnlicheren“ Sardellen dürfte *Lycotrissa* einen eigenen Weg gegangen sein, mit der Ausweitung der dichten Verkettung benachbarter PE-Fortsätze zu einem Netz und der Rückkehr zum Doppelzapfen. *Cetengraulis* und die *Anchoa*-Gruppe haben dagegen die Kettenbildung der PE-Ausläufer aufgegeben und sind im Falle der *Anchoa*-Gruppe, parallel zur „Erfindung“ der Guaninplättchen, eine enge strukturelle Kopplung mit den Polycones eingegangen.

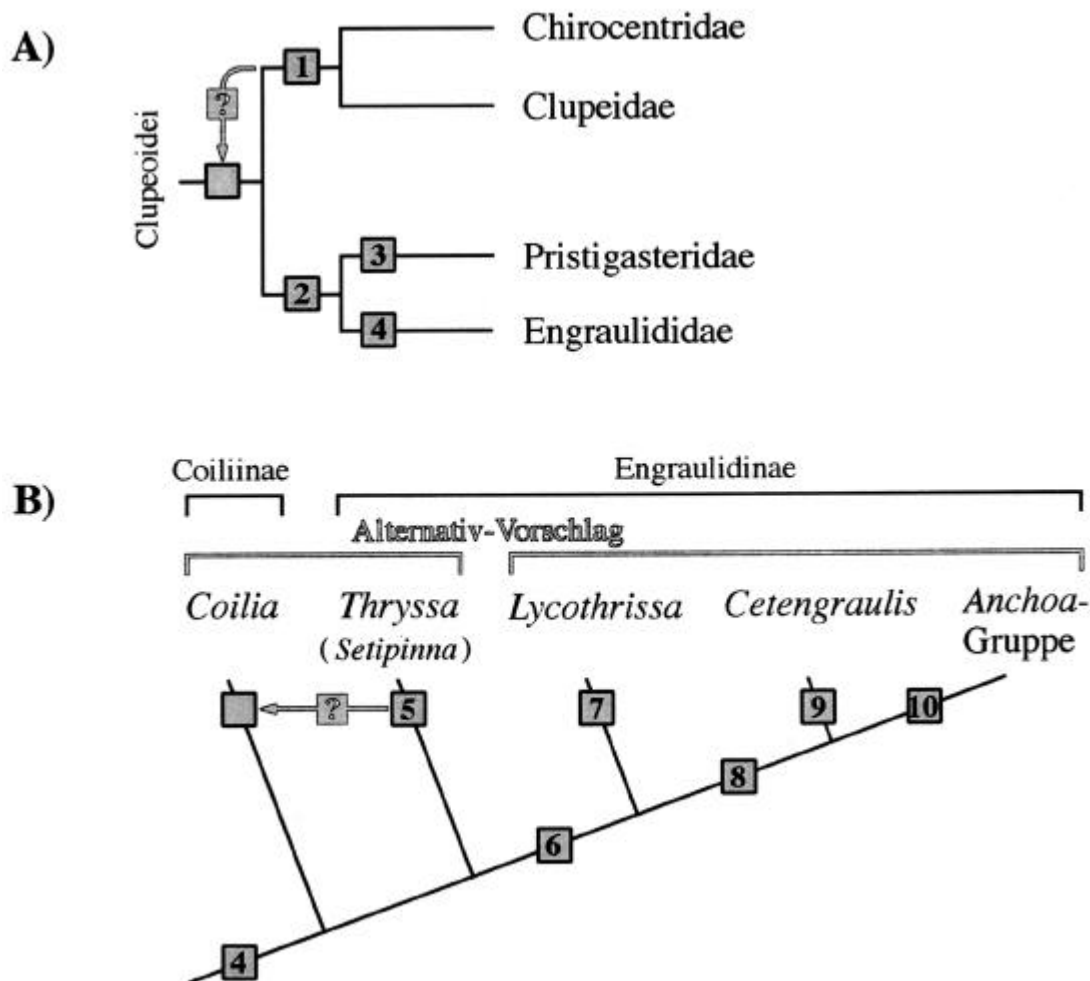


Abbildung 4.13:

Vorschlag zu den Verwandtschaftsbeziehungen innerhalb der Clupeoidei (A) bzw. Engraulididae (B) anhand von Retinastrukturdaten, in Anlehnung an WHITEHEAD (1985) sowie WHITEHEAD et al. (1988).

- 1: Einzelzapfen und Doppelzapfen im Reihen- und/oder Quadratmuster, Pigmentepithel ohne Guanin, PE-Ausläufer lobopodial.
- 2: diffus reflektierendes Guanintapetum, Verkettung der PE-Ausläufer zu linearen Vorhängen mit melaningefüllten Spitzen, dazwischen Reihen von Photorezeptoren.
- 3: Einzelzapfen (?).
- 4: Polycones (evtl. auch Mehrfachzapfen\*).
- 5: Mehrfachzapfen\* anstatt der Polycones oder Zerfall der Polycones im Adultus.
- 6: „neue Lagebeziehungen“ (i.w.S.) zwischen den PE-Ausläufern und den Photorezeptoren.
- 7: Gruppierung der Photorezeptoren durch ein PE-Netz, Rückkehr zu Doppelzapfen.
- 8: Entkopplung benachbarter PE-Ausläufer, Dreifachzapfen (falls nicht schon früher\* angelegt).
- 9: Aufgabe der Polycones zugunsten der Dreifachzapfen.
- 10: Guaninplättchen im PE, Verzahnung der PE-Keile mit den Polycones, Spaltung der Außenglieder der kurzen Zapfen, Aufrichtung der Membranlamellen der Zapfenaußenglieder, Dreifachzapfen nur regional ausgebildet.

Sardellen sind ein wichtiges Glied mariner Nahrungsketten: Als Plankton- und Kleinfischfresser (HAYASI 1967; HOBSON 1968; DIENER et al. 1974) und als Beute vieler Seevögel, Raubfische, Kalmare und Meeressäuger (OKUTANI 1962) - auch sind sie von beträchtlicher wirtschaftlicher Bedeutung. Die große Zahl und Biomasse lebender Sardellen zeichnet diese Tiere als eine besonders erfolgreiche Lebensform aus und unterstreicht somit auch die Leistungsfähigkeit ihres optischen Sinnes. Aus der Perspektive des Taxonomen müssen die Netzhautspezialisierungen der Sardellen sicherlich als „Sonderfall innerhalb einer Unterfamilie“ eingestuft werden - bei quantitativer Betrachtung stellen sie dagegen einen sehr häufig realisierten Phänotyp einer Wirbeltierretina dar (der Weltfang von ca.  $3.8 \cdot 10^6$  Tonnen/a liefert mehr als  $2.5 \cdot 10^{11}$  Augen, d.h. gut das 20-Fache der Augenzahl der im Augenblick lebenden Menschen).

#### 4.7.2 Vorschläge zur Evolution der Polycones

Für den Versuch, wesentliche Schritte der Evolution der Polycones (*Anchoa*-Gruppe) zu rekonstruieren, werden die Struktur- und Zeitinformationen aus dem Verwandtenvergleich, aus der Regionierung und Morphogenese der *Engraulis*-Retina sowie aus der Entwicklung der *Coilia*-Retina zusammengeführt. Den Überlegungen liegen die Annahmen zugrunde, daß die aberrante Netzhautarchitektur der Sardellen ein abgeleiteter Zustand ist und daß die gängigen Vorstellungen über die Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb der Clupeioidi (WITHEHEAD 1985; vgl. Abb. 1.6) weitgehend zutreffen.

Ein direkter, feinstufiger Übergang zwischen einem Reihemuster aus Doppelzapfen (Heringe, Abb. 3.57A) und den Polycones (Sardellen, Abb. 3.57C) zeichnet sich nicht ab, so daß die Netzhautarchitektur der Clupeiidae eher nicht den allgemeinen Ausgangszustand für die Radiation der Clupeioidi-Retinae repräsentiert - plausibler erscheint eine andere Möglichkeit:

Bei den Engraulididae werden nur in einem Fall Doppelzapfen beobachtet (*Lycothrissa*). In allen anderen Fällen machen die Sardellen (und innerhalb der Clupeioidi offenbar nur diese Fische) von der Fähigkeit zur Ausbildung von linearen Dreifachzapfen mit kleinem Zentralelement und von Mehrfachzapfen bis hin zum Polycone Gebrauch. Zwar wird der Polycone gelegentlich als Derivat von Doppelzapfenreihen aufgefasst (ZUEVA 1980), er könnte aber auch aus der Fusion von Dreifach- mit Einfachzapfen hervorgehen (s. Abb. 3.25 und Kap. 4.3) oder aber „in statu nascendi“ als solcher gebildet werden. Letzterer Variante wird hier - in Anlehnung an die Befunde zur Ontogenese - der Vorzug gegeben, da die initiale Abgliederung von Zapfenketten mit alternierenden kurzen und langen Zapfen sowohl

an der Ora serrata des ventro-temporalen Quadranten der *Engraulis*-Retina (Engraulidinae, Abb. 3.21B,C), als auch in der Larvalentwicklung von *Coilia* (Coiliinae, HAACKE 1998: Abb. 3.2R) nachgewiesen ist. Dreifach-, Mehrfach- und Vielfachzapfen sollten der Ausdruck der neuerworbenen Fähigkeit sein, junge Zapfen innerhalb des sich am Netzhautrand neu bildenden Rezeptorringes strukturell zu koppeln. Dabei werden drei bis viele Nachbarn zusammengeschlossen - alternativ dazu könnten drei oder viele Zellen aneinandergeheftet werden und die Mehrfachzapfen durch Bruch der Ketten entstehen.

Dieser Argumentation folgend ist der „Polycone i.w.S.“, d.h. die Zapfenkette mit ursprünglich tangential orientierten Außengliedmembranen, als eine Autapomorphie der Engraulididae aufzufassen und damit als eine Neuerung auf Seiten der Photorezeptoren. Die strukturelle Wechselwirkung des Polycone mit dem Pigmentepithel kann dann auf verschiedene Weise erfolgen (s.u.).

Das retinale PE der Engraulididae bildet wie das fast aller Wirbeltiere Melanin (= plesiomorphes Merkmal) - ebenso scheint die Fähigkeit zur Bildung von Guaninkristalliten weit verbreitet zu sein, wenngleich sie im Auge nur gelegentlich phänotypisch realisiert wird (vgl. NICOL et al. 1973). Unter den Clupeoidei wird Guanin im retinalen PE offenbar nur von den Pristigasteridae und den Engraulididae synthetisiert und zwar in der Form von Polyedern im Zentrum der PE-Ausläufer bzw. von Nadeln in deren Peripherie. Das Einschalten der Guaninsynthese kann ein gemeinsames, abgeleitetes Merkmal der beiden o.g. Familien sein, womit schon relativ früh eine der Voraussetzungen zur späteren Ausbildung der „Polycones i.e.S.“ (*Anchoa*-Gruppe) bestanden hat.

Auch die Architektur des PE in der Netzhaut der Adulti stimmt bei *Ilisha* (Pristigasteridae) und den Engraulididae der „*Coilia*-Gruppe“ überein, so daß die Ausbildung geschlossener PE-Vorhänge zwischen Photorezeptorreihen einen ursprünglichen Zustand bei den Engraulididae widerspiegeln dürfte. Ein Übergang zu den ursprünglich getrennten PE-Ausläufern ist in der ventro-temporalen Retina von *Ilisha* (ESER 1998: Abb. 3.23C) und in der Stadium IV-Retina von *Coilia* (HAACKE 1998: Abb. 3.4M) zu erkennen. In beiden Fällen scheint allerdings eine „mützen-förmige“ Einhüllung der Zapfenaußenglieder durch die Spitzen der PE-Ausläufer, wie sie bei den Clupeidae und vielen anderen Teleostei zu beobachten ist, nicht stattzufinden.

Bei allen untersuchten Engraulididae liegt ein Muster der PE-Ausläufer vor, das parallel zu den Zapfenketten verläuft. Während sich bei der *Coilia*-Gruppe dichte Vorhänge zwischen die Zapfenreihen schieben (dort wo Platz im Liquorraum ist) und sie auseinanderdrängen, liegen die PE-Ausläufer bei den Engraulidinae der *Anchoa*-Gruppe direkt über den Zapfenreihen und sind in enger Verzahnung mit den

Außengliedern der Zapfen assoziiert. Es ist unwahrscheinlich, daß dieser Zustand aus einer lateralen Verschiebung ausdifferenzierter PE-Vorhänge hervorgeht, da sich die „Polycones i.e.S.“ (mit radialen Außengliedlamellen) und die an sie angeschmiegt PE-Keile gemeinsam ausdifferenzieren müssen (4.3). Die Aufteilung der Stäbchen in Bänder zwischen den Vorhängen (z.B. *Coilia*) oder zwischen den Polycones (z.B. *Engraulis*) ist dagegen leicht durch ihr passives, „fluides“ Verhalten zu erklären - die schmalen Zellen werden von starren Strukturen verdrängt und gleiten in die verbleibenden Zwischenräume.

Die o.g. morphogenetische Wechselwirkung zwischen PE und Zapfen und die Ausbildung von Spiegelplättchen aus Guanin sind also wiederum „Neuerfindungen“ der *Anchoa*-Gruppe. Es muß hier eine interzelluläre Kommunikation evolviert worden sein, die die enge räumliche Beziehung der Apikalpole von PE-Zellen und kurzen Zapfen stabilisiert. Vielleicht bedingt der gleiche Vorgang auch die - im Entstehungsmechanismus nach wie vor rätselhafte - Aufrichtung der Membranelamellen der kurzen Zapfen. Letztendlich sind es jedenfalls die Guaninplättchen, von denen der wesentliche formgebende Einfluß bei der Evolution der Polycones i.e.S. ausgehen muß (Schlüsselmerkmal).

#### **4.7.3 Feinstruktur - Lebensraum - Lebensweise**

Eine Korrelation zwischen Strukturmerkmalen der Retina, photischen Umweltparametern im Habitat der untersuchten Arten und ihren visuell gesteuerten Verhaltensweisen zeigt Richtung und Erfolg der Spezialisierung bzw. Optimierung von Sehsystemen in der Evolution und wurde für Knochenfische schon wiederholt demonstriert (z.B. LYALL 1957a; BORWEIN & HOLLENBERG 1973; WAGNER et al. 1976; LOCKET 1977; LYTHGOE 1979; LOCKET 1992; HEß et al. 1998; siehe auch BOWMAKER et al. 1994). Soweit es die Datenlage gestattet, läßt sich dieser Schritt auch für die Clupeoidei wagen und wird im Folgenden nach Retinatyp getrennt vorgenommen.

Für manche Heringsfische gibt es detaillierte Informationen über Lebenszyklus, Verbreitung, Freßverhalten und Schwarmbildung (z.B. WHITEHEAD 1985; WHITEHEAD et al. 1988; FIEDLER 1991; BLAXTER & HOLLIDAY 1963; MATSUI et al. 1986a,b, 1987; WANG 1986; HIGGS 1998), für die meisten Arten aber sind leider nur knappe oder aber gar keine Studien zur Biologie und/oder zum Verhalten publiziert bzw. sie sind nicht ohne weiteres beschaffbar (Calif Fish and Game; Rept Calif Coop Oceanic Fish Invest; Res Rep US Fish Wildl Serv). Die Fangorte der untersuchten Engraulididae sind Tab. 2.1 zu entnehmen.

## Clupeidae

Die von ESER (1998) untersuchten Heringsfische sind durchwegs euryhalin und entstammen vorwiegend limnischen Habitaten (nur *Ethmalosa* ist ein Lagunenbewohner), bei unterschiedlicher Ernährungsweise: *Clupeonella* jagt Zooplankter, *Pellonula* Insekten, *Ethmalosa* und *Dorosoma* dagegen filtrieren Phytoplankton (v.a. Diatomeen). Andere planktivore bis makrocarnivore Clupeidae bewohnen vorwiegend das küstennahe marine Pelagial (*Clupea*, *Sardina*). Obwohl sich die Freßgewohnheiten und die Sichtverhältnisse im Habitat der verschiedenen Heringsarten stark unterscheiden - z.B. relativ klares Küstenwasser vs. trübe Ästuar- und Flüsse - bilden alle bisher untersuchten Formen sehr ähnliche Retinae aus. Offenbar genügt der Bauplan strukturell allen vitalen Erfordernissen und wird deswegen innerhalb der Clupeidae konservativ „gehandhabt“.

## Pristigasteridae und Engraulididae der *Coilia*-Gruppe

*Ilisha africana* lebt als Schwarmfisch im küstennahen Pelagial der afrikanischen Tropen bis in Wassertiefen von 25m. Die Art soll sich auch in Lagunen und Aestuarie vorwagen und ernährt sich von kleinen Zooplanktern (WHITEHEAD 1985). Die untersuchten Tiere der Art *Coilia nasus* leben in der Ariake-Bucht und dem dort einmündenden Chikugo-Fluß an der Nordwestküste der japanischen Insel Kyushu (ISHIDA & TSUKAHARA 1972; ISHIDA 1990; HAYASHI et al. 1994). Die Meeresbucht hat Watt-Charakter und auch der Flußunterlauf steht unter starkem Gezeiteneinfluß, so daß das Wasser dort oft eine erhebliche Trübung aufweist. Die Adulti ernähren sich sowohl im Brack- als auch im Salzwasser vorwiegend von Copepoden zwischen 3mm und 7mm Größe (TAKITA 1967; MATSUI et al. 1987). *Thryssa* und *Setipinna* sind küstenpelagische bis ästuarine Schwarmfische des Indopazifik und ernähren sich von Kleinkrebsen und Krebslarven. Ihr Mageninhalt (Amphipoda, Mysis- und Zoealarven) deutet auf das gezielte Schnappen nach einzelnen Beuteorganismen (WHITEHEAD et al. 1988).

Allen diesen Fischen gemein ist die Ernährung durch Schnappen planktischer Kleinkrebse und ihr Vorkommen in relativ stark getrübbten Wasserkörpern. Scharfes Sehen und Lichtempfindlichkeit sind daher gleichermaßen gefragt - Eigenschaften, die vom Zapfenmuster und vom Bau des Pigmentepithels wesentlich mitbestimmt werden:

Die Zapfen der angesprochenen Tiergruppe stehen in Reihen und gestatten im vorderen Gesichtsfeld zumindest rechnerisch eine passable Sehschärfe (ca.  $0.2^\circ$  bei *Coilia*: HAACKE 1998). Da benachbarte Zapfenreihen von den PE-Vorhängen mehr oder weniger auf Distanz gehalten werden, ergibt sich eine Asymmetrie der Rezeptordichte längs und senkrecht zur Zapfenreihe. Dieser Umstand könnte die scharfe Abbildung eines Beuteobjekts stören, andererseits aber eine bessere Detektion von Bewegungen ermöglichen (Beute, Artgenossen, Feinde; vgl. auch 4.4.1). Die melaningefüllten Spitzen der PE-Vorhänge schirmen im helladaptierten Auge die



Außenglieder benachbarter Zapfenreihen gegeneinander ab und dienen auf diese Weise in einer Richtung der Sehschärfe.

Das diffuse Guanintapetum kann sowohl im Dienste der Stäbchen als auch der Zapfen stehen. Eine Rückstreuung durch das für die Zapfen in Hellstellung „glatte“ Tapetum könnte auch die Empfindlichkeit dieser Photorezeptoren erhöhen. Am effektivsten sollte es aber als „rauhes“ Tapetum die Stäbchen in Dunkelstellung unterstützen (ZYZNAR 1975a, b) und damit ein visuell gesteuertes Verhalten im Schwachlicht - d.h. vor allem nachts - ermöglichen. Leider gibt es keine dokumentierten Verhaltensbeobachtungen zur Nachtaktivität der besprochenen Arten. Obwohl sie in relativ geringen Wassertiefen leben (meist nicht tiefer als 20m) kann die Wassertrübung dort jedoch auch tagsüber die Intensität des Umgebungslichtes stark reduzieren.

Über die Augenentwicklung bei *Coilia* und das sich dabei ändernde Freßverhalten diskutiert HAACKE (1998).

### **Engraulididae: *Anchoa*-Gruppe**

Unter den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Engraulididae der *Anchoa*-Gruppe gibt es Vertreter sowohl aus marinen als auch aus limnischen Habitaten (Tab. 2.1 und WHITEHEAD et al. 1988).

Zu den Salzwasserformen zählen *Engraulis*, *Encrasicholina* und *Stolephorus* (wie auch *Anchoa*: HILDEBRAND 1963). Es handelt sich durchwegs um küstenpelagische, euryhaline Schwarmfische, die regelmäßig auch in Lagunen und Ästuaren anzutreffen sind und daher mit sehr unterschiedlichen Sichtverhältnissen zurechtkommen müssen (klare See bis trübe Flußmündung). Die genannten Sardellen ernähren sich von Zooplankton - vorwiegend Kleinkrebse und Krebslarven, aber auch Fischeier und Fischlarven - das sie entweder in charakteristischer Weise mittels eines Kiemenreusenapparates aus der Wassersäule filtrieren oder aber gezielt schnappen (z.B. HAYASI 1967; HOBSON 1968; DIENER et al. 1974; PRFOC 1999). *Engraulis mordax* soll als optischer Jäger die Postlarven seiner eigenen Brut besonders im Größenbereich zwischen 8.5mm und 15mm dezimieren, da zunehmende Sichtbarkeit und noch unzureichende Fluchtgeschwindigkeit hier ein Pessimum bzgl. der Überlebenswahrscheinlichkeit bewirken (FOLKVORD & HUNTER 1986).

*Anchoviella* und *Lycengraulis* sind Süßwasserformen und gelten als „eher nicht halotolerant“ (WHITEHEAD et al. 1988). *Lycengraulis batesii* soll sich räuberisch von kleinen Fischen und evtl. auch Krebsen ernähren, über die Ernährung limnischer *Anchoviella*-Arten fehlen bisher jegliche Angaben.

Die funktionsmorphologischen Implikationen des Zapfentapetums und der Polycones wurden schon in den Kapiteln 4.4 und 4.6 am Beispiel von *Engraulis encrasicolus* diskutiert - der Hauptnutzen dieser Strukturen dürfte in der Detektion von

Planktonschwärmen und/oder Planktonpartikeln liegen und das besonders beim „Filtrieren“ im Meer. Die Süßwasserformen sollten aus den ästuarinen Meeresfischen hervorgegangen sein und als deren nächste Verwandte die *Anchoa*-Typ-Architektur der Retina erhalten haben. Es bleibt offen, ob sie die gleichen visuell gesteuerten Verhaltensmuster haben wie ihre marinen Vorläufer, oder ob die postulierten Vorteile der Polycones auf andere Weise genutzt werden.

### **Engraulididae: *Cetengraulis* und *Lycotrissa***

*Cetengraulis mysticetus* lebt regional begrenzt über flachen marinen Schlammböden (Watten und Ästuar, bis in ca. 9m Tiefe) und bildet dort lockere Schulen. Im Gegensatz zur Ernährungsweise der meisten anderen Engraulididae ist *Cetengraulis* ein Weidegänger und Sedimentfresser (Detritus und benthische Diatomeen: SCHAEFER 1954; PETERSON 1956; WHITEHEAD et al. 1988). Das mag die Sonderstellung dieser Art bezüglich ihrer Retinastruktur erklären: die Dreifachzapfen sind querschnittsbedingt relativ lichtempfindliche rezeptorische Einheiten, die evtl. mit Unterstützung des Tapetums ein photopisches Sehen in extrem trüben und düsteren Wasserkörpern vermitteln, und dabei weniger auf Sehschärfe getrimmt sein müssen.

*Lycotrissa crocodilus* lebt in Flüssen und Ästuaren im thailändisch-indonesischen Raum und stellt die einzige Art der Gattung dar (WHITEHEAD et al. 1988). Ihre relativ langen Zähne deuten auf eine räuberische Lebensweise mit verhältnismäßig großem Brockengrößenanspruch hin. Eine Gruppenretina mit Tapetum (Guanin ist bisher allerdings nicht nachgewiesen) läßt sich als Anpassung an extrem trübe Habitate deuten und damit als eine konvergente Bildung zur Retina der Nilhechte, die in qualitativ vergleichbaren Gewässern leben (MCEWAN 1938) - eine Ähnlichkeit besteht auch zur Netzhautstruktur der räuberischen Scopelarchidae aus der Tiefsee (LOCKET 1971a). Möglicherweise bewirken minimale Sichtweiten in Gewässern mit hoher Schwebstofffracht genauso wie ewige Dunkelheit einen sehr sporadischen Jagderfolg, der nur bei großen Beutetieren zu einer positiven Nährstoff- und Energiebilanz führen kann (OSCHE 1981).

Die Ausbildung eines Tapetum lucidum aus Guanin korreliert bei den Clupeoidei mit ihrem Vorkommen in oft stark getrüben Wasserkörpern und sollte geeignet sein, die Funktion des photopischen Systems auch bei geringen Lichtintensitäten zu gewährleisten. Die verschiedenen realisierten Retinatypen deuten auf einen Bauplan hin, der in der Evolution in Grenzen plastisch auf die Erfordernisse der jeweiligen photischen Umwelt reagieren kann. Polarisationsempfindliche Polycones hat nur eine Teilgruppe der Engraulidinae entwickelt, auch wenn sie sich in Habitat und Ernährungsweise nicht wesentlich von anderen planktivoren Fischen des Pelagials unterscheiden.

## 4.8 Ausblick

Die vorliegende Arbeit erweitert und vertieft das Verständnis zur funktionellen Morphologie und Evolution der Sardellenretina und öffnet gleichzeitig das Tor zu neuen Projekten. Im Anschluß an die erzielten Befunde erscheinen folgende Untersuchungen lohnend und durchführbar:

- Zum besseren Verständnis der Morphogenese der kurzen Zapfen sollte die frühe Larvalentwicklung der Sardellenretina studiert werden, wie es für den Grenadieranchovy *Coilia nasus* schon erfolgt ist (HAACKE et al., zur Publikation eingereicht). Aus Gründen der Materialbereitstellung bietet sich dafür die Kooperation mit einem fischereibiologischen Institut (z.B. in Canada oder Japan) an.
- Von außerordentlichem Interesse ist die weitere Aufklärung neuronaler Verschaltungen in der Netzhaut von *Engraulis*. Ein breit angelegter Golgiansatz - kombiniert mit dem TEM - sollte das retinale Schaltbild dieses hochspezialisierten Organs erhellen können. Auch die Mikroinjektion kann hierbei, nach technischen Verbesserungen, sinnvoll eingesetzt werden.
- Da Sammlungsmaterial für Feinstrukturstudien meist gut geeignet ist (siehe 2.1.1), sollten zur Verdichtung der Datenlage weitere, bisher nicht bearbeitete Gattungen der Engraulididae bezüglich der Architektur ihrer Photorezeptoren und PE-Zellen untersucht werden (evtl. aus der WHITEHEAD-Sammlung im Museum of Natural History, London).
- Die pysiologische Untermauerung des in der funktionsmorphologischen Diskussion für sehr wahrscheinlich befundenen, hochauflösenden Polarisationskontrastsehens der Sardelle könnte mit NBT-Experimenten an der frischtoten Netzhaut in Angriff genommen werden (vgl. MARC & SPERLING 1976).

## 5. Literatur

### Quellen

#### Computerdatenbanken:

Biosis, Medline, Current Contents, www

#### Bibliotheken:

Bayerische Staatsbibliothek

Bibliothek des Zoologischen Institutes der LMU München

Bibliothek der Zoologischen Staatssammlung München

### A

ADLER K and TAYLOR D H (1973)

Extraocular perception of polarized light by orienting salamanders.

J Comp Physiol 87: 203-212

AHLBERT I-B (1969)

The organization of the cone cells in the retinae of four teleosts with different feeding habits (*Perca fluviatilis* L., *Lucioperca lucioperca* L., *Acerina cernua* L. and *Coregonus albula* L.).

Arkiv för Zoologi 22: 445-481

AHNELT P, KERI C and KOLB H (1990)

Identification of pedicles of putative blue-sensitive cones in the human retina.

J Comp Neurol 293: 39-53

ALI M A and HEUMANN W R (1972)

Distribution of vitamins A1 and A2 in the retinae of some marine fishes from the Gulf of California II.

Vis Res 12: 2157-2159

ALI M A (ed) (1975)

Vision in Fishes - New Approaches in Research.

New York Plenum Press

ALI M A and WAGNER H-J (1975)

Visual pigments: Phylogeny and ecology

in: Ali M A (ed) Vision in Fishes - New Approaches in Research.

New York Plenum Press: 481-516

ALI M A and ANCTIL M (1976)

Retinas of fishes - an atlas.

Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York

ALI M A and KLYNE M A (1985)

Vision in vertebrates.

Plenum Press New York, London: 272pp

ANDERSON D H and FISCHER S K (1975)

Disc shedding in rodlike and conelike photoreceptors of tree squirrels.

Science 187: 953-955

ANDERSON D H, FISHER S K and STEINBERG R H (1978)

Mammalian cones: disc shedding, phagocytosis, and renewal.

Invest Ophthalmol Vis Sci 17: 117-133

AREY L B (1915)

The occurrence and the significance of photomechanical changes in the vertebrate retina - an historical survey.

J Comp Neurol 25: 535-554

## B

- BABURINA E A (1955)  
Structure of the eye and its retina in the common (northern) pilchard.  
Dokl Akad Nauk SSSR 102(3): 625-628
- BARDOLPH M and STAVN R H (1978)  
Polarized light sensitivity in the stage I zoea of the mud crab *Panopeus herbstii*.  
Mar Biol 46: 327-334
- BATHELT D (1970)  
Experimentelle und vergleichend morphologische Untersuchungen  
am visuellen System von Teleostiern.  
Zool Jahrb (Anatomie und Ontogenie) 87: 402-470
- BAYLOR E R and SMITH F E (1953)  
The orientation of Cladocera to polarized light.  
Am Nat 87: 97-101
- BAYLOR E R and SHAW E (1962)  
Refractive error and vision in fishes.  
Science 136(3511): 157-158
- BAYLOR D A and HODGKIN A L (1973)  
Detection and resolution of visual stimuli by turtle photoreceptors.  
J Physiol 234: 163-198
- BELGUM J H, DVORAK D R and MCREYNOLDS J S (1982)  
Sustained synaptic input to ganglion cells of mudpuppy retina.  
J Physiol 326: 91-108
- BERGER E R (1967)  
Subsurface membranes in paired cone photoreceptor inner segments  
of adult and neonatal *Lebistes* retinae.  
J Ultrastruct Res 17: 220-232
- BERNARD G D and WEHNER R (1977)  
Functional similarities between polarization vision and color vision.  
Vis Res 17: 1019-1028
- BLAXTER J H S (1964)  
Spectral sensitivity of the herring, *Clupea harengus* L.  
J Exp Biol 41: 155-162
- BLAXTER J H S and HOLLIDAY F G T (1963)  
The behaviour of herring and other clupeids.  
Adv Mar Biol 1: 261-393
- BLAXTER J H S (1964)  
Spectral sensitivity of the herring *Clupea harengus* L.  
J Exp Biol 41: 155-162
- BLAXTER J H S and JONES M P (1967)  
The development of the retina and retinomotor responses in the herring.  
J Mar Biol Assoc U K 47: 677-697
- BLAXTER J H S (1968)  
Visual thresholds and spectral sensitivity of herring larvae.  
J Exp Biol 48: 39-53
- BÖCK P (ed) (1989)  
Romeis Mikroskopische Technik  
Urban & Schwarzenberg München, Wien, Baltimore: 697pp
- BOEHLERT G W (1978)  
Intraspecific evidence for the function of single and double cones in the teleost retina.  
Science 202: 309-311
- BOEHM G (1940a)  
Über maculare (Haidinger'sche) Polarisationsbüschel  
und über einen polarisationsoptischen Fehler des Auges.  
Acta Ophthalm Kbh 18: 109-142

- BOEHM G (1940b)  
 Über ein neues entoptisches Phänomen im polarisierten Licht:  
 "Periphere" Polarisationsbüschel.  
 Acta Ophthalm (Kobenhavn)18: 143-169
- BONE R A and LANDRUM J T (1984)  
 Macular pigment in henle fiber membranes: a model for Haidinger's brushes.  
 Vis Res 24(2): 103-108
- BONE Q and MARSHALL N B (1985)  
 Biologie der Fische.  
 Gustav-Fischer-Verlag Stuttgart, New York: 168-186
- BORISOV P G and PROTASOV V P (1960: zitiert bei BLAXTER J H S 1964)  
 Some aspects of light perception in fish and selective light sources.  
 Int Council Explor Sea, Comparative Fishing Committee Paper 139
- BORWEIN B and HOLLENBERG M J (1973)  
 The Photoreceptors of the "Four-eyed" Fish, *Anableps anableps* L  
 J Morph 140: 405-442
- BORWEIN (1981)  
 2. The retinal receptor, a description.  
 in: Enoch J M and Tobek F L jr (eds) Vertebrate photoreceptor optics.  
 Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York: 11-69
- BOWMAKER J K and KUNZ Y W (1987)  
 Ultraviolet receptors, tetrachromatic colour vision and retinal mosaics  
 in brown trout (*Salmo trutta*): Age dependent changes.  
 Vis Res 27(2): 2101-2108
- BOWMAKER J K, GOVARDOVSKII V I, SHUKOLYUKOV S A, ZUEVA L V, HUNT D M,  
 SIDELEVA V G and SMIRNOVA O G (1994)  
 Visual pigments and the photic environment: the cottoid fish of lake baikal.  
 Vis Res 34(5): 591-605
- BRIDGES C D B (1964)  
 Periodicity of absorption properties in pigments based on vitamin A<sub>2</sub> from fish retinae.  
 Nature 203: 303-304
- BRINES M L and GOULD J L (1982)  
 Skylight polarization patterns and animal orientation.  
 J Exp Biol 96: 69-91
- BROWMAN H I and HAWRYSHYN C W (1992)  
 Thyroxine induces a precocious loss of ultraviolet photosensitivity  
 in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).  
 Vis Res 32: 2303-2312
- BULGAKOVA Y V, ANDRIANOV D P and LISOVENKO L A (1997)  
 Estimation of feeding intensity of black sea anchovy *Engraulis encrasicolus ponticus*.  
 J Ichtyol 37(8): 617-623
- BURKHARDT D A, HASSIN G, LEVINE G and MCNICHOL E F jr (1980)  
 Electrical responses and photopigments of twin cones in the retina of the walleye.  
 J Physiol 309: 215-228

## C

- CAMERON D A and PUGH E N jr (1991)  
 Double cones as a basis for a new type of polarisation vision in vertebrates.  
 Nature 353: 161-164
- CAMERON D A and EASTER S S (1993)  
 The cone photoreceptor mosaic of the green sunfish, *Lepomis cyanellus*.  
 Vis Neurosci 10: 375-384
- CAMERON D A and EASTER S S jr (1995)  
 Cone photoreceptor regeneration in adult fish retina:  
 phenotypic determination and mosaic pattern formation.  
 J Neurosci 15(3): 2255-2271

- CAJAL S, Ramón y (1926)  
 Beitrag zur Kenntnis der Neuroglia des Groß- und Kleinhirns  
 bei der progressiven Paralyse mit einigen technischen Bemerkungen  
 zur Siberimprägung des pathologischen Nervengewebes.  
 Z Neurol Psych 100: 738-793
- CHALUPAL M and FINLAY B L (eds) (1998)  
 Development of the vertebrate retina.  
 Perspectives in Vision Research (series editor: Blakemore C)  
 Plenum Press New York, London
- CHARMAN W N and TUCKER J (1973)  
 The optical system of the goldfish eye.  
 Vis Res 13: 1-8
- COHEN A I (1963)  
 The fine structure of the visual receptors of the pigeon.  
 Exp Eye Res 2: 88-97
- COHEN A I (1972)  
 Rods and cones.  
 in: Fuortes M F G (ed) Handbook of Sensory Physiology 7(2)  
 Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York: 63-110
- COLLIN S P and PETTIGREW J D (1988)  
 Retinal Topography in Reef Teleosts  
 I. Some species with well-developed areas but poorly-developed streaks.  
 Brain Behav Evol 31: 269-282
- COLONNIER M (1964)  
 The tangential organization of the visual cortex.  
 J Anat 98: 327-344
- CONE R A (1972)  
 Rotational diffusion of rhodopsin in the visual receptor membrane.  
 Nat New Biol 236: 39-43
- COPELAND D E 1982  
 The anatomy and fine structure of the eye in fish.  
 VI. Ciliary type tissue in nine species of teleosts.  
 Biol Bull 163: 131-143
- COUGHLIN D J and HAWRYSHYN C W (1995)  
 A cellular basis for polarized-light vision in rainbow trout.  
 J Comp Physiol A 176: 261-272
- COULSON K L (1988)  
 Polarization and intensity of light in the atmosphere.  
 A Deepak Publishing Hampton/Virginia, USA
- CRAWFORD F S jr (1984)  
 Berkeley Physik Kurs 3 - Schwingungen und Wellen.  
 Vieweg & Sohn Braunschweig: 344pp

## D

- DAVITZ M A and MCKAYE K R (1978)  
 Discrimination between horizontally and vertically polarized light by the cichlid fish  
*Pseudotropheus macrophthalmus*.  
 Copeia 2: 333-334
- DE VRIES H L, SPOOR A and JIELOF R (1953)  
 Properties of the eye with respect to polarized light  
 Physica 19: 419-432
- DENTON E J and NICOL J A C (1964)  
 The chorioidal tapeta of some cartilaginous fishes (Chondrichthyes).  
 J Mar Biol Assoc UK 44: 219-258

- DENTON E J and NICOL J A C (1965a)  
 Studies on reflexion of light from silvery surfaces of fishes,  
 with special reference to the bleak, *Alburnus alburnus*.  
 J Mar Biol Ass UK 45: 683-703
- DENTON E J and NICOL J A C (1965b)  
 Polarization of light reflected from the silvery exterior of the bleak, *Alburnus alburnus*.  
 J Mar Biol Ass UK 45: 705-709
- DENTON E J and NICOL J A C (1965c)  
 Reflexion of light by external surfaces of the herring, *Clupea harengus*.  
 J Mar Biol Ass UK 45: 711-738
- DENTON E J and NICOL J A C (1965d)  
 Direct measurements on the orientation of the reflecting surfaces in the tapetum of  
*Squalus acanthias*, and some observations on the tapetum of *Acipenser sturio*.  
 J Mar Biol Ass UK 45: 739-742
- DENTON E J and LAND M F (1967)  
 Optical properties of the lamellae causing interference colours in animal reflectors.  
 J Physiol 191: 23P-24P
- DENTON E J (1970)  
 On the organisation of reflecting surfaces in some marine animals.  
 Phil Trans R Soc Lond B 258: 285-313
- DENTON E J and LAND M F (1971)  
 Mechanism of reflexion in silvery layers of fish and cephalopods.  
 Proc R Soc Lond A 178: 43-61
- DENTON E J and LOCKET N A (1989)  
 Possible wavelength discrimination by multibank retinæ in deep-sea fishes.  
 J Mar Biol Ass UK 69: 409-435
- DIENER R A, INGLIS A and ADAMS G B (1974)  
 Stomach contents of fishes from Clear Lake and tributary waters, a Texas estuarine area.  
 Contr Mar Sci Univ Tex 18: 7-17
- DILL P A (1965)  
 Polarized light perception and orientation by yearling sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*)  
 M Sc Thesis manuscript, Univ of British Columbia, Vancouver: 54pp
- DILL P A (1971)  
 Perception of polarized light by yearling sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*).  
 J Fish Res Bd Canada 28: 1319-1322
- DJAMGOZ M B A and DOWNING J E G (1988)  
 A horizontal cell selectively contacts blue-sensitive cones in cyprinid fish retina:  
 intracellular staining with horseradish peroxidase.  
 Proc R Soc Lond 235: 281-287
- DOWLING J E and WERBLIN F S (1971)  
 Synaptic organisation of the vertebrate retina.  
 Vis Res Suppl 3: 1-15
- DOWLING J E (1987)  
 The retina.  
 The Belknap Press of Harvard University Press: 282pp
- DOWNING J E G and DJAMGOZ M B A (1989)  
 Quantitative analysis of cone photoreceptor-horizontal cell connectivity patterns in the retina  
 of a cyprinid fish: electron microscopy of functionally identified and HRP-labelled  
 horizontal cells.  
 J Comp Neurol 289: 537-553
- DUNN R F (1966)  
 Studies on the retina of gecko *Coleonyx variegatus* I. The visual cell classification.  
 J Ultrastruct Res 16: 651-671
- DUNTLEY S Q (1963)  
 Light in the sea.  
 J Opt Soc Am 53(1): 214-233



## E

- EAKIN R M (1973)  
The third eye.  
Univ Calif Press Berkeley, Los Angeles, London: 157 pp
- EASTER S S jr (1975)  
Retinal specialisations for aquatic vision. Theory and facts.  
in: Ali M A (ed) Vision in fishes - new approaches in research.  
Plenum Press New York: 609-618
- EASTER S S jr, RUSOFF A C and KISH P E (1981)  
The growth and organization of the optic nerve and tract in juvenile and adult goldfish.  
J Neurosci 1(8): 793-811
- EASTER S S jr (1992)  
Retinal growth in foveated teleosts:  
nasotemporal asymmetry keeps the fovea in temporal retina.  
J Neurosci 12(6): 2381-2392
- ENGSTRÖM K (1963a)  
Structure, organization and ultrastructure of the visual cells  
in the teleost family, Labridae.  
Acta Zoologica 44: 1-41
- ENGSTRÖM K (1963b)  
Cone Types and Cone arrangements in teleost retinae.  
Acta Zoologica 44: 179-243
- ENGSTRÖM K and AHLBERT J B (1963)  
Cone types and cone arrangement in the retina of some flatfishes.  
Acta Zool 44: 119-144
- ERGGELET H (1932)  
Die Refraktion und die Akkomodation mit ihren Störungen.  
II. Die Dioptrik des Menschauges.  
in: Schieck F and Brückner A (eds) Kurzes Lehrbuch der Ophthalmologie: 497-545  
Springer Verlag Berlin
- ESER R (1998)  
Vergleichende Anatomie der Retina in der Ordnung der Heringsfische (Clupeiformes).  
Zulassungsarbeit am Zoologischen Institut der Universität München (LMU)
- EVANS G C, BAINBRIDGE R and RACKHAM O (1975)  
Light as an ecological factor.  
Blackwell Oxford

## F

- FERNALD R D (1983)  
Neural basis of visual pattern recognition in fish.  
in: Ewert J-P, Capranica R R and Ingle D J (eds) Advances in Vertebrate Neuroethology.  
Plenum Press New York: 569-580
- FERNALD R D (1989)  
Kap 11. Fish Vision.  
in: Finlay B L and Sengelaub D R (eds) Development of the vertebrate retina.  
Perspectives in Vision Research, Blakemore (series editor)  
Plenum Press New York, London: 247-265
- FIEDLER K (1991)  
Augen der Teleostei (Kap 3.8.1)  
in: Starck D (ed) Lehrbuch der Speziellen Zoologie (ehem. "Kästner"),  
Bd 2: Wirbeltiere, Teil 2: Fische.  
Gustav-Fischer-Verlag Jena: 86-94
- FINERAN B A and NICOL J A C (1974)  
Studies on the eyes of New Zealand parrot - fishes (Labridae).  
Proc R Soc Lond 186: 217-247

- FINERAN B A and NICOL J A C (1976)  
 Novel cones in the retina of the Anchovy (*Anchoa*).  
*J Ultrastruct Res* 54(2): 296 - 303
- FINERAN B A and NICOL J A C (1977)  
 Studies on the eyes of anchovies *Anchoa mitchilli* and *A. hepsetus* (Engraulidae)  
 with particular reference to the pigment epithelium.  
*Phil Trans R Soc Lond B* 276: 321-350
- FINERAN B A and NICOL J A C (1978)  
 Studies on the photoreceptors of *Anchoa mitchilli* and *A. hepsetus* (Engraulidae)  
 with particular reference to the cones.  
*Phil Trans R Soc Lond B* 283: 25-60
- FOELIX R F (1992)  
 Biologie der Spinnen. 2. Aufl.  
 Thieme-Verlag Stuttgart, New York
- FOLKVORD A and HUNTER J R (1986)  
 Size specific vulnerability of northern Anchovy (*Engraulis mordax*) larvae  
 to predation by fishes.  
*Fishery Bulletin U S* 84: 859-869
- FORWARD R B jr, HORCH K W and WATERMAN T H (1972)  
 Visual orientation at the water surface by the teleost *Zenarchopterus*.  
*Biol Bull* 143: 112-126
- FORWARD R B jr and WATERMAN T H (1973)  
 Evidence for E-vector and light intensity pattern discrimination by the teleost *Dermogenys*.  
*J Comp Physiol* 87: 189-202
- FRANZ V (1907)  
 Die biologische Bedeutung des Silberglanzes in der Fischhaut.  
*Biol Zbl* 27: 278-285
- FREDERIKSEN R D (1976)  
 Retinal tapetum containing discrete reflectors and photoreceptors  
 in the bathypelagic teleost *Omosudis lowei*.  
*Vidensk Meddr dansk naturh Foren* 139: 109-146
- FRISCH K, von (1949)  
 Die Polarisation des Himmelslichtes als orientierender Faktor bei den Tänzchen der Bienen.  
*Experientia* 5(4): 142-148
- FRISCH K, von (1953)  
 Die Fähigkeit der Bienen, die Sonne durch die Wolken wahrzunehmen.  
*Sitz Ber Bayer Akad Wiss Math Naturwiss Kl* 17: 197-199

## G

- GEIGER W (1956)  
 Quantitative Untersuchungen über das Gehirn der Knochenfische,  
 mit besonderer Berücksichtigung seines relativen Wachstums.  
*Acta anat* 26: 121-163 und 27: 324-350
- GODDARD S M and FORWARD R B jr (1991)  
 The role of the underwater polarized light pattern,  
 in sun compass navigation of the grass shrimp, *Palaemonetes vulgaris*.  
*J Comp Physiol A* 169: 479-491
- GODEMENT P, VANSELOW J, THANOS S and BONHOEFFER F (1987)  
 A study in developing visual systems with a new method of staining neurons  
 and their processes in fixed tissue.  
*Development* 101: 697-713
- GOODLAND H (1966)  
 The ultrastructure of the inner plexiform layer of the retina of *Cottus bubalis*.  
*Exp Eye Res* 5: 198-200

- GROOT C (1965)  
 On the orientation of young sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*)  
 during their seaward migration out of lakes.  
 Behaviour Suppl 14 (Brill E J, Leiden): 198pp
- GRZIMEK B (1971, ed)  
 Grzimeks Tierleben - Enzyklopädie des Tierreichs Bd 1 Kap 8: 281  
 Kindler Verlag AG Zürich

## H

- HAACKE C (1998)  
 Feinstrukturelle Untersuchungen zum Aufbau und zur Entwicklung der Retina  
 des Grenadieranchovies *Coilia nasus* Schlegel (Engraulidae, Clupeiformes).  
 Diplomarbeit am Zoologischen Institut der Universität München (LMU)
- HAESSENDONCK E, van and MISSOTTEN L (1979)  
 Synaptic contacts of the horizontal cells in the retina of the marine teleost,  
*Callionymus lyra* L.  
 J Comp Neur 184: 167-192
- HAESSENDONCK E, van and MISSOTTEN L (1984)  
 Synaptic contacts between bipolar and photoreceptor cells  
 in the retina of *Callionymus lyra* L.  
 J Comp Neurol 223: 387-399
- HAWRYSHYN C W and MCFARLAND W N (1986)  
 Polarization sensitivity in a cyprinid fish.  
 Invest Ophthal Vis Sci Suppl 27: 77
- HAWRYSHYN C W and MCFARLAND W N (1987)  
 Cone photoreceptor mechanism and the detection of polarized light in fish.  
 J Comp Physiol A 160: 459-465
- HAWRYSHYN C W, ARNOLD M G, BOWERING E and COLE R L (1990)  
 Spatial orientation of rainbow trout to plane-polarized light:  
 The ontogeny of E-vector discrimination and spectral sensitivity characteristics.  
 J Comp Physiol A 166: 565-574
- HAWRYSHYN C W and BOLGER A E (1990)  
 Spatial orientation of trout to partially polarized light in fish.  
 J Comp Physiol A 167: 691-697
- HAWRYSHYN C W (1992)  
 Polarisation vision in fish.  
 Am Sci 80: 164-175
- HAYASHI M, MATSUI S and TAKESHITAN (1994)  
 Spawning Area and Time of an Engraulid Fish, *Coilia nasus* in Chikugo River.  
 Suisanzoshoku 42(1): 15-23
- HAYASI S (1967)  
 A note on the biology and fishery of the Japanese anchovy *Engraulis japonicus* (Houttayn).  
 Rept Calif coop oceanic Fish Invest 11: 44-57
- HEß M, MELZER R R and SMOLA U (1995)  
 Die mehrreihige Retina des Balearencongfers *Ariosoma balearicum*.  
 Verh Dt Zool Ges 88: 163
- HEß M, MELZER R R and SMOLA U (1996)  
 Die Photorezeptoren der Europäischen Sardelle *Engraulis encrasicolus* L.  
 (Engraulidae, Clupeiformes).  
 Verh Dt Zool Ges 89: 212
- HEß M, MELZER R R and SMOLA U (1997)  
 The pattern of cone-pedicles in the retina of the European anchovy,  
*Engraulis encrasicolus* L. (Engraulidae, Clupeiformes).  
 Proc 25th Göttingen Neurobiol Conf Vol 1: 489

- HEB M, MELZER R R and SMOLA U (1998)  
 The photoreceptors of *Muraena helena* (Linnaeus 1758) (Teleostei: Muraenidae) and *Ariosoma balearicum* (Delaroche 1809) (Teleostei: Congridae) - a comparison of multiple bank retinæ in Anguilliformes.  
*Zool Anz* 237: 127-137
- HEB M, MELZER R R, ESER R and SMOLA U (1999)  
 A comparative study on the fine structure of clupeoid outer retinæ.  
*ZACS* 102 Suppl 2: 41
- HIGGS D M (1998)  
 Interrelations between sensory development and habitat change in clupeoid larvae  
[http://146.6.184.4/Staff/fuiman/higgs\\_abstract.html](http://146.6.184.4/Staff/fuiman/higgs_abstract.html)
- HILDEBRAND S F (1963)  
 Family Engraulidae.  
 in: Bigelow H B (ed) *Fishes of the western North Atlantic*  
 Mem Sears Fdn Mar Res 1 Part 3: 152-249
- HITCHCOCK P F and EASTER S S jr (1986)  
 Retinal ganglion cells in goldfish. A qualitative classification into four morphological types, and a quantitative study of the development of one of them.  
*J Neurosci* 6: 1037-1050
- HOBSON E S (1968)  
 Predatory behaviour of some shore fishes in the gulf of California.  
*Res Rep US Fish Wildl Serv* 73: 92pp.
- HORVÁRTH G and VARJÚ D (1995)  
 Underwater refraction-polarization patterns of skylight perceived by aquatic animals through Snell's window of the flat water surface.  
*Vis Res* 35(12): 1651-1666
- HUXLEY A F (1968)  
 A theoretical treatment of the reflexion of light by multilayer structures.  
*J Exp Biol* 48: 227-245

## I

- ISHIDA K and TSUKAHARA H (1972)  
 On the ecology of the engraulid fish, *Coilia* sp. (Engraulidae) in Ariake Sound and the lower reaches of Chikugo River.  
*Sci Bull Fac Agr Kyushu Univ* 26(1-4): 217-221
- ISHIDA A T, STELL W K and LIGHTFOOT D O (1980)  
 Rod and cone inputs to bipolar cells in goldfish retina.  
*J Comp Neurol* 191: 315-335
- ISHIDA K (1990)  
 Growth of Engraulid Fish (*Coilia nasus* Temminck et Schlegel) in Ariake Sound.  
*Suisanzoshoku* 38(2): 135-145
- IVANOFF A and WATERMAN T H (1958)  
 Factors, mainly depth and wavelength, affecting underwater polarized light.  
*J Mar Res* 16: 283-307

## J

- JACOBS (1982)  
 Comparative color vision.  
 Academic Press New York: 209pp
- JAMIESON G S and FISHER H D (1971)  
 The retina of the harbour seal, *Phoca vitulina*.  
*Can J Zool* 49: 19-23
- JANDER R and WATERMAN T H (1960)  
 Sensory discrimination between polarized light and light intensity patterns by arthropods.  
*J Cell Comp Physiol* 56(3): 137-160

JERLOV N G (1976)

Optical oceanography.  
Elsevier Amsterdam

JOHNS P R (1977)

Growth of the adult goldfish eye III: source of the new retinal cells.  
J Comp Neurol 176: 343-358

## K

KANEKO A (1971)

Electrical connexions between horizontal cells in the dogfish retina.  
J Physiol 213: 95-105

KANEKO and YAMADA (1972)

S-potentials in the dark adapted retina of the carp.  
J Physiol 227: 261-273

KAWAMURA G, SHIBATA A and YONEMORI T (1981)

Response of teleosts to the plane of polarized light as determined by the heart beat rate.  
Bull Jap Soc Sci Fisheries 47(6): 727-729

KLEEREKOPER H, MATIS J H, TIMMS A M and GENSLER P (1973)

Locomotor response of the goldfish to polarized light and its e-vector.  
J Comp Physiol 86: 27-36

KOCK J-H and REUTER T (1978)

Retinal ganglion cells in the crucian carp (*Carassius carassius*) II:  
overlap, shape and tangential orientation of dendritic trees.  
J Comp Neurol 179: 549-568

KOLB H and JONES J (1985)

Electron microscopy of golgi-impregnated photoreceptors reveals connections  
between red and green cones in the turtle retina.  
J Neurophysiol 54: 304-317

KONG K-L, FUNG Y M and WASSERMAN G S (1980)

Filter-mediated color vision with one visual pigment.  
Science 207: 783-786

KÖNNEN G P (1985)

Polarized light in nature.  
Cambridge Univ Press, Cambridge

KUHLMANN H-W and SELBACH M (1998)

Proposed function of direction-sensitive detectors in ciliated protozoa.  
ZACS 101 Suppl 1: 49

KRAFT T W and BURKHARDT D A (1986)

Telodendrites of cone photoreceptors: structure and probable function.  
J Comp Neurol 249: 13-27

KUENZER P and WAGNER H-J (1969)

Bau und Anordnung der Sehzellen und Horizontalen  
in der Retina von *Nannacara anomala* (Cichlidae, Teleostei).  
Z Morph Tiere 65: 209-224

KUNZ Y W (1980)

Cone mosaics in a teleost retina: changes during light and dark adaption.  
Experientia 36: 1371-1374

KUNZ Y W, SHUILLEABHAIN M N and CALLAGHAN E (1985)

The eye of the venomous marine teleost *Trachinus vipera*  
with special reference to the structure of visual cells and pigment epithelium.  
Exp Biol 43: 161-178

## L

- LAND M F (1965)  
Image formation by a concave reflector in the eye of the scallop, *Pecten maximus*.  
J Physiol 179: 138-153
- LAND M F (1966a)  
Activity in the optic nerve of *Pecten maximus* in response to changes in light intensity, and to pattern and movement in the optical environment.  
J Exp Biol 45: 83-99
- LAND M F (1966b)  
A multilayer interference reflector in the eye of the scallop, *Pecten maximus*.  
J Exp Biol 45: 433-447
- LAND M F (1991)  
Polarizing the world of fish.  
Nature 353: 118-119
- LAND M F (1993)  
Old twist in a new tale.  
Nature 363: 581-582
- LASANSKY A (1972)  
Cell junctions at the outer synaptic layer of the outer retina.  
Invest Ophthalmol 11: 265-274
- LATIES A M, BOK D and LIEBMAN P (1976)  
Procion yellow: a marker dye for outer segment disc patency and for rod renewal.  
Exp Eye Res 23: 139-148
- LEVICK W R and DVORAK D R (1986)  
The retina - from molecules to networks.  
TINS 9(5): 181-185
- LIEBMANN P A and ENTINE G (1968)  
Visual pigments of frog and tadpole (*Rana pipiens*).  
Vis Res 8: 761-775
- LIEBMAN P A and ENTINE G (1974)  
Lateral diffusion of visual pigment in photoreceptor disk membranes.  
Science 185: 457-459
- LOCKET N A (1970)  
Deep-sea fish retinas.  
Brit Med Bull 26(2): 107-111
- LOCKET N A (1971a)  
Retinal anatomy in some scopolarchid deep-sea fishes.  
Proc R Soc Lond 178: 161-184
- LOCKET N A (1971b)  
Retinal structure in *Platytrichtes apus*, a deep sea fish with a pure rod fovea.  
J Mar Biol Ass UK 51: 79-91
- LOCKET N A (1974)  
The choroidal tapetum lucidum of *Latimeria chalumnae*.  
Proc R Soc B 186: 281-290
- LOCKET N A (1977)  
Adaptations to the deep sea environment: G. Retinal adaptations in deep-sea fish eyes.  
in: Crescitelli (ed) The visual system in vertebrates. Handbook of Sensory Physiology 7(5)  
Springer-Verlag Berlin: 129-176
- LOCKET N A (1980)  
Variation of architecture with size in the multiple-bank retina  
of a deep-sea teleost, *Chauliodus sloani*.  
Proc R Soc Lond B 208: 223-242
- LOCKET N A (1985)  
The multiple bank rod fovea of *Bajacalifornia drakei*, an alepocephalid deep-sea teleost.  
Proc R Soc Lond B 224: 7-22
- LOCKET N A (1992)  
Problems of deep foveas.  
Austr N Zeal J Ophthalmol 20(4): 281-295

- LOUKASHKIN A S and GRANT N (1965)  
 Behavior and natural reactions of the northern anchovy, *Engraulis mordax* Girard,  
 under the influence of light of different wavelengths and intensities and total darkness.  
 Proc Calif Acad Sci 31(24): 631-692
- LÜLING K H (1958)  
 Morphologisch-anatomische und histologische Untersuchungen  
 am Auge des Schützenfisches *Toxotes jaculatrix* (Pallas 1766) (Toxotidae)  
 nebst Bemerkungen zum Spuckgehebe.  
 Z Morph Ökol Tiere 47: 529-610
- LUNDGREN B (1971)  
 On the polarization of daylight in the sea.  
 Kob Univ Inst Fys Ocean Report No 17: 1-34
- LYALL A H (1957a)  
 The growth of the trout retina.  
 Q J Micr Sci 98(2): 101-110
- LYALL A H (1957b)  
 Cone arrangements in teleost retinae.  
 Q J Micr Sci 98(2): 189-201
- LYTHGOE J N and HEMMINGS C C (1967)  
 Polarized light and underwater vision.  
 Nature 213: 893-894
- LYTHGOE J N (1972)  
 The adaptation of visual pigments to the photic environment.  
 in: Dartnall H J A (ed) Handbook of sensory physiology 7/1 Photochemistry of vision.  
 Springer Verlag Berlin: 566-603
- LYTHGOE J N (1975)  
 Problems of seeing colours underwater.  
 in: Ali M A (ed) Vision in fishes - new approaches in research.  
 Plenum Press New York: 619-634
- LYTHGOE J N (1979)  
 The Ecology of Vision.  
 Clarendon Press Oxford

## M

- MARIANI A P (1987)  
 Neural and synaptic organization of the outer plexiform layer of the pigeon retina.  
 Am J Anat 179: 25-39
- MARC R E and SPERLING H G (1976)  
 Color receptor identities of goldfish cones.  
 Science 191: 487-488
- MATSUI S, TOMISHIGE S-I and TSUKAHARA H (1986a)  
 Ecological Studies on the Engraulid Fish, *Coilia nasus* Temminck und Schlegel.  
 I. Preliminary Report on the Ecology of the Ascending Population.  
 Sci Bull Fac Agr Kyushu Univ 40(4): 221-228
- MATSUI S, TOMISHIGE S-I and TSUKAHARA H (1986b)  
 Ecological Studies on the Engraulid Fish, *Coilia nasus* Temminck und Schlegel.  
 II. The Effect of Salinity on Embryonic Development and Hatch.  
 Sci Bull Fac Agr Kyushu Univ 40(4): 229-234
- MATSUI S, NAKAGAWA K and TOMISHIGE S-I (1987)  
 Ecological Studies on the Engraulid Fish *Coilia nasus* Temminck und Schlegel.  
 III. Appearance and feeding habits of the Juvenile in the Chikugo River.  
 Sci Bull Fac Agr Kyushu Univ 41(1/2): 55-62
- MCEWAN M R (1938)  
 A comparison of the retina of mormyrids with that of various other teleosts.  
 Acta Zool 19: 427-465

- MILLER W H and SNYDER A W (1972)  
Optical function of myoids.  
Vis Res 12: 1841-1848
- MOODY M F and PARRISS J R (1961)  
The discrimination of polarized light by Octopus: a behavioural and morphological study  
Z vergl Physiol 44: 268-291
- MOYER F H (1969)  
Development, structure and function of the retinal pigment epithelium.  
in: Straatsma B R et al. (eds) The retina. Morphology, function and clinical characteristics.  
University of California Press Berkeley & Los Angeles
- MÜLLER H (1857)  
Anatomisch-physiologische Untersuchungen über die Retina  
bei Menschen und Wirbeltieren.  
Z wiss Zool 8: 1-122
- MÜLLER H (1952)  
Bau und Wachstum der Netzhaut des Guppy (*Lebistes reticulatus*).  
Zool Jahrb (Zoologie und Physiologie) 63: 275-324
- MUNK O and ANDERSEN S R (1962)  
Accessory outer segment, a re-discovered cilium-like structure  
in the layer of rods and cones of the human retina.  
Acta Ophthal 40: 526-531
- MUNK O (1966a)  
Ocular anatomy of some deep-sea teleosts.  
Dana Rep 70: 1-62
- MUNK O (1966b)  
On the retina of *Diretmus argenteus* Johnson, 1863 (Diretmidae, Pisces).  
Vidensk Meddr Dansk Naturh Foren 129: 73-80
- MUNZ F W (1958)  
The photosensitive retinal pigments of fishes from relatively turbid coastal waters.  
J Gen Physiol 42(2): 445-459
- MUNZ F W and MCFARLAND W N (1977)  
Evolutionary adaptations of Fishes to the Photic Environment. II. The photic environment.  
in: Crescitelli (ed) The visual system in vertebrates. Handbook of Sensory Physiology 7(5)  
Springer-Verlag Berlin: 193-274

## N

- NAYLOR E J and STANWORTH A (1954)  
Retinal pigment and the haidinger effect.  
J Physiol 124: 543-552
- NICOL J A C, ARNOTT H J and BEST A C G (1973)  
Tapeta lucida in bony fishes (Actinopterygii): a survey.  
Can J Zool 51: 69-81
- NICOL J A C and ZYZNAR E (1973)  
=> Tapetum der Priacanthidae.  
(J Fish Biol in press, zitiert bei Zyznar & Nicol 1973)
- NILSSON S E G (1964)  
Interreceptor contacts in the retina of the frog (*Rana pipiens*).  
J Ultrastruct Res 11: 147-165
- NORMAN R A, PERLMAN I, KOLB H, JONES J and DALY S J (1984)  
Direct excitatory interactions between cones of different spectral types in the turtle retina.  
Science 224: 625-627
- NOVALES FLAMARIQUE I, HENDRY A and HAWRYSHYN C W (1992)  
The photic environment of a salmonid nursery lake.  
J Exp Biol 169: 121-141
- NOVALES FLAMARIQUE I, OLDENBOURG R and HAROSI F I (1995)  
Transmission of polarized light through sunfish double cones  
reveals minute optical anisotropies.  
Biol Bull 189: 220-222



- NOVALES FLAMARIQUE I and HAWRYSHYN C W (1996)  
Retinal development and visual sensitivity of young pacific sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*).  
J Exp Biol 199: 869-882
- NOVALES FLAMARIQUE I and HAWRYSHYN C W (1997a)  
Is the use of underwater polarized light by fish restricted to crepuscular time periods?  
Vis Res 37(8): 975-989
- NOVALES FLAMARIQUE I and HAWRYSHYN C W (1997b)  
No evidence of polarization sensitivity in freshwater sunfish from multi-unit optic nerve recordings.  
Vis Res 37(8): 967-973
- NOVALES FLAMARIQUE I and HAWRYSHYN C W (1998a)  
The common white sucker (*Catostomus commersoni*): a fish with ultraviolet sensitivity that lacks polarization sensitivity.  
J Comp Physiol 182: 331-341
- NOVALES FLAMARIQUE I and HAWRYSHYN C W (1998b)  
Photoreceptor types and their relation to the spectral and polarization sensitivities of clupeid fishes.  
J Comp Physiol 182: 793-803
- NOVALES FLAMARIQUE I, HAWRYSHYN C W and HAROSI F I (1998)  
Double-cone internal reflection as a basis for polarization detection in fish  
J Opt Soc Am A 15(2): 349-358

## O

- O'CONNELL C P (1963)  
The structure of the eye of *Sardinops caerulea*, *Engraulis mordax*, and four other pelagic marine teleosts.  
J Morph 113: 287-329
- O'DAY W T and FERNANDEZ H R (1974)  
*Aristostomias scintillans* (Malacosteidae): a deep-sea fish with visual pigments apparently adapted to its own bioluminescence.  
Vis Res 14: 545-550
- OBATA S and USUKURA J (1992)  
Morphogenesis of the photoreceptor outer segment during postnatal development in the mouse (BALB/c) retina.  
Cell Tiss Res 269:39-48
- OKUTANI T (1962)  
Diet of the common squid, *Ommastrephes sloani pacificus* landed near to Ito Port, Shizuoka Prefecture.  
Bull Tokai Reg Fish Res Lab 32: 41-47
- OTT J (1988)  
Meereskunde - Kap. 2.3.1 Licht im Meer.  
Ulmer Taschenbuch: 108-113

## P

- PAGH-ROEHL K, BRANDENBURGER J, WANG E and BURNSIDE B (1992)  
Actin-dependent myoid elongation in teleost rod inner/outer segments occurs in the absence of net actin polymerisation.  
Cell Motility and the Cytoskeleton 21: 235-251
- PAINTINGS S (1999)  
[www.cbl.cees.edu/fogarty/usglobec/news/news5/news5.sarp.html](http://www.cbl.cees.edu/fogarty/usglobec/news/news5/news5.sarp.html)  
Sea Fisheries Research Institute, Rogge Bay, South Africa
- PALOMERA I and RUBIES P (eds) (1996)  
The european anchovy and its environment.  
Scientia Marina 60 Suppl 2: 299pp

- PARKER G H (1932)  
The movements of the retinal pigment.  
*Ergebnisse der Biologie* 9: 231-291
- PARKYN D C and HAWRYSHYN C W (1993)  
Polarized-light sensitivity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*):  
characterization from multi unit responses in the optic nerve fibres.  
*J Comp Physiol A* 172: 493-500
- PARTHE V (1972)  
Horizontal, bipolar and oligopolar cells in the teleost retina.  
*Vis Res* 12: 395-406
- PEDLER C and TANSLEY K (1963)  
The fine structure of the cone of a diurnal gecko (*Phelsuma inunguis*).  
*Expl Eye Res* 2: 39-47
- PETERSON C S (1956)  
Observations on the taxonomy, biology and ecology of the engraulid and clupeid fishes  
in the Gulf of Nicoya, Costa Rica.  
*Inter-Amer Trop Tuna Comm Bull* 1(5): 137-212
- PILGRIM D A, REDFERN T A, MACLACHLAN G S and MARSH R I (1989)  
Estimation of optical coefficients from diver observations of visibility.  
*Prog Underwater Sci* 14: 33-52
- POO M and CONE R A (1974)  
Lateral diffusion of rhodopsin in the photoreceptor membrane.  
*Nature* 247: 438-441
- POWERS M K and EASTER S S jr (1978)  
Absolute visual sensitivity of the goldfish.  
*Vis Res* 18: 1137-1147
- POWERS M K and RAYMOND P A (1990)  
Development of the visual system.  
in: Douglas R H and Djamgoz M B A (eds) *The visual system of fish*.  
Chapman and Hall London: 419-442
- PRFOC: Pacific Region Fisheries and Oceans Canada (1999)  
<http://www.pac.dfo-mpo.gc.ca/OPS/FM/Herring/anchovy.htm>
- PROTASOV V P, ALTUKHOV Y P and KOVALEVA N D (1960)  
Morphological and functional features of the transition from day vision to twilight vision  
in some Black Sea fish.  
*Dokl Biol Sci Lett* 134: 694-696 (Original: *Dokl Akad Nauk SSSR* 134(1): 195-198)

## R

- RAVIOLA E and GILULA B N (1973)  
Gap junctions between photoreceptor cells in the vertebrate retina.  
*Proc Nat Acad Sci USA* 70: 1677-1681
- RAYMOND P A (1985)  
Cytodifferentiation of photoreceptors in larval goldfish: delayed maturation of rods.  
*J Comp Neurol* 236(1): 90-105
- RECKEL F, MELZER R R and SMOLA U (1998)  
Ultrastructure of the retina of two subspecies of *Coregonus lavaretus* (Teleostei)  
from lake Constance (Germany).  
*Acta Zoologica* 80: 153-162
- RICHTER A and SIMON E J (1974)  
Electrical responses of double cones in turtle retina.  
*J Physiol* 242: 673-683
- ROWE M, ENGHETA N and PUGHE N jr (1991)  
Can birefringence explain the polarization analyzing capability of teleost double cones?  
*Soc Neurosci Abstr* 17: 297
- RUSOFF A C and EASTER S S jr (1980)  
Order in the optic nerve of goldfish.  
*Science* 208: 311-312

RYDER J A (1895)

An arrangement of the retinal cells in the eyes of fishes partially simulating compound eyes.  
Proc Acad Natl Sci Philadelphia: 161-166

## S

SAIDEL W M, LETTVIN JY and MACNICHOL E F jr (1983)

Processing of polarized light by squid photoreceptors.  
Nature 304: 534-536

SANDY J M and BLAXTER J H S (1980)

A study of retinal development in larval herring and sole.  
J Mar Biol Assoc UK 60: 59-71

SAXEN L (1953)

An atypical form of the double visual cell in the frog (*Rana temporaria* L.).  
Acta anat 19: 190-196

SCHAEFER M B (1954)

Report on the investigations of the Inter-American Tropical Tuna Commission during the year 1953.  
Inter-Amer Trop Tuna Comm Ann Rep 1953: 18-50

SCHILLER P H (1992)

The ON and OFF channels of the visual system.  
TINS 15(3): 86-92

SCHMIDT W J (1935)

Doppelbrechung, Dichroismus und Feinbau des Außengliedes der Sehzellen vom Frosch.  
Z Zellforsch 22: 485-522

SCHOLESJ and MORRIS J (1973)

Receptor-bipolar connectivity patterns in fish retina.  
Nature 241: 52-54

SCHOLESJ H (1975)

Colour receptors, and their synaptic connexions, in the retina of a cyprinid fish.  
Phil Trans R Soc B 270: 61-118

SCHOLESJ H (1979)

Nerve fibre topography in the retinal projection to the tectum.  
Nature 278: 620-624

SCHUBERT K (1970)

in: Grzimek B (ed) Grzimeks Tierleben - Enzyklopädie des Tierreichs Bd 4 Kap 10:  
Kindler Verlag AG Zürich

SCHWANZARA S A (1967)

The visual pigments of freshwater fishes.  
Vis Res 7: 121-148

SCHWASSMANN H O and HASLER A D (1964)

The role of the sun's altitude in the sun orientation of fish.  
Physiol Zool 37: 163-178

SCHWASSMANN H O (1965)

Functional development of visual pathways in larval sardines and anchovies.  
Rept Calif coop oceanic Fish Invest 10: 64-70

SEKERA Z (1955)

Investigation of polarization of daylight.  
Univ of California (LA) - Dept of Meteorology: Final Report

SELVIN DE TESTA A (1966)

Morphological studies on the horizontal and amacrine cells of the teleost retina.  
Vis Res 6: 51-59

SHAPLEY R and GORDON J (1980)

The visual sensitivity of the retina of the conger eel.  
Proc R Soc Lond B 209: 317-330

- SHASHAR N and CRONIN T W (1996)  
Polarization contrast vision in *in octopus*.  
J Exp Biol 199: 999-1004
- SHASHAR N, RUTLEDGE P R and CRONIN T W (1996)  
Polarization vision in cuttlefish - a concealed communication channel?  
J Exp Biol 199: 2077-2084
- SMOLA U and TSCHARNTKE H (1979)  
Twisted rhabdomeres in the dipteran eye.  
J Comp Physiol 133: 291-297
- SMOLA U and WUNDERER H (1981)  
Fly rhabdomeres twist in vivo.  
J Comp Physiol 142: 43-49
- SNYDER A W (1973)  
Polarization sensitivity of individual retinula cells.  
J Comp Physiol 83: 331-360
- SNYDER A W and LAUGHLIN S B (1975)  
Dichroism and absorption by photoreceptors.  
J Comp Physiol 100: 101-116
- SOMIYA H (1980)  
Fishes with eye shine: functional morphology of guanine type tapetum lucidum.  
Mar Ecol Prog Ser 2: 9-26
- STEINBERG R H, REID M and LACY P L (1973)  
The distribution of rods and cones in the retina of the cat (*Felis domesticus*).  
J Comp Neurol 148(2): 229-248
- STELL W K (1967)  
The structure and relationships of horizontal cells and photoreceptor-bipolar synaptic complexes in the goldfish retina.  
Am J Anat 121: 401-423
- STELL W K and LIGHTFOOD D O (1975)  
Color-specific interconnections of cones and horizontal cells in the retina of the goldfish.  
J Comp Neurol 159: 473-502
- STELL W K, ISHIDA A T and LIGHTFOOT D O (1977)  
Structural basis for on- and off-center responses in retinal bipolar cells.  
Science 198: 1269-1271
- STERLING P, FREED M and SMITH R G (1986)  
Microcircuitry and functional architecture of the cat retina.  
TINS 9(5): 186-192
- STEWART K W (1962)  
Observations on the morphology and optical properties of the adipose eyelid of fishes.  
J Fish Res Bd Canada 19: 1161-1162
- STRYER L (1990)  
Biochemie.  
Spektrum Heidelberg: 1127pp
- SVERDLICK J (1940)  
Conos y bastoncitos.  
Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Médicas de Buenos Aires: 109pp.
- SVERDLICK J (1955)  
Significación histobiológica de los conos dobles y gemelos  
en la retina de ciertos peses óseos (teleosteos).  
Arch Histol Normal Pathol 6: 117-122

## T

- TAKAHASHI T, ICHIKAWA M and KUROKI T (zitiert in KAWAMURA et al. 1981)  
Ann Meet Jp Soc Sci Fish am 2. April 1979 in Tokyo
- TAKITA T (1967)  
The spawning and the early Life history of the Engraulid Fish *Coilia* sp.  
distributed in Ariake Sound.  
Nagasaki Daigaku Suisangakubu Kenkyu-Houkoku 23: 107-122  
(Bul Fac Fish Nagasaki Univ 23: 107-122)
- TANAKA K and NAGURO T (1981)  
High resolution scanning electron microscopy of cell organelles  
by a new specimen preparation method.  
Biomed Res 2: 63-70
- TANAKA K and MITSUSHIMA A (1984)  
A preparation method for observing intracellular structures  
by scanning electron microscopy.  
J Microsc 133: 213-222
- THORNTON JE and PUGH EN jr (1983)  
Red/green color opponency at detection threshold.  
Science 219: 191-193
- TOKUYASU K and YAMADA E (1959)  
The fine structure of the retina studied with the electron microscope.  
IV. Morphogenesis of outer segments of retinal rods.  
J Biophys Biochem Cytol 6: 225-230
- TOYODA J-I, SAITO T and KONDO H (1978)  
Three types of horizontal cells in the stingray retina: their morphology and physiology.  
J Comp Neurol 179: 569-580

## U

- UMMINGER B R (1968)  
Polarotaxis in copepods: I. An endogenous rhythm in polarotaxis in *Cyclops vernalis*  
and its relation to vertical migration.  
Biol Bull 135: 239-251
- UNDERWOOD G (1951)  
Reptilian retinas.  
Nature 167: 183-185

## V

- VERHEIJEN F J (1959)  
A peculiar nystagmus and a corresponding foveal structure  
in the eye of the herring (*Clupea harengus* L.).  
Experientia 15: 443-444
- VERRIER M L (1928)  
Recherches sur les yeux et la vision des poissons.  
Bull Biol France Belg Suppl 11
- VILTER V (1950)  
Adaptation biologique de l'appareil visuel et les structures rétinienne de la sardine.  
Comptes Rendus Séances Soc Biol 144: 200-203
- VRABEC F (1966)  
A new finding in the retina of a marine teleost, *Callionymus lyra* L.  
Folia Morphol 14: 143-147

## W

- WAGNER H G, MACNICHOL E F and WOLBARSH T M L (1960)  
Science 131: 1314
- WAGNER H-J (1972)  
Vergleichende Untersuchungen über das Muster der Sehzellen und Horizontalen  
in der Teleostierretina (Pisces).  
Z Morphol Tiere 72: 77-130
- WAGNER H-J (1975)  
Comparative analysis of the patterns of receptor and horizontal cells in teleost fishes.  
in: Ali 1985 (ed) Vision in Fishes - New Approaches in Research.  
New York Plenum Press: 517-524
- WAGNER H-J (1976)  
The connectivity of cones and cone horizontal cells in a mosaic-type teleost retina.  
Cell Tiss Res 175: 85-100
- WAGNER H-J, MENEZES N A and ALI M A (1976)  
Retinal adaptations in some Brazilian tide pool fishes.  
Zoomorphology 83: 209-226
- WAGNER H-J and ALI M A (1977)  
Cone synaptic ribbons and retinomotoric changes in the brook trout *Salvelinus fontinalis*  
(Salmonidae, Teleostei), under various experimental conditions.  
Can J Zool 55: 1684-1691
- WAGNER H J (1978)  
Cell types and connectivity patterns in mosaic retinas.  
Adv Anat Embryol Cell Biol 55(3): 1-81
- WAGNER H-J (1990)  
Retinal structure of fishes.  
in: Douglas R H and Djamgoz M B A (eds) The visual system of fish.  
Chapman and Hall London: 109-157
- WAHL C M (1994)  
Periodic cone cell twist in the walleye *Stizostedion vitreum*;  
a new type of retinomotor activity.  
Vis Res 34(1): 11-18
- WAHLERT G, von (1961)  
Entstehung der Plattfische durch ökologischen Funktionswechsel.  
Zool Jb Syst 89: 1-42
- WALD G, BROWN P K and GIBBONS I R (1963)  
The problem of visual excitation.  
J Opt Soc Am 53(1): 20-35
- WALLS G L (1942)  
The vertebrate eye and its adaptive radiation.  
Hafner Publishing Co New York
- WANG J C S 1986  
IESP Technical Report 9  
<http://galaxy.cs.berkeley.edu/kopec/tr9/html/fam-anchovies.html>
- WANG S B and HONDE E D (1995)  
Distribution, relative abundance, biomass and productivity of the bay anchovy  
*Anchoa mitchilli* in the Chesapeake Bay.  
MEPS 121: 27-38
- WATERMAN T H (1954)  
Polarization patterns in submarine illumination.  
Science 120: 927-932
- WATERMAN T H and WESTELL W E (1956)  
Quantitative effect of the sun's position on submarine light polarization.  
J Mar Res 15: 149-169
- WATERMAN T H (1959)  
The problem of polarized light sensitivity.  
Proc Int Congr Zool 15: 537-539

- WATERMAN T H and HORCH K W (1966)  
Mechanism of polarized light perception.  
Science 154: 467-475
- WATERMAN T H and FORWARD R B jr (1970)  
Field evidence for polarized light sensitivity in the fish *Zenarchopterus*.  
Nature 228: 85-87
- WATERMAN T H and FORWARD R B jr (1972)  
Field demonstration of polarotaxis in the fish *Zenarchopterus*.  
J Exp Zool 180: 33-54
- WATERMAN T H (1972)  
Visual direction finding by fishes.  
in: Galler S R, Schmidt-Koenig K, Jacobs G J and Belleville R E (eds)  
Animal orientation and navigation. NASA Washington
- WATERMAN T H and AOKI K (1974)  
E-Vector sensitivity patterns in the goldfish optic tectum.  
J Comp Physiol 95: 13-27
- WATERMAN T H and HASHIMOTO H (1974)  
E-Vector discrimination by the goldfish optic tectum.  
J Comp Physiol 95: 1-12
- WATERMAN T H (1975)  
Natural polarized light and e-vector discrimination by vertebrates.  
in: Evans G C, Bainbridge R and Rackham O (eds) Light as an ecological factor.  
Blackwell Oxford: 305-335
- WATERMAN T H (1981)  
Polarization sensitivity.  
in: Autrum H (ed) Handbook of sensory physiology VII/6c  
Springer-Verlag Berlin: 281-469
- WATERMAN T H (1989)  
Animal Navigation.  
W H Freeman and Company New York
- WEHNER R, BERNARD G D and GEIGER E (1975)  
Twisted and non-twisted rhabdoms  
and their significance for polarization detection in the bee.  
J Comp Physiol 104: 225-245
- WEHNER R (1989a)  
Neurobiology of polarization vision.  
TINS 12(9): 353-359
- WEHNER R (1989b)  
The hymenopteran skylight compass: matched filtering and parallel coding.  
J Exp Biol 146: 63-85
- WEHNER R and GERING W (1990)  
Zoologie. 22. Auflage  
Tieme Verlag Stuttgart, New York
- WEHNER R and BERNARD G D (1993)  
Photoreceptor twist a solution to the false-color problem.  
Proc Natl Acad Sci USA 90: 4132-4135
- WEHNER R (1994)  
The polarisation-vision project: championing organismic biology.  
in: Schildberger K and Elsner N (eds) Fortschritte der Zoologie 39  
- Neuronal basis of behavioural adaptations.  
Gustav-Fischer Stuttgart, Jena, New York
- WERBLIN F S and DOWLING J E (1969)  
Organization of the retina of the mudpuppy, *Necturus maculosus*. II. Intracellular recording.  
J Neurophysiol 32: 339-355
- WHITEHEAD P J P (1985)  
FAO species catalogue Vol 7  
Clupeoid fishes of the world. Part 1 Chirocentridae, Clupeidae and Pristigasteridae.  
FAO fisheries synopsis No 125: 303 pp

- WHITEHEAD P J P, NELSON G J and WONGRATANA T (1988)  
FAO species catalogue Vol 7 Clupeoid fishes of the world. Part 2 Engraulidae.  
FAO fisheries synopsis No 125: 305-579
- WOLFF T and READY D F (1993)  
Pattern formation in the *Drosophila* retina.  
in: Lawrence P & Martinez A M (eds) The development of *Drosophila melanogaster*.  
Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Springs: 1277-1325
- WUNDER W (1930)  
Bau und Funktion der Netzhaut beim Zander (*Lucioperca sandra* Cuv. und Val.)  
und einigen anderen im Balatonsee häufigen Fischarten.  
Z vergl Physiol 11: 749-766

## Y

- YACOB A, WISE C and KUNZ Y W (1977)  
The accessory outer segment of rods and cones in the retina of the Guppy,  
*Poecilia reticulata* P. (Teleostei).  
Cell Tiss Res 177: 181-193
- Young R W (1974)  
Biogenesis and renewal of visual cell outer segment membranes.  
Exptl Eye Res 18: 215-223
- YOUNG S R and MARTIN G R (1984)  
Optics of retinal oil droplets:  
a model of light collection and polarization detection in the avian retina.  
Vis Res 24: 129-137

## Z

- ZUEVA L V (1980)  
Retinal cones of the black sea anchovy *Engraulis encrasicolus*  
- an analyzer of polarized light in vertebrates.  
Zhurnal Évolutsionni Biokimii i Fiziologii 17(6): 602-605  
(englische Übersetzung in: J Evol Biochem Physiol 1982)
- ZYZNAR E S and NICOL J A C (1973)  
Reflecting materials in the eyes of three teleosts,  
*Orthopristes chrysopterus*, *Dorosoma cepedianum* and *Anchoa mitchilli*  
Proc R Soc Lond B 184: 15-27
- ZYZNAR E (1975a)  
Tapeta lucida and the organisation of visual cells in teleosts  
in Ali M A (ed): Vision in Fishes - New Approaches in Research.  
New York Plenum Press: 299-304
- ZYZNAR E (1975b)  
Theoretical considerations about tapeta lucida  
in Ali M A (ed): Vision in Fishes - New Approaches in Research.  
New York Plenum Press: 305-312
- ZYZNAR E and ALI M A (1975)  
An interpretative study of the organisation of the visual cells  
and tapetum lucidum of *Stizostedion*.  
Can J Zool 53(2): 180-196



## Dank

Mein Dank gilt all denen, die mich zur Zoologie gebracht, auf meinem Weg begleitet und unmittelbar oder indirekt zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

**Prof. Dr. Ulrich Smola** für das Thema und die Infrastruktur, für die vielen gemeinsamen Exkursionen und Diskussionen, und für ein „Zuhause“ am Zoologischen Institut mit freien Entfaltungsmöglichkeiten - weit über die Dissertation hinaus.

**PD Dr. Roland Melzer** für seine Unterstützung in fachlichen wie methodischen Fragen zu jeder Tages- und Nachtzeit, für zahlreiche Anregungen und konstruktive Kritik, und für seine Begleitung auf vielen meiner Fahrten.

**Tullio Bozaci** und anderen Fischern aus Rovinj, ohne die mir der Zugang zu lebenden Sardellen unmöglich gewesen wäre, **Prof. Dr. C. Lucu** für die freundliche Zurverfügungstellung eines Arbeitsplatzes im Ruder-Bošković-Institut in Rovinj und **Alenka Kerin** für ihre Hilfe bei der Kommunikation.

**Prof. Dr. Seiichi Matsui** aus Fukuoka für die bereitwillige Versorgung mit fixierten Grenadieranchovies, sowie den „modern“ denkenden Ichthyologen zoologischer Sammlungen, für die Erlaubnis, mit dem Skalpell auf ihr wertvolles Material einwirken zu dürfen.

**Timo Zimmermann** für die geduldige und allzeit unverzügliche Beseitigung von Computerproblemen, für die Maßschneidung von Makros zur digitalen Bildverarbeitung und für die Einführung in die Lasermikroskopie

**Prof. Dr. George Boyan** und **Prof. Dr. Anton Roth** für den Zugang zu ihren Elektrodenpullern, sowie **Dr. Peitl** und **Iris Hack** (MPI Frankfurt) für ihre wertvollen Tips in Sachen Mikroinjektion.

**Daniela Nicastro, Frank Reckel, Christine Dunkel** und **Michael Schmelzle** für ihre Hilfe und Begleitung bei der Materialbeschaffung, **Christoph Haacke** zudem für seine umfangreichen redaktionellen Bemühungen und die moralische Unterstützung in allen Lebenslagen über wie unter Wasser.

**Kota Miura** und **Olga Aleksandrova** für ihre unbezahlbaren (und unbezahlten) Übersetzungshilfen aus dem Japanischen bzw. aus dem Russischen.

Diese Arbeit wurde teilweise gefördert mit einem Promotionsstipendium der **Konrad-Adenauer-Stiftung**.

## Publikationen

### Originalarbeiten

MELZER R R, HEß M, DUNKEL C, LUDWIG P and SMOLA U (1995)

Fine structure of the "slit organs" of the pycnogonid  
*Anoplodactylus petiolatus*. (Pantopoda; Anoplodactylidae).  
*Acta Zoologica* 77(2): 167-171

HEß M, MELZER R R and SMOLA U (1996)

The eyes of a "nobody", *Anoplodactylus petiolatus*  
(Pantopoda; Anoplodactylidae).  
*Helgoländer Meeresuntersuchungen* 50: 25-36

HEß M, MELZER R R and SMOLA U (1998)

The photoreceptors of *Muraena helena* (Linnaeus 1758)  
(Teleostei: Muraenidae) and *Ariosoma balearicum*  
(Delaroche 1809) (Teleostei: Congridae)  
- a comparison of multiple bank retinæ in Anguilliformes.  
*Zoologischer Anzeiger* 237: 127-137

HEß M, MELZER R R and SMOLA U (2000\*)

The pattern of cone-pedicles in the retina of the European  
anchovy, *Engraulis encrasicolus* L. (Engraulidae, Clupeiformes)  
\* zur Publikation eingereicht bei CTR

HAACKE C, HEß M, MELZER R R, GEBHART H and SMOLA U (2000\*)

Fine structure and development of the retina of the grenadier  
anchovy *Coilia nasus* (Engraulididae, Clupeiformes).  
\* zur Publikation eingereicht bei J Morph

## **Kurze Originalmitteilungen mit Posterdemonstration**

HEß M, MELZER R R and SMOLA U (Kaiserslautern 1995)

Die mehrreihige Retina des Balearencongors

*Ariosoma balearicum*.

Verh Dt Zool Ges 88: 163

HEß M, MELZER R R and SMOLA U (Oldenburg 1996)

Die Photorezeptoren der Europäischen Sardelle

*Engraulis encrasicolus* L. (Engraulidae, Clupeiformes).

Verh Dt Zool Ges 89: 212

HEß M, MELZER R R and SMOLA U (Göttingen 1997)

The pattern of cone-pedicles in the retina of the European

anchovy, *Engraulis encrasicolus* L. (Engraulidae, Clupeiformes).

Proc 25th Göttingen Neurobiology Conf Vol 1: 489

HEß M, MELZER R R and SMOLA U (Leipzig 1998)

Density map and patterns of cone photoreceptors in the retina of  
the European anchovy *Engraulis encrasicolus* L.

(Engraulidae, Clupeiformes).

ZACS 101 Suppl 1: 38

HEß M, MELZER R R, ESER R and SMOLA U (Innsbruck 1999)

A comparative study on the fine structure  
of clupeoid outer retinae.

ZACS 102 Suppl 2: 41

## Bildungsweg

Name: Martin Heß  
Geburtstag: 28.08.1967  
Geburtsort: Rehau/Hof  
Familienstand: ledig  
Staatsangehörigkeit: deutsch



### Schulausbildung

09.73 - 08.81 Grundsschule und Gymnasien  
in Aschaffenburg und Rosenheim  
09.81 - 05.87 Internat und Gymnasium Gars am Inn  
Abschluß mit dem Abitur (LK Biologie & Physik)

### Zivildienst

06.87 - 10.88 Zivildienst als Pflegediensthelfer  
an der Poliklinik der LMU-München

### Studium

11.88 - 06.94 Studium der Biologie und Chemie (LAGym)  
an der LMU-München

Schwerpunktbildung in  
Elektronenmikroskopie & Meeresbiologie

01.93 - 06.93 Anfertigung einer Zulassungsarbeit zum Thema:  
“Feinstrukturelle Untersuchungen am Augenhügel  
von Pantopoden”

Betreuung meeresbiologischer Exkursionen nach  
Rovinj, Sylt, Banyuls, Calvi und El Quseir

10 Monate Bio- und Tauchassistent  
am IfMB auf Giglio (Italien)

04.94-06.94 Erstes Staatsexamen

## **Beruf**

10.94 - 12.95            Wissenschaftlicher Angestellter  
am Zoologischen Institut der LMU  
in der Abteilung von Prof. Dr. U. Smola  
- Arbeiten an Aalretinae -

## **Fortbildung**

05. und 08.95            Ausbildung und Prüfung zum Forschungstaucher  
(Ausbilder 1996, 1998)

10.96                    staatl. Prüfung zum VDTL-Fachsportlehrer Tauchen  
(Prüfer seit 1999)

## **Promotion**

04.95 - 12.99            Anfertigung der vorliegenden Dissertation

09.96 - 05.99            ... als Stipendiat der Konrad-Adenauer-Stiftung