

4.6 Die Pars Intercerebralis im Gehirn von Insekten

Die Pars Intercerebralis des Insektengehirns ist eine Ansammlung von Zellkörpern des Protocerebrums und befindet sich zwischen den beiden Pilzkörpern der Gehirnhemisphären und anterior-ventral zum Zentralkörper (Abb 29). Sie wurde zum ersten Mal von Haller (1905) im Gehirn der Biene beschrieben. Die Verwendung des Begriffs Pars Intercerebralis ist bisher in der Literatur nicht einheitlich und wird von einigen Autoren (z. B. Carrow et al., 1984; Chiang et al., 1999) sogar als Synonym für die "median neurosecretory cells" verstanden, ohne die weiteren in diesem Bereich enthaltenen Zellen zu berücksichtigen. Kapitel 4.6 beschreibt die Entwicklung der Pars Intercerebralis als Ganzem, ihrem Ursprung im Bereich der Mittellinie des embryonalen Gehirns und der Entwicklung einzelner identifizierter Zellen in diesem Gehirnbereich.

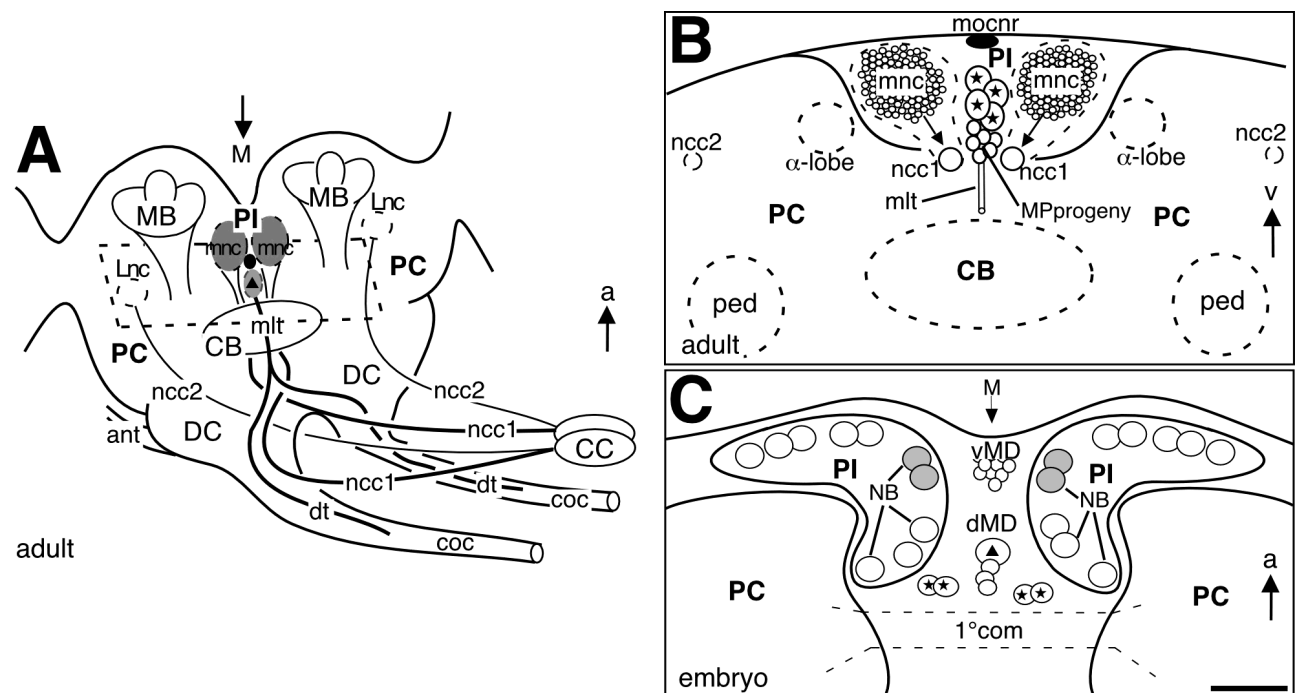


Abb. 29. Die Pars Intercerebralis (PI) im adulten und embryonalen Gehirn von Insekten am Beispiel von *Schistocerca gregaria*. **A:** Die Pars Intercerebralis (PI) befindet sich im adulten Insektengehirn im Bereich der Mittellinie (M) zwischen den beiden Pilzkörpern (MB) und ventral des Zentralkörpers (CB). Sie besteht aus den beiden Zellclustern der "median neurosecretory cells" (mnc) und Zellen (schwarzes Dreieck), die von der embryonalen "median domain" (vgl. Abb. 1C) abstammen. Die Axone der mnc verlaufen in den Corpora cardiaca Nerven 1 (ncc1), während die Axone der anderen Zellgruppe (schwarzes Dreieck) sich im "midline tract" (mlt) finden und über den "dorsal tract" der circumösophagealen Konnektive (coc) zum ventralen Nervensystem weiterwachsen. Die beiden Zellgruppen der "lateral neurosecretory cells" (Lnc) befinden sich im Protocerebrum (PC) und bilden mit ihren Axonen die Corpora cardiaca Nerven 2 (ncc2). Der schwarze Punkt in der Mittellinie markiert den Nerv des medianen Ocellus (mocrn). Der Bereich des gestrichelten Rechtecks wird in stärkerer Vergrößerung in B für das adulte und in C für das embryonale Gehirn dargestellt. ant, Antennennerv; DC, Deutocerebrum. Der Orientierungspfeil weist nach anterior (a). **B:** Der Schnitt durch das adulte Gehirn auf der Ebene des Zentralkörpers (CB, gestrichelte Linie) beschreibt Zellen, welche die Pars Intercerebralis (PI) bilden. Die "median neurosecretory cells" (mnc) bestehen aus einer großen Zahl von Zellen, deren Axone den ncc1 bilden (Pfeile). Die "primary commissure pioneers" (schwarze Sterne) und die Tochterzellen des "median precursors" ("MPprogeny"), die aus der embryonalen "dorsal median domain" stammen, liegen in der Mittellinie des Gehirns, dorsal vom Nerv des medianen Ocellus (mocrn). Ihre Axone projizieren in den "midline tract" (mlt). Die α -Loben und Pedunculi der Pilzkörper werden durch gestrichelte Kreise angezeigt. Der Pfeil zeigt nach ventral (v). **C:** Die embryonale PI besteht aus zwei Streifen von Neuroblasten (NB) an den medialen Rändern des Protocerebrums auf beiden Seiten der Mittellinie (M). Die Neuroblasten 9 und 11 (grau unterlegt) werden später die mnc bilden. Die "median domain" setzt sich aus einer "ventral median domain" (vMD), die später den medianen Ocellus bildet, und einer "dorsal median domain" (dMD) mit den identifizierten "primary commissure pioneers" und dem "median precursor" (Dreieck) und seinen Tochterzellen zusammen. Dorsal dazu befindet sich die "primary commissure" (1°com). Der Pfeil zeigt nach anterior (a). Maßstab: A = 250µm, B = 100µm, C = 60µm.

In dieser Arbeit wird gezeigt, dass die Pars Intercerebralis des adulten Gehirns von *Schistocerca gregaria* ein Fusionsprodukt unterschiedlicher Bestandteile des embryonalen Gehirns ist und damit auf der Basis ihrer Entstehung während der embryonalen Entwicklung definiert werden kann. Darüber hinaus zeigen die Ergebnisse zum Bau der Pars Intercerebralis bei anderen Insekten (Kapitel 4.6.5), dass ihre Entwicklung und die zelluläre Zusammensetzung bei allen bisher untersuchten Vertretern übereinstimmt ist.

4.6.1 Die Organisation der Pars Intercerebralis im adulten Gehirn von *Schistocerca gregaria*

Die hier durchgeführte Untersuchung zur Entwicklung der Pars Intercerebralis beschränkt sich auf die "median neurosecretory cells" (vgl. Rowell, 1976) und die Neuronen, die von der embryonalen "median domain" stammen (Abb. 29C, vgl. Kapitel 4.1.3). Zellen aus der embryonalen Pars Intercerebralis, die zum Beispiel zur Bildung des Zentralkörpers beitragen (Boyan und Williams, 1997), werden hier nicht berücksichtigt.

In der Pars Intercerebralis des adulten Heuschreckengehirns bilden die "median neurosecretory cells" (mnc, Abb. 29B) eine homogene Gruppe von 1500 - 2000 Zellen in der Mittellinie des Gehirns. Ihre Axone ziehen in den Corpora cardiaca Nerven 1 ventral um den Zentralkörper herum und verbinden das Gehirn mit der Corpora cardiaca (Abb. 29A). In der Mittellinie des Gehirns, in der Pars Intercerebralis, können darüber hinaus noch 10 weitere Zellen identifiziert werden (Abb. 29B), deren Axone im "midline tract" dorsal um den Zentralkörper herum verlaufen (Abb. 29A). Diese Gruppe von Zellen enthält die vier bereits früher identifizierten "primary commissure pioneers" (PCP, Abb. 29B, C; Boyan et al., 1995) und die Tochterzellen des "median precursors" (MP, Abb. 29B, C). Diese beiden Zelltypen sind bereits im frühembryonalen Gehirn als Teil der "dorsal median domain" (dMD, Abb. 29C) vorhanden.

4.6.2 Identifikation einzelner Zelltypen in der Pars Intercerebralis des adulten Gehirns

Mit Hilfe von Cobalt-Rückfärbungen, immunhistochemischen Färbungen und histologischen Methoden wurden die oben beschriebenen Zelltypen (vgl. Abb. 29B, C) in der Pars Intercerebralis des adulten Heuschreckengehirns identifiziert. Einseitige Cobalt-Rückfärbungen (Abb. 30A) von den subösophagealen Konnektiven aus zeigen drei Zellen mittlerer Größe in der Mittellinie des Gehirns ventral zu den "median neurosecretory cells" (mnc) und zwischen den Corpora cardiaca Nerven 1 (ncc1). Die Axone dieser Zellen verlaufen im "midline tract" um den Zentralkörper herum und steigen dann zum Bauchmark ab. Diese Zellen entsprechen den Tochterzellen des "median precursors", deren Entwicklung im embryonalen Gehirn bereits in Kapitel 4.1 beschrieben wurde. Bestätigt werden die Ergebnisse der Cobalt -Rückfärbungen durch histologische Färbungen (Abb. 30D, 31D), in denen die Tochterzellen des "median precursors" mit der oben beschriebenen Morphologie identifiziert werden können.

Anhand ihrer TERM-1-Expression können die vier "primary commissure pioneers" (Kapitel 4.3) ebenfalls in der Pars Intercerebralis identifiziert werden (Abb. 30B). Die Zellkörper der PCP Neuronen befinden sich in der Mittellinie des Gehirns, ventral zu den Corpora cardiaca Nerven 1. Ihre Axone verlaufen ebenfalls im "midline tract" rund um den Zentralkörper. Die PCP Neuronen bilden in allen großen Gehirnbereichen, außer den Pilzkörpern, umfangreiche TERM-1-immunoreaktive Verzweigungen.

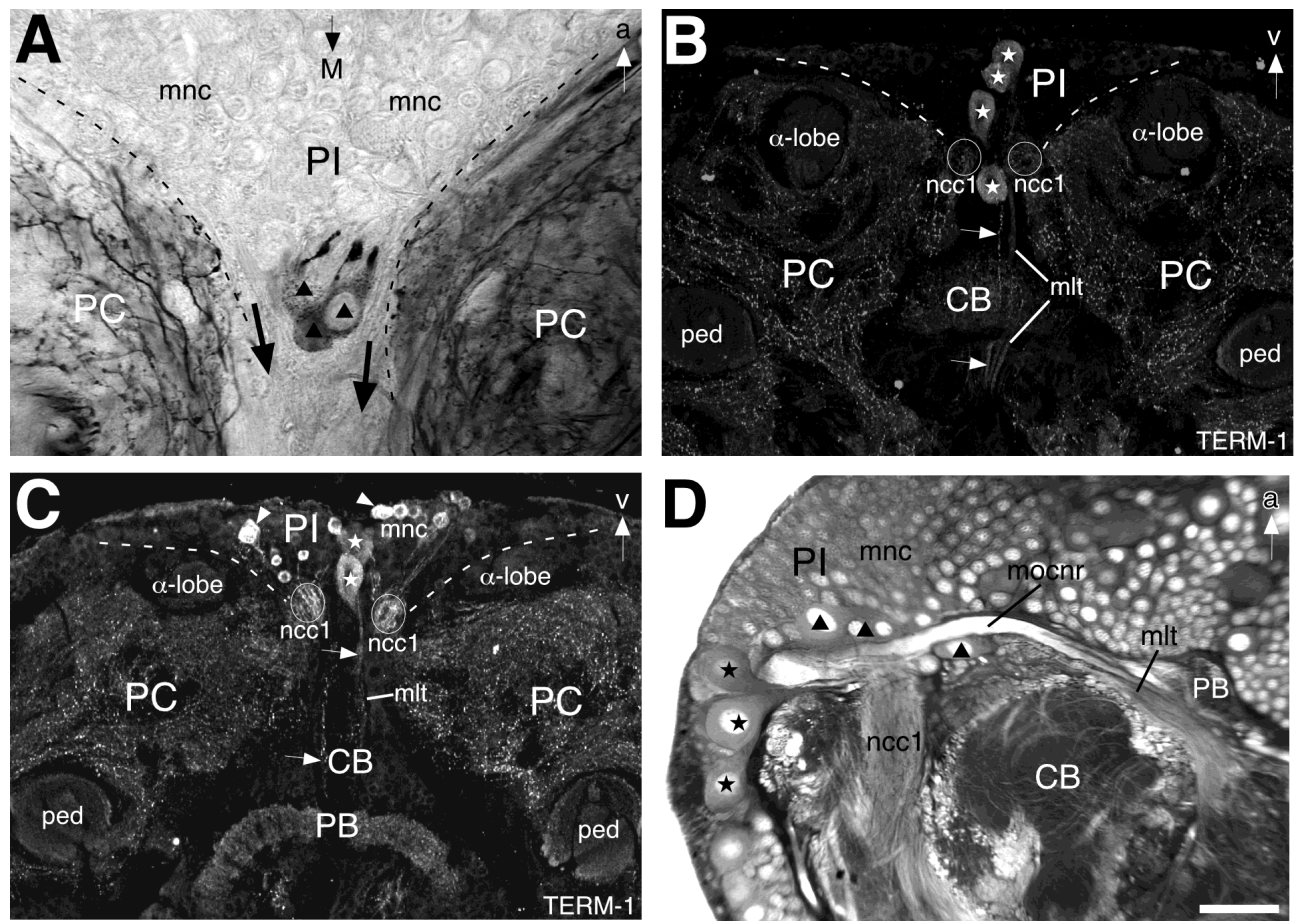


Abb. 30. Identifizierte Zellen in der Pars Intercerebralis (PI) adulter Heuschrecken. **A:** Unilaterale Cobalt Rückfärbung von den subösophagealen Konnektiven aus. In der Mittellinie (M) des Gehirns von *Schistocerca gregaria* werden durch die Cobalt-Färbung drei der sechs Tochterzellen des "median precursors" in der PI (schwarze gestrichelte Linie) angefärbt. Sie liegen ventral zu den "median neurosecretory cells" (mnc) und medial zwischen den beiden Corpora cardiaca Nerven 1 (schwarze große Pfeile). Im Protocerebrum (PC) finden sich Axone und Dendriten von anderen mit Cobalt gefüllten Zellen. Der Orientierungspfeil zeigt nach anterior (a). **B:** Der Horizontalschnitt (*Schistocerca gregaria*) auf der Ebene des Zentralkörpers (CB) zeigt die vier TERM-1-immunoreaktiven "primary commissure pioneers" (PCP, weiße Sterne) in der PI (weiße gestrichelte Linie), ventral von den Corpora cardiaca Nerven 1 (ncc1, weiße Kreise). Ihre Axone (weiße Pfeile) verlaufen im "midline tract" (mlt) dorsal um den Zentralkörper (CB) herum. TERM-1-immunoreaktive Verzweigungen der PCP Neuronen innervieren das Neuropil des Protocerebrums (PC) aber nicht die α -Loben und Pedunculi der Pilzkörper. **C:** Horizontalschnitt durch das Gehirn von *Locusta migratoria*, vergleichbar zu dem in B gezeigten Schnitt. Die TERM-1-Färbung zeigt eines der vier PCP Neuronen (weißer Stern) in der Pars Intercerebralis zusammen mit einem Teil der "median neurosecretory cells" (mnc, Pfeilspitzen) und ihren Axonen in den Corpora cardiaca Nerven 1 (ncc1, gestrichelte Kreise). Die Morphologie der PCP Neuronen in *Locusta* entspricht der Beschreibung in B. **D:** Der Sagittalschnitt durch das adulte Gehirn von *Schistocerca gregaria* (Histologie nach Wigglesworth) bestätigt die Morphologie der oben beschriebenen Zellen der Pars Intercerebralis (PI). Die Axone der "median neurosecretory cells" (mnc) bilden die Corpora cardiaca Nerven 1 (ncc1). Die Axone der "primary commissure pioneers" (PCP, schwarze Sterne) und der Tochterzellen des "median precursors" (weiße Dreiecke) verlaufen im "midline tract" (mlt) um den Zentralkörper (CB). Anterior zum mlt befindet sich der Nerv des medianen Ocellus (mocrn). Maßstab: A = 40 μ m, B, C = 75 μ m, D = 50 μ m.

In der nahe verwandten Wanderheuschrecke *Locusta migratoria* (Abb. 30C) exprimieren die vier PCP Neuronen der Pars Intercerebralis ebenfalls TERM-1. Der Verlauf ihrer Axone und das Verzweigungsmuster der Kollateralen stimmt mit dem von *Schistocerca gregaria* überein. Darüber hinaus wird TERM-1 bei *Locusta migratoria* aber auch noch von einem Teil der "median neurosecretory cells" (mnc) in deren Zellkörpern und Axonen exprimiert (Abb. 30C). Während die PCP Neuronen in beiden Arten im Lauf der gesamten Ontogenese TERM-1 exprimieren, ist die TERM-1-Expression in den "median neurosecretory cells" bei *Locusta migratoria* ausschließlich auf das adulte Gehirn beschränkt und nur in ca. 35% der immunhistochemischen Färbungen zu beobachten. Bei *Schistocerca* liegt der Anteil der TERM-1-Färbungen, in denen man eine Expression innerhalb der "median neurosecretory cells" beobachten kann bei nur ca. 10% und ist wiederum ausschließlich auf das adulte Gehirn beschränkt. Eine TERM-1-Expression der "median neurosecretory cells" während der Embryonal- oder Larvalentwicklung konnte in beiden Arten dagegen nie beobachtet werden. Der Grund für diese variable und eingeschränkte TERM-1-Expression der "median neurosecretory cells" ist bisher unklar. In Kapitel 4.6.5 wird gezeigt (Abb. 32, 33), dass TERM-1 bei Insekten aber meistens von den "median neurosecretory cells" exprimiert wird.

Aus den geschilderten Ergebnissen folgt, dass sowohl die "median neurosecretory cells" wie auch die "primary commissure pioneers" und die Tochterzellen des "median precursors" an der Bildung der Pars Intercerebralis im adulten Gehirn beteiligt sind. Diese Zellen bilden unterschiedliche axonale Trakte, die Corpora cardiaca Nerven 1 und den "midline tract" (Abb. 30D), welche die Pars Intercerebralis mit anderen Bereichen des Nervensystems verbinden.

4.6.3 Der Bau der Mittellinie im embryonalen Gehirn

Der anterior-ventrale Bereich der Mittellinie des Gehirns ist während der frühen Embryonalentwicklung (Abb. 29, 31A, 40% Embryonalentwicklung) anders aufgebaut als später im adulten Gehirn. Die embryonale Pars Intercerebralis wurde von Boyan und Williams (1997) als bilateralsymmetrischer Streifen von je 20 protocerebralen Neuroblasten (Abb. 29C) auf beiden Seiten der Mittellinie des Gehirns beschrieben. Diese beiden Loben der embryonalen Pars Intercerebralis werden von Gliazellmembranen sowohl vom Rest des Protocerebrums als auch von der "median domain" getrennt. Die "median domain" (Kapitel 4.1) verläuft als Streifen mesektodermaler Zellen in der Mittellinie des embryonalen Gehirns und lässt sich in eine "ventral median domain" (vMD) und eine "dorsal median domain" (dMD) gliedern (Abb. 29C). Zellen der vMD beteiligen sich unter anderem an der Bildung des medianen Ocellus (hier nicht weiter beschrieben), während Zellen der dMD an der Bildung der adulten Pars Intercerebralis (vgl. Kapitel 4.6.2 und 4.6.4) beteiligt sind.

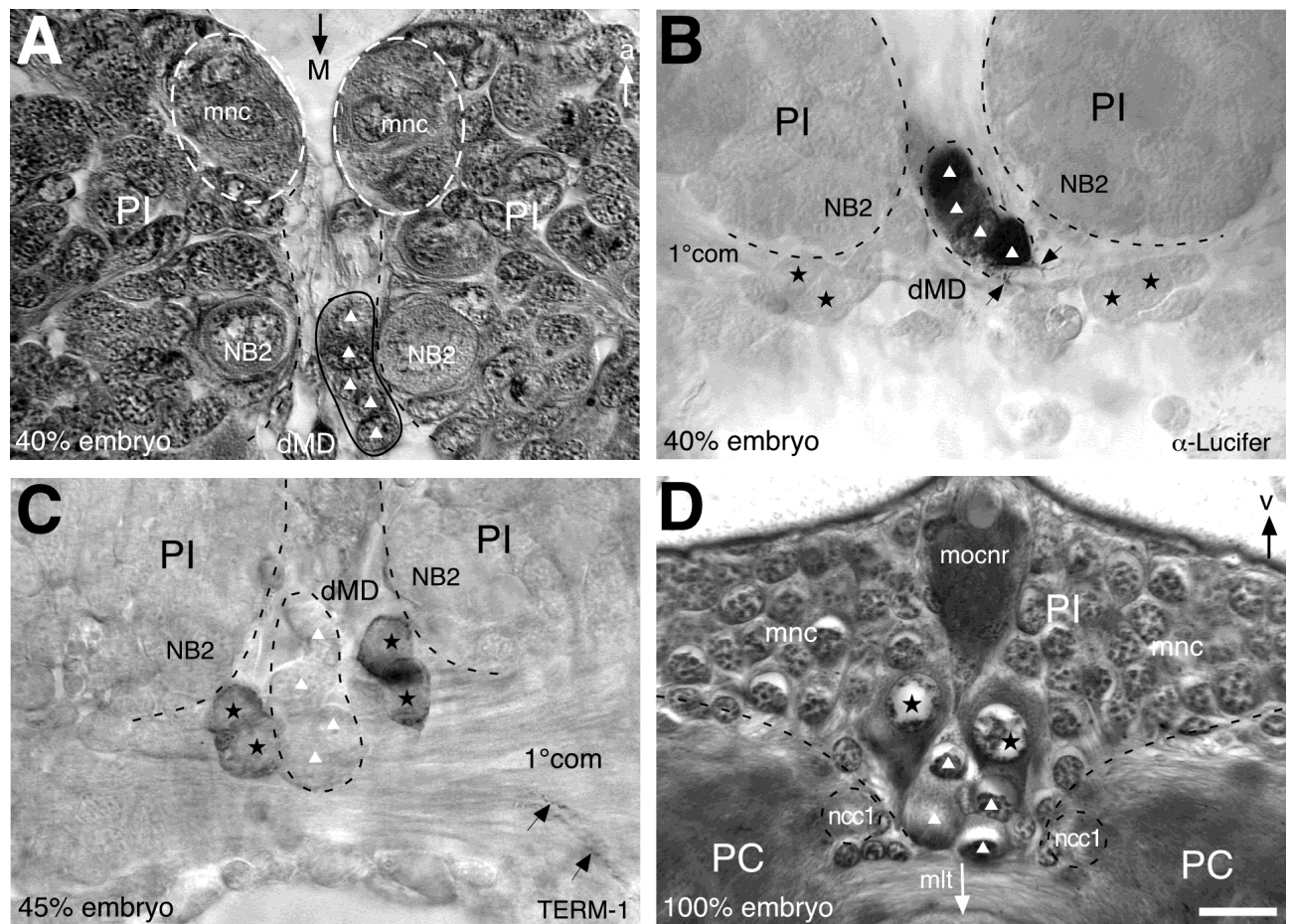


Abb. 31. Zellen in der Mittellinienregion des embryonalen Gehirns von *Schistocerca gregaria*. **A:** Schnitt durch die Mittellinie (M) des embryonalen Gehirns bei 40% der Entwicklung. Zwei identifizierte Zellgruppen mit ihren Neuroblasten in den anterioren Teilen der beiden Loben der embryonalen Pars Intercerebralis (schwarze, gestrichelte Linie) bilden im Verlauf der Entwicklung die "median neurosecretory cells" (mnc). Die Tochterzellen des "median precursors" (weiße Dreiecke) in der "dorsal median domain" (dMD) sind durch eine schwarze Linie markiert. Die beiden Loben der embryonalen Pars Intercerebralis sind durch Gliazellen von der dMD getrennt (schwarze, gestrichelte Linie). Der Orientierungspfeil zeigt für die Bilder A, B und C nach anterior (a). **B:** Die intrazelluläre Färbung der Abstammungslinie des "median precursors" (weiße Dreiecke) mit Luzifer Yellow bei 40% Embryonalentwicklung bestätigt die in A beschriebene Morphologie. Zu diesem Zeitpunkt sind die Zellen noch miteinander gekoppelt. Zwei der Zellen haben bereits einen Wachstumskegel (schwarze Pfeile) gebildet, der auf die "primary commissure" (1°com) zuwächst. Die schwarzen Sterne markieren die "primary commissure pioneers" (PCP, schwarze Sterne). **C:** Die TERM-1-Färbung zeigt die "primary commissure pioneers" (PCP, schwarze Sterne) auf beiden Seiten der Tochterzellen des "median precursors" (weiße Dreiecke). Die schwarzen Pfeile zeigen auf die nach kontralateral wachsenden Axone der PCP Neuronen in der 1°com. **D:** Bau der embryonalen Pars Intercerebralis (PI, gestrichelte Linie) in einem 100% Embryo kurz vor dem Schlüpfen (Histologie nach Wigglesworth). Die beiden Loben der embryonalen Pars Intercerebralis fusionieren mit der "dorsal median domain" in der Mittellinie (M) des Gehirns. Die "median neurosecretory cells" bilden einen einheitlichen Cluster von Zellen, zwischen denen die PCP Neuronen (schwarze Sterne) und die Tochterzellen des "median precursors" (weiße Dreiecke) liegen. Der weiße Pfeil gibt den Verlauf des "midline tracts" (mlt) an. Abkürzungen: mocnr, Nerv des medianen Ocellus; PC, Protocerebrum. Der Orientierungspfeil weist für D nach ventral (v). Maßstab: A, B, C = 20 µm, D = 35 µm.

4.6.4 Entstehung der adulten Pars Intercerebralis im anterior-ventralen Bereich der Mittellinie des embryonalen Gehirns

Die in den vorausgehenden Kapiteln beschriebenen zellulären Bestandteile der Pars Intercerebralis im adulten Gehirn lassen sich mit Hilfe unterschiedlicher Methoden bereits im embryonalen Gehirn nachweisen. Diese Beobachtung zeigt, dass Komponenten des adulten Gehirns bereits frühembryonal angelegt werden. Zum besseren Verständnis der Entwicklung des Bereichs der Mittellinie im Gehirn von Heuschrecken werden in den folgenden Abschnitten Ergebnisse wiederholt, die zum Teil bereits weiter oben besprochen wurden.

Die "median neurosecretory cells"

Im anterior-medialen Bereich der beiden Loben der Pars Intercerebralis lassen sich einzelne Neuroblasten identifizieren (Abb. 29C, 31A), deren Abkömmlinge im weiteren Verlauf der Entwicklung (Abb. 31D) die "median neurosecretory cells" bilden. Es handelt sich dabei um die Neuroblasten 9 - 11, von denen bereits Boyan und Williams (1997) annahmen, dass sie an der Bildung der "median neurosecretory cells" beteiligt sind. Schon während der Embryonalentwicklung bilden die auswachsenden Axone der "median neurosecretory cells" die Corpora cardiaca Nerven 1 (Abb. 31D). Aufgrund von morphogenetischen Veränderungen im sich entwickelnden embryonalen Gehirn werden die beiden Loben der embryonalen Pars Intercerebralis spätembryonal nach medial verschoben und fusionieren in der Mittellinie des Gehirns unter Bildung eines einheitlichen Clusters von neurosekretorischen Zellen (Abb. 31D).

Die Zellen der "dorsal median domain"

Die "dorsal median domain" ist ebenfalls Teil dieses spätembryonalen Fusionsprodukts in der Mittellinie des Gehirns.

Die Tochterzellen des "median precursors" (Abb. 29, 30) entstehen zwischen 30% und 45% der Embryonalentwicklung. Sie werden direkt und ohne Gangliengliedermutterzellen, wie bei Neuroblasten üblich, vom "median precursor" gebildet, der bereits bei 25% der Embryonalentwicklung in der "dorsal median domain" entsteht. Er ist die einzige Vorläuferzelle, die in der "dorsal median domain" gebildet wird (vgl. Kapitel 4.1). Bis 45% produziert er eine nach posterior gerichtete Abstammungslinie von insgesamt 6 Zellen (Abb. 29C, 31A, B) bevor er degeneriert. Luzifer Yellow Injektion in Zellen dieser Abstammungslinie zeigt, dass die Tochterzellen über einen gewissen Zeitraum hinweg gekoppelt bleiben. Damit läßt sich gleichzeitig nachweisen, dass sie alle von der gleichen Mutterzelle abstammen (Abb. 31B, Goodman und Spitzer, 1979). Keine andere Zelle ist zu irgend einem Zeitpunkt mit dem "median precursor" gekoppelt (vgl. Kapitel 4.1). Bei 40% der Embryonalentwicklung beginnen die ältesten Tochterzellen des "median precursors" mit der Axogenese (Abb. 31B). Die gebildeten Axone wachsen zuerst in der "primary commissure" und steigen dann über die circumösophagealen Konnektive zum ventralen Nervensystem ab, wobei je drei Axone auf einer Seite des Gehirns verlaufen. Ein besonderes Merkmal dieser Axone ist, dass sie zuerst rund um die sich entwickelnde "primary commissure" herumwachsen, bevor sie zur kontralateralen Gehirnhemisphäre wechseln. Darin ähneln sie den PCP Neuronen mit denen zusammen sie den "midline tract" bilden. Anhand von histologischen Färbungen läßt sich die Entwicklung der "median precursor" Tochterzellen im embryonalen Gehirn verfolgen und nachweisen, dass sie kurz vor dem Schlüpfen (Abb. 31D) immer noch vorhanden sind.

Anhand der exklusiven Expression von TERM-1 lassen sich die "primary commissure pioneers" (PCP, vgl. Kapitel 4.3) bei 40% der Embryonalentwicklung leicht in der "dorsal median domain" auf

beiden Seiten der "median precursor" Abstammungslinie nachweisen (Fig 31B, C). Sie sind der dritte hier beschriebene Typ von Zellen in der Mittellinie des embryonalen Gehirns, der zur Bildung der adulten Pars Intercerebralis beiträgt (Abb. 30B, C). Die PCP Neuronen entstehen vor 30% der Embryonalentwicklung ohne eine erkennbare Vorläuferzelle direkt aus dem Ektoderm der "dorsal median domain". Ihre Entstehung und Entwicklung wurde bereits in Kapitel 4.3 im Detail beschrieben. Auch die PCP Neuronen sind am Ende der Embryonalentwicklung noch in der Mittellinie des Gehirns vorhanden (Abb. 31D).

Es wurde damit bestätigt, dass die drei hier beschriebenen Zelltypen, die an der Bildung der adulten Pars Intercerebralis beteiligt sind, bereits in der frühen Embryonalentwicklung entstehen. Darüber hinaus ist es möglich, für diese Zelltypen ihre Abstammung zu identifizieren. Die "median neurosecretory cells" entwickeln sich aus den Neuroblasten 9 - 11 der embryonalen Pars Intercerebralis und bilden mit ihren Axonen die Corpora cardiaca Nerven 1. Die PCP Neuronen und die "median precursor" Tochterzellen entstehen unabhängig voneinander in der "dorsal median domain" und bilden mit ihren Axonen gemeinsam den "midline tract".

4.6.5 Vergleichende TERM-1-Immunoreaktivität bei verschiedenen Insekten

In einem nächsten Schritt wurde die TERM-1-Expression bei Vertretern verschiedener Insektenordnungen untersucht. Es wurde getestet, ob vergleichbare Zelltypen ("primary commissure pioneers" oder "median neurosecretory cells") zu denen in der Pars Intercerebralis von Heuschrecken auch bei anderen Arten vorhanden sind (vgl. Abb. 30, 31). Eine komplette Liste der untersuchten Arten mit einer Zusammenfassung der Ergebnisse wird in Tafel 4.1 wiedergegeben. Nur in einer begrenzten Anzahl der hier untersuchten Insektenordnungen wird eine TERM-1-Expression in Gehirnzellen beobachtet. Allerdings beschränkt sich diese Expression nicht auf eine bestimmte monophyletische Gruppe innerhalb der Insekten, sondern ist mehr oder weniger gleichmäßig in den einzelnen Großgruppen verteilt.

Die Analyse der TERM-1-Expression (Abb. 32, 33) zeigt, dass sie jeweils nur in einem Teil der "median neurosecretory cells" innerhalb der Pars Intercerebralis auftritt. Die einzige Ausnahme stellt *Platymerus bipunctatus* (Heteroptera) dar, wo Zellen im Protocerebrum und in den optischen Loben TERM-1-immunoreaktiv sind (diese Ergebnisse werden hier nicht gezeigt). TERM-1 wird außer bei Wanderheuschrecken (Abb. 30B, C) nie in Zellen exprimiert, die den PCP Neuronen von *Schistocerca gregaria* (Abb. 30B) homolog sein könnten.

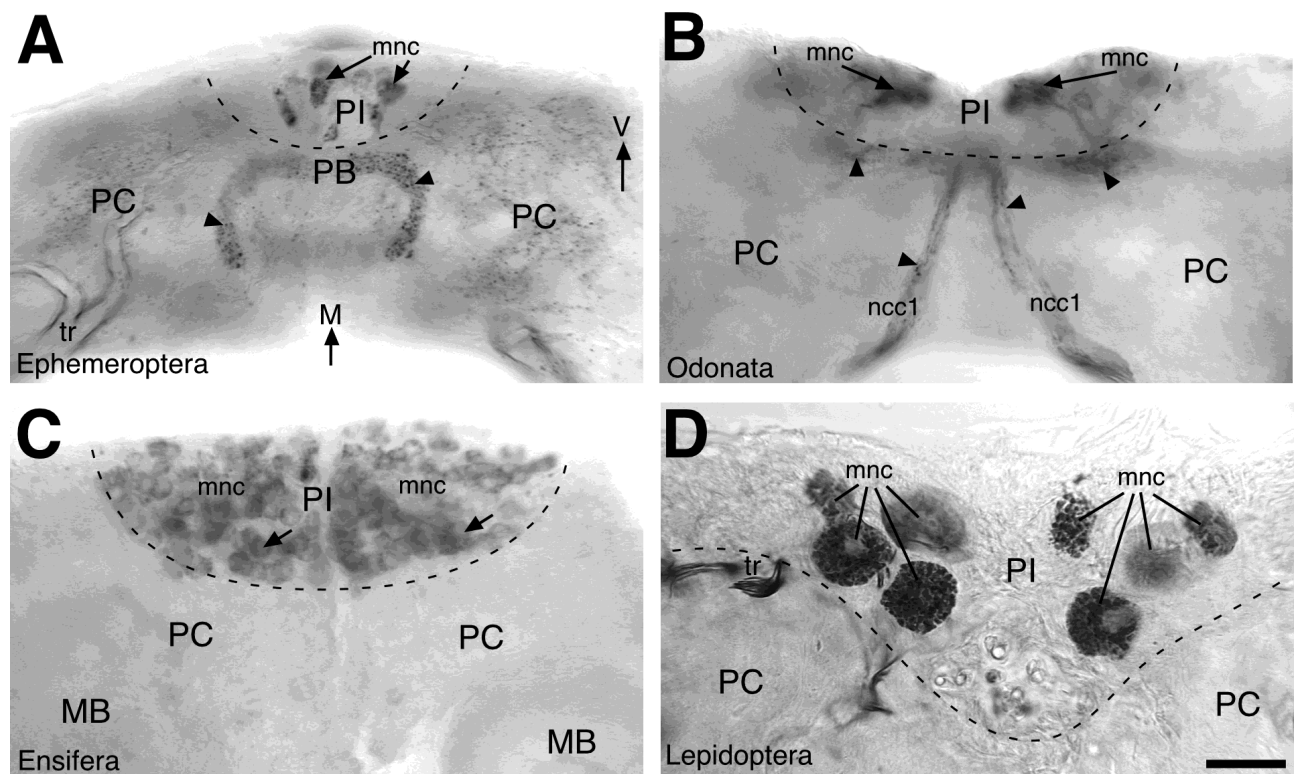


Abb. 32. TERM-1-Expression im Gehirn verschiedener Insekten. Originalfärbungen zu den Zeichnungen in Abbildung 33. Die Abbildungen **A** Ephemeroptera (*Cloeon sp.*), **B** Odonata (*Lestes sp.*), **C** Ensifera (*Conocephalus discolor*) und **D** Lepidoptera (*Manduca sexta*) zeigen TERM-1-Expression der "median neurosecretory cells" (mnc, schwarze Pfeile) in der Pars Intercerebralis (PI). TERM-1 wird jeweils nur in einem Teil der mnc exprimiert. In Ephemeroptera (A) beobachtet man eine TERM-1-Expression auch in feinen Verzweigungen (Pfeilspitzen) im Protocerebrum (PC) und der protocerebralen Brücke (PB). Bei Libellen (B) finden sich TERM-1-immunoreaktive Axone in den Corpora cardiaca Nerven 1 (ncc1, Pfeilspitzen). Der Orientierungspfeil zeigt für alle Abbildungen nach ventral (v). Maßstab: A, B = 50µm, C = 75µm, D = 65µm.

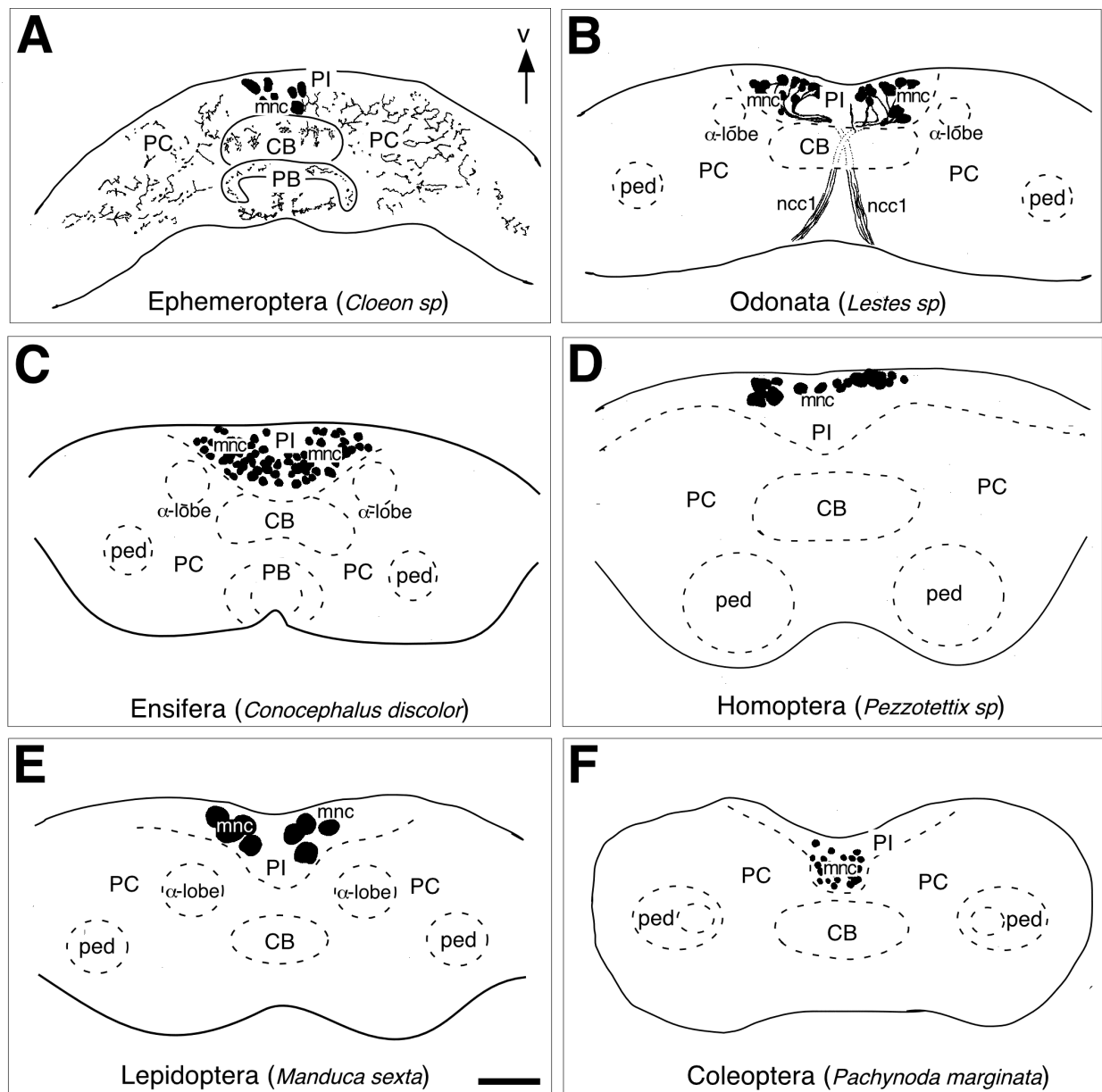


Abb. 33. Expression des TERM-1 Antigens in einem Teil der "median neurosecretory cells" (mnc) verschiedener Insekten: Ephemeroptera (A), Odonata (B), Ensifera (C), Homoptera (D), Lepidoptera (E) und Coleoptera (F). Bei Ephemeropteren (A, *Cloeon sp.*) finden sich darüber hinaus TERM-1-immunoreaktive Verzweigungen im Protocerebrum (PC), dem Zentralkörper (CB) und der protocerebralen Brücke (PB). Bei Libellen (B, *Lestes sp.*) sind die Axone der mnc TERM-1-immunoreaktiv und projizieren über die Corpora cardiaca Nerven 1 (ncc1, Pfeile) zur Corpora cardiaca. Das gleiche Expressionsmuster der Axone findet man bei Ensifera (C, *Conocephalus discolor*; vgl. Abb. 34) und Coleopteren (F, *Pachynoda marginata*). Bei den Homoptera (D, *Pezzotettix sp.*) und *Manduca sexta* (E, Lepidoptera) sind nur die Zellkörper TERM-1-immunoreaktiv. Es werden keine Axone oder Verzweigungen in irgendeinem Teil des Gehirns markiert. Abkürzungen: α -lobe, α -Lobus der Pilzkörper; ped, Pedunculus der Pilzkörper. Der Orientierungspfeil weist für alle Abbildungen nach ventral (v). Maßstab: A, B = 60 μ m, C = 100 μ m, D = 50 μ m, E = 150 μ m, F = 120 μ m.

Die Zahl der TERM-1-immunoreaktiven "median neurosecretory cells" in den unterschiedlichen Insekten variiert zwischen 8 in *Manduca sexta* (Lepidoptera) und über 200 bei *Conocephalus discolor* (Ensifera, vgl. Abb. 32, 33). Bei Libellen (Odonata, *Lestes sp.*, 35 Zellen), Laubheuschrecken (Ensifera, *Conocephalus discolor*) und Käfern (Coleoptera, *Pachynoda marginata*, 25 Zellen) haben die TERM-1-immunoreaktiven "median neurosecretory cells" axonale Projektionen in die Corpora cardiaca Nerven 1 (Abb. 32B, C, F, 34) und bilden Terminalen in der Corpora cardiaca (Abb. 34). Bei Eintagsfliegen (Ephemeroptera, *Cloeon sp.*, 10 Zellen) besitzen die gefärbten Zellen TERM-1-immunoreaktive Verzweigungen im Protocerebrum, im Zentralkörper und in der protocerebralen Brücke (Abb. 32A, 33A). Bei Lepidopteren (*Manduca sexta*,) und Homopteren (*Pezzotettix sp.*, 20 Zellen, Abb. 32D) sind nur die Zellkörper der "median neurosecretory cells" gefärbt, aber keinerlei Axone oder sonstige Verzweigungen in irgendeinem Teil des Gehirns.

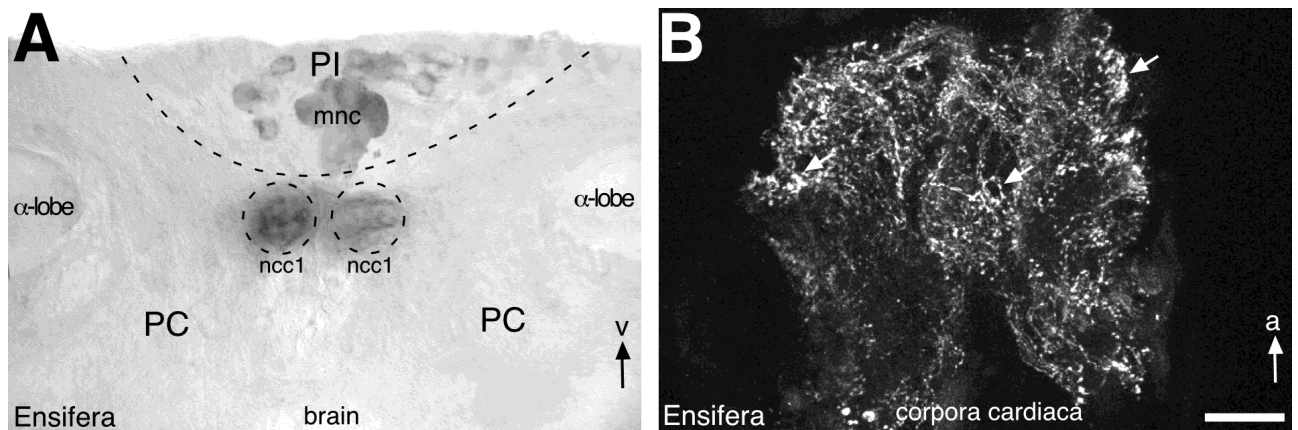


Abb. 34. Die TERM-1-immunoreaktiven "median neurosecretory cells" projizieren zur Corpora cardiaca. **A:** Wie in den Abbildungen 32 und 33 für Libellen bereits gezeigt wurde, projizieren auch die TERM-1-immunoreaktiven Zellen in der Pars Intercerebralis (gestrichelte Linie) von *Conocephalus discolor* (Ensifera) mit ihren Axonen in die Corpora cardiaca Nerven 1 (ncc1, gestrichelte Kreise). In den α -Loben (α -lobes) der Pilzkörper und im Protocerebrum (PC) ist dagegen keine Immunfärbung zu beobachten. Der Orientierungspfeil weist nach ventral (v). **B:** Starke TERM-1-Immunoreaktivität findet sich in der Corpora cardiaca (CC) von *Conocephalus discolor*. Die Terminalen der Axone der "median neurosecretory cells" enden mit feinen Verzweigungen (weiße Pfeile) in der CC. Der Orientierungspfeil weist nach anterior (a). Maßstab: A = 45 μ m, B = 150 μ m.

4.6.6 PCP homologe Zellen in der Pars Intercerebralis verschiedener Insekten

Mit Hilfe der Expression von TERM-1 war es möglich, die Ontogenese und Morphologie der "primary commissure pioneers" (PCP) bei *Schistocerca gregaria* im Detail zu beschreiben (vgl. Kapitel 4.3). Aufgrund der limitierten Zahl von nur vier Zellen, ihrer Größe, der Lage der Zellkörper und dem Projektionsmuster der Axone lassen sich die PCP Neuronen auch in histologischen Färbungen eindeutig identifizieren (Abb. 30D, 31D). Der Vergleich der TERM-1-Expression zeigte, dass das Antigen bei fast allen Insekten von einem Teil der "median neurosecretory cells" exprimiert wird (Abb. 32, 33), aber nie in Zellen, die zu den PCP Neuronen von *Schistocerca gregaria* homolog sein könnten. Basierend auf der Morphologie der PCP Neuronen bei *Schistocerca gregaria* (Abb. 37A, 38A) werden deshalb folgende Merkmale definiert, um an histologischen Färbungen zu untersuchen, ob mögliche PCP homologe Zellen in anderen Insekten vorhanden sind:

1. Zellkörper in der Pars Intercerebralis.
2. Zellkörper in oder nahe der Mittellinie des Gehirns.
3. Vorhandensein von nur 4 gleichartigen Zellen.
4. Zellkörper signifikant größer als die der benachbarten "median neurosecretory cells".
5. Die Axone projizieren im "midline tract" um den Zentralkörper.
6. Die Axone bilden ein Chiasma und kreuzen posterior zum Zentralkörper nahe der posterioren Kommissur XX zur kontralateralen Seite des Gehirns.
7. Die Axone steigen zum ventralen Nervensystem ab.

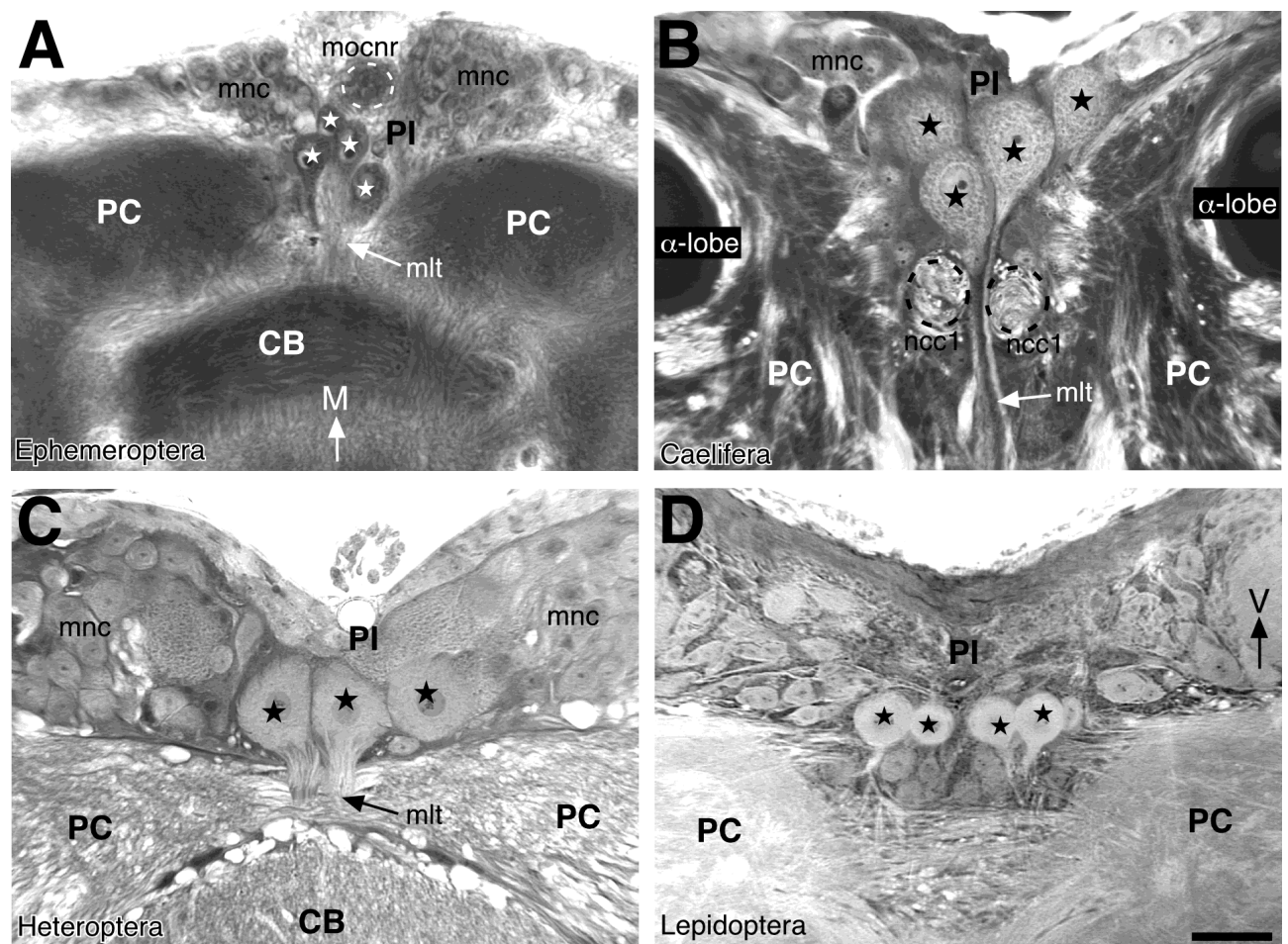


Abb. 35. Homologe Zellen zu den "primary commissure pioneers" (PCP). In Gehirnen von Vetretern der Ephemeroptera (A, *Cloeon sp.*), Caelifera (B, *Achaeta domestica*), Heteroptera (C, *Platymerus bipunctatus*) und Lepidoptera (D, *Manduca sexta*) existieren in der Pars Intercerebralis (PI) Zellen die vermutlich zu den PCP Neuronen von *Schistocerca gregaria* homolog sind (weiße und schwarze Sterne, vgl. Abb. 37A, 38A). Bei allen hier gezeigten Beispielen beobachtet man vier große Zellkörper in der Mittellinie des Gehirns zwischen den "median neurosecretory cells" (mnc) und ventral vom Zentralkörper (CB, nur in A und C im Bildausschnitt vorhanden). Die Axone dieser Zellen verlaufen im "midline tract" (mlt, in A, B und C gezeigt) um den Zentralkörper herum. Abkürzungen: α -lobe, α -Lobus der Pilzkörper; mocnr, Nerv des medianen Ocellus; ncc 1, Corpora cariaci Nerv 1; PC, Protocerebrum. Der Orientierungspfeil zeigt für alle Abbildungen nach ventral (v). Maßstab: A, D = 60 μ m, B = 40 μ m, C = 50 μ m.

Die Ergebnisse zeigen bei allen bisher bearbeiteten Insekten (Tafel 4.1) Zellen, die auf Grund ihrer Anzahl und ihrer generellen Morphologie die oben genannten Kriterien erfüllen (Abb. 35, 37, 38). Die Abbildungen 37 und 38 basieren auf detaillierten Analysen von Zellen in den Gehirnen von *Forficula sp.* (Dermaptera, Abb. 37B, 38B), *Pachynoda marginata* (Coleoptera, Abb. 37C, 38C) und *Apis mellifera* (Hymenoptera, Abb. 37D, 38D), die mit den PCP Neuronen von *Schistocerca gregaria* (Caelifera, Abb. 37A, 38A) in ihrer Morphologie übereinstimmen. Diese Zellen werden hier deshalb als wahrscheinlich homolog zu den PCP Neuronen von *Schistocerca gregaria* interpretiert. Weitere Beispiele für mögliche PCP Homologe werden anhand von histologischen Präparaten in Abbildung 35 für *Cloeon sp.* (Ephemeroptera, Abb. 35A), *Achaeta domesticus* (Caelifera, Abb. 35B), *Platymerus bipunctatus* (Heteroptera, Abb. 35C) und *Manduca sexta* (Lepidoptera, Abb. 35D) dargestellt. Unterschiede finden sich vor allem zwischen hemi- und holometabolen Insekten was die Lage der Zellkörper betrifft. In hemimetabolen Insekten liegen die PCP Homologen immer nahe der Oberfläche des Gehirns und posterior zu den "median neurosecretory cells" (z.B. Abb. 38A). Ihre Axone müssen zuerst an den Corpora cardiaca Nerven 1 vorbeiwachsen, bevor sie den Zentralkörper erreichen. Im Gegensatz dazu liegen die PCP Homologen bei holometabolen Insekten oft anterior beziehungsweise dorsal der "median neurosecretory cells" (Abb. 38D). Allerdings ist die Projektion der Axone im "midline tract" rund um den Zentralkörper bei allen Insekten identisch (Abb. 37, 38). Die PCP Homologen bei *Tenebrio molitor* unterscheiden sich darin, dass ihre Axone direkt hinter den Zellkörpern das Chiasma bilden und nicht wie bei den anderen Insekten erst auf der Dorsalseite des Zentralkörpers. Bei *Tenebrio* finden sich deshalb auch kollaterale Verzweigungen vom Hauptaxon bereits anterior des Zentralkörpers.

Querschnitte durch den Bereich des Gehirns dorsal des Zentralkörpers zeigen einen vergleichbaren Verlauf der Axone der PCP homologen Zellen zwischen den "accessory tracts" in der Mittellinie des Gehirns. Bei hemimetabolen Insekten (Dermaptera und Caelifera, Abb. 36B, C) verlaufen die vier Axone als einheitliches Bündel, während sie bei holometabolen zu je zwei Paaren auf beiden Seiten der Mittellinie liegen (Hymenoptera und Coleoptera, Abb. 36A, D).

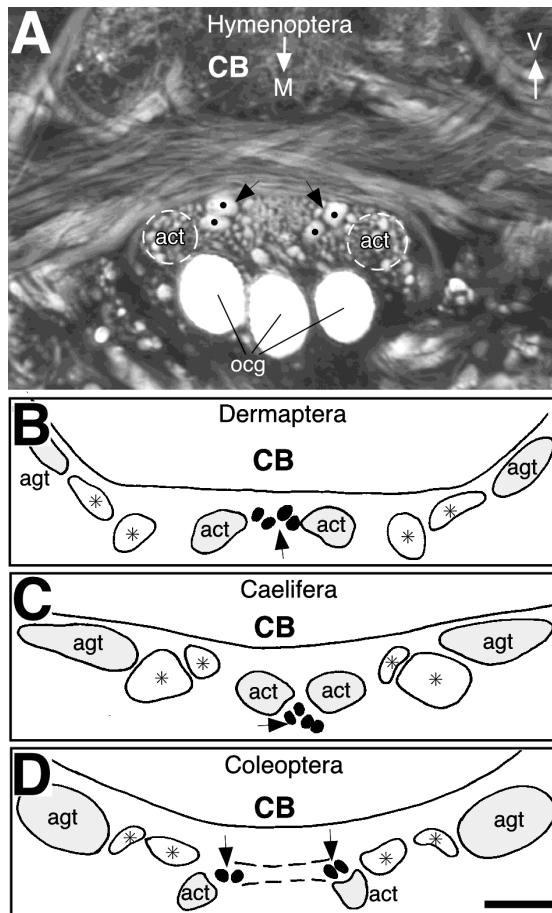


Abb. 36. Identischer Verlauf der Axone der PCP homologen Zellen bei allen untersuchten Insekten. **A:** Ein Horizontalschnitt (Wigglesworth Histologie) durch das Gehirn von *Apis mellifera* (Hymenoptera) dorsal des Zentralkörpers (CB) zeigt die beiden Paare von Axonen (schwarze Punkte und Pfeile) der PCP homologen Zellen zwischen den beiden "accessory tracts" (act). Die Schnittebene ist auf halber Höhe des Zentralkörpers. Neben den PCP Axonen liegen drei "ocellar giant neurons" (ocg). Die Abbildungen **B** Dermaptera (*Forficula sp.*), **C** Caelifera (*Schistocerca gregaria*) und **D** Coleoptera (*Tenebrio molitor*) sind schematische Zeichnungen, die die Position der PCP Axone auf der Dorsalseite des Zentralkörpers für die jeweiligen Insekten zeigen. Die Schnittebenen stimmen mit der in A beschriebenen überein. Die PCP Axone (Pfeile) befinden sich immer zwischen den beiden "accessory tracts" (act). Bei hemimetabolen Insekten (B, C) verlaufen die Axone als geschlossene Gruppe in der Mittellinie des Gehirns, während sie bei holometabolen Insekten (A, D) als jeweils separate Paare auf beiden Seiten der Mittellinie verlaufen. Der Asterisk markiert Nervenstränge, die bisher noch nicht identifiziert wurden. Die Orientierungspfeile markieren ventral (v) und die Mittellinie (M) für alle Abbildungen. agt, "antennal glomeruli tract". Maßstab: A = 12µm, B = 25µm, C = 20µm, D = 25µm.

Tafel 4.1:

Phylogenie		Taxonomie		TERM-1 IR			Histologie
		Ordnung	Art	mnc	PCP	"MP progeny"	PCP Homologe
Insecta	Apterygota						
		Zygentoma	<i>Ctenolepisma lineata</i>	-	-	-	?
	Palaeoptera	Ephemeroptera	<i>Cloeon dipterum</i>	✓	-	-	✓
		Odonata	<i>Lestes sp</i>	✓	-	-	?
			<i>Sympetrum sp</i>	-	-	-	?
	Pterygota						
		Dermaptera	<i>Forficula sp</i>	-	-	-	✓
		Blattariae	<i>Archimandrita sp</i>	-	-	-	?
			<i>Periplaneta americana</i>	-	-	-	✓
		Isoptera	<i>Shedorthinotermes lamanianus</i>	-	-	-	✓
		Mantodea	<i>Mantis religiosa</i>	-	-	-	?
		Ensifera	<i>Barbitistes constrictus</i>	✓	-	-	?
			<i>Conocephalus discolor</i>	✓	-	-	✓
			<i>Metrioptera roeseli</i>	✓	-	-	?
			<i>Pholioptera griseoptera</i>	✓	-	-	✓
			<i>Tettigonia viridissima</i>	✓	-	-	?
		Caelifera	<i>Achaeta domesticus</i> (Gryll.)	-	-	-	✓
			<i>Gryllus bimaculatus</i> (Gryll.)	✓	-	-	✓
			<i>Locusta migratoria</i> (Acrid.)	✓	✓	-	✓
			<i>Schistocerca gregaria</i> (Acrid.)	-	✓	-	✓
			<i>other acridis</i> (Acrid.)	-	-	-	✓
			<i>Prionotropis hystrix</i> (Pam.)	-	-	-	?
			<i>Tetrix subulata</i> (Tetr.)	✓	-	-	✓
			<i>Tetrix undulata</i> (Tetr.)	✓	-	-	✓
		Phasmatodea	<i>Carausius morosus</i>	-	-	-	✓
	Paraneoptera	Homoptera	<i>Pezzotettix sp</i>	✓	-	-	?
		Heteroptera	<i>Gerris lacustris</i>	-	-	-	✓
			<i>Platymerus bipunctatus</i>	-	-	-	✓
	Holometabola						
		Planipennia	<i>Chrysoperla sp</i>	-	-	-	✓
		Coleoptera	<i>Pachynoda marginata</i> (Scar.)	✓	-	-	?
			<i>Tenebrio molitor</i> (Derm.)	-	-	-	✓
			<i>Tribolium confusum</i> (Derm.)	-	-	-	?
		Hymenoptera	<i>Apis mellifera</i>	-	-	-	✓
			<i>Camponotus vagus</i>	-	-	-	✓
		Lepidoptera	<i>Antheraea prenyi</i>	✓	-	-	✓
			<i>Antheraea polyphemus</i>	✓	-	-	✓
			<i>Manduca sexta</i>	✓	-	-	✓
		Diptera	<i>Calliphora vomitoria</i>	-	-	-	✓
			<i>Drosophila melanogaster</i>	-	-	-	?
			<i>Musca sp</i>	-	-	-	✓

Abkürzungen: ?, bisher nicht untersucht; -, keine Immunoreaktivität; ✓, Immunoreaktivität; Acrid., Acrididae; Gryll., Gryllidae; Derm., Dermestidae; mnc, "median neurosecretory cells"; MP, "median precursor"; Pam., Pamphagidae; PCP, primary commissure pioneers; Scar., Scarabaeidae; TERM-1 IR, TERM-1 Immunoreaktivität; Tetr., Tetrigidae.

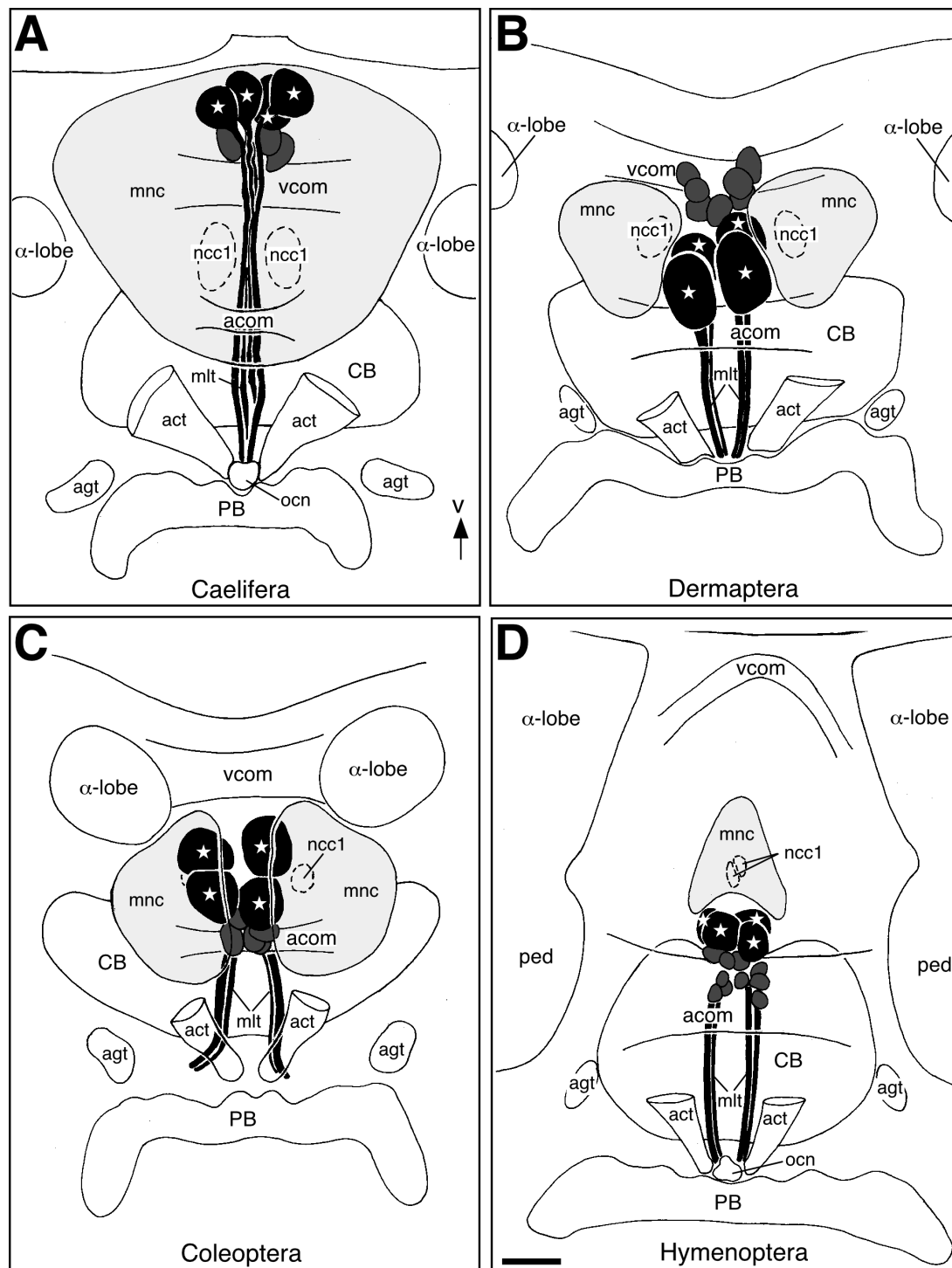


Abb. 37. Rekonstruktionen der PCP homologen Zellen auf der Basis von histologischen Serienschritten durch das Gehirn verschiedener Insekten (Horizontalschnitte, vgl. Abb. 38 Sagittalschnitte). Die Abbildungen **A** Caelifera (*Schistocerca gregaria*), **B** Dermaptera (*Forficula sp.*), **C** Coleoptera (*Tenebrio molitor*) und **D** Hymenoptera (*Apis mellifera*) zeigen die wahrscheinlich homologen Zellen zu den PCP Neuronen (weiße Sterne) in der Pars Intercerebralis. Ihre Zellkörper liegen anterior und ventral des Zentralkörpers (CB) neben den "median neurosecretory cells" (mnc, Umrisse in hellem Grau dargestellt). Ihre Axone verlaufen im "midline tract" (mlt) rund um den Zentralkörper und treten unter der protocerebralen Brücke (PB) ins zentrale Neuropil des Gehirns ein. Ebenfalls in den "midline tract" projizieren die Axone von Zellen (dunkelgrau unterlegt), die vermutlich den Tochterzellen des "median precursors" von *Schistocerca gregaria* (Abb. 30, 31, 38A) entsprechen. Trotz leichter Unterschiede ist der generelle Bauplan der Pars Intercerebralis und der darin enthaltenen Zellen innerhalb der verschiedenen Insektenordnungen sehr konstant. Der Orientierungspfeil zeigt für alle Abbildungen nach ventral (v). Abkürzungen: acom, anteriore Kommissuren; act, "accessory tract"; agt, "antennal glomeruli tract"; α -lobe, α -Lobus der Pilzkörper; ncc1, Corpora cardiaca Nerv 1; ocn, Ocellusnerv; ped, Pedunculus; vcom, ventrale Kommissuren. Maßstab: A = 60 μ m, B = 30 μ m, C = 30 μ m, D = 60 μ m.

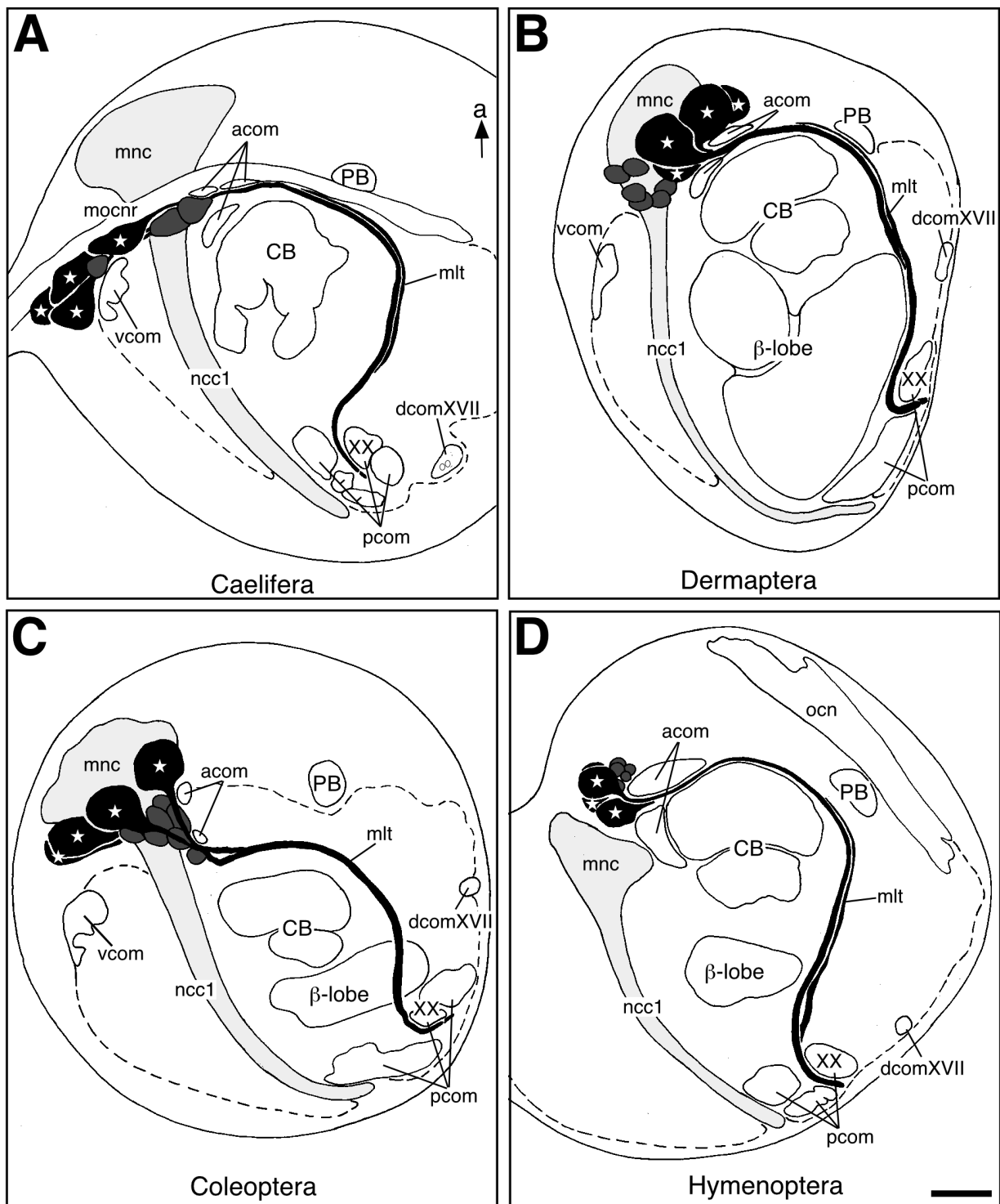


Abb. 38. Rekonstruktionen der PCP homologen Zellen auf der Basis von histologischen Serienschritten durch das Gehirn verschiedener Insekten (Sagittalschnitte, vgl. Abb. 37 Horizontalschnitte). Die Abbildungen **A** Caelifera (*Schistocerca gregaria*), **B** Dermaptera (*Forficula* sp.), **C** Coleoptera (*Tenebrio molitor*) und **D** Hymenoptera (*Apis mellifera*) zeigen die Projektion der Axone der vermutlich PCP homologen Zellen im "midline tract" (mlt) der verschiedenen Gehirne. Bei allen hier gezeigten Beispielen verlaufen die Axone rund um den Zentralkörper (CB). Ventral der protocerebralen Brücke (PB) projizieren sie dann nach posterior und verlaufen eng um die posteriore Kommissur XX (pcomXX) herum, bevor sie zur kontralateralen Seite des Gehirns ziehen. Die Umrisse der "median neurosecretory cells" (mnc) sind in hellem Grau gezeigt, die Tochterzellen des "median precursors" in dunklem Grau. Die gestrichelte Linie markiert die Grenze zwischen Neuropil und Zellkörperregion im Gehirn. Andere identifizierte Strukturen in dieser Schnittebene sind die anterioren (acom), ventralen (vcom) und posterioren (pcom) Kommissuren, der Ocellusnerv (ocn) und die dorsale Kommissur XVII (dcomXVII) mit den Axonen der DCMD Neuronen (kleine schwarze Kreise, nur bei *Schistocerca gregaria*). Der Orientierungspfeil zeigt für alle Abbildungen nach anterior (a). Maßstab: A = 60µm, B = 30µm, C = 30µm, D = 60µm.