



Doctoral Thesis

An electron microscopy study of synapse densities during song learning in the zebra finch HVC

Author(s):

Kirschmann, Moritz A.

Publication Date:

2013

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010163213> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH Nr. 21618

AN ELECTRON MICROSCOPY STUDY OF
SYNAPSE DENSITIES DURING SONG
LEARNING IN THE ZEBRA FINCH HVC

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels

DOKTOR DER WISSENSCHAFTEN

der

ETH ZÜRICH

vorgelegt von

MORITZ ALEXANDER KIRSCHMANN

Dipl. Phys.

geboren am 20.7.1978

in

Göttingen, Deutschland

Angenommen auf Antrag von

Richard H.R. Hahnloser

Roger A. Wepf

2013

Abstract

The question 'how is the neural system of an animal organized to enable it to learn?' is of high interest in neuroscience. Songbirds have been in the focus of neuroscience for many decades now since they exhibit an illustrative learning behavior: A juvenile male zebra finch, a small Australian songbird, learns his songs in two phases, a first sensory phase in which he memorizes a tutor song, usually his father, and an overlapping sensorimotor phase in which he vocalizes himself and relies on auditory feedback to learn a precise imitation of the tutor song. When learning is completed the zebra finch song crystalizes and remains unchanged for the rest of the birds life. On a neural level song development is accompanied by an increase of premotor drive of HVC, a motor cortex analog, the highest known premotor structure for adult zebra finch song. This shift of premotor drive is paralleled by changes within HVC, such as a lowering of turnover rates of dendritic spines. However it remains unknown how the densities of excitatory and inhibitory synapses evolve during song learning and how Nucleus Interfacialis of the Nidopallium (Nif), a major source of auditory input to HVC, influences the synaptic modifications.

In adult zebra finches Nif is not necessary for production of linearly structured zebra finch song. A study on Bengalese finches, a songbird species singing a more complex probabilistic syllable order, showed that bilateral electrolytic lesions of Nif in adult birds lead to a loss of probabilistic syllable transitions (Hosino and Okanoya, 2000), giving Nif the conducting role over the syllable order. However the methodology of this study is prone to also lesion axons passing Nif and therefore the validity of this finding is uncertain.

In the thesis at hand we give an account of two experiments. With the first experiment we challenged the result of (Hosino and Okanoya, 2000). We bilaterally lesioned Nif of adult Bengalese finches excitotoxically to avoid unwanted damage to passing axons and compared syllable transition probabilities pre and post lesion. Of three birds with partial or complete bilateral lesion of Nif, the bird with complete abolishment of Nif did not exhibit a change in the probabilistic syllable transitions. Even though the result of only one bird is not conclusive this is evidence that the effect found by (Hosino and Okanoya, 2000) is an artefact.

In the second experiment we investigated the changes of synapse statistics in HVC during song tutoring in the sensorimotor phase with the additional goal to find out the impact of missing Nif input to HVC. We estimated densities of symmetric and asymmetric synapses by means of electron microscopy in juvenile zebra finches of three experimental groups. All birds received Nif lesions at the same age of 53 days post hatch and were perfused 6 days later. Birds of the full-tutored group (FT) were tutored before and after the lesion. Birds of the the post-lesion-tutored group (PLT) were tutored only after the Nif lesion while birds of the tutor-isolate group (ISO) never had exposure to tutor song. To our surprise we did not find a significant difference in the measured synapse parameters between FT and ISO. However the PLT had a significantly lower synapse density than the ISO and a significantly higher proportion of symmetric synapses than FT and ISO. An airtight conclusion about the influence of Nif on synaptic development of HVC cannot be drawn from these results since the different tutor exposure times of FT and PLT could be responsible for the differences.

These two experiments show, that further investigations are necessary to elucidate the role of Nif and the learning-related development of HVC.

Zusammenfassung

In den Neurowissenschaften ist die Frage 'Wie sind lernfähige neuronale Systeme aufgebaut?' von hohem Interesse. Singvögel sind schon seit vielen Jahrzehnten im Fokus von neurowissenschaftlichen Studien, denn ihr Lernverhalten ist sehr anschaulich: Junge Männchen der Spezies Zebrafink, einem kleinen australischen Singvogel, lernen ihr Lied indem sie sich das Lied eines Tutoren, oft des Vaters, einprägen und anschliessend mit Hilfe von auditorischem Feedback imitieren lernen. Das Lied des Jungvogels wird im Laufe des Lernens immer strukturierter und seine Ähnlichkeit zum Lied des Tutoren nimmt zu. Wenn das Lernen abgeschlossen ist, bleibt das gelernte Lied für den Rest des Vogellebens unverändert. Auf der neuronalen Ebene ist die Entwicklung des Gesangs dadurch begleitet, dass der prämotorische Antrieb von HVC, einem Motorkortexanalog, zunimmt. HVC ist das höchste bekannte Hirnareal, das den Gesang von erwachsenen Zebrafinken antreibt. Auch nimmt die Veränderungsrate in Synapsen in HVC während des Lernens ab. Wie sich jedoch die Dichten der exzitatorischen und inhibitorischen Synapsen während des Lernens entwickeln und wie der Nucleus Interfacialis des Nidopallium (Nif), eine wesentliche Quelle von auditorischen Reizen für HVC, dies beeinflusst, ist nicht erforscht. In erwachsenen Zebrafinken wird Nif nicht zum Singen des linear aufgebauten Gesanges benötigt. Bei Japanischen Mövchen, einer Singvogelart mit variabler Silbenreihenfolge des Gesangs, wurde in einer Studie Nif von erwachsenen Tieren beidseitig per Elektrokaustik zerstört; die Variabilität der Silbenreihenfolge verschwand nach der Läsion (Hosino and Okanoya, 2000). Demnach würde Nif die Silbenübergänge dirigieren. Allerdings hat diese Läsionsmethode zur Folge, dass Axone, die nahe an Nif vorbeilaufen, ebenfalls zerstört werden, was das Ergebnis fragwürdig erscheinen lässt.

Diese Arbeit beschreibt zwei Experimente. Mit dem ersten stellen wir das Ergebnis von (Hosino and Okanoya, 2000) in Frage. Wir zerstörten Nif beidseitig exzitotoxisch in erwachsenen Japanischen Mövchen, um vorbeilaufende Axone zu schonen, und verglichen Silbenübergänge vor und nach der Läsion. Von den drei Tieren zeigte das Tier mit vollständiger beidseitiger Zerstörung von Nif keinen Verlust der Variabilität der Silbenstruktur. Wenn auch ein einzelnes Tier kein umfassender Beweis ist, so deutet dieses Resultat darauf hin, dass das Ergebnis von (Hosino and Okanoya, 2000) ein Artefakt ist.

Im zweiten Experiment untersuchten wir die Veränderungen der Statistiken von Synapsen in HVC während des Gesanglernens, mit zusätzlichem Augenmerk auf den Einfluss von fehlendem Nif-Input für HVC. Wir schätzten die Dichten von symmetrischen und asymmetrischen Synapsen in jungen Zebrafinkenmännchen per Elektronenmikroskopie in drei Versuchsgruppen ab. In allen Tieren zerstörten wir Nif 53 Tage nach dem Schlüpfen und perfundierten die Tiere nach

sechs weiteren Tagen. Eine Gruppe hatte vor und nach der Läsion Kontakt mit einem Tutoren (FT), die zweite Gruppe nur nach der Läsion (PLT), während die dritte Gruppe keinen Tutorenkontakt hatte (ISO). Überraschenderweise fanden wir keinen signifikanten Unterschied zwischen FT und ISO. Hingegen hatte PLT eine signifikant geringere Synapsendichte als ISO und einen signifikant höheren Anteil an symmetrischen Synapsen als FT und ISO. Eine sichere Aussage über den Einfluss von Nif auf die Synapsenentwicklung in HVC kann nicht gemacht werden, denn die unterschiedlichen Zeitspannen des Tutorenkontakts könnte für den Unterschied zwischen FT und PLT verantwortlich sein.

Diese Experimente zeigen, dass weitere Versuche nötig sind, um die Rolle von Nif und die lernbezogenen Entwicklung von HVC zu ergründen.