Zytologische Untersuchungen des Leuchtorgans von zwei tropischen Leuchtkäfern, *Pyrocoelia analis* und *Luciola Gorhami*

Von

Prof. Dr. **Bun-ichi Hasama**

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie zu Keijo)

Mit 9 Textabbildungen

Eingegangen am 24. Juli 1942

Dank den ungeheuren Kriegserfolgen der japanischen Schlachtflotte in der Südsee ist die Aufmerksamkeit auch der Biologen in unsrem Lande immer mehr nach dem Süden gerichtet worden. Ich selber, der ich seit Jahren mit der Biolumineszenz der einheimischen Leuchtkäfer in bioelektrischer sowie zytologischer Hinsicht beschäftigt bin, habe unbeschadet dessen mein Augenmerk nunmehr auch auf die tropischen Leuchtkäfer gewendet, weil es bekanntlich in den Tropen verschiedene Spezies von Leuchtkäfern gibt, deren Leuchtorgan einen differenzierten Bau aufweist, nämlich eine konzentrische Gruppierung der sog. Tracheenendzellen um die zuführenden Tracheen. Manche Autoren haben die für die meisten Spezies der tropischen Leuchtkäfer charakteristische streng rhythmische Biolumineszenz auf diese besondere Anordnung der Tracheenendzellen zurückgeführt, welche nach meiner Ansicht die Rolle einer rhythmischen Absperrungsvorrichtung der Sauerstoffzufuhr in die Leuchtzellen spielt und somit ein rhythmisches Verlöschen bedingt.

Den Fortschritt unsrer Kenntnisse über das Leuchtorgan der Leuchtkäfer verdanken wir der Entdeckung durch SCHULZE dieser mit Reduktionsvermögen versehenen Tracheenendzellen, wo also die Osmiumreduktion vor sich geht; infolge von ihr kommt bei Erstickung mit Osmiumsäuregas eine Schwärzung der Tracheenendzellen durch Niederschlag der Osmiumkörnchen in diesen Zellen zustande. Bei den einheimischen Leuchtkäfern wie z.B. *Pyrocoelia rufa*, *Luciola cruciata* und *Luciola lateralis* beobachtet man in ihren imaginalen Leuchtorganen eine regellose Anordnung der Tracheenendzellen, ohne konzentrische Gruppierung derselben. Trotz dauernder Bemühung der Biologen um die Untersuchung dieser Zellen, sind sie in morphologischer und physiologischer Hinsicht noch für uns voll von Lücken und Widersprüchen. Dies verlangt eine Ausdehnung der Forschung über die Tracheenendzellen bei verschiedenen tropischen Leuchtkäfern, bei welchen eine besondere Anordnung dieser Zellen und also ein strenger Rhythmus der Biolumineszenz zu erwarten sind. In der vorliegenden Arbeit habe ich also bei zwei leicht zu verschaffenden tropischen Leuchtkäfern, *Pyrocoelia analis* und *Luciola*

Gorhami, mit besonderer Berücksichtigung der Tracheenendzellen zytologisch ihr Leuchtorgan untersucht, dessen feinerer Bau noch unerforscht ist.

Methodik

Als Versuchstiere habe ich die Imago und die Larve der *Pyrocoelia analis* sowie die Imago der *Luciola Gorhami* behandelt. Nachdem die Imago der beiden Spezies nach derselben Methode wie bei meinen früheren Arbeiten an *Luciola cruciata*, *Pyrocoelia rufa* sowie *Luciola lateralis* mit Osmiumsäuregas erstickt worden sind, werden sie in Formalin-Alkohol-Eisessig fixiert. Die Versuchsmaterialien werden dann nach Spülung mit Wasser in alkoholischer Boraxkarminlösung während einiger Tage eingetaucht, um den Kern der Leuchtzellen zu färben. Sie werden ferner zur differenzierung mit Salzsäure-Alkohol mehrmals ausgewaschen, bis sie endlich trotz Eintauchen darin keinen roten Farbenton mehr zeigen. Sie werden weiter durch eine Alkoholreihe in Paraffin gebracht, um endlich aus ihnen Schnittpräparate herzustellen. Außerdem wurden die Imago der obigen Spezies sowie die Larven der *Pyrocoelia analis* ohne Erstickung mit Osmiumsäuregas unmittelbar in Formalin-Alkohol-Eisessig fixiert. Nach der Paraffineinbettung wurden die Schnittpräparate hergestellt, welche entweder mit Hämatoxylin und Eosin oder nach Beizung mit Eisenalaunlösung mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN gefärbt wurden.

Pyrocoelia analis

Der Körperbau der männlichen Imago der *Pyrocoelia analis* mit einer Körperlänge von 14–16 mm ist prinzipiell fast derselbe wie der der *Pyrocoelia rufa*. Der Prothorax ist hell gelblich und ist an seiner dorsalen Fläche und zwar am vorderen Rand symmetrisch mit einer ovalen fensterförmigen Verdünnung versehen (Abb. 1). Der Meso- und Metathorax sind gleichfalls hell gelblich. Der Rand der oberen Flügelpaare ist auch strichförmig gelblich, während die übrigen Teile derselben schwarz sind. An der ventralen Fläche des vorletzten und des drittletzten Abdominalsegments ist je ein Leuchtorgan als eine weiße Platte lokalisiert. Das Leuchtorgan nimmt fast die ganze ventrale Fläche des betreffenden Segments ein. Die gesamte Körperoberfläche der weiblichen Imago ist gleichmäßig bräunlich-gelb. Es ist von etwa 17–19 mm Körperlänge und besitzt eine Spur von Flügelpaaren. An der ventralen Fläche des vorletzten und des drittletzten Abdominalsegments ist je ein Leuchtorgan vorhanden (Abb. 2). Ebenso wie bei anderen Spezies von Leuchtkäfern besteht das imaginale Leuchtorgan der *Pyrocoelia analis* aus einer durchsichtigen ventralen Leuchtzellschicht, welche durch die Hypodermis vom durchsichtigen Chitin getrennt ist, und einer weißen undurchsichtigen

Uratzellschicht (Abb. 3). Die beiden Schichten sind ziemlich scharf aber unregelmäßig voneinander getrennt. Die polyedrischen Leuchtzellen enthalten eng gehäuft mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN gut

Abb. 1. Dorsale Ansicht verschiedener Leuchttiere. A Männchen von *Pyrocoelia analis*, B Weibchen von *Pyrocoelia analis*, C Männchen von *Luciola Gorhami* und D Larve von *Pyrocoelia analis*. Vergr. bei A, B und C 3fach und D natürliche Größe.

Abb. 2. Längsschnitt durch das Abdomen der Imago von *Pyrocoelia analis*. Färbung mit Hämatoxylin-Eosin. A ♂ und B ♀. a vorderes und b hinteres Leuchtorgan. Vergr. 30fach.

färbbare kugelige sog. Leuchtgranula ohne geschlechtlichen Unterschied. Gleichviel ob nach langem Leuchten oder nach langem Verlöschen, bleiben die Granula in ihrer Verteilung, Zahl, Form und Größe immer konstant. Sie scheinen also nicht als Energiequelle des Leuchtens verzehrt zu werden.

Die Uratzellen sind auch polyedrisch und fast von gleicher Größe wie die Leuchtzellen. Sie enthalten Konkretionen von harnsaurem Ammoniak, welche die Rolle eines Refraktors spielen und in Natronlauge, Kalilauge,

Abb. 3. A Leuchtorgan der Imago von *Pyrocoelia analis* im Querschnitt. Färbung mit Hämatoxylin-Eosin. a Leuchtzellschicht und b Uratzellschicht. Vergr. 170fach. B Lumineszente Granula in den Leuchtzellen der Imago von *Pyrocoelia analis*. Färbung mit Eisen-hämatoxylin nach HEIDENHAIN. Vergr. 2000fach.

Eisessig sowie auch bei Erwärmung löslich sind. In der Leuchtzellschicht sieht man nach Erstickung des Versuchstieres mit Osmiumsäuregas überall regellos zerstreute geschwärzte sternförmige sog. Tracheenendzellen (Abb. 4). Entgegen meiner Erwartung läßt sich keine regelmäßige konzentrische Gruppierung der Tracheenendzellen um die zuführenden Tracheen — solche Gruppierung wird bei verschiedenen anderen tropischen Leuchtkäfern, z.B. bei *Photinus marginellus* beobachtet — erkennen. Von den

Abb. 4. Geschwärzte Tracheenendzellen bei *Pyrocoelia analis* nach der Erstickung mit Osmiumsäuregas. Färbung mit Boraxkarmin. Vergr. 800fach.

geschwärzten Tracheenendzellen strahlen 3–4 gleichfalls geschwärzte Fortsätze aus, welche fein zugespitzt oder wie abgerissen aufhören. Die Osmiumreduktion geschieht also nicht nur in den Tracheenendzellen selbst, sondern auch in ihren Fortsätzen, welche mit denen von den benachbarten Tracheenendzellen nicht verbunden sind und zwischen den Leuchtzellen

einzelnen für sich verlaufen, nie aber in sie hineindringen. Jedes Tracheenstämmchen dringt in eine Tracheenendzelle hinein, um sich dort in 3–4 Tracheenkapillaren aufzuspalten. Nachdem die Tracheenkapillaren je in den Fortsätzen der Tracheenendzellen eine Strecke lang verlaufen sind, endigen sie plötzlich oder wie abgerissen, indem die Kapillaren an Länge die Fortsätze nicht übertreffen. Der Kern der Tracheenendzellen sowie die Tracheenkapillaren werden dunkler gefärbt als das Zellprotoplasma. Auch die den Tracheenendzellen anliegenden Leuchtzellen sind geschwärzt. Die übrigen Leuchtzellen werden höchstens leicht gebräunt. Bei den mit Osmiumsäuregas längere Zeit erstickten Tieren ist der feinere Bau der Tracheenendzellen wegen der Bedeckung des Kerns sowie der Tracheenkapillaren mit dem stark geschwärzten Zellprotoplasma schwer zu erkennen. Die Schwärzung der Tracheenendzellen beruht auf der Anhäufung der schwarzen Osmiumkörnchen; wegen der Reduktionsfähigkeit der Tracheenendzellen wird die eingeatmete Osmiumsäure in schwarzes Osmium reduziert. Diese chemische Veränderung spricht dafür, daß in diesen Zellen eine rhythmische Entziehung des in die Tracheen eingeführten Sauerstoffes vor sich geht und damit eine rhythmische Unterbrechung der Oxydation der Leuchtsubstanz und also ein periodisches Aufblinken bedingt wird. Der feinere Bau des Leuchtorgans der Imago der *Pyrocoelia analis* erinnert also an den der *Pyrocoelia rufa*.

Abb. 5. Leuchtorgan im Querschnitt durch das 8. Abdominalsegment der Larve von *Pyrocoelia analis*. Färbung mit Hämatoxylin-Eosin. *a* Leuchtorgan, *b* Leuchtzellschicht und *c* Uratzellschicht. Vergr. bei A 23fach und bei B 120fach.

Der Körperbau der Larve der *Pyrocoelia analis* ist fast gleich dem der *Pyrocoelia rufa*. Der Körper der Larve dieser Spezies ist ebenso wie der der *Pyrocoelia rufa* weit dünner als der der *Luciola cruciata*. Der

Körper, dessen Oberfläche bräunlich dunkel violett ist, besteht aus dem Pro-, Meso- und Metathorax sowie 9. Abdominalsegmenten. Auf der dorsalen Fläche und zwar in der Medianlinie verläuft ein feiner weißer Streifen, während an der ventralen Fläche zwei weiße Streifen fast parallel verfließen. An den Abdominalsegmenten fehlen die Kiemenfüße, was dafür spricht, daß die Larven dieser Spezies nie im Wasser leben. Am vorderen ventralen Teil des 8. Abdominalsegments ist ein paariges Leuchtorgan vorhanden, welches wie ein weißer Fleck aussieht. Das Leuchtorgan besteht aus einer ventralen lateralen Leuchtzellschicht und einer weit dünneren als diese dorsalen medialen Uratzellschicht; die erstere wird von der letzteren mützenförmig bedeckt (Abb. 5). Der Inhalt

Abb. 6. Luminöse Granula in den Leuchtzellen der Larve von *Pyrocoelia analis*. Färbung mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN. Vergr. 2000fach.

der Leucht- sowie der Uratzellen beim larvalen Leuchtorgan ist gleich dem beim imaginalen Leuchtorgan. Die polyedrischen Leuchtzellen enthalten prall gedrängt mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN gut färbbare feine kugelige Granula, welche keinen geschlechtlichen Unterschied zeigen und selbst nach langem Leuchten weder konsumiert noch deformiert werden (Abb. 6). Die Uratzellen, welche auch polyedrisch und

von gleicher Größe sind wie die Leuchtzellen, enthalten Konkretionen von harnsaurem Ammoniak und erfüllen die Aufgabe eines Refraktors.

Luciola Gorhami

Im allgemeinen ist der Körper der Imago der *Luciola Gorhami* kleiner als der der *Pyrocoelia analis*, indem das Männchen in Länge 8–9 mm und das Weibchen 9–10 mm beträgt. Der Thorax sowie das Abdomen sind gelb, während der Kopf einschließlich der Augen schwarz ist. Der vordere Teil der oberen Flügelpaare ist gelb, der hintere schwarz. Die Schwärzung wird von hinten nach vorn allmählich schwächer. Das hintere Ende der oberen Flügel ist beschränkt deutlich schwarz. Beim Männchen liegt das Leuchtorgan an der ventralen Fläche des letzten sowie vorletzten Abdominalsegments, während es beim Weibchen an der ventralen Fläche nur des drittletzten Abdominalsegments vorhanden ist (Abb. 7). Das Leuchtorgan, welches als eine weiße Platte durch das pigmentlose Chitin durchschimmert, nimmt die ganze ventrale Fläche des betreffenden Segments ein. Es besteht auch bei dieser Spezies aus einer durchsichtiger

ventralen Leuchtzellschicht und einer undurchsichtigen dorsalen Leuchtzellschicht, welche durch die Hypodermis von dem Chitin getrennt ist (Abb. 8). In den polyedrischen Leuchtzellen sind in Größe, Form und

Abb. 7. Längsschnitt durch das Abdomen der Imago von *Luciola Gorhami*. Färbung mit Hämatoxylin-Eosin. A ♂ und B ♀. a vorderes und b hinteres Leuchtorgan von ♂ und c Leuchtorgan von ♀. Vergr. 30fach.

Verteilung stets konstant bleibende Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN gern aufnehmende sog. Leuchtgranula eng gehäuft enthalten. Die Uratzellen, welche von gleicher Größe und gleicher Form sind wie die

Abb. 8. A Leuchtorgan der Imago von *Luciola Gorhami* im Querschnitt. Färbung mit Hämatoxylin-Eosin. a Leuchtzellschicht und b Uratzellschicht. Vergr. 320fach. B Luminose Granula in den Leuchtzellen der Imago von *Luciola Gorhami*. Färbung mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN. Vergr. 2000fach.

Leuchtzellen, enthalten Konkretionen von harnsaurem Ammoniak und spielen die Rolle eines Refraktors.

Nach Erstickung des Versuchstieres mit Osmiumsäuregas sieht man in der Leuchtzellschicht überall geschwärzte sternförmige sog. Tracheenendzellen, welche regellos hie und da zerstreut angeordnet sind (Abb. 9).

Eine Entsendung von 3–4 Fortsätzen aus diesen Zellen läßt sich erkennen. Meiner Mutmaßung zuwider kann man aber bei dieser Spezies die bei verschiedenen tropischen Leuchtkäfern nachweisbare konzentrische Gruppierung der Tracheenendzellen um die zuführenden Tracheen nicht

Abb. 9. Geschwärzte Tracheenendzellen bei *Luciola Gorhami* nach der Erstickung mit Osmiumsäuregas. Färbung mit Boraxkarmin. Vergr. 800fach.

beobachten. In diese Tracheenendzellen dringt jedes einzelne Tracheenstämmchen hinein, um sich dort in 3–4 Tracheenkapillaren zu teilen, welche eine Strecke lang in den Fortsätzen verlaufen, ohne an Länge sie zu übertreffen. Bei den Schnittpräparaten des mit Osmiumsäure übermäßig lange Zeit erstickten Versuchstieres werden bei den Tracheenendzellen der Kern und die

Kapillaren, welche dunkler gefärbt werden als das Zellprotoplasma, mit so stark geschwärztem Zellprotoplasma bedeckt, daß die genaue Struktur der Tracheenendzellen sich nicht erkennen läßt. Die Schwärzung ist auch in den den Tracheenendzellen anliegenden Leuchtzellen nachweisbar.

Zusammenfassung

1. Das imaginale Leuchtorgan der *Pyrocoelia analis* sowie der *Luciola Gorhami* besteht ebenso wie bei anderen Spezies von Leuchtkäfern aus einer ventralen Schicht von Leuchtzellen, welche dicht gehäuft sog. Leuchtgranula enthalten, und einer dorsalen Schicht von Urtzellen, welche Konkretionen von harnsaurem Ammoniak enthalten. Die Granula nehmen mit Vorliebe Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN auf und bleiben in Größe, Form und Verteilung immer konstant.

2. In der Leuchtzellschicht des imaginalen Leuchtorgans der obigen tropischen Spezies lassen sich überall hie und da regellos zerstreut angeordnete sternförmige mit 3–4 Fortsätzen versehene Tracheenendzellen erkennen, in welche die einzelnen Tracheenstämmchen hineindringen, um sich dort in 3–4 Tracheenkapillaren zu teilen. Diese Kapillaren verlaufen, ohne an Länge die Fortsätze zu übertreffen, in diesen zwischen den Leuchtzellen verfließenden Fortsätzen eine Strecke lang und endigen dann

plötzlich oder wie abgerissen. Der Bau und die Verteilung der Tracheenendzellen zeigen nicht das für die meisten tropischen Leuchtkäfer charakteristische Bild und erinnern vielmehr an dasjenige bei verschiedenen subtropischen Leuchtkäfern in Japan.

3. Die Struktur des larvalen Leuchtorgans der *Pyrocoelia analis* ist mit Ausnahme des Fehlens der Tracheenendzellen prinzipiell dieselben wie beim imaginalen Leuchtorgan, indem es aus einer Konkretionen von harnsaurem Ammoniak enthaltenden, dünnen dorsalen Uratzellschicht und einer sog. Leuchtgranula enthaltenden dicken ventralen Leuchtzellschicht besteht. Die Uratzellschicht bedeckt die Leuchtzellschicht von medial dorsal mützenförmig. Der Charakter der Leuchtgranula im larvalen Leuchtorgan ist gleich dem im imaginalen Leuchtorgan.

Schrifttum

- Bongardt, J., Beiträge zur Kenntnis der Leuchtorgane einheimischer Lampyriden. Z. wiss. Zool. 75, 1 (1903).
- Dahlgren, U., The production of light by animals. Journ. Franklin Inst. 183, 211, 323, 59 (1917).
- Emery, C., Untersuchungen über *Luciola italica*. Z. wiss. Zool. 40, 338 (1884).
- Geipel, E., Beiträge zur Anatomie der Leuchtorgane tropischer Käfer. Z. wiss. Zool. 112, 239 (1915).
- Hasama, B., Über die Biolumineszenz bei *Pyrocoelia rufa* im Aktionsstrombild sowie im histologischen Bild. Im Druck in Annot. Zool. Japon.
- , Über die Biolumineszenz der *Luciola lateralis* im zytologischen Bild sowie im Potentialbild ihres Leuchtorgans. Cytologia 12, 366 (1942).
- , Über die Biolumineszenz der Larve von *Luciola cruciata* sowie von *Pyrocoelia rufa* im Aktionsstrombild sowie im zytologischen Bild. Cytologia 12, 378 (1942).
- , Zytologische Untersuchungen des Leuchtorgans von *Luciola cruciata*. Cytologia 12, 389 (1942).
- Lund, E. J., On the Lampyridae. Journ. Exper. Zool. 11, 415 (1911).
- Okada, Y. K., Origin and development of the photogenic organs of lampyrids, with special reference to those of *Luciola cruciata* MOTSCHULSKY and *Pyrocoelia rufa* ERN. OLIVIER. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. B, 10, 209 (1935).
- , Luminous apparatus in lampyrids. Syokubutu oyobi Dōbutu (jap.) 3, 1312, 1475, 1638, 1799 (1935).
- Townsend, A. B., The histology of the light organs of *Photinus marginellus*. Americ. Nature 38, 127 (1904).
- Vogel, R., Beiträge zur Anatomie und Biologie der Larve von *Lampyris noctiluca*. Zoolog. Anz. 39, 515 (1912).
- , Zur Topographie und Entwicklungsgeschichte der Leuchtorgane von *Lampyris noctiluca*. Zoolog. Anz. 41, 325 (1913).
- Wielowiejski, H. v., Studien über Lampyriden. Z. wiss. Zool. 37, 354 (1882).