Trägergranula und Ommochrompigmente in den Augen verschiedener Rassen und Transplantat-Träger von *Ephestia kühniella* Z. und *Ptychopoda seriata* Schrk.

Von GISELA HANSER

Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie, Abt. Kühn, Hechingen

(Z. Naturforschg. 1, 396—399 [1946]; eingegangen am 26. April 1946)

Die Ommochromfarbstoffe der Augenpigmente von *Ephestia* und *Ptychopoda* sind an Eiweiß-Trägergranula gebunden. Das Corneazellpigment unterscheidet sich von dem der übrigen pigmentierten Ommatidienzellen in der Pigmentkorngröße; an Stelle von Skotommin führt es in den *Ephestia*-Augen Xanthommin. Durch *a* wird der Skotommin- und der Xanthommingehalt vermindert, durch *a*⁺-Stoff-Zufuhr (durch ⁺-Implantate oder Kynurenin-Injektion) wird er in *a*-Tieren gesteigert. In den Augen der *wa-Ephestien* fällt die zur Pigmentbildung notwendige Trägersubstanz aus. Das hellgelbe Pigment der *dec-Ptychopoda*-Augen färbt sich im kurzwelligen Licht rot aus. Die Fähigkeit zur ⁺-Pigmentbildung in *a*-Augen nach ⁺-Stoff-Zufuhr beginnt und erlischt in den einzelnen Zellelementen zu verschiedenen Zeiten.

Die genabhängige Augenpigmentbildung bei Insekten bietet ein günstiges Modell entwicklungsphysiologisch-genetischer Vorgänge¹.

Aus Tryptophan wird unter Wirkung eines Gens (*a*⁺-*Ephestia* = *v*⁺-*Drosophila*) Kynurenin gebildet² und aus diesem das Ommochrom, der Farbstoff der Insekten-Augenpigmente, aufgebaut^{3, 4}. Die Untersuchung der quantitativen Beziehung zwischen zugeführtem Kynurenin und Ommochrom in den *Ephestia*-Augen ergab, daß etwa doppelt soviel Skotommin (Ommochrom der Schmetterlingsaugen) gebildet wie Kynurenin zugeführt wird⁵, also entsteht das Skotommin aus Kynurenin in Verbindung mit andern, noch unbekannten Stoffen. In den Dipterenaugen bildet sich aus Kynurenin Ommatin, ein Ommochrom von geringerer Molekulargröße.

Die fertigen Augenpigmente sind im Pigmentkorn mit Eiweiß zu einem Chromoproteid verbunden⁴. Die letzte Stufe der Pigmentbildung verläuft strukturgebunden auf einer Trägersubstanz⁶, die wahrscheinlich mit dem Eiweißkörper des Pigmentkorns identisch ist. Diese strukturgebundenen Vor-

gänge werden, wie Transplantationsversuche^{7, 8} zeigten, durch die Mutation *wa* bei *Ephestia* und *dec* bei *Ptychopoda*, ebenso wie durch *w* bei *Drosophila*⁹, gestört.

Außer dem in Ammoniak und Ameisensäure löslichen Skotommin (der „Rotkomponente“) läßt sich noch eine wasserlösliche „Gelbkomponente“ aus den *Ephestia*-Augen extrahieren. Letztere zerfällt in undialysables Xanthommin und einen dialysablen Anteil³.

Die Zellelemente eines Ommatidiums des Superpositionsauges von *Ephestia* und *Ptychopoda* zeigt Abb. 1. Das Pigment häuft sich hauptsächlich in den Nebenpigmentzellen; die Retinulazellen sind bei *Ephestia* distal der Kernzone pigmentiert, bei *Ptychopoda* pigmentfrei. Die Corneapigmentzellen enthalten eine einschichtige Pigmentkornlage.

Bei ⁺-*Ephestia* stellte ich zwei verschiedene Augenpigmente in Granulaform fest: ein dunkelbraunes, in Wasser unlösliches Pigment in den Retinula- und Nebenpigmentzellen und ein dunkelgelbes, wasserlösliches Pigment in den Corneapigmentzellen, dessen Pigmentkörner sich auch

¹ Zusammenfassung: A. Kühn, Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Math.-Physik. Kl. [1941].

² A. Butenandt, W. Weidel u. E. Becker, Naturwiss. 28, 63 [1940].

³ E. Becker, Biol. Zbl. 59, 597 [1939].

⁴ E. Becker, Z. indukt. Abstammg. Vererbungsl. 80, 157 [1942].

⁵ A. Kühn u. E. Becker, Biol. Zbl. 62, 303 [1942].

⁶ R. Danneel, Biol. Zbl. 61, 388 [1941].

⁷ A. Kühn u. V. Schwartz, Biol. Zbl. 62, 226 [1942].

⁸ V. Schwartz, Biol. Zbl. 61, 253 [1941].

⁹ B. Ephrussi u. S. Chevais, Bull. Biol. France Belg. 72 [1938].

	<i>Ephestia</i>						<i>Ptychopoda</i>			
	+		<i>a</i>		<i>wa</i>		+		<i>dec</i>	
	Pigment	entpigmentiert	Pigment	entpigmentiert	Pigment	entpigmentiert	Pigment	entpigmentiert	Pigment	entpigmentiert
Cornea-pigmentzellen	X	○	X	○	—	—	S	○	L	○
Neben-pigmentzellen	S	○	S	○	—	—	S	○	L	○
Retinulazellen	S	○	S	○	—	—	—	—	—	—

Tab. 1. Schematischer Vergleich der Pigmentarten, Pigmentmengen und Granulagrößen in verschiedenen Zellelementen bei verschiedenen Rassen von *Ephestia kühniella* und *Ptychopoda seriata*.

X = Xanthommin, S = Skotommin, L = im Licht aus färbbares Pigment.

durch größere Dimensionen von dem der übrigen Zellen unterscheidet (Abb. 1, Tab. 1). Das dunkelbraune Pigment zeigt das für *Skotommine* charakteristische Redoxverhalten⁴. Bei dem dunkel-

ausgelösten gelben Farbstoffs sind. Nach Entpigmentieren durch essigsäures NaNO₂ oder mittels der Palschen Bleichmethode bleiben auch an Stelle der dunkelbraunen Pigmentkörner der übrigen pigmentierten Zellen mit Hämatoxylin schwach färbbare Granula zurück (Tab. 1). Die Trägergranula besitzen eine geringe Größe (ca. 0,2 µ).

In der +Puppe der Wildrasse tritt das Pigment zunächst in den Retinulazellen (0–200 Stdn. alte Puppe bei 20° Entwicklungstemperatur), von einem dorso-caudalen Augenbezirk aus über die Ommatidien fortschreitend, auf¹⁰. In den Nebenzellen entsteht das Pigment im Alter von 220 bis 240 Stdn. in allen Ommatidien gleichzeitig. Zuletzt erscheint das gelbe Xanthomminpigment in den Corneapigmentzellen (am 13. Tag der Puppenruhe). Mit zunehmendem Alter des Einzelkorns gehen Wachstum und Farbvertiefung einher. Als Vorstufe der Pigmentkörner sieht man in den Nebenzellen (220 Stdn.) mit Heidenhain-Hämatoxylin blaß blau gefärbte Granula auftreten, die sich allmählich durch braunes Pigment verdunkeln und wachsen. In den Retinulazellen sind Prägranula durch das dichte Plasma und chromatinreiche Kerne nicht sichtbar. Eine Beziehung der Prägranula zu Mitochondrien, die Voinov¹¹ als Pigmentvorstufe bei *Simulium*-Larven fand, konnte ich nicht feststellen; die Kullsche Mitochondrienfärbung fiel negativ aus.

Zu dem Gen *a*⁺ kennen wir die Allele *a* („rotäugig“) und *a*^k („kaffeebraunäugig“)¹². Das Augenpigment der *a*-Falter ist feinkörniger als das von *a*⁺¹³, zeigt aber entsprechende Verteilung und Korngrößenunterschiede wie in den Zellen der

Abb. 1. Distalabschnitte von Ommatidien der Wildformen in Hellstellung (schematisch) a) *Ephestia*, b) *Ptychopoda*.

gelben Pigment der Corneapigmentzellen handelt es sich vermutlich um den von Becker mit *Xanthommin*³ bezeichneten Stoff; darauf läßt die Wasserlöslichkeit schließen, das Redoxverhalten fehlt. Mit Heidenhainschem Hämatoxylin gefärbte Schnitte durch ein +-Auge enthalten in den Corneapigmentzellen kein Pigment mehr, sondern nur blaugefärbte Granula. Aus ihrer Verteilung kann man schließen, daß sie die Trägergranula des her-

¹⁰ W. Umbach, Z. Morph. Ökol. 28, 561 [1934].

¹¹ V. Voinov, Arch. Zool. exp. gén. 67, 233 [1928].

¹² H. Piepho, Roux' Arch. 133, 495 [1935].

¹³ E. Plagge, Roux' Arch. 132, 648 [1935].

Schwarzäugigen. Das Pigment der Corneapigmentzellen ist wie im Wildauge grobkörniger als das der übrigen Pigmentzellen (Tab. 1). Der Vergleich ungefärbter Augenschnitte im Vergleichsmikroskop läßt erkennen, daß die Pigmentkörner der Corneapigmentzellen im *a*-Auge etwas heller gefärbt und kleiner als im *+*-Auge sind. Also wird nicht nur der Skotommingehalt der Retinula- und Nebenzellpigmentkörner, sondern auch der Xanthommingehalt der Granula in den Corneapigmentzellen durch *a* vermindert. Dieser histologische Befund stimmt mit Beckers³ Feststellung bei der chemischen Analyse überein. Die Ommochrome sind im *a*-Auge wie im Wildauge an Trägergranula gebunden (Tab. 1), die nach Entpigmentierung zurückbleiben. In den *a*-Puppen erfolgt die Pigmentbildung in derselben Reihenfolge wie bei den Wildaugen¹³, aber das *a*-Pigment bildet sich in einem späteren Entwicklungsstadium der Zellen.

Die weißäugige *Ephestia*-Mutante *wa*^{1,8} kann *a*⁺ kryptomer führen; *wa* wird immer manifest, wenn das mutierte Allel homozygot vorhanden ist. Transplantate mit *wa* lösen in *a*-Wirtsaugen Ommochrombildung aus; *wa*-Augenimplantate geben mehr *a*⁺-Stoff an *a*-Wirtsaugen ab als *+*-Implantate, da *wa*-Augen selbst kein *a*⁺-Pigment bilden⁷. Die histologische Untersuchung von *wa* zeigt, daß nicht nur das Pigment fehlt, sondern auch keine mit Hämatoxylin färbbaren Granula gebildet sind (Tab. 1). Das *wa*⁺-Gen greift bei der Prägranula-Bildung in den Entwicklungsgang ein; *wa* unterdrückt die zur Augenpigmentsynthese notwendige Bildung von Trägersubstanz.

Bei *Ptychopoda* fehlt in den Retinulazellen das Pigment vollständig (Abb. 1b). In den Corneapigmentzellen liegen wie bei *a*⁺ größere Pigmentgranula als in den Nebenzellpigmentzellen; sie führen aber kein Xanthommin wie bei *Ephestia*, sondern dunkelbraunes Skotommin wie die Nebenzellpigmentzellen (Abb. 1b, Tab. 1). An Hand der Korngröße des Corneazellpigments kann man im helladaptierten Auge feststellen, daß die Corneapigmentzellen sehr weit proximalwärts reichen und die distale Spitze der Retinulazellen glockenförmig umfassen (Abbildung 1b); sie können auf diese Weise das fehlende Retinulazellpigment bei *Ptychopoda* in der Hellstellung funktionell ersetzen.

Die Mutation *dec* von *Ptychopoda* hat im Dunkeln aufgezogen hellgelbe Augen. Das *dec*-Pigment ist feinkörniger als das des *dec*⁺-Auges und fehlt wie bei der Wildform in den Retinulazellen. Die

Pigmentkörner der Corneapigmentzellen sind größer als die der Nebenzellpigmentzellen, aber ebenfalls hellgelb (Tab. 1). Der gelbe Farbstoff des Cornea- und Nebenzellpigments löst sich im Wasser. Im Augenpigment-Ausstrich bleiben bei *dec*⁺ und *dec* nach Pigmententfernung Trägergranula wie bei *a*⁺ und *a* zurück (Tab. 1). Die *dec*-Augen besitzen die Eigentümlichkeit, daß sie sich im Licht von Gelb über Orange zu Rot ausfärben¹⁴. Die Ausfärbung beruht auf direkter Lichtwirkung; bei einseitiger Beleuchtung wird die vom Licht abgewandte Seite nicht ausgefärbt. Zur Ermittlung der bei der Ausfärbung wirksamen Wellenlängen wurden die Köpfe der *dec*-Falter mit einem Quecksilber-Monochromator bestrahlt¹⁵. Die größte Wirksamkeit zeigten Strahlen der Wellenlänge 313 mμ, kurzwelligere Strahlen (302 mμ) wirken tödlich. Bei λ = 546 mμ erfolgt keine Pigmentaustauschfärbung. Das histologische Präparat zeigt, daß die gelben Pigmentgranula in Cornea- und Nebenzellpigmentzellen sich bei Belichtung in gleicher Weise rot ausfärben und an Größe zunehmen. In welcher chemischen Beziehung das lichtausfärbbare *dec*-Pigment zum Skotommin steht, kann durch die histologische Untersuchung nicht beantwortet werden. Es könnte ein Zusammenhang zwischen *dec*-Pigment und dem Stoffbestand bestehen, der neben Kynurenin zur Hälfte an der Skotomminbildung beteiligt ist; oder es könnte sich um einen Stoff außerhalb des bisher bekannten Weges der Augenpigment-Synthese handeln. Daß das gelbe *dec*-Pigment an denselben Granula entsteht, die in *dec*⁺-Augen das Skotommin bilden, wird dadurch bewiesen, daß die *dec*-Pigmentkörner dieselbe Lage in den Zellen und dieselben Größenunterschiede zwischen Corneazellpigment einerseits und Nebenzellpigment andererseits aufweisen. Transplantationsversuche^{8,14} zeigen, daß *dec*-Tiere *+*-Stoff bilden, den sie selbst nicht zur Skotomminsynthese verwenden können. Ob man bei der Mutation *dec*⁺ → *dec* den Grund dafür in einer Änderung der Natur des Trägereiweißes oder des Fermentsystems, welches normalerweise bei der Skotomminbildung beteiligt ist, suchen muß, kann durch die histologische Untersuchung nicht entschieden werden.

Die Retinulazellen der Augen von *Ptychopoda* und *wa*-*Ephestia* machen, obwohl sie kein Pigment

¹⁴ A. Kühn, Naturwiss. 27, 787 [1939]. — A. Kühn, Z. indukt. Abstammg. Vererbungsl. 78, 1 [1940].

¹⁵ Die Versuche wurden im Institut für Strahlenforschung der Universität Berlin durchgeführt; ich danke Hrn. Prof. Dr. Friedrich für seine Unterstützung.

enthalten, bei Dunkeladaptation dieselben Formveränderungen durch wie die Retinulazellen der +-Augen.

Die Pigmentbildung in den einzelnen Zellelementen des Ommatidiums im *a*-Auge nach *a*⁺-Stoff-Zufuhr ist von dem Zeitpunkt der Zufuhr abhängig. Die histologische Untersuchung der durch +-Augenimplantate ausgefärbten *a*-Falteraugen läßt drei Stufen unterscheiden:

Abb. 2. Durch +-Implantate ausgefärbte Augen von *a*-*Ephestia* (distale Ommatidien-Abschnitte, schematisch): a) +-Implantat in Vorpuppe, b) +-Implantat in junge Puppe, c) +-Implantat in ältere Puppe.

1. Wird ein Stück +-Auge in das Auge einer *a*-Vorpuppe eingepflanzt, so bildet sich im Wirtsaug $\pm$ -Pigment in den Retinulazellen; Neben- und Corneapigmentzellen enthalten nur *a* entsprechendes Pigment (Abb. 2a).

2. Nach Implantation in eine *junge Puppe* wird im Wirtsaug in den Retinulazellen nur wenig, in den Nebenpigmentzellen reichlich $\pm$ -Pigment gebildet; in den Corneapigmentzellen ist das *a*-Pigment nicht ausgefärbt (Abb. 2b).

3. +-Implantate in *ältere Puppen* veranlassen im Wirtsaug in Neben- und Corneapigmentzellen

$\pm$ -Pigmentbildung. Die Retinulazellen bleiben ohne $\pm$ -Pigment (Abb. 2c).

Injiziert man 10 γ Kynurenin in eine 1–5 Tage alte *a*-Puppe, so entspricht die Pigmentierung der Imaginalaugen der zweiten Stufe, nur sind auch die Corneapigmentzellen $\pm$ -gemäß ausgefärbt, da der $\pm$ -Stoff, im Gegensatz zu dem von Implantaten gelieferten, im Überschuß zur Verfügung steht. Bei Kynurenin-Injektion nach mehr als 7 Tagen Puppenruhe entspricht die Pigmentbildung der Stufe 3. Nach dem 12. Tag nach der Verpuppung bleiben +-Implantate¹⁶ und Kynureningaben⁵ wirkungslos; die Zellen haben ihr Ausfärbungsvermögen verloren. *Die einzelnen Zellelemente des Auges sprechen also zu verschiedenen Entwicklungszeiten auf +-Stoff in unterschiedlichem Maße an.*

Nach Implantation von Augenanlagen (0 bis 24 Stdn. nach Verpuppung) von *Ptychopoda dec*⁺ und *dec* in *Ephestia a* stellte sich heraus, daß die *a*-Falteraugen mit *dec*⁺-Implantaten (9 Exemplare) die Pigmentbildung entsprechend Abb. 2a, die mit *dec*-Implantaten (4 Exemplare) die Pigmentierung entsprechend Abb. 2c aufweisen. Die Pigmentbildung entsprechend Abb. 2b tritt bei *dec*⁺- (3 Exemplare) und *dec*- (4 Exemplare) Transplantatträgern auf. Offenbar *setzt die +-Stoffabgabe bei dec später ein als bei dec*⁺.

Die Transplantations- und Injektionsversuche zeigen außerdem, daß nicht nur die Skotommin-, sondern *auch die Xanthomminsynthese in den Corneapigmentzellen durch +-Stoff-Zufuhr gesteigert wird*. Hiermit wird die *Verwandtschaft des Xanthommins mit den Ommochromen*, die Becker³ vermutete, bewiesen. Hierauf wies auch die Tatsache hin, daß bei *Ptychopoda* die den Xanthomin-Granula von *Ephestia* entsprechenden großen Granula der Corneapigmentzellen Skotommin bilden.

In den *Ephestia*-Augen sind die Zellelemente des Ommatidiums nicht nur morphologisch, sondern auch in ihrem chemischen Bildungsvermögen differenziert.

¹⁶ E. Plagge, Z. indukt. Abstammg. Vererbungsl. 72, 127 [1936].