SCIENCE REPORT OF THE YOKOSUKA CITY MUSEUM, NO. 8 March, 1963

Further Studies on a Luminous Land Snail, Quantula striata, in Malaya¹

Yata Haneda*

(with 5 text-figures)

再びマラヤの発光カタツムリ Quantula striata に就て

羽根田弥太

1. Introduction

Luminous specis of Gastropoda Pulmonata are very rare, only two being known at the present: *Latia neritoides*, a fresh water limpet, first discovered in New Zealand by Suter⁽¹⁾ (1890); and *Dyakia striata*, ^{2,3,4,5,8)} a land anail, found by us in Singapore in 1942.

Latia neritoides is the only known luminous species among the fresh water organisms. Among the terrestrial gastropods, a luminous species was not known until our discovery, in 1942, of *Dyakia striata* of the the Zonitidae from Singapore.

During my stay at the Raffles Museum in Singapore in 1942, Mr. M. Kumazawa (an entomologist friend of mine from Macasser Institution, Celebes, attending the Science Congress in Singapore, September 1942) discovered the Iuminosity of this snail on the lawn of the Good Wood Park Hotel, Scott Road, Singapore. We were astonished at its luminosity. I composed a report on it and sent the manuscript to Tokyo for printing. Unfortunately, the manuscript and all copies were destroyed by fire at the end of the war. After repatriating from Singapore I published a short report entitled "A luminous land snail, *Dyakia striata* found in Malaya" in "Seibutsu" ("Organisum"), Vol. 1, Nos. 5-6, 1946 and also reported at the Conference of Luminescence (1) held at Pacific Grove, California in 1954.

With aid from the National Science Foundation I visited Singapore again in April 1960 and collected 75 specimens, some of which I brought to Japan and kept alive under observation for about four months. Again in September, 1961, as a consultant of the South Asian nature study team of the Japan Broadcasting Corp., I revisited Singapore and collected fresh specimens. I observed that also the mantle and the foot are luminescent, a fact which I overlooked in my 1946 report.

The purpose of this paper is to report further observations on the luminescence of

^{*} Yokosuka City Museum, Yokosuka, Japan, Marine Biological Laboratory, Woods Hole, Mass, and Biological Department of Princeton University, Princeton, N. J., U. S. A.

¹ This study has been aided by grant number G-6105 from the National Science Foundations to the Marine Biological Laboratory, Woods Hole, for a joint project with Prof. Dr. Frank H. JOHNSON of Princeton University.

I wish express my sincere gratitude to Dr. M. HORIKOSHI of the Ochanomizu University, who identified the snail and to Father Richard C. Goris, Member of the Herpetological Society of Japan, for having assisted me in the preparation of this manuscript.

Y. HANEDA

this snail, as well as the anatomy and histology of the luminous organ.

2. Material

The snail studied is *Dyakia striata* (Goodwin and Austin). The type specimen, from Gunung Pulai, Johore, Malaya, is in the Raffles Museum. According to Dr. Masuoki Horikoshi, the classification of this snail in the Pulmonates is as follows:

Pulmonata

a

b

Stylommatophora

Subfamily Ariophantidae

Genus Quantula H.B. BAKER 1941

Species Quantula striata (GRAY)

This snail (Fig. 1 a and b) is very common during the rainy season in Singapore,



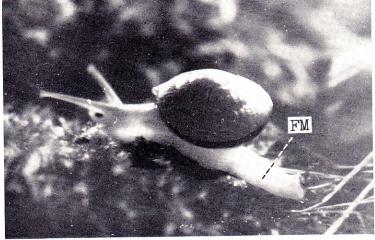


Fig. 1 a and b. Luminous land snail, Quantula striata. FM, Mucous fold.

and is always found on lawns or in the grass by the roadside or on fences, but never

on tree trunks or leaves. The shell is usually 20-25 mm in diameter, colored brown and pale purple. The distribution seems limited to Singapore, Johore, the Southern Malaya peninsula, and to Kalimun, Kundur and Batam Island of the Rhio archipelago and some part of Philippines. The first description of the snail in Singapore was under the name of *Ariophanta striata* by Semper⁽⁹⁾ in 1870, but no one observed its luminosity. In fact even now most people in Singapore are unaware of its luminosity. But in April 1960, when I was collecting snails at night on the lawn of the Sea View Hotel, East Coast Road, Singapore, a Malayan told me that some Malayans do know that certain land snails emit light like a firefly. They called them "Siput bulan". "Siput" is "snail". and "bulan" means "moon".

3. Luminous Organs and Luminous Appearance

As shown in Figs. 2, and 3, PHOT, the light appears inside the anterior region of the

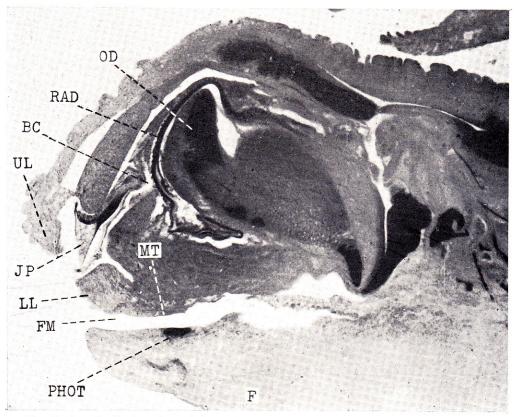


Fig. 2. Longitudinal section of the snail, showing luminous organ (PHOT), situates on the lower wall of mucous fold near the mouth. PHOT, Luminous organ; FM, Mucous fold; UL, upper lip; LL, Lower lip; JP, Jaw plate; BC, Buccal cavity; RAD, Radula; OD, Anterior muscle of odontophore; MT, Mucous tissue; F, Foot.

foot, and cannot be seen outside when the snail is withdrawn into its shell. When the snail is moving about with the foot well extended, the luminescence observed through the

4 Y. HANEDA

head or the translucent muscles of the foot, is bluish and flickers like that of a firefly. The time intervals of the flashing depend on the stage of development of the snail and on various other conditions, particularly temperature, moisture, light and stimulation. The snails will emit light only under natural conditions. Immediately after hatching, young snails of about 1 mm in shell diameter emit a weak, apparently continuous, luminescence over the surface of the whole foot. Under low power magnification, however, the diffuse glow is seen to be made up of many small flashes scattered over the entire foot. In later stages of development the light condenses to the oval luminous organ just below the mouth. Luminescense is most frequently observed in young stages, of a shell diameter from 5 to 15 mm. In a specimen of 15 mm shell diameter the luminous organ near the mouth measured 2 mm in diameter. As the snail grows, the flicker rate diminishes, and some individuals show no luminescence at all.

The normal duration of a flash at 25°C and high humidity in the dark is two to three seconds. The snail flashes two to four times, and then pauses for 30-40 seconds before beginning another period of flashing. Each flash is of about the same intensity, and can be observed from a distance under the light of a 30 watt bulb if the snail is simply shaded with the hand. The luminescense of this snail is intracellular, and comes from luminous cells, not from luminous bacteria. No luminous slime is secreted from any of the luminous cells.

The luminous organ is situated below the mucous fold at the head. It is oval in shape and cannot be seen from outside. Even if the animal has been preserved in formalin or for a long time in alcohol, the oval shaped luminous organ is visible as a pale yellow spot. Under a fluorescent microscope, it is possible to see the beautiful golden flourescence which the luminous organ emits.

In 1946 I reported only on this luminous organ, but in 1960 I discovered two more luminous parts, namely the whole mantle and the entire foot. The light of these two parts differs from that of the luminous organ, being continuous and very dim, almost invisible. It is recognizable only in absolute darkness, by an eye used to the dark.

Its intensity depends on the individual. The light of the mantle is visible only when the snail has withdrawn into its shell. It is stronger than that of the foot. Fig. 4 is a photographic record of the light of the mantle, made by pressing a photographic film directly against several snails for about 3 minutes in the dark.

4. Histology

Since the luminescence of this snail is not only localized in the luminous organ, but also spread over all the foot and the mantle, the whole body was preserved in alcohol after being killed in water. For microscopic examination, the material was sectioned in Celloidin and stained with haematoxylin eosin, As shown in Figs. 2 and 3 in the longitudinal and transverse sections, the luminous organ appeared as several large cells situated under the large mucous fold. The mucous fold runs on both side of the body from the head to the end of foot, and it is buried deep at the head, The upper wall

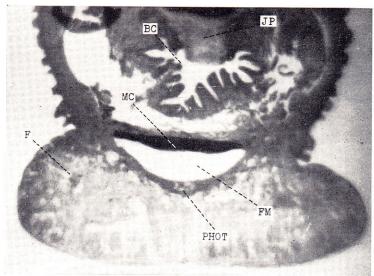


Fig. 3. Transverse section of the snail near the mouth. PHOT, Luminous organ which situates on the lower wall of mucous fold; FM, Mucous fold; FM, Mucous fold; MC, Mucous cell; F, Foot; JP, Jaw plate; BC, Buccal Cavity.



Fig. 4. Photographic image of the light of the mantle, made by pressing a photographic film directly against 4 snails for abaut 3 minutes in the dark.

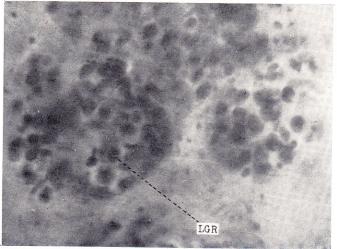


Fig. 5. Luminous granules in the luminous cell which situates on the lower wall of Mucous fold,

6 Y. HANEDA

of the mucous fold at the head is covered with mucous tissues which secrete mucous secretion. The mucous tissue stain with haematoxylin and are dark violet in color. The luminous organ stain poorly with haematoxylin and are a pale violet in color. Under an ordinary microscope these cells are not very distinguishable because they have the same stain as the surrounding cells. However, under a fluorescent microscope, the unstained luminous organ cells, and only these, emit a golden autofluorescent light.

In younger stage of development, numerous granules appeared in the large luminous cells as shown in Fig. 5. The luminous cells of the mantle and foot are very similar to those of the luminous marine snail Planxis. (10) In the luminous area of the mantle and foot, under the thin epithelium, there appear many cellular masses which probably contain the luminous substances. Each of these masses consists of small, closely packed cells. These cells are scattered throughout the whole mantle and the entire foot. The intensity of the light of the mantle and foot depends on the individual. The character of these cells indicates that the luminescence must be intracellular.

5. Biochemistry

A number of the snails were removed from their shells and thoroughly dried. They were then ground in a mortar and moistened with water in the dark, luminescence did not appear. A negative luciferin luciferase reaction was obtained by mixing hot water and cold water extracts of the crushed body.

Summary

- 1. My manuscript concerning the discovery of a luminous land snail in Singapore in 1942 was destroyed by fire at the end of the war. Eighteen years later I had another chance to study this snail. This paper is a report on the luminescence, anatomy and histology of its luminous organ.
- 2. In a previous paper (1946) I reported the existance of an oval luminous organ under the mouth in contact with the mucous bold. The luminescence is bluish and flickers like that of a firefly. When the organ is stained with haemotoxylin and examined under an ordinary microscope, it appears as a mass of large cells. If an unstained section is observed under a fluorescent microscope, the luminous cells emit a beautiful golden light by autofluorescence, and are thus distiguishable from ordinary cells. Since the luminescence flickers, it can be supposed that there are blood vessel and nerve connections to the luminous cells, but I was unable to verify this.
- 3. In the specimens collected in 1960 the luminescence of the foot and mantle was also observed. This was overlooked in the 1946 paper. This light is continuous and very weak. The intensity of the light of these parts is supposed to be proportionate to the density of the luminous cells.
 - 4. The character of these cells indicates that the luminescence must be intracellular.

References

- SUTER, H. 1890. Miscellaneous communications on New Zealand land and fresh water molluscs. New Zeal. Inst. Trans. 23: 93-96.
- 2) GOODWIN, AUSTEN 1891. Proc. Zool. Soc. : 22-27; pl. 2-6.
- LAIDLAW, F.F. 1931. On a New Subfamily Dyakinae of Zonitidae. Proc. Malacological Soc. 19 (4): 190-201.
- 4) THIELE, J. 1931. Handbuch der Systematische Weichtierkunde 2:633.
- 5) BAKER, H.B. 1939-40-41. Zonitid shells from Pacific Islands. Bull. Bishop Bernico Mus. Bul. 158. pt. 1, Bull. 165 pt 2 and Bull. 166 pfs 3, 4.
- 6) Haneda, Y. 1946. A luminous Land Snail, *Dyakia striata*, found in Malaya. Seibutsu (Living Organisms). 1(5/6): 294-298.
- HANEDA, Y. 1955, Luminous Organisms of Japan and the Far East. In Luminescence of Biological Systems. Frank H. Johnson, ed. A.A.A.S, Washington, D.C.: 253-254.
- 8) HARVEY, E.N. 1952. Bioluminescence Academic Press Inc. New York
- 9) SEMPER. 1870. Reisen in Archipelago der Philippinen. 3.
- 10) Haneda. Y. 1958. Studies on Luminescence in Marine Snails. Pacific Science XII: 152-156.

発光カタツムリの発見

1942 年から 45 年にかけて、私はシンガボールのラッフルス博物館(当時の昭南博物館)で発光動物の研究をしていたが、発光カタツムリは特に忘れ難いものの一つである。このカタツムリは殼の直径 $15\sim20$ ミリのマイマイの一種で、学名は $Quantula\ striata$ 、シンガポール、マラヤ半島南部、リオ群島に分布している種類で、雨期には道端の草の上、芝生などにはどこでも見られる普通の種類であるが、発光することは全く知られていなかった。軟体動物の中、イカ類には発光する種類が極めて多く知られているのに巻貝の仲間では発光するものは極めて稀で、僅かにニュージーランドの淡水の小さい巻貝 $Latia\ neritoides\$ と八丈島からハワイ、西印度諸島にまで分布するタマキビモドキ $Planaxis\$ の数種だけで、まだ陸棲のカタツムリが光ったと言う記録はどこにもなかった。従って、1942 年シンガポーで発光カタルツムリが 発見されたことは非常に大さな意義があった。最初このカタツムリが光ることをみつけたのは当時マカツサル研究所の技師であった昆虫専門の熊沢誠義氏であって、同氏は 1942 年8月博物館、植物園等の基礎研究機関の研究会議に出席のため、シンガボールのオーチャードロードにあった当時海軍水交社となっていたグッドウッドパークホテルに滞在中、同ホテルの庭の芝生の垣根のもとで蛍の幼虫かと思って夜間とったのが、この光るカタツムリであった。

ラッフルス博物館の Type specimen は *Dyakia striata* ジョホールの Gnung Pulai で採集となっていた。このカタツムリは 1870 年 Semper によって *Ariophanta striata* の名によってシンガポールより報告されている。これが動機となって私はシンガポーの各地,リオ群島中の Kalimon,Kundur 両島のゴム園の中,等で多数を採集し,飼育の結果,卵から孵化しはばかりの幼貝は腹足全体が連続的に光ることも観察した。研究結果は 1943 年,東京の資源科学研究所へ送ったが,原稿も校正刷も印刷屋にて空襲のため焼失したと言うことで発行をみるに至らなかった。一方,終戦の時,私はスマトラ中部に出張していたが占領軍がシンガポールへ上陸しない前に一切の書類は焼きすてるように軍から命令が出たらしく,私がシンガポールへ帰りついた時は既に博物館内は勿論私の官舎に置いてあった原稿やメモは一切焼却されてしまったあとであった。止むなく帰国後,私の記憶をたどって簡単な報告を「生物」に出しておいた。

この発光カタツムリの発見は当時,シンガポールでも戦争の最中ではあったが,朗かなニュースとして伝えられ,徳川義親侯,郡場寛博士,マニラから会議に出席された畑井新喜司博士,マカッ

サル研究所の加藤源治氏、当時、博物館と植物園で研究をしていたシンガポール植物園長であった ホルトム博士、副園長であったコーナー博士、水産局長であったバートウイッスル氏等からもその 発光が確認された。私等とは別に、クアラルンプールでも高橋良一博士がこのカタツムリの光ることを観察していた。

再び発光カタツムリを採集

1960年3月末、アメリカ、ヨーロッパからの帰途このカタツムリを採集の目的でシンガポールに立ちよった。このカタツムリは雨期には至る所に見られるが乾燥期には全く姿をかくしてしまうので五日間歩きまわったが遂に一つも採集出来なかった。然し雨期が近づきつつあったのでジャワへの旅に上り、3週間後、再びシンガポールを訪れた時はやや雨があり、到着の夜ラッフルス博物館前の川をへだてた土手の上の芝生をさがした処、数個を採集、翌晩、再びその場所に行ってみた処、驚いたことに前晩私が不用意に靴で踏みつぶしたアフリカオオカタツムリにこの発光カタツムリが数個も集っていたので、その晩は40個をとることが出来た。このカタツムリは野菜、キウリなどをよく食べるが、又肉食することもわかった。結局、滞在中75個を採集した。乾燥期の終りであったためか採集したカタツムリは全部、生長したものばかりであった。このカタツムリは殻の直径15mm位の若いものは例外なくよく光るが、生長しきったものは発光に個体差が出来て、全く発光しないのもある。然しこの全く発光しなくなったカタツムリが産卵すると再びよく光る幼貝が出来る。採集した75個の中、蛍のように明減する光を放つものは僅かに8個であったが他のものはいずれも外套膜から極めて弱い連続的の光を放つのを見た。

1961 年 9 月から 12 月にかけて NHK TV の「東南アジアの自然をさぐる」 取材班のコンサルタントとして参加、再度にわたりシンガポールを訪れ、同年 12 月 26 日から月末までの間に同所で再び 20 個を採集した。

1960年に採集したものの中60個を乾燥状態に保って紙の箱に入れ、フィリッピン香港と持ち歩き、5月3日、日本へ生きたまま持ち帰ることが出来た。その後8月まで、キウリ、白菜、カタツムリの肉等で飼育したが8月に入って急に食餌をとらなくなり全部死んでしまった。おしいことに幼貝をとることが出来なかったが、発光の有様を充分観察することが出来、又発光器の組織を明かにすることが出来た。外套膜の光ることは堀越増興、吉葉繁雄両博士にも確認してもらうことが出来た。特に堀越博士には本種の同定をわずらわし、その解剖については種々御教示をいただいた。

発光器と発光細胞及び発光の有様

発光する部位は3ヶ所あり,一つは発光細胞よりなる発光器 (Figs. 2. 3. PHOT) と,他の2ヶ所は外套膜全体と,腹足全体であって,この発光はそこに分布している発光細胞によるものである。

このカタツムリは粘液を分泌する褶 (Fig. 1. a. b. MF, Figs. 2.3. MF) が体の両側を腹足に沿って走っているが,頭部では特に深く切れ込んでいて,その上壁は粘液細胞 (Fig. 3. MT) が並んでいるが,その下壁には大きな細胞よりなる発光器がみられる。 発光器は楕円形で殻の直径 15 mm のもので長さ 2 mm 巾 1.8 mm. 外部からは認められないが,光は半透明な頭部及び腹足の筋肉を通して上下,左右,どの方向からも認められる。 Figs. 2.3. PHOT に示すように横断面,及び縦断面をみると jaw plate のやや後方の下部,粘液褶の下面にある。

断面は楕円形の大きな細胞よりなるが、生長したカタツムリは多くは細胞内容が空所になっているものが多いが、よく発光するカタツムリでは細胞内に顆粒 (Fig. 5. G) が充満している。発光物質は恐らくこの顆粒に含まれているものと思われる。

Haematoxylin Eosin ではこの発光細胞及び顆粒はあまりよく染らないが、紫外線顕微鏡で無染色のセロイジン切庁をみると jaw plate が緑色の自家蛍光、発光細胞と顆粒が黄金色の自家蛍光を放つことがわかる。従って普通染色では発光細胞と他の細胞とが区別し難いが、蛍光顕微鏡でみると極めて容易に発光器の所在を確認し得る。頭部の粘液褶の上壁は粘液細胞よりなり、Haematoxylin に濃染する。

カタツムリが這っている時は外套膜の光は全く認められないが乾燥状態にしておくと体を殻の中へ引き込み貝殻の開口を外套膜で閉じるようになる,この時,暗所でみると殆んど例外なく,外套膜全体が弱い連続的の光を放つのがみられた。採集した75個体の中70個体は明らかに発光し,その半数はかなり強い光であった。これを暗室内にて,写真フィルム上に密着すると2-3分でFig.4のように感光する。

尚, 暗所に適応した肉眼でこのカタツムリの発光を観察していると, 非常に弱い連続的の光が腹足全体に認められる個体 のあるのがわかった。75 個の中, 腹足全体に弱い光を認められるのは僅かに 10 個体に過ぎなかったが, 恐らく, 腹足全体に発光細胞が分布しているものと思われるが外套膜の光に比較して非常に弱いものであること, 個体によって全く光の認められないものもあったが幼貝では例外なく腹足が光ることからして, 腹足は元来光る性質があるものと思われる。

頭部の発光細胞よりなる楕円形の発光器は蛍のように明減する。発光するのは体を殼から伸ばしている時に限り、夜、芝生、土の上などを這っている時によく光る。よく光るのは湿度が高く、気温 $25\sim6$ 度、暗い場所であるが、発光回数は環境の変化によって違うが、光の強さそのものは変らない。自然環境の中では一回の発光時間は 2-3 秒で、 2-3 回又は 3-4 回連続的に明減し、これを 30 秒か 1 分位の間隔をおいて繰り返す。光の強さは 30 W の電灯の下で、 $3\sim4$ メートル離れて手で影をする程度で、はっきり認められる。光の色調は青白色である。興味のあることは成長の時期によって発光回数が異ることである。殼の直径 15 mm 程度以下の比較的幼形のものはよく発光し、生長極限に遠した $20\sim25$ mm 程度のものは発光回数が少なくなり。或個体では全く発光しなくなる。この殆んど発光しなくなった大形のカタツムリを容器に入れて飼育すると、殼の直径 1 mm 位の幼貝が沢山孵化するが、この幼貝はいずれも例外なく腹足全体が光り口の下部が特に強く明減している。硝子板に這わせてルーペで観察すると腹足全体の光は微小な明減する発光点からなっている。この幼貝は生長するにつれて、腹足全体に見られた光は口の下部に集まり明減する発光器となるが腹足全体の弱い光はこの際、見落され勝ちである。

カタツムリを水中で窒息死させて、伸びたままアルコールで固定し、正中線で両断して、断面を 見ると、生時発光する位置に淡黄緑色の半月状の組織が見られ、紫外線で、照射すると美しい黄金 色の自家蛍光を放つ。

発光は細胞内発光であるからカタツムリの這った後に発光粘液は出ない、光のコントロールは神経と毛細管によって行われると思われるが、発光細胞内への神経を見ることは出なかった。

発光部位を切りとり乾燥し、乳鉢にて粉にしたものに水を加え、暗室にて発光するか否かを観察 したが、発光しなかった、又、ルチフェリン、ルチフェラーゼ反応も陰性であった。