

## Bemerkungen zu: Eleonore Brecher,

Die Puppenfärbung des Kohlweißlings, *Pieris brassicae* L.

Arch. Entw.-Mech. Bd. 43, p. 88 221

und Hans Przibram und Eleonore Brecher,

## Ursachen tierischer Farbkleidung.

I. Versuche an Extrakten. Bd. 45, p. 83—198.

Von J. Dewitz, Geisenheim (Rheingau).

In der ersten der beiden obigen Veröffentlichungen beschäftigt sich Eleonore Brecher mit dem Zustand der Tyrosinase im Blut der verschieden gefärbten Puppen von *Pieris brassicae*. Sie kommt hierbei zu folgenden Resultaten.

Die Tyrosinase des Blutes wird mit gesättigter Lösung von Ammoniumsulfat gefällt und der Niederschlag in 0.05 % ger Soda gelöst. Mit wässriger Tyrosinlösung färbt sich die Tyrosinaselösung erst violett, dann schwarz und schließlich scheiden sich dunkle Flocken ab. Es wird nun geprüft, ob ein verschiedenes Verhalten der Tyrosinase des Blutes der verschiedenen Farbentypen vorliegt.

Gefällte und dann gelöste Tyrosinase aus natürlich entstandenen Puppen wird mit wässriger Tyrosinlösung geprüft. Bei hellen Puppen tritt die Verfärbung der Flüssigkeit am schnellsten ein. Die Flüssigkeit ist zuerst rosa, wird darauf kirschrot und dann erst violett. Mit der Tyrosinase der übrigen Farbentypen der Puppen wird sie sogleich violett. Dieselben Verhältnisse haben statt, wenn mit gefällter und dann gelöster Tyrosinase aus Puppen mit experimentell erzeugten Farben operiert wird. v. Fürth hat früher bei Puppenblut niemals ein rotes Stadium beobachtet. Dagegen fand damals Przibram, daß bei *Sepia* die Verfärbung rot-violett-schwarz war. Die Verfasserin verändert darauf die Tyrosinase der dunkeln Puppen durch Erwärmen. Die auf 60, 70 und 80° erwärmte Tyrosinase gibt anfangs nicht eine violette Verfärbung der Flüssigkeit; letztere zeigt beim Auftreten der Verfärbung eine deutliche Rötung, die sich bis kirschrot steigert und erst nach 2 Tagen violett wird. Die auf 50° erwärmte Tyrosinase gibt bereits eine schwache Rosafärbung. Bei 90° scheint das Verfärbungsvermögen erloschen zu sein. Die Tyrosinase erholt sich aber wieder. Denn nach 8 Tagen ist die Flüssigkeit blaßrosa, später kirschrot. Sie wird aber nicht mehr violett. Das Erwärmen der Tyrosinase auf 60, 70 und 80° steigert die Schnelligkeit ihrer Wirkung.

Die Tyrosinase der dunkeln Puppen ist durch Erhitzen verändert worden und zwar in demselben Sinne wie die nicht erwärmte Tyrosinase der hellen Puppen bei gewöhnlicher Temperatur. Wie hier durch natürliche Verhältnisse, so ist dort künstlich durch Wärme die Rotstufe der Verfärbung der Tyrosinase bewirkt worden. Nach der Verfasserin ist diese Erscheinung vielleicht so zu erklären, „daß durch die

Erwärmung eine im Blute vorhandene Vorstufe der Tyrosinase aktiviert wird, die nur imstande ist, die erste Oxydationsphase des Tyrosins zu bewirken, um nach einiger Zeit in die wirksame Tyrosinase übergeführt zu werden und einer Violettfärbung Platz zu machen“.

Zu den obigen Angaben möchte ich bemerken, daß ich jene durch Erwärmen herbeigeführte Veränderung der Tyrosinase im Blut der Insekten bereits 11 Jahre vor der Verfasserin durch Versuche nachgewiesen habe in meiner Veröffentlichung: Der Einfluß der Wärme auf Insektenlarven. Centralbl. Bakteriöl., Parasitenkunde und Infektionskrankh. Abt. II, Bd. 17, 1906, p. 40—53 (46—50). Ich führte dort folgendes aus.

Bei vorher erwärmten Fliegenlarven von *Calliphora erythrocephala*, die das Fressen eingestellt hatten, schnitt man in einiger Entfernung vom Kopfende mittels eines flachen Scherenschnittes, ohne innere Organe zu verletzen, ein Stückchen Haut ab und ließ den Bluttröpfchen auf einen feuchten Streifen Fließpapier fallen, den man in einer feuchten Atmosphäre aufbewahrte. War die Larve vorher nicht erwärmt, so wurde der Blutfleck sehr bald dunkel. War dagegen die Larve erwärmt, so wurde der Blutfleck zuerst rot oder rosa, um dann schwarz zu werden, und zwar schwärzer als bei nicht erwärmten Larven. Um zu sehen, ob das Chromogen des Blutes eine Veränderung erlitten hatte, wurde das Fließpapier in verschiedenen Versuchen zuerst mit Tyrosinlösung angefeuchtet. Aber auch in diesen Fällen hatte das Blut von vorher erwärmten Larven anfangs ein rotes Stadium. Die Versuche verliefen folgendermaßen.

In verschiedenen Versuchen wurden je 3 Larven auf  $50^{\circ}/15\text{m}^1$ ) und auf  $51^{\circ}/15\text{m}$  erwärmt. Bei  $50^{\circ}/15\text{m}$  stellte sich nach einiger Zeit an einigen Stellen der Peripherie des Blutflecks eine ganz außerordentlich geringe Rötung ein. Die nachfolgende Schwärzung war dann hier auch nur ganz schwach angedeutet. Beim Erwärmen auf  $51^{\circ}/15\text{m}$  war die Rötung und darauf die Schwärzung auch nur kaum angedeutet. Es wurden dann 3 Larven auf  $51^{\circ}/15\text{m}$  erwärmt und darauf in einer feuchten Atmosphäre 15 Stunden aufbewahrt. Die Blutflecken färbten sich jetzt sehr kräftig ziegelrot und darauf tiefschwarz. Aus diesen Versuchen sowie aus früheren mit gleichem Resultat folgerte ich, daß das Verfärbungsvermögen des Blutes durch die Erwärmung vernichtet war, sich dann aber wieder herstellte<sup>2)</sup>.

Man erwärmte ferner dreimal je 3 Larven auf  $49^{\circ}/15\text{m}$  und untersuchte das Blut von je 2. Die Rotfärbung der Blutflecken und die nachfolgende Schwärzung war in diesem Falle bereits deutlicher, aber noch immer sehr schwach. Die 3 übrig gebliebenen Larven wurden nach dem Erwärmen 17 Stunden lang aufbewahrt. Jetzt färbte sich

1)  $50^{\circ}\text{C}$  und 15 Minuten Exposition.

2) Vgl. Carl Oppenheimer, Die Fermente. Spezieller Teil, 1909, p. 384: Nach Bertrand wird die durch Erwärmen inaktiv gewordene Tyrosinase der Kleie nach einigen Tagen wieder wirksam.

der Blutfleck ebenso wie in dem vorausgehenden analogen Versuch sehr bald ziegelrot und später tiefschwarz.

In verschiedenen Versuchen wurden je 3 Larven auf  $47^{\circ}/15$  m erwärmt. In allen beobachteten Blutflecken war die Farbe zuerst ziegelrot und dann schwarz. Außerdem fiel die Verfärbung ungleich aus und man sah, daß das Verfärbungsvermögen geschädigt war.

In 4 Fällen wurden je 3 Larven auf  $45^{\circ}/15$  m erwärmt. Die Blutflecken wurden in allen Fällen zuerst rot, ehe sie die schwarze Farbe annahmen.

Viermal wurden je 3 Larven auf  $43^{\circ}/15$  m erwärmt. Bei den ersten zwei Versuchsreihen wurde ein Blutfleck zuerst rot, ein anderer schwarz und wieder ein anderer fast gleichzeitig hier und da rot und in den übrigen Teilen schwarz. In der dritten Versuchsreihe trat auf 2 Flecken für einen Augenblick an einigen Stellen undeutliches Rosa auf, das sogleich in Schwarzviolett überging, während die übrigen Teile der Flecken sogleich diese Farbe erhielten. Ein Fleck wurde aber sogleich schwarzviolett, ohne eine Andeutung von Rosa gezeigt zu haben. In der vierten Versuchsreihe wurden 2 Blutflecken zuerst zartrosa, wurden dann aber schnell schwarzviolett. Bei der Erwärmung auf  $43^{\circ}/15$  m ist das Verfärbungsvermögen bereits, aber nur wenig geschwächt. Bald färben sich die Blutflecken für einen Augenblick erst rot, bald schwarz, bald treten beide Farben zugleich auf.

Schließlich wurde noch je 1 Fall mit  $41^{\circ}/15$  m und  $40^{\circ}/15$  m mit je 3 Larven untersucht. Bei  $41^{\circ}/15$  m wird ein Blutfleck rosa. Die Farbe geht sogleich in Violett über aber so, daß schwarzviolette und rosa Stellen gemischt sind. Darauf wird der Fleck ganz schwarz. Ein Fleck wird mattrosa. Die Farbe geht sogleich in Schwarzviolett und später in Schwarz über. Ein Blutfleck wird sogleich dunkelgrau.

Bei  $40^{\circ}/15$  m zeigt ein Blutfleck für einen Augenblick ein Gemisch von Schwarzviolett und Rosa, das sogleich in Schwarzviolett übergeht. Bei 2 Flecken ist der ganze Fleck zuerst blaßrosa, dann sogleich schwarzviolett. Die Flecken sind schließlich schwärzer als die Blutflecken von nicht erwärmten Larven.

#### Zusammenfassung:

- $51^{\circ}/15$  m. Verfärbung kaum vorhanden.
- $50^{\circ}/15$  m. Dasselbe.
- $49^{\circ}/15$  m. Verfärbung sehr schwach.
- $47^{\circ}/15$  m. Verfärbung vorhanden, geht durch Rot hindurch.
- $45^{\circ}/15$  m. Verfärbung findet statt, geht durch Rot hindurch.
- $43^{\circ}/15$  m,  $41^{\circ}/15$  m,  $40^{\circ}/15$  m. Das rote oder rosa Stadium oft garnicht vorhanden oder zeitlich und räumlich sehr beschränkt oder Mischungen von roten und schwarzen Stellen auf demselben Blutfleck. Sehr schnelles Schwarzwerden des ganzen Blutflecks.

Es ging aus den Versuchen<sup>3)</sup> hervor, daß der Blutfleck von nicht

<sup>3)</sup> Diese Versuche wurden im Zusammenhang mit andern\* (Abtötungstemperatur, Verwandlung) angestellt, über die man das Original nachlesen möge.

erwärmten Larven sehr bald dunkel wurde, mehr grau als schwarz, mit einem Stich ins Olivenbraune; daß er aber niemals durch ein rotes oder rosa Stadium hindurchging. Der Blutfleck von vorher erwärmten Larven wurde dagegen zuerst rot und dann erst schwarz, bei mäßig erwärmten Larven stritten diese beiden Erscheinungen miteinander. Man kann glauben, sagte ich, daß in dem Blutfleck von nicht erwärmten Larven die verschiedenen Stadien der Verfärbung sich so schnell folgen, daß nur das Endresultat, die Schwarzfärbung sichtbar ist. Und man kann daher annehmen, daß die Anfangswirkung der Tyrosinase in dem ersten Fall energischer ist als in dem zweiten. Diese Annahme, fügte ich hinzu, wird durch folgende Erscheinung bei den Larven von *Lucilia caesar* gestützt<sup>4)</sup>. Bei den Larven von *Lucilia caesar* ist im Sommer die Wirkung des Enzyms eine sehr kräftige und die Masse der mit etwas Wasser zerriebenen Larven wird sogleich schwarz, ohne erst durch Rot zu gehen. Zerreibt man im Sommer eine Anzahl von erwachsenen Larven der Art, so färbt sich der Brei in wenigen Minuten und wird in kürzester Zeit schwarz wie Tinte. Verdünnt man aber den Larvenbrei mit viel destilliertem Wasser, so wird die Flüssigkeit zuerst rotbraun und schließlich schwarz.

Es geht aus diesen Angaben hervor, daß ich bereits 11 Jahre vor dem Erscheinen der Arbeit von Leonore Brecher die Veränderung, welche die Tyrosinase im Blut von Insekten infolge von Erwärmen erfährt, durch Versuche nachgewiesen habe.

Den beiden in der Überschrift genannten Autoren ist es auch entgangen, daß sich bereits Gessard<sup>5)</sup> mit der Entstehung der roten und schwarzen Farbe bei der Oxydation von Tyrosin unter Einfluß von Pilztyrosinase beschäftigt hat. Bei starker Dosis der Enzymlösung tritt der Reihe nach Rotfärbung, Schwarzfärbung und schwarzer Niederschlag auf; bei schwacher Dosis der Enzymlösung kommt es nur zur Rotfärbung. Wie der folgende Versuch zeigt, wird dieser Unterschied durch einen anderen Faktor als durch das Enzym veranlaßt. Es wurden drei Flüssigkeiten hergestellt: A. 2 ccm Tyrosin 0,5 %ig + 10 Tropfen Tyrosinaselösung in Glyzerin. B. 2 ccm Tyrosin + 1 Tropfen derselben Tyrosinaselösung + 9 Tropfen derselben, aber durch Wärme abgetöteten Tyrosinaselösung. C. 2 ccm Tyrosin + 1 Tropfen Tyrosinaselösung + 9 Tropfen Glyzerin. A und B verhalten sich gleich und werden schwarz, C bleibt rot. Es waren daher in B außer der Tyrosinase auch die in der abgetöteten Enzymlösung enthaltenen Substanzen wirksam. In darauffolgenden Versuchen wurde zu einer gegebenen Menge Tyrosin nur eine solche Menge von Tyrosinaselösung gesetzt, die unfähig war, für sich allein den schwarzen Niederschlag hervorzurufen.

4) J. Dewitz, Weitere Mitteilungen zu meinen „Untersuchungen über die Verwandlung der Insektenlarven“. Arch. Anat. Physiol. Physiol. Abt. 1902, p. 427.

5) C. Gessard, Sur la tyrosinase. Compt. rend. Acad. Sc. Paris, T. 130, 1900, p. 1327—1330.

Ein Zusatz von Salzen (Erdalkalein, Magnesium) oder von Ammoniumsulfat zu einer solchen nur Rotfärbung bewirkenden Mischung von Tyrosin und Tyrosinase veranlaßte aber den schwarzen Niederschlag. Der Autor ist der Ansicht, daß es sich hierbei nur um einen physikalischen Vorgang, um die Zusammensetzung der Flüssigkeit handelt. Die Gegenwart eines festen Körpers (Kreide, Talk, Stärke), mit dem man die Flüssigkeit schüttelt, genügt bereits. Hängt man Seidenfäden in eine Flüssigkeit, die nur die rote Farbe hervorbringt, so verschwindet diese und die Seide ist schwarz gefärbt. Der Autor kommt zu dem Schluß, daß die Tyrosinase das Tyrosin mit roter Farbe oxydiert; daß aber das Schwarzwerden der Flüssigkeit und die Entstehung des schwarzen Niederschlags eine sekundäre Erscheinung ist, die von Mineralbestandteilen herrührt, welche in natürlichem Zustand die Tyrosinase begleiten und mit ihr in ihre Lösungen übergehen.

In der zweiten der in der Überschrift genannten Arbeiten machen die Verfasser Angaben über den Einfluß verschiedener Reagenzien auf die Tyrosinase mit Bezug auf die durch letztere hervorgerufenen Farben. Hierbei möchte ich an früher von mir angestellte Versuche erinnern. Die Raupe von *Saturnia pavonia* führt ihren Kokon in zwei Abschnitten mit dazwischen liegender Pause aus<sup>6)</sup>. In dem ersten wird ein weißer Seidenkokon gesponnen, der nur das Produkt der Spinnröhren darstellt. Die Spinnröhren enthalten Tyrosinase und Chromogen, sie färben sich daher in einer feuchten Kammer schwarzbraun<sup>7)</sup>. Die weißen Kokons enthalten daher beide Substanzen und werden braun oder braunschwarz, wenn man sie in Wasser legt, weil dann die Tyrosinase auf das Chromogen einzuwirken vermag. Mit solchen weißen, Tyrosinase-Chromogen enthaltenden Kokons habe ich verschiedene Reaktionen ausgeführt<sup>8)</sup>, von denen ich einige mit Rücksicht auf die von den genannten Verfassern ausgeführten Reaktionen anführe.

In Wasser werden die weißen Kokons braun. Wasserentziehende Substanzen (konz. Glyzerin, konz. Chlornatrium) verzögern die Braunfärbung; stark reduzierende Körper (Hydroxylamin, Cyankalium) sind ihr hinderlich, stärkere Lösung (Cyankalium) verhindert sie ganz, ebenso Wasserstoffgas. In oxydierender Flüssigkeit (Chromsäure) werden die Kokons schwarzbraun.

Natronlauge (NaHO) hat eine ausgesprochene Wirkung (627). Fügt man zu dem Wasser, in dem die weißen Kokonstücke mazeriert sind, einen Tropfen verdünnte NHO hinzu, so entstehen blaue<sup>9)</sup> Wolken

6) J. Dewitz, Über die Entstehung der Farbe gewisser Schmetterlingskokons. Arch. Entw.-Mech. 31 (1911), 617—636.

7) J. Dewitz, Über die Entstehung der braunen Farbe gewisser Schmetterlingskokons. Naturw. Wochenschrift N. F. XVII (1918), 685 (686). Die ausführliche Arbeit ist im Erscheinen begriffen in: Zoolog. Jahrb. Abt. Physiol.

8) Arch. Entw.-Mech. 31 (1911), 625—632.

9) Ich erhielt von Herrn Stöckhert in Erlangen einen indigoblauen Kokon, den eine mir unbekanntere Raupenart in einer Zigaretten-Blechsachtel gesponnen hatte. Nach Herrn Stöckhert könnte es sich nicht um ein Kunstprodukt handeln. Mir ist der Fall unklar.

in der Flüssigkeit, die darauf rosa und rotbraun wird. Legt man die weißen Kokonstücke direkt in verdünnte NaHO, so löst diese die auf den Seidenfäden befindlichen Substanzen und wirkt auf diese ein, so daß die Flüssigkeit rot und darauf gelb oder gelbbraun wird. Bei Gegenwart von reduzierenden Substanzen (Cyankalium) folgt die gelbe Farbe auf die rote langsamer; bei Gegenwart von Hydroxylamin wird die Flüssigkeit nicht rot, sondern nur hellgelb. Werden die weißen Stücke anstatt in NaHO in sehr verdünnten Ammoniak gelegt, so wird die Flüssigkeit grünlich, darauf gelblich.

In  $H_2O_2$  mit Zusatz von Hydroxylamin färben sich die weißen Kokons grün. Hydroxylamin vermindert stark die oxydativen Vorgänge. Grüne Kokons finden sich in der Natur bei *Saturnia Yama-Mai* (630).

In der Tierphysiologie wird die Aufgabe der Tyrosinase so aufgefaßt, daß sie nur dazu da ist, um den Tieren ein gefärbtes Kleid zu liefern. Dagegen habe ich sogleich in meinen ersten Mitteilungen<sup>10)</sup> über dieses Enzym im Jahre 1902 mich zu zeigen bemüht, daß die Tyrosinase infolge ihrer oxydierenden Eigenschaft auch mit anderen Vorgängen im Organismus der Insektenlarven, mit der Verwandlung, in Beziehung steht. Später haben dann Botaniker gleichfalls die Oxydase mit physiologischen Vorgängen im Organismus (Atmung, gewisse Krankheitserscheinungen) in Verbindung gebracht. Ich weise hier auf die Arbeiten von Palladin, Grüß, Doby hin. Daß die Tierphysiologen nur die pigmentgebende Seite der Tyrosinase in Betracht zogen, liegt wohl an der Verquickung physiologischer und biologischer Gesichtspunkte. In der Biologie spielt die Färbung der Tiere eine große Rolle, seitdem die Biologie sich der Selektion, Varietätenbildung, Anpassung und verwandten Fragen zugewandt hat. Unter dem Einfluß der biologischen Beurteilung der Pigmentierung mußte die sonstige Rolle des Enzyms im Organismus keine Beachtung finden.

Da meine Veröffentlichungen über die Tyrosinase bei Insekten meist übersehen oder übergangen sind, so beabsichtige ich, sie nach einheitlichen Gesichtspunkten zusammenzufassen und zu veröffentlichen. Wann dieses geschehen kann, läßt sich bei den heutigen Verhältnissen nicht voraussagen.

10) Arch. Anat. Physiol. Physiol. Abt. 1902, p. 327, 425; Compt. rend. Soc. Biol. T. 54, 1902, pag. 44, 45.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Biologisches Zentralblatt](#)

Jahr/Year: 1921

Band/Volume: [41](#)

Autor(en)/Author(s): Przi Bram Hans Leo, Brecher Eleonore, Dewitz Johannes

Artikel/Article: [Bemerkungen zu: Eleonore Brecher, Die Puppenfärbung des Kohlweißlings, Pieris brassicae L. 330-335](#)