

15. J. Loeb, Über den chemischen Charakter des Befruchtungsvorganges. Biochem. Zeitschr. Bd. 1, p. 183, 1906.
16. J. Loeb, Die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eis. Berlin 1909.
17. J. Loeb u. F. W. Bancroft, The Sex of a Parthenogenetic Tadpole and Frog. Journ. of exper. Zoology Bd. 14, 1913, p. 274.
18. J. Loeb und Bancroft, Further Observations on Artificial Parthenogenesis in Frogs. Journ. of exp. Zoology Bd. 15, 1913, p. 378.
19. W. Ostwald, Über das Vorkommen von oxydativen Fermenten in den reifen Geschlechtszellen von Amphibien und über die Rolle dieser Fermente bei den Vorgängen der Entwicklungserregung. Biochem. Zeitschr. Bd. 6, p. 409, 1907.
20. Samassa, Verhandlg. d. naturh.-med. Vereins zu Heidelberg Bd. 4, 1898 u. Verhandlg. d. dtsh. Zool. Ges. 1896.
21. H. Voß, Die experimentelle Herstellung von parthenogenetischen Froschlarven durch Anstich des Eies mit einer Glasnadel. Inaug.-Diss. Rostock, 1919.
22. H. Voß, Der mikrochemische Nachweis oxydativer Fermente in den Spermien des Menschen. Arch. f. mikr. Anatomie.
23. O. Warburg, Beobachtungen über die Oxydationsprozesse im Seeigelei. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 57, p. 6.
24. Winkler, Der Nachweis von Oxydase in den Leukozyten mittels der Dimethylparaphenylendiamin-Alpha-naphthol-Reaktion. Folia haematologia Arch. Bd. 4, 1907, S. 323.

Die Dopaoxydase (Bloch), ein neues melanisierendes Ferment im Schmetterlingsorganismus.

Von Prof. Dr. med. **K. Hasebroek**-Hamburg.

Mit 3 Abbildungen.

Die vorliegende Mitteilung ist ein Ausschnitt aus einer größeren Arbeit über die Mechanik des Schmetterlingsmelanismus, die später an anderer Stelle erscheinen wird. Es schien mir angebracht zu sein, das Folgende vorweg zu veröffentlichen, um schon für den kommenden Sommer zur Nachprüfung und Erweiterung meiner Befunde anzuregen.

Der Dermatologe Bloch in Zürich hat in grundlegenden Untersuchungen die Entdeckung gemacht, daß beim Menschen und den höheren Tieren für die dunkle Pigmentierung der Haut eine Oxydase in Frage kommt, für die als Muttersubstanz des Melanins das 3,4 Dioxyphenylalanin angenommen werden muß¹⁾, eine Substanz, die dem Tyrosin nahe steht.

Das Dioxyphenylalanin, von Bloch abgekürzt „Dopa“ genannt, ist zuerst von Guggenheim aus den Keimlingen von *Vicia faba*, der Saubohne, dargestellt²⁾ worden.

Wenn man überlebende Schnitte aus der Haut mit einer 1—2⁰/₀₀ wässrigen Lösung von Dopa behandelt, so tritt an bestimmten Stellen

1) Bloch und Ryhiner, Histochemische Studien im überlebenden Gewebe über fermentative Oxydation und Pigmentbildung. Ztschr. f. d. ges. exper. Med. 1917 und Bloch, Das Problem der Pigmentbildung, in der Haut. Arch. für Dermatol. u. Syphilis Bd. 124 (1917).

2) Guggenheim, Eine neue Aminosäure aus *Vicia faba*. Ztschr. f. physiolog. Chemie Bd. 88 (1913).

eine dunkelbraune bis tiefschwarze Färbung auf. Die Reaktion beruht darauf, daß das Dopa durch Oxydation und Kondensation sich in einen schwarz gefärbten Körper, das „Dopamelanin“ verwandelt. Hervorgerufen wird dies durch die „Dopaoxydase“, die ihren Sitz in den Elementen der Haut hat.

Es war für mich bei meinen Studien über den Melanismus der Schmetterlinge³⁾, speziell einer Hamburger Eulenform, der aberrativ-melanistischen *Cymatophora* or *F. ab. albingensis* Warn., die ich seit ihrer Entdeckung im Hamburger Stadtgebiet im Jahre 1904 in früheren Arbeiten genau verfolgt habe, bemerkenswert, daß Bloch nur die Zellen des Haarbalges und der Haarmatrix reaktionsfähig fand. Ich vermutete dadurch Beziehungen der Dopa auch zum analogen Gebiet der Schuppenbildung bei den Schmetterlingen: woselbst wir in den napf-ähnlichen Schuppenbälgen mit den aus ihnen entspringenden Schuppen und Haaren ähnliche Gebilde vor uns haben. Um so mehr schien es mir angezeigt, diese Verhältnisse ins Auge zu fassen, als nach den Feststellungen W. Petersens bei den Puppen von *Pieris brassicae*, *rapae* und *Van. urticae* die feine Behaarung im engsten Zusammenhang mit den Fleckenverdunkelungen steht, indem diese von den Haarwurzeln ihren Ursprung nehmen und sich hier im weiten Umkreis verbreiten⁴⁾.

Ich hatte für die oben erwähnte melanistische *Cym. or ab. albingensis* am sich entwickelnden Puppenflügel feststellen können, daß in einem „weißen Vorstadium“ des im Endstadium total sich schwärzenden Flügels unter den noch ungefärbten Schuppen die schwarze Pigmentierung in bestimmt angeordneten, den Schuppenbälgreihen entlang ziehenden Querzügen schon angelegt ist, während die Hauptadern resp. deren Inhalt im mikroskopischen Bilde ungefärbt und hell transparent sich präsentieren⁵⁾. Dieser Befund sprach für den Vorgang einer chemischen Ausfällung des melanotischen Pigmentes durch Kontaktniederschlag in den reaktionsbereiten Elementen der Schuppen auf den zwischen den Hauptadern gespannten oberen und unteren Membranen. Es lag also nahe, die Puppenflügel der so ausgesprochen dem Melanismus verfallenen *Cym. or* auf ihre Reaktionsweise gegen die Pigmentvorstufe des Dopa systematisch

3) Hasebroek, Über *Cym. or F. ab. albingensis* Warn. und die entwicklungsgeschichtl. Bedeutung ihres Melanismus. Entom. Rundschau Stuttgart 1909. — Über *Cym. or ab. albingensis*. Verh. d. Intern. Congr. f. Entom. Brüssel 1911. — Bitte a. d. Sammler zur Erforschung d. Melanismus. Int. Entom. Ztsch. Guben 1911. — Über die Entstehung des neuzeitlichen Melanismus der Schmetterlinge und die Bedeutung der Hamburger Formen für dessen Ergründung. Zool. Jahrb. 1914 System. Bd. 37. — *Cym. or ab. albingostlavi-macula form. nova*. Intern. Entom. Ztschr. Guben 1916 Nr. 18. — Die morpholog. Entwicklung des Melanismus der Hamburger Eulenform *Cym. or ab. albingensis*. Zool. Jahrb. Abt. Allgem. Zool. u. Physiol. 1918 Bd. 36 H. 3. — Ein neuer Nachweis des Großstadtmelanismus der Schmetterlinge in Hamburg an Noctuen. Zool. Jahrb. Abt. f. Allgem. Zool. u. Physiol. 1919, Bd. 37.

4) W. Petersen, Zur Frage der Chromophotographie bei Schmetterlingen. Sitz-Ber. d. Naturf. Ges. Dorpat IX, 1891.

5) Zoolog. Jahrbücher, Zool. u. Physiol. Bd. 36 (1918).

zu prüfen. Und zwar stellte ich gleichzeitig Parallelversuche mit dem Tyrosin an, der Muttersubstanz für das bei den Schmetterlingen bisher allein bekannte melanisierende Oxydaseferment „Tyrosinase“⁶⁾. Es hat sich in Hunderten von Prüfungen herausgestellt, daß die Melaninreaktion auf Dopa nicht allein ausnahmslos vorhanden ist, sondern auch mit Sicherheit von der gleichartigen auf Tyrosin getrennt werden kann, sodaß die Dopaoxydase als selbständiges Ferment registriert werden muß.

Ich untersuchte die Puppenflügel sowohl der Stammform *Cym. or* als der *ab. albingensis*, und zwar in drei Entwicklungsstadien, die sich gut voneinander abtrennen lassen:

1. als feinste Membran, die noch der Puppenscheide fester anhaftet,
2. als weißen, gut abhebbaren Flügel,
3. als bereits in Ausfärbung begriffenen Flügel.

Die Flügel resp. deren zerschnittene Teilstücke wurden in Dopa- und Tyrosinlösung gelegt. Als Kontrollösung diente physiologische NaCl-Lösung. Neben der makroskopischen Registrierung wurden die Flügelpräparate nach der Einwirkung (bis zu 24 Stunden) mikroskopisch genau untersucht und letzterer Befund in vielen Mikrophotogrammen festgehalten. Das Dopa, das in $\frac{1}{2}$ —2 $\frac{0}{00}$ Lösung verwandt wurde, verdanke ich der chemischen Fabrik Grenzach i. B., die mir es als l-Dioxyphenylalanin gütigst zur Verfügung stellte. Das Tyrosin kam in kalt gesättigter wässriger Lösung zur Anwendung.

Das Resultat war zusammengefaßt folgendes:

Die Flügelpräparate sowohl von nicht-melanistischen als melanistischen Puppen — erstere stammten aus Heidelberg, letztere aus dem mir genau bekannten Fluggebiet der Hamburger melanistischen Abart — reagieren in gleicher Weise auf Dopa und Tyrosin mit schwarzer Ausfärbung, während die in NaCl-Lösung befindlichen Kontrollpräparate stets unverändert blieben.

Die Reaktion ist entsprechend der Natur einer Oxydase Wirkung nachweisbar an die Gegenwart von freiem O₂ gebunden. Die Färbung zum Schwarz geht über Violett.

Während Tyrosin öfter versagte — die Präparate verhielten sich indifferent wie die in NaCl liegenden — stellte sich die Dopaschwärzung ausnahmslos ein.

Mikroskopischer Befund: Im allerersten „Membranstadium“ des Flügels werden die Flügelzellen mit Kern und Kernchen schwarz ausgefärbt, bei Dopa intensiver als bei Tyrosin. Im „weißen“ und beginnenden „Endstadium“ beginnt die Schwärzung an den Schuppenbälgen, um mit zunehmender Entwicklung des Flügels in einem Längsmittelstreifen der Schuppe zum Schuppenkörper hin-

6) v. Fürth & Schneider, Über thierische Tyrosinase und ihre Beziehungen zur Pigmentbildung. Hofmeisters Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. 1902.

aufzuziehen, ohne die Krone nennenswert zu färben. Letztere wird dagegen besonders und für sich im späteren Endstadium des Flügels und zwar scharf isoliert und begrenzt geschwärzt.

Es ging aus diesen Beobachtungen hervor, daß die Dopa- und Tyrosinreaktion zwei Wege der schwarzen Pigmentierung einschlägt: in den ersten Stadien von den Puppenbälgen aus über die Schuppenwurzel zur Schuppe, im Endstadium direkt an die Kronen angreifend. Durch die letzte Art der Färbung entsteht erst eine typische komplette Ausschwärzung, wie sie die melanistische *ab. albingensis* charakterisiert.

Das Resultat war also ein positives: Es gelang ohne weiteres, am Puppenflügel der *Cym. or* von seiner ersten Entwicklung an bis zur Schlüpfzeit hin eine schwarze Ausfärbung der Elemente zu erhalten, die zugleich wichtige Aufschlüsse über die Mechanik des Melanismus zu bringen vermag, wie ich in der ausführlichen Arbeit zeigen werde.

Eine Nebenerscheinung war das sich Entfalten und Auswachsen der Puppenflügel in der Dopa- und Tyrosinlösung. Hierdurch gelang es in einigen Fällen, aus dem hellen Puppenflügel einen zur vollen Größe ausgewachsenen schwarzen Flügel zu erhalten, der sich in nichts mehr von einem in der freien Natur entstandenen melanistischen *albingensis*-Falterflügel unterscheidet. Es war sogar möglich, durch die Reaktionen die der *Cym. or* typischen weißen Makel zur Auslöschung zu bringen, wie es ebenfalls in der freien Natur vorkommenden Abart *albingo-subcaeca* Bunge entspricht.

Ich gebe ein Photogramm solcher aus dem hellen Stadium zu melanistischen Formen künstlich entwickelter Flügel wieder.

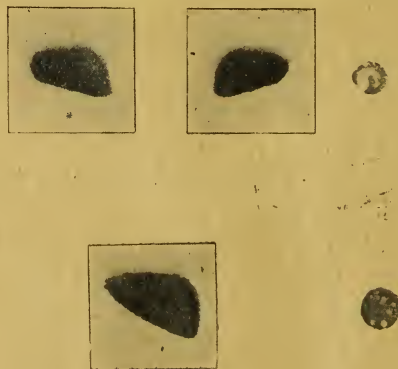


Abb. 1: Durch Dopa (Nr. 66 und 74 links) und Tyrosin (Nr. 74 rechts) ausgefärbte Puppenflügel mit verlöschten Makeln. Nr. 66 ist zur vollen Größe eines natürlichen *albingensis*-Flügel ausgewachsen.

Nach diesem Ergebnis an den Puppenflügel untersucht ich weiter auch die Hämolymphe der *Cym. or* auf Dopaoxydase und Tyro-

sinase, sowohl an Puppe und Falter wie an Raupe und Ei. Puppen, Falter und Raupen wurden mit feiner Nadel angestochen und mit dem herausquellenden Tropfen das eine Ende eines ca. 2 mm breiten Fließpapierstreifens getränkt. Die Eier zerdrückte ich mit dem einen Ende eines gleichen Papierstreifens. So erhielt ich von allen Objekten Teststreifen, die sich in gleicher Weise wie die Puppenflügel in Dopa- und Tyrosinlösungen auf die resp. Oxydasen prüfen lassen.

Die Untersuchung durch Schwärzung der Teststreifen ergab folgendes:

Die Hämolymphe von Puppe und Falter wies die Dopareaktion ausnahmslos stark positiv auf, während die Reaktion auf Tyrosinase unter den gleichen Bedingungen mehrfach geringer ausfiel, ja einige Male versagte.

Dieser Befund ließ schon vermuten, daß es sich in den beiden Oxydasen um 2 voneinander verschiedene melanisierende Oxydasen handelte. Dies wurde zur Gewißheit bei der Prüfung von Raupen- und Eierhämolymphe. Die Versuche wurden in der Weise arrangiert, daß die Eier vom ersten Tage nach der Eiablage an bis zum Schlüpfen der Räumchen systematisch geprüft und die Raupen von klein auf an, fortlaufend mit zunehmender Größe bis zur Verpuppung, vorgenommen wurden. Auf diese Weise habe ich an den Teststreifen die Reaktionsfähigkeit der Hämolymphe auf Dopa und Tyrosin, also nach dem Gehalt an resp. Oxydasen, lückenlos vom Ei bis zur Verpuppung feststellen können. Durch Aufkleben der Teststreifen in fortlaufenden Reihen erhielt ich ein übersichtliches Bild, das ich im Photogramm unter Abb. 2 wiedergebe: Es

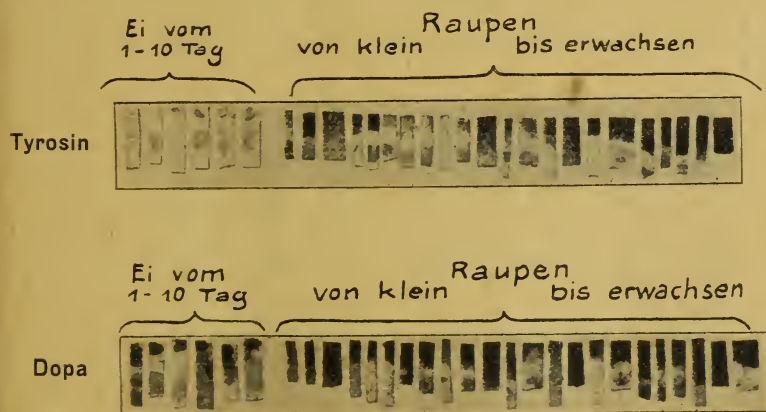


Abb. 2: Oxydasenreaktion der Ei- und Raupenhämolymphe auf Tyrosin und Dopa. (Die Schwärzungen oben an den Streifen.)

zeigt sich, daß die Dopaoxydase vom Ei bis zur ausgewachsenen Raupe stets vorhanden ist und daß sie die Verhältnisse offenbar auch an Intensität beherrscht, während die Tyrosinase im ersten Eizustand noch ganz

fehlt und erst während des Heranwachsens des Räu-
p- chens entsteht, um bei der erwachsenen Raupe einiger-
maßen gleich mit der Dopaoxydase zu rangieren.

Hieraus geht mit Wahrscheinlichkeit hervor, daß die Dopaoxydase die ursprünglichere Oxydase ist, die dem Nachwuchs im Ei mitgegeben wird. Die Tyrosinase dagegen entsteht erst während des Lebens. Ich habe durch Untersuchung des von Hämolymphe frei gemachten Raupen-
gewebes (am Darm und Hautbalg) feststellen können, daß hier nur die Dopaoxydase vorhanden ist und die Tyrosinase fehlt: hiernach müßte die letztere im Blut der Raupe entstehen. Ob sie aus der Dopaoxydase selbst stammt, die jedenfalls nahe verwandt ist, muß erst entschieden werden.

Nicht melanistische und melanistische Raupen und Eier — soweit dies nach ihrer lokalen Provenienz wie bei den Puppen anzunehmen war — verhalten sich hinsichtlich des Ge-
haltes an Oxydasen anscheinend gleich. Die Teststreifen-
tafel meiner Abb. 2 stammt von melanistischen Objekten. Hinzufügen möchte ich nur noch, daß ich die geprüften Eier einmal aus einer Kopula *Albingensis* × *Albingensis*, das andere Mal Stammform × Stamm-
form erzielt hatte.

Um das Vorhandensein der Dopaoxydase bei den Schmetterlingen weiter sicher zu stellen, prüfte ich mittels der bequemen Teststreifen-
methode auch andere Falterarten an ihrer Raupenhämolymphe. Es hat sich schon jetzt das weit verbreitete Vorkommen der Dopareaktion neben dem der Tyrosinase herausgestellt. Die von mir geprüften Falter waren: 1. *Van. antiopa*, 2. *Lym. dispar*, 3. *Chaer. elpenor*, 4. *Mam. persicaria*, 5. *Stilpn. salicis*, 6. *Amph. betularia*, 7. *Cal. lutosa*, 8. *Mel. flammea*. Ich gebe am besten meine angefertigten Teststreifenphotographie in Abb. 3 wieder.

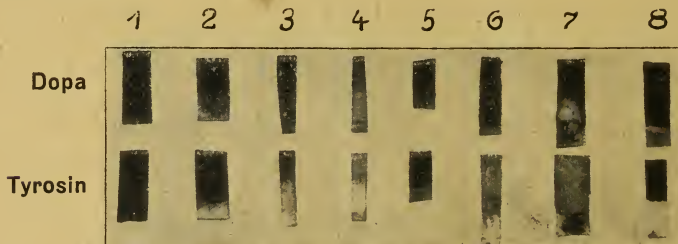


Abb. 3: Oxydasenreaktion der Raupenhämolymphe auf Dopa und Tyrosin 1. *Van. antiopa*. 2. *Lym. dispar*. 3. *Chaer. elpenor*. 4. *Mam. persicaria*. 5. *Stilpn. salicis*. 6. *Amphid. betularia*. 7. *Cal. lutosa*. 8. *Mel. flammea*.

Zu diesem Ergebnis ist folgendes zu bemerken: In allen Fällen ist eine tiefschwarze Reaktion auf Dopa vorhanden, eine mehrfach nur dunkelgraue auf Tyrosin. Nr. 5, *Stilpn. salicis* betrifft einen rein weißen Falter, von dem bis jetzt überhaupt nur eine schwach rauchig angelaufene melanistische Form als große Seltenheit beobachtet wird.

Nr. 7, *Cal. lutosa*, ist ein hellblonder Falter, von dem kein Melanismus bekannt ist. Das Blut der Raupe, die selbst ungefärbt fleischfarben, in den weißen Wurzelaufläufem des Schilfrohrs unterirdisch lebt, enthält die Oxydasen in stärkster Färbekraft. Ähnlich steht es mit Nr. 8, *Meliana flammea*, gleichfalls einem Schilftier, dessen Farbenkleid ohne viel Grau ist. Nr. 3, *Chaer. elpenor*, ist deswegen interessant, weil man für diese Art seit den bekannten Untersuchungen von v. Fürth und Schneider die Tyrosinase als das Melaninenzym betrachtet. Da diese Autoren von der Dopaoxydase noch nichts wissen konnten, so erscheint jetzt eine Korrektur nötig, jedenfalls dann, wenn auch hier sollte in der Eihämolymphe die Tyrosinase fehlen. Nr. 6, *Amph. betularia*, hat bekanntlich als Abart die unserer Hamburger *Cym. or ab. albingensis* analoge tiefschwarze *doubledajaria*; auch hier fand ich im Blut kleinster Räumchen keine Tyrosinase. Hinzufügen möchte ich weiter, daß kürzlich von mir geprüfte Eier von *Lym. monacha* und *dispar* in fortlaufenden Reaktionen mit Dopa und Tyrosin in den ersten Tagen ebenfalls keine Tyrosinase aufwiesen und bis zum Schlüpfen der Räumchen überhaupt nur Spuren erkennen ließen, während die Dopaoxydase stets vorhanden ist.

Nach diesen so übereinstimmenden Befunden an verschiedenen Falterarten kann man wohl schon jetzt sagen, daß im Schmetterlingsorganismus die Dopaoxydase weit verbreitet und unabhängig von der Tyrosinase angetroffen wird. Weiter aber ergeben diese Blutreaktionen der Falter Nr. 1—8 mit Sicherheit, daß die Anwesenheit der Oxydasen an und für sich die Schwärzung des Falters nicht bedingt, denn die geprüften Falter zeigen sowohl tiefstes Schwarz als reinstes Weiß: man denke z. B. an den Gegensatz von *Van. antiopa* zur schneeweißen *Stilpnot. salicis* und an die beinfarbenen Rohrtiere. Dies spricht ohne weiteres dafür, daß die Ursache der schwarzen Pigmentierungen, speziell auch diejenigen beim Melanismus, weniger bei den Oxydasen und Enzymen als bei den Pigmentvorstufen resp. deren Vermehrung zu suchen ist. Auch diesen Punkt werde ich in der ausführlichen Arbeit weiter begründen können.

Noch eines zum Schluß: Die sichere Tatsache, daß nur die Dopaoxydase dem Ei des Falters mitgegeben wird, weist darauf hin, daß die Dopaoxydase phylogenetisch fixiert sein kann, während die Tyrosinase ontogenetisch entsteht. Es wäre das, so viel ich weiß, ein erstes Beispiel dafür, wie auf dem Gebiet der die ganze Entwicklungsrichtung beherrschenden Enzyme und Fermente auch funktionelle Potenzen substantiell phylogenetisch fixiert sind, um ontogenetisch durch Stoffwechselforgänge zu wirken. Inwieweit die Herkunft der Tyrosinase aus der Dopaoxydase festzustellen sein wird, müssen weitere Untersuchungen lehren; es mag darauf hingewiesen werden, daß die durch beide angreifbaren Substanzen, das Dopa (= Dioxyphenylalanin) und Tyrosin, sich nur durch das Plus einer HO-Gruppe beim Dopa voneinander unterscheiden.

ZOBODAT - 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): Hasebroek Karl

Artikel/Article: [Die Dopaoxydase \(Bloch\), ein neues melanisierendes Ferment im Schmetterlingsorganismus. 367-373](#)