

Untersuchungen über das Phykocyan

von

Hans Molisch,
k. M. k. Akad.

(Mit 2 Tafeln.)

Aus dem pflanzenphysiologischen Institute der k. k. deutschen Universität in
Prag. Nr. 88 der 2. Folge.

(Vorgelegt in der Sitzung am 10. Mai 1906.)

I.

Bei den Cyanophyceen kommen im Zellinhalt drei Farbstoffe vor: Chlorophyll, Carotin und Phykocyan. Daß die Blaualgen Carotin führen und daß man diesen Farbstoff leicht kristallisiert aus den Algen gewinnen kann, habe ich bereits 1896 angegeben.¹ Seither ist das Vorkommen des Carotins in der genannten Algengruppe von Tammes² und Kohl³ an verschiedenen Objekten bestätigt worden.

Charakteristisch für die Cyanophyceen ist das Phykocyan. Nach den Schilderungen der Autoren hat dieser Farbstoff in wässriger Lösung im durchfallenden Lichte eine blaue und im auffallenden eine karminrote Farbe. Nahezu allgemein, und zwar auch in den neuesten Schriften wird die Sache nun so dargestellt, als ob das Phykocyan bei allen Cyanophyceen immer dieselben Eigenschaften hätte. Zweck dieser Zeilen ist

¹ Molisch H., »Die Kristallisation und der Nachweis des Xanthophylls (Carotins) im Blatte.« Berichte der Deutschen botan. Ges., 1896, Bd. XIV, p. 20.

² Tammes T., Über die Verbreitung des Carotins im Pflanzenreiche. Flora 1900, 87. Bd., p. 240.

³ Kohl F., Untersuchungen über das Carotin etc., Leipzig 1902, p. 68 bis 69.

es, darauf aufmerksam zu machen, daß das Phykocyan bei den verschiedenen Cyanophyceen Verschiedenheiten aufweist, mit anderen Worten, daß es nicht ein Phykocyan, sondern verschiedene Modifikationen davon gibt, mindestens drei, vielleicht noch mehr.

Bereits Sorby¹ hat drei Arten von Phykocyan unterschieden, die er als »Blue phycocyan«, »Purple phycocyan« und »Pink phycocyan« bezeichnet hat. Seine Beobachtungen haben aber keinen Anklang gefunden, und zwar mit Recht, da die von ihm angewandte Methodik zur Trennung der Farbstoffe in hohem Grade Bedenken hervorrufen muß. Um seine Farbstofflösungen vor Zersetzung zu bewahren, versetzt er sie mit Zucker bis zur Sättigung und, um die Farbstoffe zu trennen, erwärmt er den Sirup auf bestimmte Temperaturen. Hiefür ein Beispiel: Er gewinnt aus *Oscillaria nigra* eine purpurne Lösung, versetzt sie mit so viel Zucker als sich darin auflöst und erwärmt sodann auf 75°. Hiebei fällt nach Sorby das »Pink phycocyan« als roter Niederschlag heraus, während das »Purple phycocyan« gelöst bleibt. Er betrachtet daher das Phykocyan seiner *Oscillaria* als ein Gemisch von zwei Farbstoffen, ohne aber den Beweis zu liefern, daß die beiden Farbstoffe wirklich von Anfang an schon vorhanden waren und nicht erst hinterher infolge der angewandten Prozeduren eine Dissociation des Phykocyans eingetreten ist.

Schon vor dem Erscheinen der Sorby'schen Abhandlung hat Askenasy² aus *Peltigera canina*, deren Algenkomponent einer Cyanophycee angehört, im Wasser eine Farbstofflösung erhalten, die sich von dem typischen Phykocyan in wesentlichen Punkten unterscheidet. Nach Askenasy ist diese Farbstofflösung violett- oder weinrot, besitzt eine braungelbe Fluoreszenz und ein anderes Spektrum als das typische Phykocyan. Die aus *Collema plicatile* (?) bereitete wässrige Farbstofflösung hatte eine blaue Farbe und fluoreszierte granatrot, während das Spektrum wieder dem von *Peltigera* ähnelte. Askenasy

¹ Sorby H. C., On the Characteristic Colouring-matters of the Red Groups of Algae. The Journal of the Linnean Society. Botany, Vol. XV, 1877, p. 34—40.

² Askenasy S., Beiträge zur Kenntnis des Chlorophylls und einiger dasselbe begleitender Farbstoffe. Botan. Zeitg., 1867, Bd. XXV, p. 234.

glaubt nun auf Grund der optischen Eigenschaften des gelösten Farbstoffes von *Collema* und *Peltigera* vermuten zu dürfen, daß beides nur Gemische von zwei Farbstoffen in verschiedenen Mengenverhältnissen seien. Der eine habe eine gewisse Ähnlichkeit mit Phykoerythrin, den anderen glaubt er in reiner Form bei *Oscillaria antliaria* (?) gefunden zu haben. Die Phykocyanlösung dieser Pflanze war in dünner Schichte meergrün, in dickerer schön himmelblau und fluoreszierte rot.

Vor etwa 10 Jahren konnte ich¹ das Phykoerythrin und das Phykocyan in Kristallform ausscheiden und an diesen Kristallen die Eiweißnatur der beiden genannten Farbstoffe nachweisen.

Hiedurch wurde es möglich, die Eigenschaften der Farbstoffe an reinerem Material, beziehungsweise an den Kristallen selbst zu studieren und so die Farbstoffe schärfer zu charakterisieren. Die dadurch erzielte nähere Kenntnis der beiden genannten interessanten Farbstoffe erweckte die Hoffnung, die seinerzeit geäußerten Ansichten Sorby's und Askenasy's über das Vorkommen verschiedener Phykocyane vielleicht entscheiden zu können. Ich habe daher seit der Veröffentlichung meiner ersten Arbeit über das Phykocyan die angedeutete Frage im Auge behalten, darüber Erfahrungen gesammelt und will über diese im folgenden berichten.

II.

Zunächst möchte ich auf ein auffallendes mikrochemisches Verhalten, das sich übrigens auch makrochemisch äußert und welches verschiedene Cyanophyceen aufweisen, aufmerksam machen. Wenn man ein Räschen einer typisch spangrünen Nostocacee oder Oscillarinee, etwa *Anabaena inaequalis* Bornet² oder *Oscillaria leptotricha* Kg. in eine mit Eisessig gefüllte Dose einlegt, so nimmt die

¹ Molisch H., Das Phykoerythrin, seine Kristallisierbarkeit und chemische Natur. Botan. Zeitg., 1894, p. 177.

Molisch H., Das Phykocyan, ein kristallisierbarer Eiweißkörper. Ebenda, 1895, p. 131.

² Für die gütige Bestimmung dieser Alge sowie einiger anderer bin ich Herrn Dr. S. Stockmayer zu großem Danke verpflichtet.

Alge nach etwa einer Viertelstunde eine schön **blaue** Farbe an. Die Reaktion ist folgendermaßen zu erklären. Der Eisessig verwandelt das in den Zellen vorhandene Chlorophyll in braunes oder braungrünes Chlorophyllan und löst es samt dem vorhandenen Carotin aus den Zellen so vollständig heraus, daß schließlich von den ursprünglich vorhandenen drei Farbstoffen nur mehr das durch die Essigsäure gefällt und hiedurch unlöslich gewordene Phykocyan in den Fäden zurückbleibt. Daher die blaue Farbe des Rasens.

Versenkt man jedoch anstatt einer spangrünen Oscillarie eine braune, grünlichbraune, olivengrüne oder graubraune Oscillarie, etwa *Oscillaria Froelichii* Kg. oder *Oscillaria sancta* Gomont., so gehen dieselben Prozesse vor sich, allein das Räschen nimmt jetzt schließlich keine blaue, sondern eine tief violette Färbung an.

Es ist von Interesse, die Versuche mit spangrünen und braunen Cyanophyceen auch direkt unterm Mikroskop zu verfolgen. Wird die Oscillarie vom Wasser, am besten durch rasches Abtupfen mit Filtrierpapier, befreit, mit einem großen Tropfen Eisessig versehen und schließlich mit einem Deckglas bedeckt, so werden die Fäden zunächst braun, dann blau oder violett, je nachdem man eine rein spangrüne oder eine braune Oscillarie zum Versuch herangezogen hat. Mit dem Verdampfen des Eisessigs kristallisiert dann nicht selten in der Umgebung des Deckglasrandes das Chlorophyllan in den charakteristischen locken- oder peitschenartigen Kristallen aus und zwischen den Algenfäden treten gewöhnlich auch noch die orangeroten Schuppen und Plättchen des Carotins, oft zu Hunderten auf.

Besonders wenn die Fäden in Haufen übereinander liegen, tritt die Phykocyanfarbe deutlich hervor, doch ist sie auch häufig leicht an den einzelnen Fäden zu beobachten.¹

¹ In derselben Weise kann mittels Eisessig auch das Phykoerythrin bei Florideen, wo es fast oder ganz verdeckt erscheint, wie bei *Bangia*, *Batrachospermum*, *Porphyra* in ausgezeichneter Weise zur Anschauung gebracht werden.

Nebenbei will ich erwähnen, daß ich durch Einlegen der Fäden von *Bangia fuscopurpurea* Lyngb. in Thymolmeerwasser oder eine Kaliumnitritlösung nach 1 bis 3 Tagen schöne Phykoerythrinkristalle erhielt.

Der Farbenunterschied zwischen dem blauen und violetten Phykocyan ist so distinkt, daß man sie mit Leichtigkeit auseinanderhalten kann, ja wenn eine spangrüne *Oscillaria* zufällig mit einer braunen verunreinigt sein sollte, so verrät sich dies auf Grund der angegebenen Eisessigreaktionen, man sieht dann zwischen einem Heer von himmelblauen Fäden einzelne von violetter Farbe. Tritt die Färbung unter dem Mikroskop nicht deutlich hervor, so muß man die Alge in möglichst dicker Schichte betrachten; bei manchen Cyanophyceen, z. B. gewissen *Gloeocapsa*-Arten, scheint allerdings so wenig Phykocyan vorhanden zu sein, daß man von einer entsprechenden Färbung fast nichts sieht.

Die erwähnten, auf Grund der Behandlung mit Eisessig gewonnenen Erfahrungen legen schon den Gedanken nahe, daß es sich in der Gruppe der Cyanophyceen nicht immer um ein und dasselbe Phykocyan handelt, sondern um mindestens zwei. Um darüber ins Klare zu kommen, empfiehlt es sich, das Phykocyan aus einer spangrünen Cyanophycee und einer anders gefärbten zu untersuchen und die Eigenschaften der gewonnenen Farbstoffe im einzelnen zu vergleichen.

Zunächst mögen einige Bemerkungen über die Gewinnung der Phykocyanlösungen hier ihren Platz finden. Arbeitet man mit marinen Cyanophyceen, so empfiehlt es sich, die Algen rasch im destillierten Wasser abzuspülen, um die Salze zu entfernen und dann die gewaschene Alge in destilliertes Wasser einzulegen. Die marinen Algen sterben im destillierten Wasser rasch ab und lassen häufig mit Leichtigkeit das Phykocyan austreten.

Bei Süßwasser-Cyanophyceen führt dieses Verfahren nicht zum Ziele. Für diese wurde behufs der Farbstoffgewinnung mehrfach empfohlen, das Wasser, in dem sich die Alge befindet, mit etwas Schwefelkohlenstoff, Chloroform (Hegler) oder Thymolkristallen (Nadson, Gaidukov) zu versetzen, um hiedurch die Algen abzutöten und so dem Farbstoff den Austritt aus den Zellen zu ermöglichen. Ich verfuhr anfangs auch so, allein ich überzeugte mich, daß die erwähnten Körper keineswegs so indifferent für den Farbstoff sind als es beim ersten Anblick den Anschein hat. Ich habe mich speziell bei

Versuchen mit dem Phykocyan von *Scytonema Hofmanni* Agardh überzeugt, daß z. B. Thymol alsbald eine Veränderung der Lösung verursacht, die sich in Farbe, Fluoreszenz und Spektrum kundgibt.

Ausgezeichnete Resultate erhielt ich bei Cyanophyceen dadurch, daß ich die lebende, rasch mit destilliertem Wasser gewaschene Alge bei 30° C. im Thermostaten trocknete, im trockenen Zustande fein zerrieb und dann mit wenig destilliertem Wasser auszog. Bei manchen Algen tritt der Farbstoff fast momentan, bei anderen nach kurzer oder längerer Zeit aus den Zellen heraus, jedoch immer so rasch, daß die Gefahr einer Zersetzung durch Bakterien nicht gut möglich war. Derartig getrocknetes Material, z. B. das von *Scytonema Hofmanni* oder *Oscillaria limosa* läßt sich monate- ja jahrelang im finsternen, trockenen Raum aufheben, ohne daß das Phykocyan eine merkliche Änderung erleidet.

Typisch spangrüne Oscillarien aus der Umgebung von Prag lieferten, wenn in der angegebenen Weise extrahiert, durchwegs eine Phykocyanlösung, wie sie bisher gewöhnlich beschrieben wurde. Die Lösungen sind im durchfallenden Lichte blau mit einem grünen Stiche, hingegen im auffallenden Lichte prachtvoll dunkelkarminrot. Ich werde dieses Phykocyan von jetzt an das blaue Phykocyan nennen. Ihm kommen alle jene Eigenschaften zu, die ich seinerzeit¹ im Detail von dem Phykocyan der *Oscillaria leptotricha* Kg. angegeben habe.

Die wässrige Phykocyanlösung einer relativ schmalfädigen spangrünen *Oscillaria* gab, mit dem Vergleichsspektroskop von Zeiß betrachtet, ein Spektrum wie es auf der Tafel I, Fig. 1 und 2, abgebildet ist.

Das Spektrum ist durch eine Endabsorption im äußersten Rot und durch zwei Bänder (I und II) knapp zu beiden Seiten der Linie *D* ausgezeichnet. Schon bei einer Schichtdicke von 3 mm sind die beiden Bänder sowie die Endabsorption zu sehen, besonders Band I, noch deutlicher bei 8 mm. Bei einer Schichtdicke von 15 mm fließen die beiden Streifen zu einem

¹ Molisch H., Das Phykocyan, l. c., p. 132 bis 135.

breiten dunklen Band zusammen. Die Bänder haben folgende Lage:

3 mm	Schichtendicke,	I	λ 635 — λ 605,
3	»	»	» II λ 580 — λ 560,
8	»	»	» I λ 645 — λ 590,
8	»	»	» II λ 580 — λ 560.

Bei den von mir untersuchten verschiedenen Arten der spangrünen Nostocaceen (*Anabaena inaequalis*) und Oscillarinen fand ich das Spektrum im wesentlichen übereinstimmend, es war stets ausgezeichnet durch die Endabsorption im äußersten Rot und die beiden dunklen Bänder I und II.

Wie verhalten sich nun die Phykocyanlösungen anders gefärbter Cyanophyceen, sind sie identisch oder verschieden von den Lösungen spangrüner Cyanophyceen?

Ich begann meine diesbezüglichen Untersuchungen mit einer Alge, die im Warmhaus des deutschen botanischen Gartens zu Prag auf den feuchten Mauern in großer Üppigkeit wuchert und hier bräunlichschwarze oder schwärzlichgrüne chroolepusartige Überzüge bildet. Es ist die *Scytonema Hofmanni* Agardh. Ihre Fäden sind unregelmäßig verkrümmt und haben eine recht schwer definierbare, etwa graugrüne Färbung.

Die frisch aus getrocknetem, zerriebenem Materiale gewonnene wässrige Lösung sieht anders aus als die des blauen Phykocyan. Sie ist im durchfallenden Lichte prachtvoll anilinviolett, hingegen im auffallenden venetianischrot, fast wie gebrannter Ocker. Farbe und Fluoreszenz sind also bei diesem Phykocyan, das ich von nun an das »violette« nennen werde, wesentlich anders; dazu kommt noch ein abweichendes Spektrum (siehe Tafel I, Fig. 6 und 7). Es weist nicht zwei, sondern vier Bänder auf (I—IV). Bei einer Schichtendicke von 1 mm sieht man den Streifen III als ein zartes Band zuerst auftauchen. Bei 2 mm Schichtendicke taucht knapp daneben im Grün ein zartes Band auf (IV). Fig. 6 d. Taf. I. Bei einer Schichtendicke von 3 mm sieht man bereits vier Bänder. Die zwei neuen (I und II) liegen im Rotorange. Die Lage der vier Bänder (I—IV) ist aus folgendem ersichtlich:

Schichtendicke 6 <i>mm</i> ,	I.	λ 655—λ 650
s. Fig. 7 d. Taf. I.	II.	λ 630—λ 600
	III.	λ 575—λ 565
	IV.	λ 555—λ 540

Schichtendicke 10 <i>mm</i> .	I.	λ 655—λ 650
	II.	λ 630—λ 600
	III. + IV.	λ 578—λ 520.

Bei der letzteren Schichtendicke sind die Bänder III und IV eben noch getrennt wahrzunehmen, bei oberflächlicher Betrachtung erscheinen sie zu einem dunklen Band verschwommen. Grün erscheint gegen Blau zu etwas geschwächt.

Bei 20 *mm* verschmelzen I und II sichtlich, sind aber noch getrennt zu sehen, III und IV bilden nunmehr nur eine breite Absorption. Grün erscheint bedeutend geschwächt, Blau und Violett viel weniger. Bei dieser und größerer Schichtendicke tritt mitunter ein schmaler Streifen zwischen *B* und *C* auf; dieser hat aber mit dem Phykocyan nichts zu tun, denn er ist nichts anderes als Chlorophyllband I zwischen *B* und *C*, welches von den bei der Filtration der Phykocyanlösung durch das Filter hindurch gegangenen Chlorophyllmassen herrührt. Es stimmt dieser Streifen in seiner Lage genau mit jenem überein, den auch im Wasser aufgeschwemmte Chlorophyllkörper jeder chlorophyllgrünen Pflanze zeigen. Filtriert man die Phykocyanlösung durch eine Chamberlandkerze, so werden die Chlorophyllfragmente vollständig zurückgehalten und eine derartige Lösung zeigt natürlich von einem solchen Streifen nichts.

Wenn die *Scytonema*-Phykocyanlösung längere Zeit steht oder mit Thymol längere Zeit in Berührung bleibt, so wird sie äußerlich einer Phykoerythrinlösung recht ähnlich, sie verliert ihre schön violette Farbe, wird mehr rosa (siehe Tafel II, Fig. 8) oder fleischrot und auch die Fluoreszenzfarbe nähert sich noch mehr der des Florideenrots. Bemerkenswert ist auch eine gewisse Ähnlichkeit zwischen dem Spektrum des Phykoerythrins und dem des Phykocyans von *Scytonema Hofmanni*. Ich studierte das Spektrum einer *Ceramium*-Art (*strictum?*) und des *Nitophyllum punctatum* Harv. Die Phykoerythrin-

lösung wurde gewonnen durch Einlegen der rasch gewaschenen lebenden Algen in destilliertes Wasser. Sie zeigte im Spektrum fünf Bänder (I—V), das Band I allerdings erst bei sehr hoher Schichtendicke von 35 *mm* und darüber; siehe Fig. 11 der Tafel I. Die Lage der fünf Bänder bei *Ceramium* ist folgende:

Schichtendicke 35 *mm*. I. λ 650— λ 645
 20 *mm*. II. λ 620— λ 610
 III. λ 575— λ 560
 IV. λ 550— λ 525
 V. λ 500— λ 485, siehe Fig. 10 der
 Tafel I.

Dieses Phykoerythrinspektrum stimmt nahe überein mit dem, wie es Schütt¹ angibt, doch sah der genannte Autor bei seinem *Ceramium rubrum* nicht den Streifen I, während er ihn für *Dumontia filiformis* angibt. Es ist das jener schwach ausgeprägte, leicht übersehbare Streifen, welcher knapp an Chlorophyllband I heranreicht, mit demselben aber nicht zusammenfällt.

Ein Vergleich des *Scytonema*-Spektrums mit dem von *Ceramium* sp. zeigt nun, daß die Bänder I und II in ihrer Lage beiläufig, die Bänder III und IV einigermassen übereinstimmen. Charakteristisch aber bleibt für das Phykoerythrin das dunkle breite Band V.

Kann daher auch von einer Identität des *Scytonema*-Farbstoffes mit dem Phykoerythrin nicht die Rede sein, so hat es doch allen Anschein, daß das *Scytonema*-Phykocyan dem Phykoerythrin jedenfalls näher steht als das typische Phykocyan spangrüner Oscillarien und daß Phykocyan und Phykoerythrin verwandte Farbstoffe sind.

Wenn wir das Spektrum dieser letzteren mit dem von *Scytonema Hofmanni* vergleichen, so springen die Unterschiede in die Augen, dort vier, hier nur zwei Bänder. Man vergleiche dazu die Fig. 1—2 und 6—7.

Dazu gesellen sich nun noch andere Unterschiede. Die Differenz in der Farbe der beiden Phykocyane tritt nicht bloß

¹ Schütt F., Über das Phykoerythrin. Berichte der deutschen botan. Ges., VI. Bd., Jahrg. 1888, p. 36.

in der Lösung hervor, sondern auch im eingetrockneten Zustande. Nach der Filtration sammelt sich der Farbstoff infolge der Verdampfung am Rande des Filtrierpapiere an. Wenn er hier eintrocknet, so weist er bei dem blauen Phykocyan eine blaue oder blaugrüne, bei dem violetten eine diesem entsprechende violette Farbe auf.

Auffallend ist ferner Folgendes: Eine wässerige, violette Phykocyanlösung von *Scytonema Hofmanni* ändert, wenn sie längere Zeit steht und bakteriös wird, ihre Farbe von oben nach unten nach rosa- oder fleischrot, um später vollständig mißfarbig, d. h. gelbbräunlich zu werden. Längere Berührung mit Thymol verändert die violette Farbe gleichfalls in Rosa. Eine solche Farbenwandlung zeigt das blaue Phykocyan nicht, hier verschwindet einfach der blaue Farbenton vor dem Eintritt der gelbbräunlichen Mißfarbe.

Ich habe seinerzeit eine Methode angegeben, die es gestattet, Phykoerythrin und Phykocyan kristallisiert abzuscheiden. Sie beruht im wesentlichen auf einer langsamen Aussalzung der beiden eiweißartigen Farbstoffe durch schwefelsaures Ammonium. Während die Kristallisation des blauen Phykocyan leicht gelingt, habe ich sie beim *Scytonema*-Phykocyan nicht zu Wege gebracht, weder bei niederer noch bei gewöhnlicher Temperatur, weder mit frischem noch mit ausgesalztem und wieder gelöstem Farbstoff, weder mit schwefelsaurem Ammonium noch mit schwefelsaurem Magnesium oder Chlornatrium. Bei Behandlung mit Ammoniumsulfat fiel das Phykocyan hier stets als ein amorpher Niederschlag heraus. Nur ein einziges Mal bemerkte ich in einer stehengebliebenen und faulenden Phykocyanlösung, die dem Eintrocknen nahe war, schwache Ansätze zu einer Kristallisation, es würde daraus hervorgehen, daß auch dem *Scytonema*-Phykocyan die Kristallisationsfähigkeit nicht vollständig mangelt, daß sie aber nur unter ganz bestimmten Bedingungen eintritt, was bei einem Eiweißkörper nicht gerade auffallen darf.

Aus dem Gesagten geht auf das Bestimmteste hervor, daß die beiden untersuchten Phykocyanen sich leicht unterscheiden lassen und daß sie, obwohl beide Eiweißkörper und miteinander nahe verwandt sind, zwei

auf den ersten Blick zu unterscheidende Modifikationen darstellen. Daß dies aber nicht die einzigen Phykocyanarten sind, lehrte mich die weitere Untersuchung des Phykocycans von folgenden Cyanophyceen.

Oscillaria limosa Agardh. Diese Cyanophycee tritt im Frühjahr bei Branik in Prag regelmäßig in großer Menge in einem Grabenwasser auf und bildet hier auf der Oberfläche große wattenartige Massen von braungelber Farbe. Die einzelnen Fäden haben im Mikroskope eine gelbbraunliche oder schmutzig graugrüne Färbung.

Der Eisessigprobe unterworfen, nahmen die Fäden eine blauviolette Färbung an, welche die Mitte hielt zwischen der, welche unter denselben Umständen die spangrünen Oscillarien und *Scytonema Hofmanni* aufwiesen.

Die wässrige Lösung dieses Phykocycans ist tief blauviolett und fluoresziert prachtvoll dunkel karminrot. Sie hält bezüglich dieser optischen Eigenschaften gewissermaßen die Mitte zwischen den beiden vorhin beschriebenen Phykocyanen. Von diesen unterscheidet sich das Phykocyan von *Oscillaria limosa* auch durch das Spektrum (siehe Fig. 3—5 auf Tafel I). Es hat drei dunkle Bänder (I—III) mit folgender Lage.

5 mm Schichtendicke.	I. . . . λ 655—λ 650
	II. . . . λ 630—λ 600
	III. . . . λ 575—λ 555
10 mm Schichtendicke.	I. . . . λ 655—λ 650
	II. . . . λ 635—λ 600
	III. . . . λ 575—λ 530.

Bei einer Schichtendicke von 5 mm sind alle drei Bänder deutlich zu sehen, besonders II und III, weniger I. Bei 10 mm verbreitert sich besonders III, die Bänder I und II beginnen zusammenzufließen, sind aber noch gut unterscheidbar. Bei einer Schichtendicke von 20 mm macht sich im äußersten Rot eine schwache Endabsorption geltend, die Bänder I, II und III fließen fast ganz zu einem Band zusammen und von diesem erscheint das Spektrum gegen Violett verwaschen.

Das Spektrum des *Oscillaria limosa*-Phykocycans unterscheidet sich also sowohl von dem der *Scytonema* als auch von

dem der spangrünen Oscillarien. Von dem ersteren hauptsächlich durch den Mangel des Bandes IV und von dem letzteren durch das Hinzukommen des Bandes λ 655— λ 650. Die einander entsprechenden Bänder stimmen aber in der Lage genau oder beiläufig überein.

Mit $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ behandelt, erhält man den Farbstoff bei langsamer Verdampfung als kugelige Gebilde von der Größe kleiner Hefezellen. Ich habe es vielfach sehr zweckmäßig gefunden, die Verdampfung dadurch zu verlangsamen, daß man auf die Oberfläche der in der Kristallisierschale befindlichen Farbstofflösung sehr große Deckgläser ($3 \times 4 \text{ cm}$) legt. Es stellen sich dann die Kügelchen hauptsächlich knapp beim Deckglasrande ein. Kristalle mit regelmäßigen, ebenen Flächen habe ich bei diesem Phykocyan niemals bekommen.

Peltigera canina L.

Die wiederholten Versuche, aus der lebenden und aus der toten, aber nicht zerkleinerten Flechte das Phykocyan zu gewinnen, scheiterten. Auch aus der getrockneten und in einer Reibschale zerkleinerten Flechte konnte ich den Farbstoff, weil er nur sehr langsam herausdiffundierte, unzersetzt nicht erhalten. Und doch war er, wie die mikroskopische Untersuchung lehrte, in den Gonidien sicher reichlich vorhanden. Bringt man Schnitte durch die lebende Flechte in Eisessig, so färben sich die ursprünglich schmutzig bläulichgrün gefärbten Gonidien alsbald blauviolett. Es wurde mir wahrscheinlich, daß der Farbstoff offenbar nur sehr schwer die Membranen der Alge und des ganzen Thallus zu durchdringen vermag. Ich versuchte daher die Gonidienzellen zu zerreißen. Dies geschah durch Verreiben der bei 30° getrockneten Flechte mittels Quarzpulver in der Reibschale. Auf diese Weise gewinnt man aus der Flechte ein sehr feines Pulver, welches mit Wasser behandelt, schon nach 1 bis 3 Stunden das Phykocyan in größerer Menge austreten läßt. Die wässerige Lösung des Farbstoffes war schmutzig grauviolett und fluoreszierte sehr stark in einer schwer definierbaren Farbe, welche etwa die Mitte hielt zwischen Indischrot und Scharlachlack.

Das Spektrum erinnerte insofern an das von *Scytonema*, als es zwei knapp nebeneinander liegende Bänder in Grün aufweist, hingegen besitzt es nur einen Streifen im Rot und hier auch eine schwache Endabsorption. Dieser stimmt in seiner Lage mit dem *Scytonema*-Band II überein, während das Band II im Gelbgrün im Vergleich zu dem entsprechenden von *Scytonema* etwas verschoben erscheint. Die Lage der Bänder ist folgende (siehe Fig. 8 auf Tafel I).

Schichtdicke 10 mm. I. . . λ 630— λ 590

II. . . λ 570— λ 560

III. . . λ 555— λ 535.

Die Untersuchung des Farbstoffes muß alsogleich vorgenommen werden, weil er sich alsbald zersetzt. Er nimmt dann eine schmutzig rotviolette Farbe und hierauf eine braune Farbe an.

Aus den vorhergehenden Untersuchungen ergibt sich mit Bestimmtheit, daß es zweifellos mehrere Modifikationen von Phykocyanen gibt. Eine ähnliche Erfahrung hat man bekanntlich auch beim Haemoglobin gemacht, denn früher hielt man die Haemoglobine der verschiedenen Tiere für identisch, heute weiß man, daß sie vielfach verschieden sind.

Wenn man die Beschreibungen des Phykocyanspektrums bei verschiedenen Autoren vergleicht, so wird man selten eine Übereinstimmung finden. Man vergleiche nur z. B. das Phykocyanspektrum einer *Spirulina* bei Cohn,¹ das einer *Oscillaria* bei Reinke,² Nadson³ und das Spektrum bei Kohl.⁴

Die Ergebnisse sind sehr verschieden und merkwürdigerweise hat bisher meines Wissens niemand darauf aufmerksam

¹ Cohn F., Beiträge zur Physiologie der Phykochromaceen und Florideen. Schulze's Archiv f. mikroskop. Anatomie, 1867, Bd. III, Tafel I.

² Reinke J., Beitrag zur Kenntnis des Phykoxanthins. Pringsheim's Jahrb. f. wiss. Bot., X. Bd., 1876, Tafel XXX (11).

³ Nadson S., Über das Phykocyan der Oscillarien und seine Beziehungen zu anderen Pflanzenfarbstoffen. Scripta botanica Univ. Petropol, IV, 1893. Referiert im Bot. Centralblatt, Bd. LIII, 1893, p. 315.

⁴ Kohl F., Über die Organisation und Physiologie der Cyanophyceenzelle etc., Jena 1903, p. 76.

gemacht. Die Verschiedenheit der Angaben kann verschiedene Ursachen haben: Sie kann unter anderem liegen in der Gewinnungsart des Farbstoffes, in der Konzentration, in der Verunreinigung mit anderen Stoffen, sie kann aber, wie ich jetzt annehmen muß, auch darin liegen, daß die Autoren verschiedene Arten von Phykocyanen unter den Händen hatten.

III.

Über den Farbstoff von *Porphyridium cruentum* Naegeli (*Palmella cruenta* Ag.)

Da diese Alge von manchen Algologen¹ zu den Cyanophyceen gestellt wird, so zog ich sie wegen ihrer höchst auffallenden blutroten Färbung gleichfalls in den Bereich meiner Untersuchung, um auf Grund meiner Erfahrungen die divergierenden Ansichten über den Farbstoff des *Porphyridium* vielleicht klären zu können. Gelänge es, über die Natur des Farbstoffes bestimmte Aufschlüsse zu erhalten, so wäre dies vielleicht auch den Systematikern erwünscht, da die Stellung der Alge bekanntlich im System eine höchst unsichere ist.

Sorby² hat das *Porphyridium* auf seinen Farbstoff geprüft und findet darin ebenso wie in den roten Florideen viel pink Phykoerythrin, aber zum Unterschied von diesen nur eine Spur red Phykoerythrin.

Phipson³ hält in vollständiger Unkenntnis der Befunde Sorby's und der Eigenschaften des Phykoerythrins den roten Farbstoff für einen ganz neuen, der kein Analogon im Pflanzenreiche haben, wohl aber dem Blutfarbstoff (Haemoglobin) ähnlich sein soll. Er benennt ihn daher auch mit dem besonderen Namen »Palmellin«. Auffallend ist, daß Phipson an Phykoerythrin gar nicht gedacht hat, wahrscheinlich hat Phipson nie eine Phykoerythrinlösung gesehen, denn wenn sie ihm

¹ Hansgirg A., Prodrömus der Algenflora von Böhmen. I. Teil, Prag 1886, p. 147.

² Sorby, l. c., p. 39 und Just's Jahresbericht, IV. Jahrg., 1876, p. 4.

³ Phipson T. L., Sur la matière colorante du *Palmella cruenta*. Comptes rendus 1879, p. 316.

bekannt gewesen wäre, so hätte er auf die außerordentliche Ähnlichkeit, welche zwischen seiner Palmellinlösung und einer typischen Phykoerythrinlösung besteht, kommen müssen.

Nebelung¹ fand, daß der rote *Porphyridium*-Farbstoff ein etwas anderes Spektrum als die entsprechenden Farbstoffe der Süßwasserflorideen und deren Verwandte besitzt, daß er sonst in Farbe, Fluoreszenz, Verhalten bei Zersetzungen u. s. w. mit ihnen übereinstimmt. An anderer Stelle (p. 419) bezeichnet er die roten, violetten und blauen Farbstoffe der *Bangia*, *Lemanea*, *Chantransia*, *Batrachospermum* und *Phormidium* als eine Reihe zusammengehöriger verwandter Farbstoffe, deren Beziehung zum Chlorophyll durch ihre nahe Verwandtschaft mit dem Phykoerythrin der Meeresflorideen vermittelt wird. Schließlich präzisiert Nebelung seine Ansicht in dem Satze: »Außerhalb dieser Reihe von Farbstoffen, aber durch Farbe, Fluoreszenz und Verhalten gegen chemische Einflüsse mit ihnen verknüpft, steht das rote Pigment von *Porphyridium cruentum*, dessen Spektrum als ein modifiziertes Spektrum des *Phormidium*-Farbstoffes aufgefaßt werden kann.«

Nach Gaidukov ist das rote Pigment von *Porphyridium* auf Grund spektroskopischer Untersuchungen mit dem Phykoerythrin sehr nahe verwandt.² Später spricht der genannte Autor³ unter Hinweis auf dieselbe Arbeit von echtem Phykoerythrin.

Ich gelange nun zu meinen eigenen Beobachtungen. *Porphyridium cruentum* trat im Frühling und Sommer auf nassem Boden und nassen Blumentöpfen meines Gewächshauses auf, wurde durch Abheben mit einem Messer möglichst rein gewonnen, an der Luft rasch getrocknet, zu einem feinen Pulver verrieben, mit destilliertem Wasser 12 bis 24 Stunden

¹ Nebelung H., Spektroskopische Untersuchungen der Farbstoffe einiger Süßwasseralgae. Bot. Zeitg. 1878, p. 410.

² Gaidukov N., Zur Morphologie und Physiologie der Alge *Porphyridium cruentum* Naeg. Arbeiten d. Petersburger naturforschenden Ges. XXX (I), 1899, p. 152. Russisch. Die Arbeit war mir leider nicht zugänglich. Ich zitiere nach Just's Bot. Jahresber. 1899, I. Abt., p. 187.

³ Derselbe: Die komplementäre chromatische Adaption bei *Porphyra* und *Phormidium*. Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1906, p. 4.

stehen gelassen und dann filtriert. Das Filtrat war im durchfallenden Lichte rosarot und fluoreszierte schön gelborange. Die Lösung sieht genau so aus wie eine typische Phykoerythrinlösung. Sie verhält sich auch bezüglich der Einwirkung äußerer Faktoren wie Licht, Wärme, Säuren, Alkalien und Fällungsmittel im wesentlichen so wie ich dies seinerzeit für Phykoerythrinlösungen mariner Florideen ausführlich auseinandergesetzt habe.¹

Das Spektrum zeigt folgende Bänder.

Schichtendicke 10 <i>mm</i> .	Band II. λ 570— λ 560	} Siehe Fig. 9 auf Tafel I.
20 <i>mm</i> .	» II. λ 570— λ 560	
	» III. λ 550— λ 530	
30 <i>mm</i> .	» I. λ 610— λ 630	
	» II. λ 570— λ 560	
	» III. λ 550— λ 520	
	» IV. λ 500— λ 480.	

Band II und III fließen bei 30 *mm* schon zusammen, Band IV erscheint undeutlich. Außerdem findet sich eine Endabsorption vor, die sich schon bei geringer Schichtendicke von äußerstem Violett an bemerkbar macht und sich schließlich mit den drei Absorptionsbändern vereint zu einer Gesamtabsorption bis 570 erstreckt. Die Lage der vier Bänder stimmt mit der der entsprechenden Bänder des Phykoerythrins so ziemlich überein. Meine Lösungen waren, weil das Material in großen Mengen nicht leicht zu beschaffen ist, nicht sehr konzentriert, es erscheint mir aber nicht unwahrscheinlich, daß bei konzentrierteren Lösungen vielleicht auch der äußerste Streifen des Phykoerythrins im Rot zum Vorschein kommen würde. Geht schon aus diesen Beobachtungen höchstwahrscheinlich hervor, daß man es hier mit einem dem Phykoerythrin außerordentlich ähnlichen, wenn nicht sogar identischen Farbstoff zu tun hat, so wird dies durch die folgenden Beobachtungen zur Gewißheit erhoben.

¹ Molisch H., Das Phykoerythrin etc, I. c., p. 182.

Bisher war es nicht gelungen, den *Porphyridium*-Farbstoff in Kristallen zu gewinnen; als ich aber den Farbstoff in Lösung vor mir sah und seine mit dem Phykoerythrin so übereinstimmenden Eigenschaften kennen lernte, war es für mich sehr wahrscheinlich, daß der *Porphyridium*-Farbstoff auch kristallinisch gewonnen werden könnte, ebenso wie ich dies seinerzeit für typisches Phykoerythrin gezeigt habe.

Versetzt man die Lösung des roten Farbstoffes mit etwas Ammoniumsulfat, jedoch nur mit so viel, daß der Farbstoff noch nicht ausgesalzt wird, und läßt dann in einer Kristallisierschale bei gewöhnlicher Temperatur verdampfen, so fällt der Farbstoff allmählich in roten Kristallen heraus, wie sie in Fig. 15, Tafel II abgebildet sind. Man erhält solche Kristalle auch leicht, wenn man die Lösung auf einer größeren Glasplatte (10 × 10 cm) ausgießt und mit einer gleich großen bedeckt, so daß dann zwischen den beiden Platten eine Flüssigkeitsschicht adhärirt. Nach einiger Zeit lassen sich in der Nähe des Randes der Platten, wo sich der Farbstoff infolge der Verdampfung konzentriert, Hunderte von Kristallen nachweisen.

Sie treten in derselben Farbe und Form wie das Phykoerythrin mariner Florideen auf, sind meist schlank prismatisch, häufig an beiden Enden oder nur an einem Ende zugespitzt. Auch sternartige Aggregate kommen vor. In ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften, insbesondere in Bezug auf ihre Quellbarkeit in Kalilauge, auf die Aufnahme von Farbstoffen, in Bezug auf die Blaufärbung in gesättigter Kalilauge und auf die Eiweißreaktionen zeigen sie dasselbe Verhalten wie die Phykoerythrinkristalle mariner Rhodophyceen. Es sei daher, um nicht weitläufig zu werden, einfach auf die entsprechenden Ausführungen meiner Arbeit¹ verwiesen.

Der rote Farbstoff von *Porphyridium* ist also tatsächlich Phykoerythrin. Und wenn auch das Spektrum mit dem Spektrum z. B. von *Ceramium* nicht in den feinsten Details völlig übereinstimmt, so können wir doch auch hier von Phykoerythrin mit vollem Rechte sprechen, denn wenn sich herausstellen sollte, daß das Phykoerythrin der verschiedenen

¹ Molisch H., Das Phykoerythrin, l. c., p. 179 ff.

Rhodophyceen nicht in allen Punkten übereinstimmt, so könnte man noch immer, schon aus praktischen Gründen, von Phykoerythrin eventuell als Gruppenbegriff sprechen, in analogem Sinne, wie man jetzt von Oxyhaemoglobin, Carotin spricht und wie man auf Grund meiner Untersuchungen von nun an von Phykocyan sprechen wird.

Ich habe schon früher darauf hingewiesen, daß die systematische Stellung unserer Alge äußerst ungewiß ist.

Schmitz¹ behandelt sie zusammen mit einigen anderen Algen, deren systematische Stellung schwer zu bestimmen ist, in einem Anhang, reiht sie aber den *Bangiales* an.

Oltmanns² enthält sich eines Urteils und spricht von *Porphyridium* gleichfalls in einem Anhang.

Gaidukov³ stellt die Alge auf Grund ihres Zellbaues und des sternförmigen Chromatophors zu den *Bangiales*. Jetzt, wo wir wissen, daß *Porphyridium* (neben Chlorophyll und Carotin) Phykoerythrin, aber kein Phykocyan enthält, haben wir einen Grund mehr, an eine Verwandtschaft mit den *Bangiales* zu denken.

Porphyridium ist die einzige bisher bekannte Luftalge, die Phykoerythrin enthält. Sie verdient daher die Aufmerksamkeit des Physiologen, des Phylogenetikers und Systemikers und würde es verdienen, zum Gegenstand einer ausführlichen Studie auch auf Grund von Reinkulturen gemacht zu werden.

IV.

Zusammenfassung.

1. Die in Lehr- und Handbüchern der Botanik vertretene Ansicht, daß die Cyanophyceen insgesamt stets ein und dasselbe Phykocyan besitzen, daß also nur ein einziges Phykocyan

¹ Engler-Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien, Leipzig 1897, 166. und 167. Lief., p. 315. Vergl. ferner Schmitz Fr., Die Chromatophoren der Algen. Verhandl. des naturw. Vereines zu Bonn. XL. Jahrg., 4. Folge, X. Bd., p. 3 des Separ. Abdr.

² Oltmanns F., Morphologie und Biologie der Algen. I. Bd., p. 191.

³ Gaidukov N., l. c., p. 4 bis 5.

existiert, ist auf Grund meiner Untersuchungen aufzugeben. Es läßt sich vielmehr leicht nachweisen, daß es sicher zum mindesten drei, wahrscheinlich aber noch mehr Phykocyane gibt, die zwar miteinander sehr nahe verwandte Eiweißkörper darstellen und eine eng zusammengehörige Gruppe bilden, aber durch die Farbe ihrer wässerigen Lösungen, ihre Fluoreszenzfarbe, durch ihre Kristallisationsfähigkeit und ihr spektroskopisches Verhalten sich leicht unterscheiden.

So geben alle untersuchten spangrünen Cyanophyceen eine Phykocyanlösung, die im durchfallenden Lichte eine blaue Farbe mit einem Stich ins Grüne aufweist, dagegen im auffallenden Lichte prachtvoll dunkelkarminrot fluoresziert. Ich nenne diesen Körper blaues Phykocyan.

Die anders gefärbten Cyanophyceen von brauner, grünlich-brauner, olivgrüner oder graubrauner Farbe geben violette Phykocyanlösungen mit venezianischer, fast ockerartiger oder karminroter Fluoreszenz. Dieses Phykocyan, von dem ich wieder zwei Modifikationen unterscheiden konnte, will ich kurz als violettes Phykocyan bezeichnen.

Der Farbenunterschied zwischen blauem und violettem Phykocyan ist gewöhnlich in die Augen springend, doch finden sich auch Übergänge vor, wie das blauviolette Phykocyan von *Oscillaria limosa*. Dieser äußeren Verschiedenheit entspricht auch eine deutliche Verschiedenheit der Spektren. So zeigt das blaue Phykocyan nur zwei, das violette hingegen drei (*Oscillaria limosa*) oder vier (*Scytonema Hofmanni*) Bänder im Spektrum.

Von der Verschiedenheit der Phykocyane, beziehungsweise von dem Vorkommen des blauen und violetten Phykocyan kann man sich auch durch eine einfache mikrochemische Reaktion, die übrigens auch sehr schön makroskopisch zur Geltung kommt, leicht überzeugen. Behandelt man eine typisch spangrüne Cyanophycee, z. B. *Anabaena inaequalis* Bornet, mit Eisessig, so nimmt die Alge nach kurzer Zeit eine blaue Farbe an, da Carotin und Chlorophyll (Chlorophyllan) in Lösung gehen und das Phykocyan von den Farbstoffen allein zurückbleibt. Anders gefärbte Cyanophyceen werden unter denselben Umständen violett.

Diese mikrochemische Reaktion bringt also das Phykocyan in der Zelle nicht bloß zu deutlicher Anschauung, sondern läßt auch gleichzeitig erkennen, ob die blaue oder die violette Modifikation vorhanden ist.

Trotz der Verschiedenheit der Phykocyane möchte ich empfehlen, den Terminus »Phykocyan«, der sich doch allgemein eingebürgert hat, nicht aufzugeben, sondern auch weiterhin zu behalten, aber nicht mehr im Sinne eines chemischen Individuums, sondern im Sinne eines Gruppenbegriffes, also in dem Sinne, wie wir von Carotin oder Haemoglobin sprechen, welches letzteres sich ja gleichfalls bei verschiedenen Tieren als verschieden herausgestellt hat.

Die außerordentliche Mannigfaltigkeit der Färbung im Bereiche der Cyanophyceen beruht zweifellos auf verschiedenen Faktoren¹ und daß hierbei die verschiedene Farbe der Phykocyane einen Anteil haben kann, darf wohl jetzt nicht mehr bezweifelt werden.

2. Die von manchen Systematikern zu den Cyanophyceen gestellte blutrote Alge *Porphyridium cruentum* Naegeli besitzt kein Phykocyan, sondern kristallisierbares Phykoerythrin. Es ist die einzige bisher bekannte Luftalge, die diesen Farbstoff führt. Dieser Befund unterstützt die Ansichten Schmitz' und Gaidukov's von der Verwandtschaft des *Porphyridium* mit den *Bangiales*.

¹ Vergl. auch F. Kohl, Über die Organisation etc., I. c., p. 78.

Erklärung der Tafeln.

Tafel I.

Fig. 1 bis 11 Absorptionsspektren.

Fig. 1 bis 2. Phykocyanenspektrum einer spangrünen *Oscillaria*.

Fig. 1. Schichtendicke 3 mm.

Fig. 2. Schichtendicke 8 mm.

Fig. 3 bis 5. Phykocyanenspektrum von *Oscillaria limosa*.

Fig. 3. Schichtendicke 5 mm.

Fig. 4. Schichtendicke 10 mm.

Fig. 5. Schichtendicke 20 mm.

Fig. 6 bis 7. Phykocyanenspektrum von *Scytonema Hofmanni* Agardh.

Fig. 6. Schichtendicke 2 mm.

Fig. 7. Schichtendicke 6 mm.

Fig. 8. Phykocyanenspektrum von *Peltigera canina* L.

Schichtendicke 10 mm.

Fig. 9. Phykoerythrinspektrum von *Porphyridium cruentum* Naegeli.

Schichtendicke 30 mm.

Fig. 10 bis 11. Phykoerythrinspektrum von *Ceramium* sp.

Fig. 10. Schichtendicke 20 mm.

Fig. 11. Schichtendicke 60 mm.

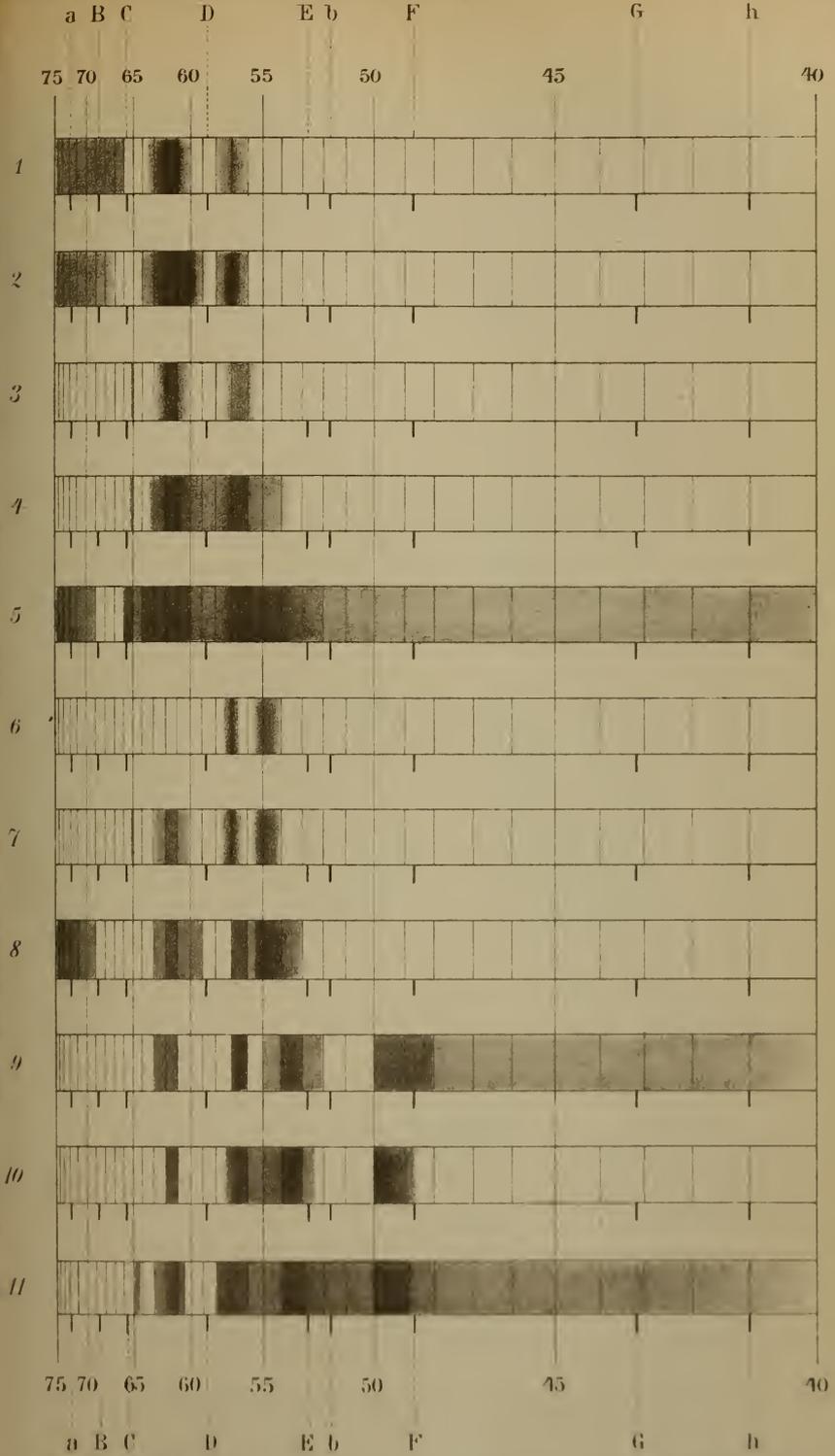
Tafel II.

Fig. 1 bis 12. Farbentöne verschiedener wässriger Phykocyanlösungen im durchfallenden und auffallenden Lichte, betrachtet in einer gewöhnlichen Eprouvette.

Fig. 1 bis 4. Farbe der Phykocyanlösung einer spangrünen *Oscillaria* im durchfallenden (Fig. 1 bis 2) und auffallenden (Fig. 3 bis 4) Lichte.

- Fig. 5 bis 8. Farbe der Phykocyanlösung von *Scytonema Hofmanni* Agardh im durchfallenden (Fig. 5 bis 6) und auffallenden (Fig. 7) Lichte. Fig. 8. Farbe der durch Thymol veränderten Lösung im durchfallenden Lichte.
- Fig. 9 bis 12. Farbe der Phykocyanlösung von *Oscillaria limosa* Agardh im durchfallenden (Fig. 9) und im auffallenden Lichte (Fig. 10 bis 12).
- Fig. 13. Phykocyan kristalle einer spangrünen *Oscillaria*. Vergr. 400.
- Fig. 14. Phykocyanfarbstoffkugeln von *Oscillaria limosa*. Vergr. 400.
- Fig. 15. Phykoerythrin kristalle aus *Porphyridium cruentum*. Naegeli. Vergr. 400.
-

lisch, II.: Untersuchungen über das Phyocyan.



Haus et Mollsch del.

Lith. Anst. v. Th. Baumw. u. W. Wien



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse](#)

Jahr/Year: 1906

Band/Volume: [115](#)

Autor(en)/Author(s): Molisch Hans

Artikel/Article: [Untersuchungen über das Phykocyan 795-816](#)