

# VERGLEICHEND-PHYSIOLOGISCHE STUDIEN.

---

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN

VON

Dr. C. FR. W. KRUKENBERG.

---

ZWEITE REIHE.

D R I T T E A B T H E I L U N G .

MIT EINEM HOLZSCHNITT UND NEUN LITH. TAFELN.

---

HEIDELBERG.

CARL WINTER'S UNIVERSITÄTSBUCHHANDLUNG.

1882.

## Die Lipochrome der Spongien.

(Hierzu Taf. VII u. Taf. VIII.)

Die mikroskopische Beobachtung, welche in vielen, dem unbewaffneten Auge gleichmäßig tingirt erscheinenden Spongienarten verschieden gefärbte Pigmentkügelchen, ja von einander ganz abweichend pigmentirte Zellen wahrnehmen läßt, belehrt uns, daß Spongien trotz ihres eintönigen Colorits doch mehrere Farbstoffe enthalten, und erklärt so durch quantitative Schwankungen des Gehaltes an den einzelnen Farbstoffen, durch den Ausfall bald dieses, bald jenes Pigmentes die außerordentlich großen Farbenabweichungen, welche z. B. von *Reniera aquaeductus*, von nahe verwandten *Suberitiden* (*Suberites flavus*, *S. massa* und *S. lobatus*) allgemein bekannt sind. Was das mikroskopische Bild von Pigmenten in den Spongien scharf unterscheiden läßt, verwischt sich nothwendig wieder nach Behandlung der Gewebe mit Flüssigkeiten, in welchen sich die Farbstoffe lösen, und eine spectroskopische Untersuchung reicht in diesen Fällen zur directen Unterscheidung mehrerer Pigmente in den Farbstofflösungen selten aus. Rothe, gelbe wie braune Pigmente gehen aus zahlreichen Spongien leicht in Alkohol über, beim Abdunsten des Alkohols lösen sich dieselben gleich gut auch in Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, fetten wie ätherischen Oelen, und die eingedickten Extracte erlauben mittelst der Schwefelsäure- und Salpetersäurereaction nur den Nachweis, daß die gelben wie rothen Spongienfarbstoffe, gleich den ähnlich gefärbten Pigmenten der meisten übrigen Wirbellosen wie Vertebraten, fast ausnahmslos

Lipochrome sind. Diesen Schluß hilft meist zwar auch die spectroscopische Untersuchung der Schwammauszüge ohne Weiteres stützen, wobei es jedoch mit wenigen Ausnahmen sehr feiner Einstellungen geeigneter Schichtdicken der Lösungen bedarf, um die für die rothen wie gelben Lipochrome charakteristischen Absorptionsstreifen aufzufinden, denn theils überdecken diese sich gegenseitig, theils werden sie durch andere Pigmente, deren Spectren sich als frei von Absorptionsbändern erweisen, unkenntlich gemacht. Zugleich verräth sich durch das spectroscopische Verhalten der Auszüge bei mehreren Spongien-species (*Tedania Muggiana* [Taf. VII, 4], *Reniera aquaeductus* [Taf. VII, 6], *Suberites flavus* [Taf. VII, 8—10], *Tethya Lyncureum* [Taf. VII, 18] und *Clathria coralloides* [Taf. VII, 23]) die Gegenwart von hepatochromatischen Farbstoffen, welche durch das Band vor *C* gekennzeichnet, beim Verseifen der Lösungen durch Natronlauge aber zersetzt werden.

Weit vollständiger jedoch als durch das Mikroskop am lebensfrischen Schwammgewebe gelingt die Farbstoffanalyse an den alkoholischen Extracten nach ihrer Verseifung. Wie aus den Erklärungen zu Taf. VIII ersichtlich ist, habe ich mehrere Spongien-species in dieser Weise untersucht und zwar vorwiegend solche Arten, an deren alkoholischen Auszügen die spectroscopische Besichtigung vor der Verseifung ziemlich resultatlos geblieben war. An den Auszügen einiger anderen Spongien, welche mir ebenfalls noch zur Verfügung standen, habe ich geglaubt, mir die Verseifungen ersparen zu können, weil die an den Flüssigkeiten direct beobachteten Absorptionsbänder denen der meisten, nach ihrer Verseifung untersuchten Spongienfarbstofflösungen der Lage nach so vollständig glichen, daß an der Identität dieser Pigmente nicht zu zweifeln war, und die immerhin kostspieligen und zeitraubenden Verseifungsversuche somit hier sicherlich nichts Neues ergeben haben würden. Wie genau die Bestimmungen der Absorptions-

bänder auch in den unverseift gelassenen alkoholischen Auszügen bei einigen Spongien ausfallen können, erhellt bei Vergleich von Taf. VII mit Taf. VIII. Erstere Tafel enthält ausnahmslos Spectralbilder, welche von mir in Triest entworfen sind, zu einer Zeit also, wo ich die Ergebnisse an den verseiften Portionen noch gar nicht kannte. Es sind dieselben ohne jede Correctur genau so wiedergegeben, als sie ihrer Zeit beobachtet und gezeichnet wurden, und man wird es bei Durchsicht der Tafel auch begreiflich finden, daß — da die Spectralbänder bei *Esperia* und *Papillina suberea* von denen anderer Spongienspecies verschieden gefunden wurden, die Bänder in den meisten Spectren nur verwaschen erschienen — ich in Triest schließlich alle Hoffnung aufgegeben hatte, über die Spongienlipochrome irgendwie Bemerkenswerthes festzustellen, und wie ich mich sehnte, die Auszüge erst der Verseifung unterworfen zu haben; wie das Folgende lehren wird, sind die Erwartungen, welche ich an diese stellte, gewiß auch nicht ganz unerfüllt geblieben.

Der braunrothe alkoholische Auszug von *Tedania Muggiana* (vgl. Taf. VII, 3 und 4, Taf. VIII, 1—3) gab nach dem Verseifen an Petroläther reichliche Farbstoffmengen ab, welche denselben je nach der Concentration gelb bis orange färbten. Nach dem Verdunsten des Petroläthers blieb ein gelber Farbstoffkörper zurück, der sich mit Salpetersäure wie mit Schwefelsäure tief blau färbte, an dem Jod aber keinen auffälligeren Farbewandel hervorrief. Der Farbstoff löste sich leicht in Aether, Chloroform und Schwefelkohlenstoff; die Farbe wie das spectroscopische Verhalten dieser Lösungen glich sehr denen des Lipochrins.

Fügt man nach dem Ausschütteln mit Petroläther der Seife Kochsalzlösung und pulverisirtes Kochsalz hinzu, so färbt sich der Petroläther noch weit intensiver als vor dem Salzzusatze; das spectroscopische Verhalten dieser Farbstofflösung ist jedoch

genau das nämliche als im ersten Falle. Nimmt Petroläther keinen Farbstoff aus der Seife mehr auf, so erhält man beim Schütteln mit Aether eine ähnlich gefärbte Flüssigkeit wie anfangs durch den Petroläther, aber von einem wesentlich anderen Verhalten. Während das Spectrum des vom Petroläther aufgenommenen Farbstoffes in seinen sämtlichen Lösungen zwei Absorptionsbänder aufweist, zeigt das Spectrum des in den Aether übergegangenen ständig nur eins, welches dem des Rhodophans sehr ähnlich gelagert ist, sich in einer stärker concentrirten Schwefelkohlenstofflösung ebenso diffus wie der Rhodophanstreifen ausnimmt, bei größerer Verdünnung aber schon hinter  $F'$  endet (Taf. VIII, 3). Der Aether läßt rothe Farbstoffflocken in der Seife ungelöst, welche sich gegen Alkohol, Chloroform und Schwefelkohlenstoff nicht weniger resistent als gegen Aether verhalten, von Essigäther wie von verdünnten Alkalien dagegen gelöst werden. Beim Benetzen mit Essigsäure färben sich dieselben purpurn, lösen sich alsdann mit purpurvioletter Farbe in Schwefelkohlenstoff und gleichen somit auch in diesen Reactionen vollkommen dem Rhodophan.

Dem gelben alkoholischen Auszuge von *Suberites massa* (vgl. Taf. VIII, 4) entzog Petroläther nach der Verseifung den nämlichen gelben Farbstoff wie dem verseiften *Tedania*-auszuge. Außerdem war in der Seife, wie die Lichtabsorptionen ihrer späteren Petroläther- und Aetherextracte andeuteten, noch ein rothes Pigment vorhanden, welches von dem gelben zu trennen mir nicht glücken wollte.

Die Colonie, welche mir von *Suberites flavus* (vgl. Taf. VII, 8—11, Taf. VIII, 5—9) vorlag, zeichnete sich dadurch aus, daß sich in ihr das aus *Tedania Muggiana* durch Verseifen reiner gewonnene gelbe Pigment ausschließlich vorfand. Dieser Schwamm enthielt so reichliche Mengen des Farbstoffes, daß es oftmaliger Extractionen mit Petroläther bedurfte, um den Farbstoff der Seife

bis auf Spuren zu entziehen. Die mit Kochsalz versetzte Seifenlösung gab nach der Petrolätherbehandlung noch etwas gelbes Pigment an Aether ab, welches (cf. Taf. VIII, 9) aber von dem, welches der Petroläther ausgezogen hatte, nicht verschieden war.

Spectroskopisch differirt von den beschriebenen lipochrinähnlichen gelben Pigmenten aus *Tedania Muggiana* und *Suberites flavus* ein in seinen Lösungen von denen jener kaum unterscheidbarer Farbstoff, welcher aus dem verseiften alkoholischen Auszuge einer rothen Suberitesspecies, die als etwa 3 mm dicke Kruste eine Schale von *Pecten glaber* außen überzog, ohne vorausgegangenen Kochsalzzusatz in Petroläther überging (vgl. Taf. VIII, 10). Durch sein Verhalten gegen concentrirte Schwefelsäure und starke Salpetersäure bekundet der Farbstoff seine Zugehörigkeit zu den Lipochromen, die Verschiebungen, welche die beiden Spectralbänder beim Lösen des Farbstoffes in Chloroform und Schwefelkohlenstoff gegenüber der alkoholischen Lösung darbieten, sind relativ die nämlichen als die des Lipochrins, aber die Lage der Bänder ist eine zu differente als daß an eine Identität beider Farbstoffe zu denken ist. Dieses Pigment läßt sich der Seife durch Petroläther ziemlich vollständig direct entziehen, nach dem Kochsalzzusatze erhält man durch den Petroläther schon einen andern Farbstoff mit in Lösung (vgl. Taf. VIII, 11), welcher reiner aber erst durch eine nachträgliche Aetherbehandlung der Seife gewonnen wird (Taf. VIII, 12 und 13).

Gleich denen des Rhodophans erscheinen die Spectren dieses Farbstoffes gewöhnlich einbänderig. Die Lage des Bandes entspricht aber weder der des Rhodophans par excellence, noch der des diesem durchaus gleichen Pigmentes aus *Tedania Muggiana*; auch sprechen die genannten Lösungsverhältnisse dieses rothen Suberitesfarbstoffes wenig für eine Identität mit jenen Körpern, wie er sich denn auch nicht mit purpurvioletter, sondern nur mit tief chamois oder orangerother Färbung in Schwefelkohlen-

stoff löst. Uebrigens ist auch der Vergleich seiner Spectren mit denen der rhodophanartigen Pigmente kein vollkommen correcter, weil der orangefarbige ätherische Auszug der Seife vom Suberites-roth zwar nur bei ganz außergewöhnlich günstiger Beleuchtung, dann aber vollkommen scharf ein Absorptionsband um  $G$  aufweist (Taf. VIII, 12), von dem etwas Aehnliches an Rhodophanlösungen nicht gesehen wurde. Charakteristisch ist für das Spectrum einer concentrirteren Schwefelkohlenstofflösung dieses Farbstoffes, daß das Absorptionsmaximum des Einen Bandes dicht vor  $G$  scharf abfällt, die diffuse Absorption am anderen Ende dagegen nicht einmal die  $b$ -Linie erreicht (Taf. VIII, 13). Die Spectren verschiedener Farbstofflösungen aus einer tief rothen, bislang wenig untersuchten und unbeschrieben gelassenen Papillina-species der Adria (*Papillina rubra mihi*), welche unverseift von mir spectroscopirt wurde, lassen auf das Vorkommen desselben Pigmentes bei dieser Spongie schließen (vgl. Taf. VII, 11—13).

Aus *Papillina suberea* (Taf. VII, 14—16, Taf. VIII, 14—17) nimmt Alkohol ein gelbes Lipochrom auf, welches sich spectroscopisch zu dem von *Suberites flavus* ähnlich stellt, wie das *Lacertofulvin*<sup>1)</sup> zum *Lipochrin*. Während die beiden Spectralbänder des vom Petroläther dem verseiften rothen *Suberites*auszuge entnommenen Farbstoffes von denen des gelben Pigmentes aus *Suberites flavus* nach dem rothen Ende des Spectrums zu deriviren, lagern die des Farbstoffes aus der gelben *Papillina* mehr am blauen Ende des Spectrums. Schon ohne Kochsalzzusatz färbt sich der Petroläther mit dem verseiften alkoholischen *Papillina*auszuge grüngelb: ein Verhalten, welches dieser Farbstoff sowohl mit dem *Zoofulvin* und *Chlorophan* wie mit dem *Lacertofulvin* gemeinsam hat und denselben von dem gelben Farbstoffe des *Suberites flavus* in beschränktem Maße

<sup>1)</sup> Vgl. *Krukenberg*, Die Farbstoffe in der Reptilienhaut. Vgl.-phys. Studien. II. Reihe, II. Abth., 1882, S. 52.

*Krukenberg*, physiologische Studien. II, 3.



gleichfalls unterscheiden läßt. Der Verdampfungsrückstand des Petrolätherauszuges von *Papillina* färbte sich nicht nur wie die übrigen reiner dargestellten Lipochrome mit concentrirter Schwefelsäure oder starker Salpetersäure blau, sondern durch Jod-Jodkaliumlösung auch sehr deutlich grün. Ein anderes Lipochrom erhielt ich aus *Papillina suberea* nicht; Petroläther nahm allen Farbstoff aus der Seife auf, und die einzelnen Auszüge zeigten unter sich ein gleiches spectroscopisches Verhalten.

Die an den verseiften Spongiextracten gewonnenen Resultate gestatten auch eine Beurtheilung der spectroscopischen Befunde an unverseift gelassenen alkoholischen Auszügen einiger anderen Spongienspecies. So wird aus den Spectren bei letzteren geschlossen werden dürfen, daß sich der gelbe Farbstoff, den ich aus *Suberites flavus* abschied, auch in *Hircinia spinosula* (vgl. Taf. VII, 1 und 2), *Reniera aquaeductus* (Taf. VII, 5 und 6), *Tethya Lyncureum* (Taf. VII, 17—19) und, wie ich gestützt auf Beobachtungen, welche keine besondere Darstellung erfuhren, weiterhin hinzufügen kann, in *Cacospongia*, vielleicht auch in *Chondrosia reniformis* sich findet, während das gelbe Lipochrom einer von mir untersuchten *Esperia*-Species (Taf. VII, 20 und 21) mehr dem gelben Suberitenfarbstoffe gleich kommt, dessen Spectrum Taf. VIII, 10 entworfen ist. Recapitulirend sei schließlich noch bemerkt, daß auch das gelbe Lipochrom von *Aplysina aërophoba* (vgl. S. 43) mit dem von *Suberites flavus* durchaus übereinstimmt.

Wenn die Kenntniß von den thierischen Farbstoffen für die Systematik irgendwo belangreich werden kann, so läßt sich das von ihr für keine Thierclassen mehr erwarten als für die Spongien, wo die wandelbare Form, Structur und Textur eine systematische Abgrenzung der einzelnen Species sehr erschweren. Hat doch schon *F. E. Schulze* bei der Unterscheidung der Aplysiniden die Constanz abweichender Färbungen hervorgehoben und systematisch



zu verwerthen verstanden. Um wie vieles günstiger noch müssen sich die Aussichten für die Suberitiden stellen, bei denen die morphologischen Verhältnisse noch weit veränderlicher als bei den Aplysiniden sind. Die Farbstoffanalyse wird entscheiden können, wo qualitative oder nur quantitative Färbungsverschiedenheiten existiren, wo die Farbenabweichungen nur äußerliche oder wirklich fundamentale sind und so voraussichtlich nicht nur die Species der Papillinagattung zusammenfassen, die gelben und rothen Suberitidenspecies auseinanderhalten helfen, sondern auch die in ihrer Färbung von einander sehr abweichenden rothen, orangenen, gelben und braunen Stöcke nur als Varietäten ein und derselben Species verständlich werden lassen.

Aus den bereits aufgedeckten Thatsachen tritt das weite Verbreitungsgebiet der Lipochrome klar hervor; was jedoch die spectroscopischen Abweichungen, welche die rothen wie gelben Fettfarbstoffe, bald streng nach Classen oder Gruppen geordnet, bald der Ausdruck einer Specieeseigenthümlichkeit, physiologisch zu bedeuten haben, wie diese functionell und genetisch zu erklären sind, wird erst aus weiteren Untersuchungen ersichtlich werden. Merkwürdig bleibt, daß auch aus der Zahl der Lipochrome, welche von den Spongien bis zu den Vertebraten herauf überall angetroffen werden, sich bald hier, bald dort in der sonst wenig unterbrochenen Kette ein Organismus, eine Form mit nur wenigen Verwandten ein Pigment erwählt, welches nur in einer sehr abgelegenen Region des Thierreiches oder, so weit das Licht der Forschung reicht, nirgendwo ein Gleiches fand<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Auffallend verschieden von allen mir bekannt gewordenen Spongienfarbstoffen scheint das purpurrothe Pigment zu sein, welches *Moseley* (l. c., p. 1) in der Sarcode von *Poliopogon Amadou* auffand. Dasselbe soll in verdünntem Alkohol wie in Süßwasser löslich, in absolutem Alkohol dagegen unlöslich sein, und in Lösung untersucht kein Absorptionsband im Spectrum zeigen. Es schien *Moseley*, als ob die Färbung des Schwammes unter dem Einflusse der atmosphärischen Luft viel lebhafter wurde.