

Die Puppenfärbungen des Kohlweißlings, *Pieris brassicae* L.

Erster Teil: Beschreibung des Polymorphismus.

Zweiter Teil: Prüfung des Lichteinflusses.

Dritter Teil: Chemie der Farbtypen.

Von

Leonore Brecher.

(Aus der Biologischen Versuchsanstalt der kaiserl. Akademie der
Wissenschaften in Wien [Zoologische Abteilung].)¹⁾

Mit 8 Figuren im Text und Tafeln VI—X.

Eingegangen am 3. Juli 1916.

Inhaltsübersicht.

	Seite
Erster Teil: Beschreibung des Polymorphismus	89
I. Beschreibung der Pieridenpuppe.	89
II. Aufstellung von vier Hauptfarbtypen	92
III. Angaben früherer Autoren über den Polymorphismus	97
Zweiter Teil: Prüfung des Lichteinflusses	99
IV. Versuche früherer Autoren und eigenes Programm	99
V. Die Zucht des Versuchsobjektes	105
VI. Eigene Versuche.	105
1. Versuchsreihe:	105
A. Farbige Kasten bei diffusem Licht	105
B. Farbige Kasten bei direktem Sonnenlicht	120
C. Versuche mit starker Lichtintensität und Dunkelheit	121
2. Versuchsreihe: Spektralversuch	122
3. Versuchsreihe: Versuch mit verschiedenen Intensitäten (Intensitäten- skala) des Weiß und Gelb.	130

¹⁾ Ein Auszug dieser Arbeit erschien unter dem Titel: Mitteilungen aus der Biologischen Versuchsanstalt der kaiserl. Akademie der Wissenschaften, Zoologische Abteilung, Vorstand H. PRZIBRAM: 20. Die Puppenfärbungen des Kohlweißlings, *Pieris brassicae* L. (I.—III. Teil) von LEONORE BRECHER im Akademischen Anzeiger der kaiserl. Akademie d. Wiss. in Wien Nr. 16, 1916.

	Seite
Dritter Teil: Chemie der Farbtypen	138
VII. Hauptpunkte des Programms der chemischen Untersuchungen . . .	138
VIII. Methodik	140
IX. Die Stoffe der Weißlingspuppe	141
1. Das Blut	141
a. Eiweiß	141
b. Tyrosinase	142
c. Chromogen	144
d. Der grüne Farbstoff	146
2. Die inneren Organe	147
3. Die Hülle	147
a. Die Hüllsubstanz (Chitin)	147
b. Der dunkle Farbstoff (Melanin)	148
c. Der grüne Farbstoff (Tiergrün)	150
d. Das Gespinst (Seide)	153
X. Die chemische Unterscheidung der vier Hauptfarbtypen	153
1. Versuchsreihe: Nachweis einer Verschiedenheit der Tyrosinase in den vier Hauptfarbtypen	154
a. Puppen aus dem Freien	154
b. Puppen mit den experimentell induzierten Farben	156
2. Versuchsreihe: Prüfung der Verschiedenheit des Chromogens bei den vier Hauptfarbtypen	160
3. Versuchsreihe: Stichproben an einzelnen Puppen der vier Haupt- farbtypen	162
4. Versuchsreihe: Reaktionen der verschiedenen Farbtypen eines Ver- suchskastens	166
5. Versuchsreihe: »Tiergrün«-Reaktionen an den wäßrigen Extrakten der Hüllen und Organe der vier Hauptfarbtypen	169
XI. Die Umwandlung der Extrakte aus den Hauptfarbtypen ineinander . .	170
6. Versuchsreihe: Prüfung der Wirksamkeit der Tyrosinase bei Er- wärmung auf verschiedene Temperaturen	170
7. Versuchsreihe: Rolle der Tyrosinase beim Ergrünen des in physio- logischer Kochsalzlösung gelösten, auf 100° erwärmten Blutes und Autooxydation des Tyrosins durch Erwärmen	172
8. Versuchsreihe: Umwandlung des Tyrosins durch Erwärmen bzw. längeres Kochen	177
XII. Spektroskopische Untersuchungen der grünen Farbstoffextrakte . .	180
Zusammenfassung des ersten bis dritten Teiles	183
Literaturverzeichnis	184
Verzeichnis der Tabellen	186
Verzeichnis der Tafeln	218

Erster Teil: Beschreibung des Polymorphismus.

I. Beschreibung der Pieridenpuppe.

Die Puppe von *Pieris brassicae* zeigt eine grünlichweiße bis graue Färbung mit schwarzer Fleckenzeichnung. Diese Färbung beruht auf der Einlagerung von Farbstoffen in der Hülle, und zwar eines

dunklen, schwarzen oder braunschwarzen Farbstoffs, der in der äußeren Schicht, der Cuticula, eingelagert ist, wie schon von POULTON (1887) und PETERSEN (1891) angegeben wird, und eines grünen in den Zellen der Hypodermis befindlichen Farbstoffs. In der äußeren Schicht, der Cuticula, befindet sich auch ein gelber Farbstoff (gelbe Fleckenzeichnung), der uns aber weiter nicht beschäftigen wird und den ich hier nur der Vollständigkeit halber erwähne.

Der dunkle Farbstoff bildet einerseits die mit freiem Auge sichtbare charakteristische Fleckenzeichnung, andererseits das scheinbar diffus in der Grundfarbe verteilte Pigment, welches den grauen Ton derselben bedingt. An den Stellen, die frei von dem schwarzen Farbstoff sind, ist die Cuticula durchsichtig, etwas gelblich tingiert und läßt die hypodermalen Pigmente, den grünen Farbstoff durchschimmern, daher der grünlichgraue Ton der Grundfarbe.

a) Die mit freiem Auge sichtbare Fleckenzeichnung besteht in einer Reihe größerer Flecken auf der dorsalen vorspringenden Medianlinie, die an den vorderen Segmentgrenzen angeordnet sind, zwei Reihen von Flecken parallel mit denen der Mittellinie an den seitlichen Grenzen der dorsalen Segmenthälften und einem Querband in der Mitte des Körpers zwischen Brust- und Hinterleibsegmenten, von regelmäßig angeordneten schwarzen Pigmentflecken. Zwischen diesen Reihen größerer Flecke treten auf jedem Segment etwas kleinere, aber noch immer mit freiem Auge sichtbare Pigmentflecke auf. Ebenso sind auch auf den Flügelscheiden und der Unterseite Pigmentflecke und -striche zu sehen.

b) Diffus verteiltes schwarzes Pigment in der Grundfarbe.

Der graue Ton, den die Grundfarbe zeigt, löst sich schon bei Betrachtung mit der Lupe und selbst bei genauerem Zusehen mit freiem Auge in kleine schwarze Pünktchen auf, die an manchen Stellen mehr, an anderen weniger dicht nebeneinanderstehen. Bei stärkerer Vergrößerung — es wurde hierbei ein Stückchen der Hülle ganz einfach aus einer lebenden Puppe herausgeschnitten und unter dem Mikroskop betrachtet — sehen wir die Chitinhülle von einem Netzwerk anastomosierender horizontal verlaufender Kanäle durchsetzt (Horizontalstrukturen des Chitins, vgl. BIEDERMANN: Stütz- und Skelettsubstanzen in WINTERSTEINS Handbuch der Vergleichenden Physiologie), in deren Kreuzungspunkte die schon mit der Lupe sichtbaren schwarzen Punkte sich befinden.

Die dunklen Punkte lassen bei noch stärkerer Vergrößerung einen weißen Fleck in ihrer Mitte erkennen, in welchem bei lang-

samem Senken des Tubus ein schwarzes Pünktchen erscheint, das bei weiterem Senken immer größer wird und die Stelle des weißen Fleckes ganz einnimmt. Diese Erscheinung läßt vermuten, daß wir es mit einem vertikal die Cuticula durchsetzenden Kanälchen zu tun haben, um das herum sich das Pigment abgelagert hat. Die großen schwarzen Flecken, die mit freiem Auge sichtbar sind, lassen mehrere solcher weißen Flecke erkennen, sind also durch eine Ansammlung mehrerer Porenkanälchen entstanden. Bei Zusatz eines Tropfen Wassers sieht man beim Heben des Tubus, daß aus jeder Pore sich ein Haar erhebt. Das stimmt mit den Beobachtungen PETERSENS (1891) überein, der solche Haare, in deren Umkreis sich das schwarze Pigment abgelagert, an der Puppenhaut von *Pieris brassicae* beschrieben hat:

»Wie schon von LEYDIG, SEMPER und anderen zur Genüge klargelegt ist, nehmen die Haare aus Hypodermiszellen ihren Ursprung. Diese Zellen durchsetzen mit halsartiger Verlängerung die Chitinschicht und tragen an der Spitze das Haar, das mit seiner äußeren Chitinbekleidung unmittelbar in die Cuticula des Integuments übergeht; an dieser Übergangsstelle wird ein Chitinring gebildet, der bei der Raupe von *Brassicae* auf einer papillenartigen Erhebung sitzt.«

»Bei den Puppen von *Brassicae*, *Rapae* und *Urticae* ist die ganze Oberfläche mit feinen Härchen bedeckt, und diese stehen im engsten Zusammenhange mit den Fleckenzeichnungen oder Verdunkelungen der Cuticula, indem die letzteren zuerst von den Haarwurzeln ihren Ursprung nehmen und sich von hier in geringerem oder weiterem Umkreise verbreiten.«

Die Lokalisation des dunklen Pigmentes in der Puppenhülle ist durch die soeben beschriebene Struktur des Chitins bedingt, indem es sich 1) um die Porenkanälchen (Haare), 2) in den horizontal das Chitin durchsetzenden anastomosierenden Kanälchen abgelagert.

Die zwischen dem Netzwerk der Kanälchen gelegenen Teile erscheinen weißlichgrau bis grün durch den grünen Farbstoff. An Stellen, wo das Pigment nicht so dicht ist, stellt es sich in ganz kleinen polygonalen Schollen dar, die durch hellglänzende Felder voneinander getrennt sind. Es handelt sich hierbei um die intimere Struktur des Chitins (alveoläre), in deren Lücken sich das Pigment abgelagert, denn wir sehen an anderen Stellen, die frei von Pigment sind, dieselbe Struktur, die ganz kleine sechseckige Felder erkennen läßt.

II. Aufstellung von vier Hauptfarbtypen.

Die hier gegebene Beschreibung stellt den Typus der Pieridenpuppe im allgemeinen dar. Jedoch zeigen die *Pieris*-Puppen wie auch die Puppen mancher anderen Schmetterlingsarten, die sich frei und dem Lichte ausgesetzt verpuppen, starke Schwankungen in bezug auf ihre Färbung.

Dieser Polymorphismus in der Färbung der Pieridenpuppe besteht in dem Variieren der Menge und Verteilung des dunkeln Pigments, andererseits betrifft er den grünen Farbstoff.

Wir können hierbei vier Hauptfarbtypen unterscheiden. Es sind dies helle, mittlere, dunkle und grüne Puppen, von denen die drei ersten Typen als nichtgrüne den grünen schärfer gegenüberreten: die nichtgrünen haben die charakteristische Fleckenzeichnung, eine weiße bis dunkelgraue Grundfarbe und ein opakes Aussehen, die grünen sind fast ganz ohne die mit freiem Auge sichtbare Fleckenzeichnung, von grüner Grundfarbe und durchsichtigem Aussehen.

Bei Betrachtung dieser vier Typen sehen wir, daß es drei Merkmale sind, die deren verschiedenes Aussehen bedingen:

1) die Menge des schwarzen Pigments, wobei es einerseits a) die Zeichnung und andererseits b) das diffus in der Grundfarbe verteilte Pigment betrifft,

2) das Hervortreten einer grünen Färbung bei den als grün bezeichneten,

3) Durchsichtigkeit oder Undurchsichtigkeit.

1. Menge des schwarzen Pigments.

a. Fleckenzeichnung.

Die im vorigen Abschnitt beschriebene, für die Puppe von *Pieris brassicae* charakteristische Fleckenzeichnung ist die der mittleren Puppen.

Die hellen weisen ebenfalls die Fleckenzeichnung auf, die einzelnen Flecken sind jedoch etwas kleiner als bei den mittleren und weniger zahlreich und die kleinsten unter ihnen nur noch als Pünktchen sichtbar. Die Flügelscheiden haben ebenfalls kleinere Pigmentflecke und in geringerer Zahl.

Bei den dunkeln Puppen sind die Flecken größer, zahlreicher und intensiver in der Färbung, so daß sie den sehr dunkeln Eindruck, den die ganz dunkle Grundfarbe bereits hervorruft, noch erhöhen. Auch die Unterseiten der Flügel zeigen größere und zahlreichere Flecke.

Die grünen Puppen zeichnen sich im Gegensatz dazu durch beinahe vollständigen Mangel an schwarzem Pigment aus, die charakteristische Zeichnung ist nahezu ganz verschwunden, selbst die Fleckenreihe, welche die dorsale Medianlinie markiert, ist hier bis auf ganz winzige Pünktchen verschwunden, und auch diese sind nur noch an den hinteren Segmenten vorhanden, während der vordere Teil ganz frei von ihnen bleibt. Nur die dorsale Querreihe von schwarzen Punkten in der Mitte des Körpers ist auch bei den grünen Puppen vorhanden, wenn auch die Punkte etwas kleiner sind als bei den anderen Typen. Auf den Flügelscheiden ist das schwarze Pigment nur noch auf ganz winzige und spärlich verstreute Pünktchen reduziert, während die Unterseite ganz frei davon ist.

b. Diffuses schwarzes Pigment in der Grundfarbe.

Die mikroskopische Betrachtung von homologen Stücken der Hülle (ich habe sie aus dem mittleren Brustsegment herausgeschnitten) der vier Puppenfarbtypen zeigt deutliche Unterschiede und macht das verschiedene Aussehen der Grundfarbe verständlich.

Bei den hellen Puppen (Taf. VI Fig. 1) sind die dunkeln Punkte (Porenkanälchen) bloß hellbraun gefärbt, andere gelblich und viele kaum oder gar nicht tingiert und alle mit verwischten Konturen, weil das Pigment meist nur unmittelbar an der Grenze des Haares abgelagert ist.

Das Netzwerk der ganz durchsichtigen horizontalen Kanäle erscheint in einer weißlichgrauen Grundsubstanz gelagert. Bei Zusatz von Wasser wird die Cuticula durchsichtig.

Bei den mittleren Puppen haben die Punkte eine schwarzbraune Färbung (Taf. VI Fig. 2). Außerdem erstreckt sich das dunkle Pigment, von den schwarzen Punkten ausgehend, teilweise auch in das Netzwerk von anastomosierenden Kanälen. Die Balken dazwischen sind hier graugrün.

Bei den dunkeln ist auch das Netzwerk vollständig von schwarzem Pigment erfüllt (Taf. VI Fig. 3).

Bei den grünen Puppen ist das dunkle Pigment ebenfalls schwarzbraun wie bei den mittleren und dunkeln, jedoch nur auf den Umkreis der Porenkanälchen beschränkt; alles übrige läßt eine intensiv grüne Grundfarbe hervortreten, in welcher das Netzwerk anastomosierender Kanäle sich hellglänzend, durchsichtig von derselben abhebt (Taf. VI Fig. 4).

Wir sehen daraus, daß die vier Typen sich in bezug auf die

Menge (Konzentration) und Verteilung wie auch die Natur des dunkeln Farbstoffs wesentlich voneinander unterscheiden: am wenigsten und eigentlich nur in einer hellbraunen Stufe (Farbe) bei den hellen, wesentlich dunkler, schwarzbraun bei den übrigen drei Typen, breitet er sich bei den mittleren von der Basis der Härchen gleichsam als Zentrum teilweise in die Peripherie aus, in den von hier ausgehenden, netzartig das Chitin durchsetzenden Kanälchen, um bei den dunkeln sowohl die Punkte als auch das Netzwerk ganz zu erfüllen. Die grünen haben ebenfalls ein schwarzbraunes Pigment, jedoch ist dasselbe nur um die Porenkanälchen abgelagert.

Nach dieser Darstellung wären zwei Möglichkeiten denkbar: entweder die Verschiedenheiten beruhen bloß auf einem verschiedenen Zustand der Kontraktion (z. B. grüne Puppen) oder Expansion (dunkle Puppen) einer gleichen Menge schwarzen Pigments (physiologischer Farbwechsel), der durch Erstarrung des Chitins zum Dauerzustand wird, oder es handelt sich nicht bloß um eine verschiedene Verteilung des Pigments oder mehrerer Pigmente, sondern um die Ausbildung verschiedener Mengen und verschiedener Stufen derselben, was auf eine tiefergehende chemische Verschiedenheit deuten würde.

Diesbezüglich angestellte chemische Untersuchungen, die im dritten Teil mitgeteilt werden, deuten darauf hin, daß dieses letztere der Fall ist.

2. Der grüne Farbstoff.

Eine zweite Verschiedenheit betrifft das Auftreten einer grünen Grundfarbe bei den als grün bezeichneten Puppen, während sie uns als opakes Weiß bei den hellen, grünlichgrau bei den mittleren und dunkelgrau bei den dunkeln erscheint.

Wir wollen nun noch einmal kurz zusammenfassend die einzelnen Hauptfarbtypen charakterisieren:

A. Die hellen Puppen zeichnen sich durch die geringste Menge schwarzen Pigments aus und undurchsichtige Chitinhülle von weißer oder grünlichweißer Grundfarbe.

B. Die mittleren nehmen eine Mittelstellung ein sowohl in bezug auf die Menge und Verteilung des schwarzen Pigments als auch bei manchen durch das Hervortreten eines etwas grünlichen Tones in der Grundfarbe.

C. Die dunkeln sind ausgezeichnet durch sehr viel schwaches Pigment, die schwarzen Pigmentflecken sind größer und zahlreicher

als die der anderen Puppen, aber auch die Grundfarbe erscheint viel dunkler grau infolge viel diffusen schwarzen Pigments, welches die Poren und Kanäle der Chitinhülle erfüllt.

D. Die grünen zeichnen sich durch eine sehr geringe Menge schwarzen Pigments, wobei die Fleckenzeichnung fast gar nicht vorhanden ist, durchsichtiges Aussehen und Hervortreten einer grünen Färbung aus.

Die Haupttypen A, B, C lassen sich den grünen D als Kategorie I gegenüberstellen, wobei die bei ihnen vorkommende charakteristische Fleckenzeichnung, die Undurchsichtigkeit und die nichtgrüne Färbung als gemeinsame Merkmale erscheinen gegenüber dem Fehlen der Zeichnung, der Durchsichtigkeit und dem Auftreten der grünen Färbung bei den grünen.

Innerhalb der einzelnen Typen sind auch Abarten zu berücksichtigen, so unter den grünen solche, die blaugrün erscheinen, ferner Übergänge von den grünen zu denen der anderen Kategorie, zu den hellen oder mittleren, einerseits durch teilweises Undurchsichtigwerden der Chitinhülle, indem weiße oder gelbe Streifen an den Segmenten auftreten, die das Grün unterbrechen, während der obere Teil noch unverändert durchsichtig grün ist, andererseits durch das Auftreten der schwarzen Fleckenzeichnung; tritt auch noch außerdem diffuses Pigment in der Grundfarbe hinzu, so haben wir den Übergang zu den mittleren.

Diese Übergangstypen sind in gewisser Hinsicht sehr instruktiv, weil die einzelnen Merkmale, die durch ihr Zusammenwirken das Aussehen der Puppen und ihre Einreihung in die eine oder die andere Gruppe bedingen, hier getrennt auftreten und so eine Analyse derselben gestatten: wir können hier Durchsichtigkeit und Undurchsichtigkeit, Mangel oder Auftreten von schwarzem Pigment, das Hervortreten einer grünen Färbung oder nicht Vorhandensein einer solchen als getrennte Merkmale kennenlernen.

Dadurch entstehen Unterstufen in den einzelnen Hauptgruppen, die ich bei der Registrierung der Versuche über den Lichteinfluß berücksichtigt habe (vgl. die Tabellen), und daher möchte ich dieselben hier aufzählen:

A. Helle Puppen:

a) die hellsten Puppen mit beinahe weißer, grünlichweißer oder gelblichweißer Grundfarbe, gar keinem diffusen schwarzen Pigmente in der Grundfarbe (mit freiem Auge betrachtet), sondern

nur opak erscheinendes Weiß und mit der normalen schwarzen Fleckenzeichnung,

b) helle Puppen, nur um eine Spur dunkler als die hellsten durch etwas diffuses dunkles Pigment, das die Grundfarbe um einen Ton dunkler erscheinen läßt. Dieselbe ist auch hier weißlich, weißlichgrün oder gelblich,

c) helle Puppen von hellgrünlicher oder gelblicher undurchsichtiger Grundfarbe mit geringerer Pigmentierung als bei den hellsten. Sie bilden einen Übergang von den grünen zu den hellsten.

B. Mittlere Puppen:

d) mit grauer oder grünlichgrauer opaker Grundfarbe infolge des diffus eingelagerten Pigments,

e) mit grüner Grundfarbe und der mittleren Fleckenzeichnung.

C. Dunkle Puppen:

f) Grundfarbe ziemlich dunkel durch diffuses schwarzes Pigment, so daß sie dunkelgrau erscheint; die Fleckenzeichnung nicht bedeutender, als für mittlere Puppen charakteristisch ist,

g) sehr dunkle Puppen: Grundfarbe sehr dunkel (dunkelgrau, rauchgrau, grünlichgrau), aber auch die schwarzen Flecken und Punkte sind sehr groß und viel häufiger.

D. Grüne Puppen:

h) gelbgrüne Puppen von einem durchsichtigen Aussehen, fast gänzlichem Mangel an schwarzer Pigmentierung (Zeichnung) und gelblichgrüner Grundfarbe,

i) blaugrüne Puppen. Diese sind ebenfalls durchsichtig und durch Mangel an schwarzem Pigment sowie durch eine schöne blaugrüne Färbung ausgezeichnet,

j) gelbgrüne mit beginnender Pigmentierung an den Seiten der Segmente des Hinterleibes. Die vordere vorspringende Leiste ist noch immer rein gelbgrün ohne die schwarzen Flecke. Sie haben ein undurchsichtigeres Aussehen als die grünen. Das Grün ist bei manchen durch gelbe Streifung parallel zu den Segmentgrenzen unterbrochen,

k) halbgrüne, wobei die obere Hälfte dunkelgrün oder blaugrün ist, während auf der unteren opakes Weiß das Grün unterbricht, schwarze Pigmentflecken viel schwächer ausgebildet sind als bei den mittleren.

Diese hier aufgezählten Abstufungen in den Färbungen der Puppen kamen wohl bei den Registrierungen der Versuche zur Anwendung,

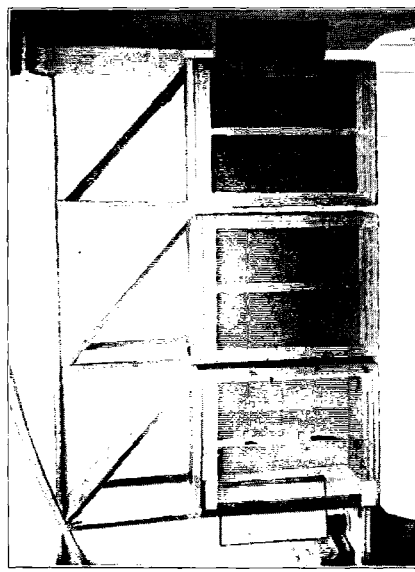


Fig. 1

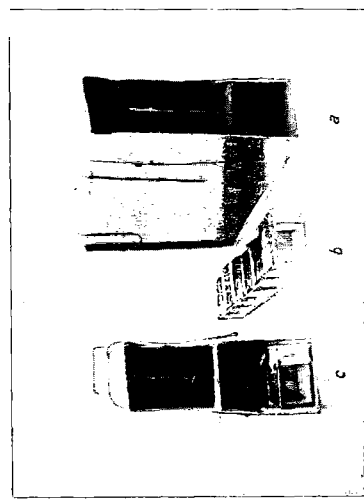


Fig. 3

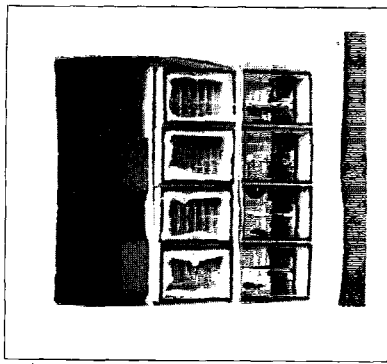


Fig. 2

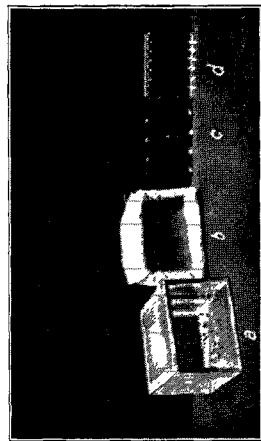


Fig. 4

Fig. 1. Bestimmung relativer Lichtintensitäten durch Papierschwärzung bei der durch die Abbildung dargestellten Anordnung.

A.) Auskleidung des schraffiert gezeichneten Versuchskastens

weiß

11 Abteilungen (zu/cm)

Neigung $\alpha = 4^\circ 20'$

Abteilung: 11	10	9	8	7	6
---------------	----	---	---	---	---

relative Intensität:	1	0.275	0.175	0.125	0.07	0.05
----------------------	---	-------	-------	-------	------	------

5	4	3	2	1
---	---	---	---	---

		0.025		0.005
--	--	-------	--	-------

B.) Auskleidung
gelb
6 Abteilungen (zu/cm)
Neigung $\alpha = 2^\circ$

Abteilung: 6	5	4	3	2	1
--------------	---	---	---	---	---

relat. Intensität: 1	0.175	0.07	0.05		0.005
----------------------	-------	------	------	--	-------

Fig. 2. Skalen zur Bestimmung der Lichtintensität durch Papierschwärzung.

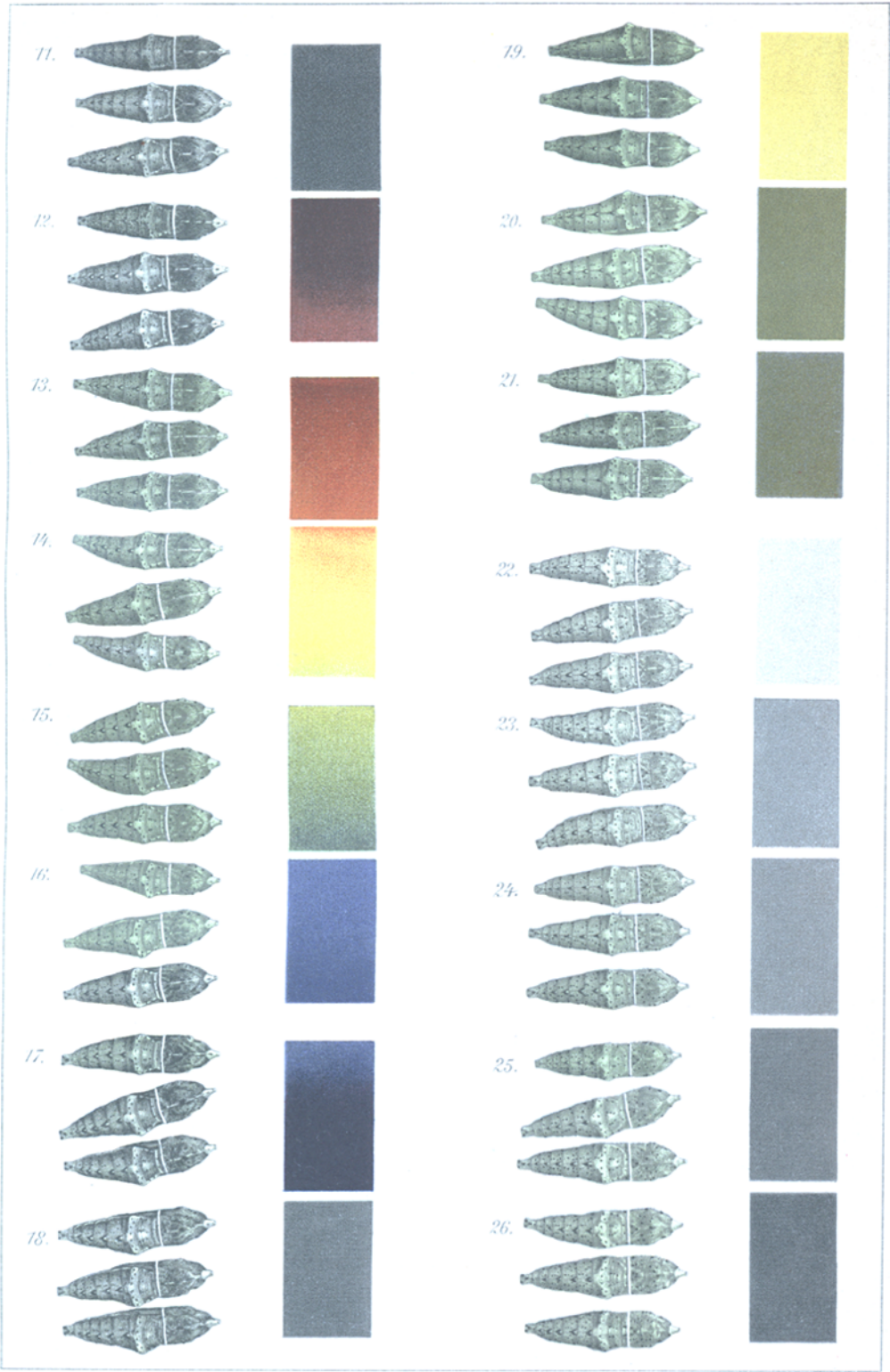
Minuten:	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Ideal-Cellulidin-Papier, matt (ca.)												
Fixierung: 10 Minuten												
200-Kerzen-Metallfadenlampe												
Azo-Strahl												
30 cm Abstand.												

Minuten:	25	35	45	55	65	75	85	95	105	115	125	135	145	155	165	175	185	195	205	215	225	235	245	255	265	275	285	
Bunsen-Eder-Papier																												
Fixierung: 10 Minuten																												
20%																												

Minuten:	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Bunsen-Eder-Papier													
Fixierung: 10 Minuten													
20%													

do.

do.



um ganz genau vorzugehen, jedoch für die Klassifizierung der Puppen und die Erforschung der Bedingungen, denen der Polymorphismus unterworfen ist, wo es sich darum handelte, die Kontraste in den Puppenfärbungen einander gegenüberzustellen, und namentlich für die chemischen Untersuchungen schien es nicht sehr zweckmäßig, die vielen feinen Abstufungen und Übergänge zu betrachten, da die vielen Stufen die Übersicht erschweren und die Kontraste geradezu hinfällig machen würden. Ich habe daher die Einteilung der Puppen von *Pieris brassicae* in die vier Hauptfarbtypen der hellen, mittleren, dunkeln und grünen adoptiert.

Ebenso ließen sich auch die polymorphen Puppen der anderen Schmetterlingsarten wahrscheinlich auf diese vier Typen reduzieren: helle, mittlere, dunkle, grüne oder den grünen analoge, zu welchen noch solche mit Metallschimmer hinzukommen, was bei den einheimischen Pieriden nicht beobachtet worden ist.

Was die Häufigkeit des Vorkommens der verschiedenen Puppenfarbtypen betrifft, so will ich hierzu als Beispiel die von mir im Freien gefundenen Puppen anführen. Von 369 Puppen waren 90 helle, 158 mittlere, 20 dunkle, 62 grüne und 39 Übergangstypen oder halbgrüne, und zwar zeigten sie sich übereinstimmend mit der Farbe ihrer Umgebung. So z. B. befanden sich die hellen Puppen auf den weißen Musselinsäcken, mit denen die Kohlpflanzen eingehüllt waren, die auf den Blättern verpuppten waren durchweg grün. Die geringe Zahl ganz dunkler stammt eigentlich nicht aus dem Freien; ich hatte beim Eintreten der kalten Jahreszeit die mir noch übriggebliebenen Raupen aus dem Garten genommen und in Terrarien gegeben, die ganz dunkel gestrichen waren; die in den Winkeln und auf den dunkeln (schwarzen) Holzleisten verpuppten Raupen ergaben die dunkeln Puppen.

III. Angaben früherer Autoren über den Polymorphismus.

Diese Tatsache des Polymorphismus mancher Schmetterlingspuppen und der Übereinstimmung ihrer Färbung mit der Farbe der Umgebung hatte schon lange die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich gelenkt und wurde als zum Zwecke des Schutzes entstanden aufgefaßt. Auch die Möglichkeit, die Färbung der Puppen experimentell zu beeinflussen, war diesen Beobachtern bekannt; ich will daher ihre diesbezüglichen Angaben über den Polymorphismus erst im folgenden Teil, wo auch über die experimentelle Beeinflussung berichtet wird, erwähnen.

Ich möchte hier nur auf die von POULTON (1887) aufgestellte Skala der polymorphen Puppen von *Pieris brassicae* eingehen und sehen, mit welchen von seinen Typen unsere übereinstimmen.

Er zieht dabei zwei Dinge in Betracht, welche variieren: die Grundfarbe und die mit freiem Auge sichtbaren Pigmentflecke, und danach teilt er seine Puppen in drei Haupttypen (1), (2) und (3), von denen die erste noch in drei Unterabteilungen (α), (β) und (γ) zerfällt:

(1) Das ist die normale Form. Die Grundfarbe ist mehr oder weniger grau, je nach der Menge von diffusem schwarzen Pigment, welches die Hohlräume der Cuticula erfüllt. Die großen schwarzen Pigmentflecke sind fast immer in großer Anzahl vorhanden, und wenn die Grundfarbe am dunkelsten ist, so sind auch jene von besonderer Größe und Zahl und vermehren den Eindruck des Dunkeln. Die Grundfarbe kann verschiedene Töne aufweisen: graugrün, orange, gelb oder ein opakes Weiß. Die Flügel und die Unterseite sind immer heller in der Grundfarbe, doch können die Pigmentflecke gerade in dieser Region größer sein.

Dieser Typus stimmt mit unseren nichtgrünen überein. »Folgende Unterabteilungen sind bei diesem Typus zu unterscheiden:«

»(α) Dunkelste Formen mit graugrüner, orange, gelber oder weißer Grundfarbe.« Das sind unsere dunkeln.

»(β) Mittlere Formen mit hellerer Grundfarbe und kleineren und weniger häufigen schwarzen Flecken.«

Unter diesen Formen stimmen die dunkleren, die einen grauen Ton in der Grundfarbe haben, mit unseren mittleren, die hellsten, die frei von grauem Ton sind und ein opakes Weißlich- oder Grünlichgelb als Grundfarbe aufweisen, mit unseren hellen überein.

»(γ) Die hellsten Formen dieses Typus, Grundfarbe noch immer etwas grau, aber die Pigmentflecke sehr klein im Verhältnis zu α und β .«

»(2) Die letzte Unterabteilung geht in diese Varietät über, bei der die Grundfarbe ein opakes Weißlichgelb ist, oft mit grünen Bezirken dazwischen, und die schwarzen Pigmentflecke sind sehr klein. Der graue Ton ist verschwunden, da das Schwarz in der Grundfarbe bis auf einzelne ganz winzige Punkte verschwunden ist. Der Eindruck ist ein sehr heller. Die Flügel und Unterseite sind am hellsten und nicht so undurchsichtig wie die Dorsal- und Lateralseite, die Pigmentflecken sind an diesen Stellen klein.«

Diese zwei letzteren Typen habe ich nicht so häufig gefunden

wie die anderen, sie sind als Übergänge von den grünen zu den hellen, respektive mittleren durch Undurchsichtigwerden der Chitinhülle zu betrachten.

»(3) Eine etwas abnorme, aber sehr charakteristische Form mit einer durchsichtig aussehenden blaugrünen Grundfarbe, in welcher die winzigen Punkte und die großen schwarzen Flecken noch viel weniger entwickelt sind, als in der letzten Stufe. Die Flügel und die Unterseite sind von einem blassen durchsichtigen Gelblichweiß mit sehr kleinen schwarzen Pigmentflecken.« Diese Stufe stimmt mit unseren blaugrünen überein.

Zweiter Teil: Prüfung des Lichteinflusses.

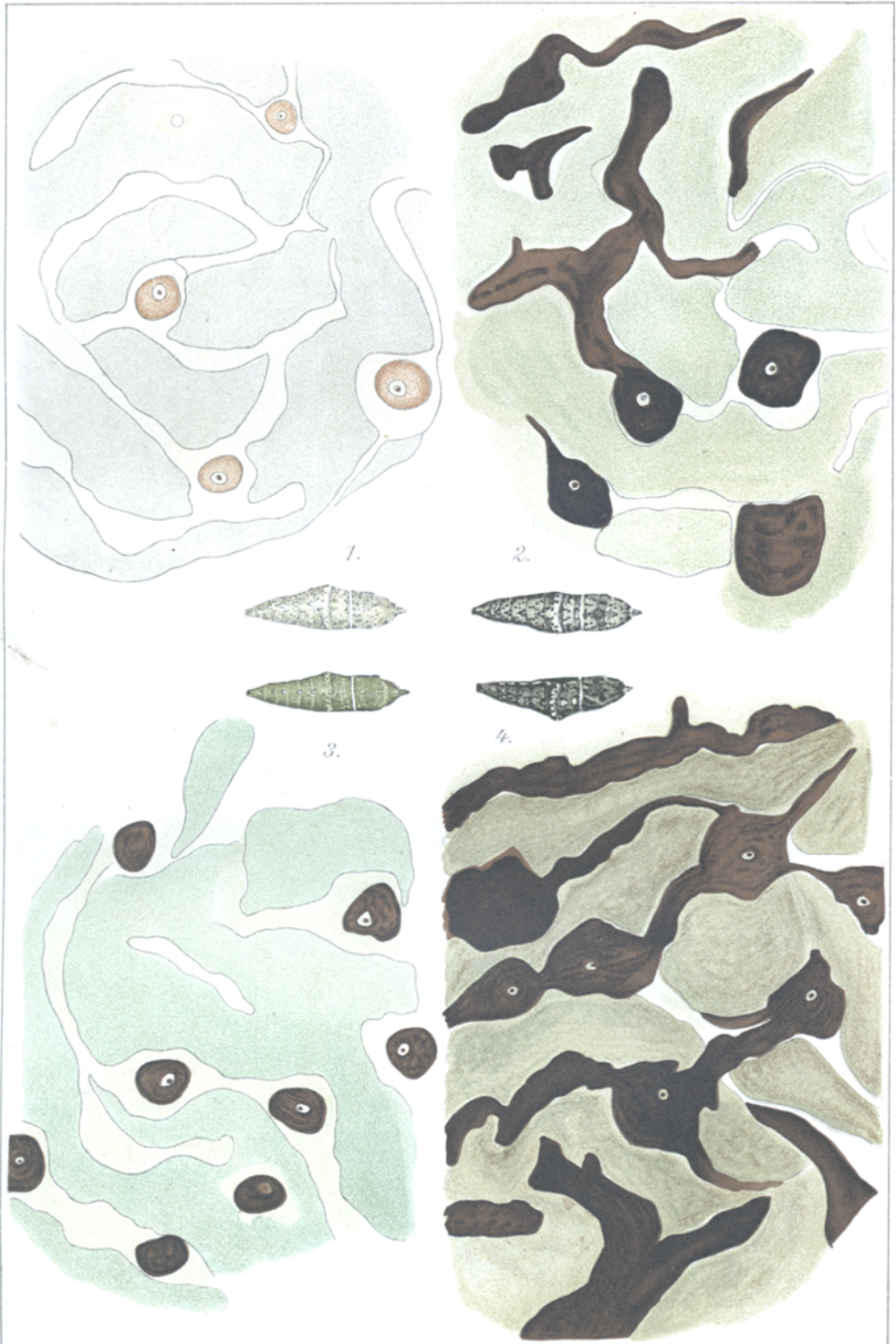
IV. Versuche früherer Autoren und eigenes Programm.

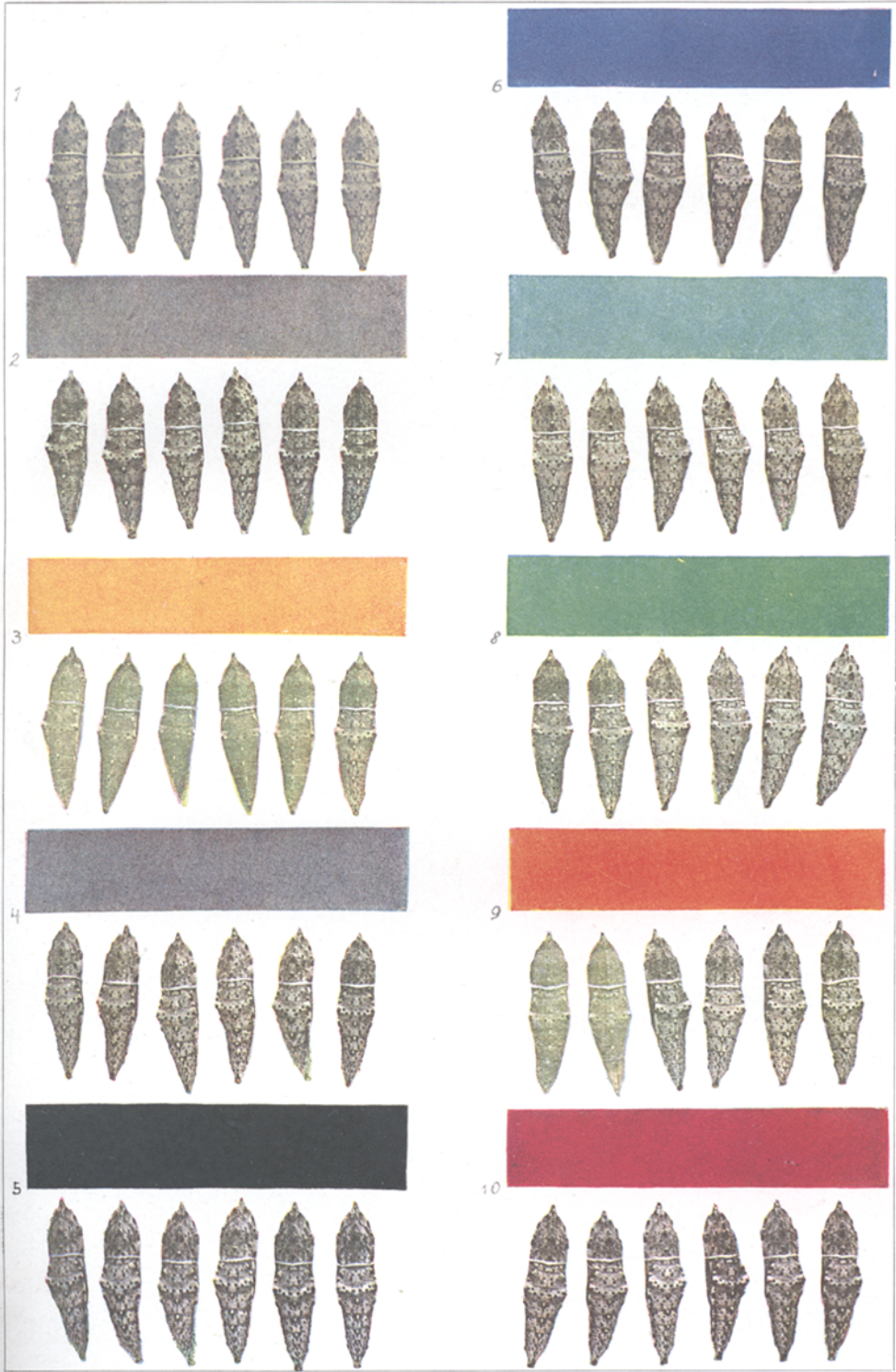
Die erste diesbezügliche Beobachtung stammt von T. W. WOOD (1867), der der Entomologischen Gesellschaft in London Puppen von *Papilio machaon*, *Pieris brassicae* und *Pieris rapae* vorzeigte und über seine jahrelangen Beobachtungen und über die von ihm gemachten Experimente berichtete.

Er bemerkte, daß bei den in der Färbung variierenden Puppen sich eine Übereinstimmung mit der Farbe ihrer Umgebung zeigte, und glaubt, daß die Puppenhaut einige Stunden nach dem Abstreifen der Raupenhaut Analogie mit einer photographischen Platte habe. Von den vorgezeigten Puppen von *Pieris brassicae* war die auf einem Blatt gefundene grün, von einer schmutziggrauen Mauer waren alle von dieser Färbung und, obwohl in großer Anzahl und in verschiedenen Höhen verpuppt, war keine einzige grüne darunter gewesen, in einer weißen Schachtel hatte er eine fast weiße erhalten. Er stellte auch grüne, rötliche und rauchgraue aus.

MELDOLA (1873) bestätigte WOODS Beobachtungen an Pieriden-Puppen, indem auch er fand, daß Puppen von *Pieris brassicae* und *Pieris rapae* an schwarzen Planken gewöhnlich dunkler sind, als die an den Mauern gefundenen. Er hat dabei eine große Anzahl von Individuen zum Vergleich herangezogen. Er gebraucht hier für diese Erscheinung den Ausdruck »photographic sensitiveness« und knüpft daran theoretische Betrachtungen.

Eine weitere Beobachtung von Übereinstimmung der Farbe der Puppen mit derjenigen ihrer Umgebung stammt von Mrs. M. E. BARBER (1874) und wurde von CH. DARWIN der Entomologischen Gesellschaft





in London mitgeteilt. Ihre Versuche beziehen sich auf Puppen von *Papilio nireus* aus der Kapkolonie.

ROLAND TRIMEN (1889) bestätigte die Angaben der Mrs. BARBER durch Versuche an *Papilio demoleus*, die ebenfalls in Kapstadt häufig sind.

BORDAGE (1899 und 1900) wendet sich gegen diese Angaben TRIMENS und leugnet die Beeinflußbarkeit der Puppen von *Papilio demoleus*. Als für diese Angaben geradezu vernichtendes Beispiel hebt er hervor, daß er auf einem braunen Zweig eine grüne Puppe gefunden hatte, also könne von einer Farbenanpassung keine Rede sein.

FRITZ MÜLLER (1882) untersuchte die dimorphen Puppen von *Papilio polydamus* und berichtet, daß dieselben die Farbenanpassungsfähigkeit nicht besitzen.

Im Jahre 1887 erschien die Arbeit EDWARD POULTONS »An enquiry into the cause and extent of a special colour relation between certain exposed Lepidopterous Pupae and the surfaces which immediately surround them.«

Seine Experimente beziehen sich auf *Vanessa io*, *Vanessa urticae*, die sein Hauptversuchsmaterial bildete, *Vanessa atalanta*, *Papilio machaon*, *Pieris brassicae* und *Pieris rapae* (Rhopaloceren) und einige Arten aus der Gattung *Ephyra* (Heteroceren). Er fand, daß *Vanessa io*, *V. urticae*, *V. atalanta*, *Pieris brassicae* und *P. rapae* Farbenanpassung an die Umgebung zeigen, ebenso nach den Angaben der Mrs. BARBER *Papilio nireus* und nach TRIMEN *P. demoleus*. Andere Formen dagegen, diesen nahe verwandt, wie *Papilio machaon* und *Papilio polydamus*, sowie auch die Gattung *Ephyra* sollen von der Farbe der Umgebung unbeeinflußbar sein.

Bis dahin hatte man geglaubt, daß es die frische, feuchte Puppenhaut ist, die lichtempfindlich sei, gleichsam eine lichtempfindliche Platte repräsentiere. POULTON stellte fest, daß die Beeinflussung durch das Licht schon während des Raupenlebens erfolge, und zwar in einer ganz bestimmten Epoche desselben, welche er die »Vorbereitungs-« oder »sensible Periode« nannte, die von dem Momente an beginnt, wo die Raupe sich vom Futter wegwendet, und bis zum Abstreifen der Raupenhaut reicht. Wir verdanken POULTON ganz genaue Aufzeichnungen über die Dauer und die verschiedenen Stadien dieser Periode. Er unterscheidet drei Stadien:

I. Stadium: Die Larve wandert hin und her und sucht sich einen Platz zur Verpuppung aus (variabler Zeitraum).

II. Stadium: Die Larve verharrt unbeweglich auf dem gewählten Platz, beginnt einen Seidenfaden zu spinnen (Dauer beiläufig 15 Std.).

III. Stadium: Die Larve hängt an dem Seidenfaden (Dauer bei-läufig 18 Stunden).

Bei den zwei letzteren Stadien ist der Zeitraum konstant und während derselben erfolgt die Beeinflussung durch die umgebenden Farben und Lichtverhältnisse. Durch Übertragung der Larven von einer Farbe auf die andere während der Vorbereitungsperiode (»transference experiments«) konnte er feststellen, daß die Zeit der höchsten Empfindlichkeit gegen die Umgebung vom Beginn des II. Stadiums bis nach dem ersten Teil des III. Stadiums reicht, also erfolge der Farbeinfluß während eines Zeitraumes von 20 Stunden vor den letzten 12 Stunden des Raupenstadiums.

Zur Beantwortung der Frage, wie von der Raupe der Lichtreiz perzipiert wird, stellte er Blendungsversuche an, durch Lackierung der Augen, jedoch mit negativem Resultat, indem genau dieselben Puppen entstanden, wie bei den sehenden unter denselben Lichtbedingungen gehaltenen. Als er die Dornen der Vanessenlarven, in ihnen die lichtperzipierenden nervösen Endorgane vermutend, abschnitt, änderte dies ebenfalls nichts an dem Ausfall der Versuche. Er schloß daraus, daß die Umgebungsfarben auf die ganze Oberfläche der Raupenhaut einwirken. Wurde jedoch in seinen »conflicting colours experiments« die Raupe antero-posterior in verschiedenfarbiger Umgebung gehalten, hatte dies keine Zweifärbigkeit der Raupe zur Folge, die einheitliche Farbe richtete sich nach der Farbe, die auf das größere Areal der Raupenhaut eingewirkt hatte.

Über seine Versuche und Resultate bezüglich der Farbenanpassung der verschiedenen Puppenarten, möchte ich des näheren nur auf seine Versuche und Ergebnisse an Pieriden eingehen. Er ließ Raupen von *Pieris brassicae* und *P. rapae* in Behältern, die mit schwarzem, weißem, rotem, orangefarbigem, gelbem, grünem und blauem Papier ausgeklebt waren, sich verpuppen. Schwarz ergab dunkle Puppen, und es zeigte sich, daß stärkere Beleuchtung die Wirksamkeit der schwarzen Umgebung erhöhe: bei schwarzen verdunkelten Zucht-zylindern erhielt er nicht so dunkle Puppen, wie wenn diese gleichen Zylinder dem Tageslicht ausgesetzt worden waren, und diese wurden in der dunkeln Färbung noch übertroffen durch die an geteerten Planken gefundenen, die stärkerem Licht ausgesetzt waren.

Bei Anwendung von weißem Hintergrund bestand der Effekt in der Entstehung heller Puppen, und auch hier war der Effekt durch stärkere Intensität erhöht.

Rot ergab sehr dunkle Puppen.

Der starke Effekt von Orange in der Verhinderung der Bildung von schwarzem Pigment in der Cuticula und die Bildung einer grünen Grundfarbe sei sehr interessant und bemerkenswert, »da die Resultate nicht als Schutzfärbung betrachtet werden könnten«.

Gelb (er verwendete hellgelbes Papier) wirkte in derselben Richtung wie Orange in der Bildung von grünen Puppen, aber der Einfluß war weniger stark.

Grüne Umgebung hatte geringeren Einfluß im Produzieren grüner Puppen als Orange oder Gelb. Trotzdem waren es immerhin bemerkenswerte Effekte, und zwar protektive.

Blau war ohne jeden speziellen Einfluß; die Puppen waren intermediär zwischen der auf schwarzem und weißem Hintergrund erzielten.

Schließlich stellte er die gewonnenen Resultate graphisch in einer Kurve dar, wobei auf der Abszisse die entsprechenden Wellenlängen der spektroskopisch untersuchten Farbpapiere, auf den Ordinaten die beiläufige Quantität des schwarzen Pigmentes der verschiedenen Puppen durch Millimeter ausgedrückt wurden, und bei Betrachtung der Farben, welche die Pigmentbildung verzögern, findet er, daß sie gewisse Strahlen gemeinsam haben zwischen 570—590 oder 600 Wellenlänge, die wahrscheinlich von hohem Einfluß sind. Der große Unterschied zwischen der Wirkung des Rot und Orange stimmt mit der Tatsache überein, daß diese aktiven Strahlen nur von seinem orangefarbigem Papier reflektiert wurden, sowie auch von seinem gelben und lichtgrünen.

Es reihen sich Versuche von GRIFFITH (1888) und PETERSEN (1891) an, die unabhängig voneinander, sowie auch von POULTON, zu denselben Resultaten gekommen sind.

GRIFFITH experimentierte an *Pieris rapae*, und obwohl er viel blässere Farben als POULTON verwendet hat und auch die Stärke der Beleuchtung eine ganz andere war, so erzielte er doch dieselben Resultate. Besonders interessant ist die Entstehung grüner Puppen auf Gelb. Dabei hat er eine kräftige senfgelbe Farbe benutzt, indes die von POULTON verwendete viel blässer war.

PETERSEN stellte Versuche mit *Pieris brassicae* und *Pieris rapae* an. Bei seinen Versuchen mit grünem Papier erhielt er keine einzige grüne Puppe, während die im Freien auf Blättern gefundenen grün sind. Es zeigte sich aber bei der spektroskopischen Untersuchung des Papiers, daß dasselbe gar keine gelben Strahlen reflektierte. Das Grün der Blätter hingegen ist reich an gelben Strahlen.

Die Resultate zusammenfassend, meint er, man könne den Einfluß der verschiedenen Farben in einer Kurve darstellen, welche bei Gelb ihren Höhepunkt hat, indem dieses am meisten die Ablagerung dunkler Pigmente in der Cuticula verhindert und zu beiden Seiten abfällt, und zwar nach der Seite von Rot schneller als nach Violett. »Es ist zu gleicher Zeit die Helligkeitskurve des Spektrums, und damit im Einklang steht die Tatsache, daß auch bei Einwirkung von weißem Licht in stärkeren Helligkeitsgraden die Bildung dunkler Pigmentflecke in der Cuticula eingeschränkt wird, während Dunkelheit dieselbe fördert. Merkwürdig bleibt immerhin, daß vollständige Verhinderung von Pigmentbildung in der Cuticula durch gelben und orange Hintergrund eintritt, während rein weißes Licht bei weißem Hintergrunde noch schwarze Fleckenzeichnung erzeugt, wenngleich auch in geringerem Maße als bei typischen Stücken.« Weiter bemerkt er dann: »Es ist auffallend, daß schon ein sehr helles weißliches Gelb ausreicht, um eine intensiv grüne Färbung der Puppe hervorzurufen.«

MERRIFIELD (1898) stellte Versuche an *Papilio machaon* und *Pieris napi* an. Gegen die Erfahrungen POULTONS über die Unbeeinflussbarkeit der Puppen von *Papilio machaon* konnte MERRIFIELD an zahlreicherem Material (72 Puppen) die Lichtempfindlichkeit derselben feststellen.

Es zeigte sich ferner *Pieris napi* (mehrere hundert Raupen bildeten das Material) außerordentlich empfindlich: auf schwarzem Papier hatte er rauchgraue mit sehr vielen braunschwarzen Flecken erhalten, ebenso dunkel waren auch die auf dunkeln Stäbchen gefundenen. Auf grünen Kohlblättern waren alle grün und ebenfalls grün oder grünlich die, welche er auf gelbem oder orangefarbigem Papier sich hatte verpuppen lassen.

Versuche mit 28 Puppen von *Pieris brassicae* und 40 Puppen von *P. rapae* hatten ähnliche Resultate wie die POULTONS zur Folge.

POULTON wies in einer der Demonstration MERRIFIELDS folgenden Diskussion auf den starken Einfluß von Orange und Gelb hin, die seine Vermutung bestätigen, daß bei den grünen Blättern die von ihnen reflektierten gelben und orangefarbenen Strahlen es seien, die die Entstehung grüner Puppen bedinge.

Aus den hier angeführten Angaben, welche teils auf gelegentlichen Beobachtungen, teils auf eigens mit mehr oder weniger Material angestellten Versuchen basieren, geht hervor, daß es möglich ist, die Färbung von dergleichen polymorphen Puppen experimentell zu beeinflussen, und zwar scheint die Färbung der variablen Puppen

von der Färbung der Umgebung, in der das Tier sich während des letzten Raupenstadiums bis zum Übergang in das Puppenstadium befand, abhängig zu sein.

C. HESS (1912 und 1913), von seinen bezüglich des Gesichtsinnes der Tiere vertretenen Ansichten ausgehend (über die früheren diesbezüglichen Arbeiten von HESS, Besprechung und Literaturangaben vgl. H. PRZIBRAM, *Experimentalzoologie V*, Funktion 1914 S. 12), wobei die Sehqualitäten der Fische und der niederen Tiere ähnliche oder die gleichen sein sollen wie die eines total farbenblinden Menschen, stellt die Fähigkeit einer Farbenanpassung, wie sie von v. FRISCH (1912) an Fischen (Pfrillen und Elritzen) gefunden wurde, bei diesen und niederen Tieren überhaupt in Abrede. Seither sind durch O. HAEMPEL und KOLMER (1914) Versuche an demselben Material, das v. FRISCH verwendet hatte, mit ähnlichem Erfolge wiederholt worden, und neuerdings haben die von v. FRISCH vertretenen Ansichten durch Versuche an Flachfischen von S. O. MAST (1915) eine glänzende Bestätigung erfahren.

Es wirken nach HESS die Farben in verschiedener Weise ein, nicht durch ihre verschiedenen Farbqualitäten (Wellenlängen), wie es beim normalen Menschen und den höheren Tieren der Fall ist, sondern nur durch ihren verschiedenen Helligkeitswert (Grauvalenz). Es soll demnach die Wirkung eines farbigen Lichtes die gleiche sein wie die eines auf die entsprechende Lichtstärke gestimmten farblosen Reizlichtes.

Infolge dieser von HESS vertretenen Ansichten sehen wir in vielen Erklärungsversuchen über die Farbenanpassung (vgl. BIEDERMANN 1914 in WINTERSTEINS Handbuch der vergleichenden Physiologie, S. 1818: Theorien der Puppenfärbung) die Tendenz, alle Farbenanpassungen der niederen Tiere bloß als eine Helligkeitsanpassung und die Wirksamkeit der verschiedenen Lichtarten als von ihrem Helligkeitswert bestimmt zu betrachten.

Es schien daher geboten, bei einem Versuch, die Kausalität der Farbenanpassung bei einer Form zu erforschen, in allererster Linie die Frage klarzustellen, ob wir es mit einer Wirkung der Farbe (Wellenlänge des Lichtes) oder einer Wirkung der Lichtintensität zu tun hätten.

Es schien notwendig, die Hessschen Gesichtspunkte auch auf die Farbenanpassung der Puppen zu prüfen, und zwar die Wirkung reiner Spektrallichter, wie sie HESS bei seinen Versuchen verwendet, und dann die Frage zu entscheiden, ob wir in all diesen Wirkungen

nur den Einfluß verschiedener Helligkeiten oder vielleicht doch der verschiedenen Farbqualitäten zu erblicken hätten. Aber dazu mußten zuallererst die verschiedenen Angaben über die Farbenanpassung der Puppen mit viel mehr Material, als bei den früheren Versuchen in Verwendung gekommen war, nachgeprüft werden, um den Vergleich auf einer breiten Basis ausführen zu können.

Daraus ging das Programm meiner ersten Versuche an *Pieris*-Puppen, die in diesem zweiten Teile mitgeteilt werden sollen, klar hervor:

1. Versuchsreihe: Haltung einer sehr großen Anzahl verpuppungsreifer Raupen auf Untergrund verschiedener Farbe.
2. Versuchsreihe: Dasselbe unter Anwendung von Spektrallichtern.
3. Versuchsreihe: Versuche mit verschiedenen Intensitäten gleicher Farbe.

V. Die Zucht des Versuchsobjektes.

Das Material bestand ausschließlich aus Raupen von *Pieris brassicae*, die ich vom Ei an aufzog. Ich fand die Gelege auf Kohl- und Krautblättern teils im Garten der biologischen Versuchsanstalt, zum Teil stammten sie aus der Gartenbauschule in Grinzing, deren Direktorin, Frau Yella Hertzka, mir das Absuchen ihrer Kohlanpflanzungen nach Raupen und Schmetterlingseiern in dankenswerter Weise gestattete. Die Weiterzucht erfolgte unter den natürlichen Bedingungen: es wurden nämlich die Eier oder kleinen Räupchen auf ihren Futterpflanzen im Garten der Anstalt belassen oder, wenn sie von anderswo stammten, mitsamt einem Stückchen des Blattes, auf dem sie gefunden worden waren, auf die Kohlpflanzen im Garten aufgesteckt. Die Kohlpflanzen wurden mit je einem weißen Musse-linsack eingehüllt, um die jungen Räupchen vor dem Anstechen durch Schlupfwespen zu schützen.

Sie wurden auf diese Art bis zum verpuppungsreifen Stadium gehalten. Sobald sie verpuppungsreif waren und sich vom Futter wendeten, wurden sie unter die verschiedenen Versuchsbedingungen gebracht.

VI. Eigene Versuche.

1. Versuchsreihe.

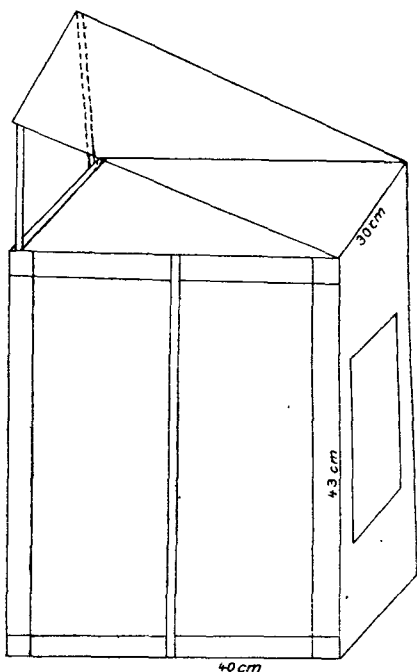
A. Farbige Kasten bei diffusem Licht.

Die erste Versuchsreihe galt der Frage, ob tatsächlich bei Anwendung von verschiedenen Farbeinflüssen unter Zuhilfenahme einer großen Menge von Material durchgreifende Unterschiede in den

Färbungen der Puppen zu erzielen sind, da ja doch immerhin auch andere Faktoren mitspielen können, wie Ort der Verpuppung, gegenseitige Beeinflussung der Larven, vererbte Tendenzen, Gesundheitszustand, die Abweichungen der Puppenfärbung zur Folge haben könnten. Erst aus der statistischen Zusammenstellung ist zu ersehen, welches die für jede Farbe charakteristische (am häufigsten vorkommende) Puppe sei.

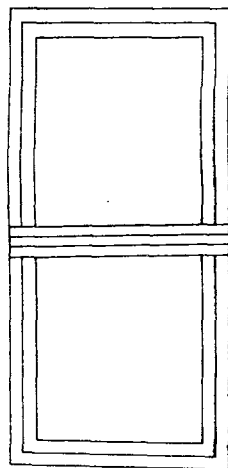
Die bisherigen Angaben waren nämlich auf eine sehr geringe Anzahl gestützt, und außerdem spielten Zufälligkeiten, wie Einfluß

Fig. 1.



Schematische Zeichnung eines Kastens.

Fig. 2.



Abnehmbar Glasdecke eines Kastens.

der Futterpflanze, welche die früheren Experimentatoren immer ebenfalls in den Versuchskasten gegeben hatten, Anhäufung der Larven auf einen engen Raum u. a. m., dabei eine große Rolle, so daß von einheitlichen Unterschieden in den Wirkungen wenig zu finden war.

Methodik: Ich verwendete zu diesem ersten Versuch Holzkasten von 30×40 cm Basis und einer Höhe von 49 cm (Taf. IX Fig. 1 zeigt drei solcher nebeneinander aufgestellten Holzkasten).

Durch eine Glasplatte ist jeder derselben in zwei Abteilungen geteilt. Boden und Wände sind alle ganz aus Holz bis auf die vor-

dere Wand, welche aus einem mit Müllergaze überspannten Holzrahmen besteht. Auf den beiden Seitenwänden sind Türchen mit Reibern angebracht. Die abnehmbare Decke wird von einer Glasplatte gebildet, die auf der Innenseite durch schmale ca. 1 cm breite Holzleisten eingefast wird (Textfig. 2), die treppenartig vorspringen, so daß dadurch Winkel entstehen; zwei Leisten teilen die Glasplatte in der Mitte, entsprechend den zwei Abteilungen des Kastens, und lassen zwischen sich einen Spalt, in welchen die mittlere Glasplatte hineinpaßt.

Alle Holzteile (Wände, Leisten, Boden und Türchen), alles mit Ausnahme der Glasplatten und der Müllergaze, wurden mit farbigem Papier überklebt.

Eine schiefe Holzwand über der Glasdecke, die ebenfalls mit demselben Papier beklebt wurde, verhindert, daß unerwünschtes Licht gemischter Art in den Kasten eindringt, da es zuerst auf diese Wand fällt und, von hier reflektiert, durch die obere Glasdecke in den Kasten gelangt.

Es wurden matte Farbpapiere zum Auskleiden der Kasten verwendet, in folgenden Farben:

Weiß	Blau
sehr helles Grau	Blaugrün
Gelb	Gelbgrün
Perlgrau	Orange
Schwarz	Purpur (Mischfarbe von Rot und Violett)

(siehe die Nuancen auf Tafel VII).

Zu diesen Versuchen wurde das Tageslicht benutzt, da man mit künstlichem keine so hohen Intensitäten erzielen kann. Die Kasten waren in einem Raum aufgestellt, wo diffuses Licht von oben einfällt, und zwar standen sie nebeneinander auf einem langen Tisch gerade gegenüber einem schrägen Oberlichte. Das Licht, das in den Kasten gelangte, bestand zum Teil aus weißem Licht, das durch die Gazewand durchgehende und das erst dann von den Wänden reflektiert wurde, zum Teil aus von oben, von der schiefen Wand reflektiertem, also vorwiegend farbigem.

Verpuppungsreife Raupen wurden vom Garten hineingebracht und in die Kasten verteilt. Die Raupen zeigten durchaus keine Verschiedenheiten untereinander, auch wurden sie absichtlich ganz wahllos auf die verschiedenen Kasten verteilt, immer zu je 6—10 oder höchstens 12 auf einmal in je eine Abteilung, damit sie nicht zu eng

gedrängt seien und sich gegenseitig in der Färbung beeinflussen könnten. Futter wurde kein einziges Mal mit in den Kasten gegeben.

Sobald eine Raupe sich verpuppt hatte — dies geschah gewöhnlich 2—3 Tage nach der Einbringung in den Kasten —, wurde ihre Lage nebst dem Datum der Verpuppung auf einer Zeichnung, die einen Plan des betreffenden Kastens darstellte, eingetragen, und da die frischen Puppen alle grün und noch weich sind, wurden sie erst am zweiten Tage nach der Verpuppung heruntergenommen und auf weißes Papier gegeben (ich benutzte dazu den Plan selbst und legte die Puppen nach ihren entsprechenden Lagen hin) und ihre inzwischen schon fixierten und definitiven Färbungen miteinander und auch mit den von POULTON aufgestellten Typen verglichen und ihre Färbung mit den POULTONSchen Bezeichnungen notiert (Tabelle B).

Die Puppen wurden dann in kleine Schachteln gegeben, die innen mit demselben Farbpapier in Fächer für jede einzelne Puppe geteilt waren, und am Boden des entsprechenden großen Kastens belassen. Gleichgefärbte Puppen wurden nun in solche Schachteln gegeben, von denen die eine mit einer Glasplatte bedeckt wurde, also dieselben Lichtbedingungen bot, die andere verdunkelt gehalten wurde. Das war, um zu sehen, ob eine nachträgliche Veränderung der Puppe unter veränderten Lichtverhältnissen eintreten würde. Nachdem ich aber gesehen hatte, daß dies keinen Unterschied mache, so unterließ ich es später, nachdem ich eine genügende Anzahl hatte, und die anderen Puppen wurden ganz einfach nach Herunternahme von der Stelle der Verpuppung auf dem Boden des Kastens liegen gelassen.

Immer, wenn durch die Herabnahme der Puppen im Kasten wieder Platz geschafft wurde, kamen frische Raupen in der entsprechenden Zahl hinein. Durch dieses Vorgehen war es möglich, da ich über eine ziemlich große Raupenzucht verfügte, für diesen einen Versuch vom 19. August bis zum 18. September 480 Raupen in den Kasten sich verpuppen zu lassen (Tabelle A).

Die verschiedenen Kasten wurden nicht gleichzeitig aufgestellt, sondern je nachdem sich aus den gewonnenen Resultaten die Notwendigkeit, die Wirkung irgend einer neuen Farbe zu prüfen, ergab; doch nachdem immerfort auch in die schon früher vorhandenen Kasten frische Raupen zur Verpuppung gegeben wurden und sie also gleichzeitig verglichen werden konnten, so wurde dadurch kein wesentlicher Fehler begangen.

Zuerst kamen Weiß (Taf. VII Fig. 1) und Schwarz am 21. VIII. (Taf. VII Fig. 5), Gelbgrün (Taf. VII Fig. 8) am 19. VIII. und Orange

(Taf. VII Fig. 9) am 23. VIII. zur Aufstellung, um recht scharfe Kontraste zu erzielen, was mit Grün und Orange jedoch nicht der Fall war; sodann Gelb (Taf. VII Fig. 3) am 27. VIII. und Blau (Fig. 6) am 3. IX.

Um zu sehen, ob nicht vielleicht die Intensität des Gelb die Ursache der Entstehung grüner Puppen sei, wurde eine mittlere Intensität zwischen Weiß und Schwarz, ein Perlgrau (Fig. 4) gewählt (am 10. IX.). Da die erzielte Wirkung leicht von den blauen Strahlen herrühren konnte, nahm ich sodann ein zweites Grau (am 15. IX.), das etwas heller war und nicht Blau, sondern eine Spur Gelb enthielt (Taf. VII Fig. 2).

Ebenfalls zur Aufklärung dieser Frage wurde schließlich noch an Stelle des Gelbgrün ein Blaugrün (Taf. VII Fig. 7) genommen, das in der Intensität zwischen Weiß und Gelb war, und an Stelle des Orange ein Purpurrot (Taf. VII Fig. 10), dem Orange in der Intensität beinahe gleichkommend, von dem aber keine gelben Strahlen reflektiert wurden. Die Anzahl der in die verschiedenen Kasten hineingegebenen Raupen ist eine ungleichmäßige. Am meisten kamen in den schwarzen, gelben und weißen Kasten, weil hier die erzielten Kontraste am größten waren und ich sie zu chemischen Untersuchungen verwenden wollte.

Grün und Orange kommen in der Zahl an zweiter Stelle, weil sie zweierlei Puppen ergaben und ich darauf kommen wollte, ob nicht die Lage der Verpuppung (verschiedene Beleuchtung) der bestimmende Faktor sei.

Was das Blau, Blaugrau, Hellgrau, Purpur und Blaugrün betrifft, so erwies sich die zuerst hineingegebene Anzahl von 20 oder 30 Puppen als genügend, da sie sogleich einheitliche Resultate ergaben.

Nach Abschluß der ganzen Versuchsreihe wurden alle Puppen noch einmal miteinander verglichen und die Farbe und vorkommende Zahl registriert (Tabelle C).

Ergebnisse der 1. Versuchsreihe.

A. Mit farbigen Kasten bei diffusem Licht.

1) Weiß. Betrachtet man die alle Ergebnisse dieser Versuchsreihe darstellende Tabelle C, so zeigt es sich, daß im Weiß die hellsten Puppen vorkommen und in der allergrößten Zahl: Unter 76 Puppen aus dem weißen Kasten ist beinahe die Hälfte, und zwar 35 am allerhellsten (a) von allen vorkommenden Puppen, was die Grundfarbe

betrifft, die von einem undurchsichtig erscheinenden Weiß, Grünlichweiß oder Gelblichweiß ist, jedoch mit der normalen schwarzen Fleckenzeichnung; sie entsprechen den hellsten (1 β) POULTONS. Eine ist noch viel heller mit grünlicher Grundfarbe und viel geringerer Fleckenzeichnung (1 γ) POULTONS; 34 sind um eine Spur dunkler (b) durch etwas diffuses schwarzes Pigment in der Grundfarbe, sie gehören aber mit zu den hellsten vorkommenden Puppen.

Eine verschwindend kleine Zahl, 6, sind etwas dunkler durch etwas mehr diffuses Pigment, sie entsprechen dem Typus der mittleren Puppen (Bd) oder den typischen (1 β) POULTONS.

1) Weißer Kasten	Anzahl der hineingegebenen Raupen		A. Helle Puppen			B. Mittlere Puppen		C. Dunkle Puppen		D. Grüne Puppen			
	Gesamtzahl der Puppen		a) hellste Puppen helle (1 β) POULTON	b) helle Puppen (1 β) POULTON	c) helle mit geringerer Fleckenzeichnung (1 γ) POULTON	d) Grundfarbe grau (1 β) POULTON	e) Grundfarbe grün (1 β) POULTON	f) dunkle Puppen (1 α) POULTON	g) sehr dunkle Puppen dunkle (1 α) POULTON	h) gelbgrüne (2) oder (3) POULTON	i) blaigrüne typische (3) POULTON	j) gelbgrüne mit beginnender Pigmentierung (2) POULTON	k) halbgrüne (1 γ) POULTON
	98	76	35	34	1	6	0	0	0	0	0	0	0
Für die Photograph. Taf. VII Fig. 1	ausgewählte aliquote Zahl:		3	3									

2) Hellgrau. Hellgrau hatte keine einheitlichen Resultate, es ergab in fast gleichen Zahlen mittlere mit grauer oder grünlichgrauer

2) Hellgrauer Kasten	Anzahl der hineingegebenen Raupen		A. Helle Puppen			B. Mittlere Puppen		C. Dunkle Puppen		D. Grüne Puppen			
	Gesamtzahl der Puppen		a) hellste Puppen helle (1 β) POULTON	b) helle Puppen (1 β) POULTON	c) helle mit geringerer Fleckenzeichnung (1 γ) POULTON	d) Grundfarbe grau (1 β) POULTON	e) Grundfarbe grün (1 β) POULTON	f) dunkle Puppen (1 α) POULTON	g) sehr dunkle Puppen dunkle (1 α) POULTON	h) gelbgrüne (2) oder (3) POULTON	i) blaigrüne typische (3) POULTON	j) gelbgrüne mit beginnender Pigmentierung (2) POULTON	k) halbgrüne (1 γ) POULTON
	30	29	0	0	0	9	8	11	0	0	0	0	0
Für die Photograph. Taf. VII Fig. 2	ausgewählte aliquote Zahl:					2	2	2					

Grundfarbe (d) und andere ebenfalls mittlere mit dunkelgrüner Grundfarbe und der normalen Fleckenzeichnung. Ein dritter Teil besteht aus dunkeln Puppen, solche, wo sehr viel diffuses schwarzes Pigment die Grundfarbe dunkelgrau erscheinen läßt, während die Fleckenzeichnung normal ist (f).

3) Gelb. Gelb scheidet ganz aus dieser Reihe aus. Für diesen Kasten sind durchweg grüne Puppen charakteristisch. Es sind dies Puppen, die sehr von dem anderen Typus der undurchsichtigen oder (1) POULTONS abweichen. Sie haben ein durchsichtiges Aussehen, eine schöne gelbgrüne Farbe, andere sind blaugrün, und fast gar kein schwarzes Pigment. Selbst die einzelnen schwarzen Punkte, die sonst die charakteristische Fleckenzeichnung der *Pieris*-Puppen bilden, sind geradezu verschwindend klein und an den meisten Stellen überhaupt nicht vorhanden.

Haltung im gelben Kasten ergab von 103 Raupen, die darin zur Verpuppung kamen, 78 Puppen, von denen die Mehrzahl diesem Typus angehört, und zwar 30 gelbgrüne und 9 blaugrüne. (Taf. VII Fig. 3: 2., 3., 4. und 5. Puppe repräsentieren diesen Typus.) Andere sind ebenfalls gelbgrün, aber mit beginnender Pigmentierung an den Seiten der Segmente der hinteren Körperhälfte, während die vordere mittlere Leiste, die sonst Fleckenzeichnung aufweist, noch immer rein gelb ohne schwarze Flecken ist. Diese Puppen haben auch ein etwas undurchsichtigeres Aussehen durch gelbe Streifung, die das Grün unterbricht. Diese dürften mit POULTONS (2) übereinstimmen. Solche Puppen kommen im gelben Kasten in geringerer Zahl, 20, vor (Taf. VII Fig. 3, 1. Puppe).

3) Gelber Kasten	Anzahl der hingeegebenen Raupen	Gesamtzahl der Puppen	A. Helle Puppen			B. Mittlere Puppen		C. Dunkle Puppen		D. Grüne Puppen			
			a) hellste Puppen helle (1 β) POULTON	b) helle Puppen (1 β) POULTON	c) helle mit geringerer Fleckenzeichnung (1 γ) POULTON	d) Grundfarbe grau (1 β) POULTON	e) Grundfarbe grün (1 β) POULTON	f) dunkle Puppen (1 α) POULTON	g) sehr dunkle Puppen dunkle (1 α) POULTON	h) gelbgrüne (2) oder (3) POULTON	i) blaugrüne typische (3) POULTON	j) gelbgrüne mit beginnender Pigmentierung (2) POULTON	k) halbgrüne (1 γ) POULTON
	103	78	5	0	14	0	0	0	0	30	9	20	0
Für die Photograph. Taf. VII Fig. 3	ausgewählte aliquote Zahl:				1					3	1	1	

14 ebenfalls grüne oder gelblichgrüne zeigten noch etwas mehr schwarzes Pigment, aber noch immer nicht soviel wie die hellsten in Weiß (c). Diese könnten den (1 γ) POULTONs entsprechen (Taf. VII Fig. 3, 6. Puppe).

5 Puppen waren wie die hellsten im weißen Kasten mit gelblich-weißer Grundfarbe (a).

4) Perlgrau. Perlgrau ergab durchweg Puppen von einer mittleren grauen oder grünlichgrauen Färbung (d), die genau die Mittelstellung einnehmen zwischen den weißen und den schwarzen.

4) Perlgrauer Kasten	Anzahl der hineingegebenen Raupen	Gesamtzahl der Puppen	A. Helle Puppen			B. Mittlere Puppen		C. Dunkle Puppen		D. Grüne Puppen			
			a) hellste Puppen helle (1 σ) POULTON	b) helle Puppen (1 σ) POULTON	c) helle mit geringerer Fleckenzeichnung (1 γ) POULTON	d) Grundfarbe grau (1 σ) POULTON	e) Grundfarbe grün (1 σ) POULTON	f) dunkle Puppen (1 σ) POULTON	g) sehr dunkle Puppen dunkle (1 σ) POULTON	h) gelbgrüne (2) oder (3) POULTON	i) blaugrüne typische (3) POULTON	j) gelbgrüne mit begin- nender Pigmentierung (2) POULTON	k) halbgrüne (1 γ) POULTON
	30	24	0	0	0	24	0	0	0	0	0	0	0
Für die Photograph. Taf. VII Fig. 4	ausge- wählte aliquote Zahl:					6							

5) Schwarz. Haltung auf Schwarz hatte die dunkelsten Puppen zur Folge: diffuses schwarzes Pigment läßt die Grundfarbe sehr dunkel erscheinen.

Die Nuancen der Grundfarbe sind hierbei dunkelgrün, rauchgrau, grau, grünlichgrau. Außerdem sind auch die schwarzen Flecken und Punkte ungewöhnlich groß und in vermehrter Anzahl. Der ungeheure Kontrast zwischen den Puppen aus dem weißen und aus dem schwarzen Kasten ist evident. Von 78 Puppen aus dem schwarzen Kasten waren 23 solche überaus dunkle (g) (Taf. VII Fig. 5: 5. und 6. Puppe).

Eine größere Anzahl, und zwar 44 Puppen sind etwas weniger dunkel (f), sind aber immerhin dunkler als die 6 dunkelsten aus dem weißen Kasten.

Es gibt auch im schwarzen Kasten einige (a), die mit den hellsten in Weiß übereinstimmen, aber bloß in der verschwindend geringen Zahl 3.

Ferner waren 3 vom blaugrünen Typus (i), die aber dunkler sind als die in Gelb, und 2 sogenannte halbgrüne, bei denen die vordere Hälfte noch transparent grün ist, die hintere jedoch von weißen undurchsichtigen Streifen unterbrochen. POULTON bezeichnet solche Formen als Übergangstypen zwischen den blaugrünen und den (1) und bezeichnet sie als (1 γ).

5) Schwarzer Kasten	Anzahl der hineingegebenen Raupen	Gesamtzahl der Puppen	A. Helle Puppen			B. Mittlere Puppen		C. Dunkle Puppen		D. Grüne Puppen			
			a) hellste Puppen helle (1 β) POULTON	b) helle Puppen (1 β) POULTON	c) helle mit geringerer Fleckenzeichnung (1 γ) POULTON	d) Grundfarbe grau (1 β) POULTON	e) Grundfarbe grün (1 β) POULTON	f) dunkle Puppen (1 α) POULTON	g) sehr dunkle Puppen dunkle (1 α) POULTON	h) gelbgrüne (2) oder (3) POULTON	i) blaugrüne typische (3) POULTON	j) gelbgrüne mit beginnender Pigmentierung (2) POULTON	k) halbgrüne (1 γ) POULTON
			3	0	0	0	0	44	23	0	3	0	2
Für die Photograph. Taf. VII Fig. 5	ausgewählte aliquote Zahl:							4	2				

6) Blau. Haltung im blauen Kasten hatte durchweg mittlere Puppen zur Folge mit grünlichgrauer oder grauer Grundfarbe (d); sie sind etwas heller als die aus dem perlgrauen Kasten (Taf. VII Fig. 6).

6) Blauer Kasten	Anzahl der hineingegebenen Raupen	Gesamtzahl der Puppen	A. Helle Puppen			B. Mittlere Puppen		C. Dunkle Puppen		D. Grüne Puppen			
			a) hellste Puppen helle (1 β) POULTON	b) helle Puppen (1 β) POULTON	c) helle mit geringerer Fleckenzeichnung (1 γ) POULTON	d) Grundfarbe grau (1 β) POULTON	e) Grundfarbe grün (1 β) POULTON	f) dunkle Puppen (1 α) POULTON	g) sehr dunkle Puppen dunkle (1 α) POULTON	h) gelbgrüne (2) oder (3) POULTON	i) blaugrüne typische (3) POULTON	j) gelbgrüne mit beginnender Pigmentierung (2) POULTON	k) halbgrüne (1 γ) POULTON
			0	1	0	14	0	0	0	0	0	0	0
Für die Photograph. Taf. VII Fig. 6	ausgewählte aliquote Zahl:					6							

7) Blaugrün. Im blaugrünen Kasten waren alle ziemlich helle Puppen (b) mit grünlichweißer Grundfarbe, wie die zweiten hellen aus dem weißen Kasten. Keine einzige grüne Puppe ist darunter.

7) Blaigrüner Kasten	Anzahl der hineingegebenen Raupen	Gesamtzahl der Puppen	A. Helle Puppen			B. Mittlere Puppen		C. Dunkle Puppen		D. Grüne Puppen			
			a) hellste Puppen helle (1 β) POULTON	b) helle Puppen (1 β) POULTON	c) helle mit geringerer Fleckenzzeichnung (1 γ) POULTON	d) Grundfarbe grau (1 β) POULTON	e) Grundfarbe grün (1 β) POULTON	f) dunkle Puppen (1 α) POULTON	g) sehr dunkle Puppen dunkle (1 α) POULTON	h) gelbgrüne (2) oder (3) POULTON	i) blaigrüne typische (3) POULTON	j) gelbgrüne mit beginnender Pigmentierung (2) POULTON	k) halbgrüne (1 γ) POULTON
	23	22	0	21	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Für die Photograph. Taf. VII Fig. 7	ausgewählte aliquote Zahl:			6									

8) Gelbgrün. Haltung auf Gelbgrün hatte hingegen zweierlei Puppen zur Folge: solche vom 1. Typus, helle (b), genau wie die aus dem blaigrünen Kasten mit grauer oder weißlichgrüner Grundfarbe (Taf. VII Fig. 8: 5. und 6. Puppe); unter 46 Puppen waren 15 von diesem Typus. Andere 19, immer zu derselben Kategorie gehörend, mit weißgrüner oder gelblichgrüner Grundfarbe, die Pigmentflecke jedoch etwas weniger groß (c) (Taf. VII Fig. 8: 2., 3. und 4. Puppe).

Von den gelbgrünen und blaigrünen waren bloß 3 und diese mit beginnender Pigmentierung und undurchsichtig (j oder (2) POULTON) respektive 4 von den blaigrünen durchsichtigen (i).

Hingegen finden wir noch eine Anzahl, und zwar 5, die halbgrüne Puppen sind (k), wie auf Figur 8 die 1. Puppe.

8) Gelbgrüner Kasten	Anzahl der hineingegebenen Raupen	Gesamtzahl der Puppen	A. Helle Puppen			B. Mittlere Puppen		C. Dunkle Puppen		D. Grüne Puppen			
			a) hellste Puppen helle (1 β) POULTON	b) helle Puppen (1 β) POULTON	c) helle mit geringerer Fleckenzzeichnung (1 γ) POULTON	d) Grundfarbe grau (1 β) POULTON	e) Grundfarbe grün (1 β) POULTON	f) dunkle Puppen (1 α) POULTON	g) sehr dunkle Puppen dunkle (1 α) POULTON	h) gelbgrüne (2) oder (3) POULTON	i) blaigrüne typische (3) POULTON	j) gelbgrüne mit beginnender Pigmentierung (2) POULTON	k) halbgrüne (1 γ) POULTON
	71	46	0	15	19	0	0	0	0	0	4	3	5
Für die Photograph. Taf. VII Fig. 8	ausgewählte aliquote Zahl:			2	3								1

9) Orange. Der orangefarbige Kasten ergab ebenfalls dieselben Arten von Puppen wie der gelbgrüne, aber in etwas anderem Zahlenverhältnis; es sind bei einer ähnlichen Gesamtzahl eine viel größere Anzahl von blaugrünen (i), und zwar 14 (Taf. VII Fig. 9: 1. u. 2. Puppe und 8 halbgrüne (k) (Taf. VII Fig. 9: 3. Puppe) und vom 1. Typus 20. Diese sind mit gelblicher, grünlicher oder grauer Grundfarbe (die drei letzten auf Taf. VII Fig. 9), sie erscheinen beinahe etwas dunkler als die aus dem Gelbgrün, und ich weiß nicht recht, ob sie noch zu den hellen oder schon zu den mittleren zu rechnen sind.

9) Orange- farbiger Kasten	Anzahl der hineingegebenen Raupen	Gesamtzahl der Puppen	A. Helle Puppen			B. Mittlere Puppen		C. Dunkle Puppen		D. Grüne Puppen			
			a) hellste Puppen helle (1 β) Poulton	b) helle Puppen (1 β) Poulton	c) helle mit geringerer Fleckenzeichnung (1 γ) Poulton	d) Grundfarbe grau (1 β) Poulton	e) Grundfarbe grün (1 β) Poulton	f) dunkle Puppen (1 α) Poulton	g) sehr dunkle Puppen dunkle (1 α) Poulton	h) gelbgrüne (2) oder (3) Poulton	i) blaugrüne typische (3) Poulton	j) gelbgrüne mit begin- nender Pigmentierung (2) Poulton	k) halbgrüne (1 γ) Poulton
	63	43	0	0	2	20	0	0	0	0	13	0	8
Für die Photograph. Taf. VII Fig. 9	ausge- wählte aliquote Zahl:					3					2		1

10) Purpur. Was den Purpurkasten betrifft, so hatte er sehr dunkle Puppen, beinahe wie die aus dem schwarzen Kasten zur Folge. Von 19 Puppen sind 8 dunkle Puppen (f) (Taf. VII Fig. 10: 4., 5. und 6. Puppe), 8 mittlere (d) (Taf. VII Fig. 10: die ersten 3 Puppen), 2 von

10) Purpur- farbiger Kasten	Anzahl der hineingegebenen Raupen	Gesamtzahl der Puppen	A. Helle Puppen			B. Mittlere Puppen		C. Dunkle Puppen		D. Grüne Puppen			
			a) hellste Puppen helle (1 β) Poulton	b) helle Puppen (1 β) Poulton	c) helle mit geringerer Fleckenzeichnung (1 γ) Poulton	d) Grundfarbe grau (1 β) Poulton	e) Grundfarbe grün (1 β) Poulton	f) dunkle Puppen (1 α) Poulton	g) sehr dunkle Puppen dunkle (1 α) Poulton	h) gelbgrüne (2) oder (3) Poulton	i) blaugrüne typische (3) Poulton	j) gelbgrüne mit begin- nender Pigmentierung (2) Poulton	k) halbgrüne (1 γ) Poulton
	20	19	0	0	0	8	2	8	0	0	1	0	0
Für die Photograph. Taf. VII Fig. 10	ausge- wählte aliquote Zahl:					3		3					

dem Typus der mittleren mit grüner Grundfarbe und normaler schwarzer Fleckenzeichnung (e), wie sie auch im hellgrauen Kasten vorkommen, und 1 blaugrüne (i).

Rekapitulieren wir die aus der 1. Versuchsreihe (farbige Kasten) gewonnenen Resultate und legen wir auch die Tafel VII dieser Betrachtung zugrunde. Dieselbe stellt Puppen aus den verschiedenfarbigen Kasten, die durch die darüber geklebten Farbmarken gekennzeichnet sind, dar. Die Auswahl der 6 photographierten Puppen eines jeden Kastens erfolgte unter verhältnismäßiger Berücksichtigung des Zahlenverhältnisses, in welchem die in dem betreffenden Kasten vorgekommenen Typen zur Gesamtzahl der Puppen dieses Kastens stehen. Waren zum Beispiel in einem Kasten die Hälfte der Puppen von einem Typus und die Hälfte von einem anderen, so ist das für die betreffende Farbe auf der Tafel in dem Verhältnis von 3 zu 3 ausgedrückt; oder bei zwei Dritteln der einen Art und einem Drittel einer anderen durch das Verhältnis 4 zu 2 Puppen usw. (vgl. Tafelerklärung und auf der Tabelle C die Ziffern in Kursiv in jeder Rubrik).

Wir sehen die hellsten Puppen in Weiß (normale schwarze Fleckenzeichnung, Grundfarbe opakes Weißlichgrün, manche fast weiß) und dazu sehr schön kontrastierend die aus dem Schwarz, die ganz dunkel sind (auf der Tafel, besonders die 2 letzteren rechts, welche die dunkelsten repräsentieren). Sie zeichnen sich durch größere und häufiger vorkommende schwarze Flecken aus, und das diffuse schwarze Pigment bildet große Flecken auf der dunkelgrauen Grundfarbe; auch die Unterseite der Flügel erscheint fast schwarz durch Einlagerung diffusen Pigments in der Chitinhülle.

Zwischen Weiß und Schwarz sind die beiden Grau, auch die dazugehörigen Puppen weisen eine mittlere graue Färbung auf, und zwar zeigt sich dies sehr einheitlich im perlgrauen Kasten. Im hellgrauen ist nur ein Teil der Puppen von derselben Färbung, andere sind von einer viel dunkleren Grundfarbe und kommen darin den schwarzen näher (obwohl hier das dunkle Aussehen auf der Grundfarbe allein beruht, die Flecken selbst sind nicht vergrößert), und ein dritter Teil hat eine dunkle grüne Grundfarbe und mittlere Fleckenzeichnung.

Purpur hat nach dem Schwarz die dunkelsten Puppen, sie sind beinahe so dunkel wie die schwarzen (die dunkelsten in Schwarz vielleicht ausgenommen), aber jedenfalls so dunkel wie die dunkelsten aus dem Hellgrau.

Eine Mittelstellung nehmen auch die aus dem blauen Kasten ein, sie sind jedoch etwas heller als die perlgrauen.

Als die hellsten nach den weißen sind die im blaugrünen zu erwähnen, deren weißgrünliche Grundfarbe den etwas dunkleren (3 letzten, Fig. 1) aus dem weißen entspricht.

Eine Sonderstellung kommt den Puppen aus dem gelben Kasten zu: sie zeichnen sich durch fast gänzlichen Mangel an schwarzem Pigment und, als eine Folge davon, durchsichtiges Aussehen, ferner durch eine schöne grüne Färbung aus.

Es bleiben nur noch die Puppen aus dem gelbgrünen und orange-farbigem Kasten zu besprechen. Hier sind die Resultate nicht einheitlich: wir haben sowohl grüne (blaugrüne), und zwar in viel größerer Zahl in Orange als auch von der 1. Kategorie, und zwar ziemlich helle (die im Grün sind heller als im Orange) mit weißgrünlicher resp. weißgelblicher Grundfarbe und der normalen Fleckenzeichnung. Ferner kommt noch ein Übergangstypus zwischen den beiden Formen auf beiden Farben hinzu; das sind die halbgrünen (Taf. VII, erste und zweite Puppe in Gelbgrün und die dritte von Fig. 9, Orange). Jedenfalls zeigen alle im Gelbgrün eine grünliche Grundfarbe.

Die blaugrünen Puppen könnte man als für Orange charakteristisch ansehen, denn sie kommen im Gelb viel weniger als die gelbgrünen, wenige im gelbgrünen Kasten, sonst nur sporadisch im schwarzen und hellgrauen Kasten vor. Dagegen sind andere, modifizierte grüne, solche, die zwar dunkelgrüne Grundfarbe, aber auch die für die 1. Kategorie charakteristische Fleckenzeichnung aufweisen, für den hellgrauen Kasten charakteristisch. Im perlgrauen Kasten finden wir keine solchen Puppen. Das, was die zwei Grau voneinander unterscheidet, ist außer daß das erste Grau heller ist als das Perlgrau, was auf die Färbung der Puppen geradezu die entgegengesetzte Wirkung hat, indem im Hellgrau auch viel dunklere Puppen vorkommen, daß das Perlgrau etwas blaue Strahlen enthält, das erste Grau mehr ins Gelbliche geht. Genau dasselbe, nur in viel stärkerem Maße ist bei Gelbgrün und Orange der Fall. Was ist nun der Unterschied zwischen dem blaugrünen und dem gelbgrünen Kasten? Das Blaugrün ist heller als das Gelbgrün und entspricht eher der Intensität des Gelb, eher zwischen Weiß und Gelb, und doch ist hier keine einzige Puppe grün.

Aus alledem geht hervor, daß grüne Puppen im Gelb entstehen und in den anderen Farben je nachdem, ob mehr oder weniger gelbe

Strahlen von den betreffenden Farben reflektiert werden, also auf Orange, Gelbgrün und Hellgrau, welches etwas ins Gelbliche geht. Im Gegensatz dazu sind in den anderen Farben Blau, Blaugrün, Purpur (Violett + Rot), Blaugrün, Weiß und Schwarz keine grünen Puppen, sondern die dem anderen Typus mit der schwarzen Fleckenzeichnung angehörenden. Dabei ist der Kontrast zwischen den auf weißem Untergrund verpuppten, die ganz hell sind mit geringster Menge schwarzen Pigments, und denen auf schwarzem Untergrund zu bemerken, die sehr dunkel infolge viel schwarzen Pigments sind, ebenso die denen aus dem schwarzen Kasten an Dunkelheit beinahe gleichkommenden aus dem purpurfarbigen Kasten, während die aus dem grauen und blauen eine Mittelstellung einnehmen.

Außer diesen Verschiedenheiten der Puppen, die für jeden Kasten charakteristisch sind, sehen wir aber auch in einigen Kästen verschiedene Arten von Puppen, und es liegt nahe, den Ort der Verpuppung im Kasten in erster Linie dafür verantwortlich zu machen. Ich habe daher für jede Puppe den Tag der Verpuppung und die Stelle, wo sie sich verpuppt hat, notiert und auf einem Plan des Kastens bezeichnet und dabei die Färbung der Puppe einen Tag nach der Verpuppung registriert und möchte nun sehen, ob man an der Hand dieser Daten auf die Ursache der Unterschiede zwischen den Puppen eines und desselben Kastens kommen kann. Der Kasten hat ja, wie bereits in der Methodik der Versuche beschrieben wurde, allerlei Winkel und Leisten, mit dem Farbpapier überzogene Holzwände und Glasplatten, sowie eine Wand aus Müllergaze, dann sind auch die Lichtverhältnisse recht verschieden im Kasten, manche Stellen mehr beschattet als andere, an der Glasdecke oder der Musselinwand wird wohl das einfallende gemischte Licht überwiegen; an den überzogenen Holzwänden wird die Raupe ganz unter dem Einflusse des reflektierten farbigen Lichtes gewesen sein.

Diese Tabellen der ersten Registrierung (Tab. B) sind am Schluß beigegeben, ich möchte sie hier nur kurz einer Durchsicht unterziehen. Zum näheren Verständnis derselben möchte ich erwähnen, daß ich bei dieser Registrierung mich fast ausschließlich an die von POULTON angegebenen Typen und Bezeichnungen gehalten und die Puppen mit seinen Abbildungen verglichen habe. Es sind daher allerlei Bezeichnungen bei dieser Registrierung angewendet, oft um dasselbe zu sagen. Bei der zweiten Registrierung (der statistischen) habe ich mich mehr von den POULTONschen Bezeichnungen emanzipiert, da ich unterdessen die 4 wesentlichen Typen zu werten ge-

lernt hatte. Es ist aber trotzdem möglich, die beiden Kategorien von Tabellen miteinander zu vergleichen.

Bei Weiß, Hellgrau und Gelb kann ich bei Durchsicht der Tabellen auf ein derartiges Kriterium nicht kommen. Wir sehen Puppen, die sich an der Glasdecke verpuppt haben, und im gelben Kasten haben die Raupen mit Vorliebe diese Stelle gewählt, und ebenso dem grünen Typus angehören, wie die auf dem Papier verpuppten. Im hellgrauen Kasten, wo dreierlei Puppen vorkommen, sehen wir nebeneinander, zum Beispiel an der Glasdecke, ja, in einer Gruppe sogar sowohl mittlere als auch ganz dunkle als auch solche mit grüner Grundfarbe und normaler Pigmentierung vorkommen. Nur das eine will ich herausheben: eine Puppe, die sich unter der zweiten Leiste der Glasdecke im Winkel verpuppt hat, habe ich als sehr dunkel bezeichnet, sehr dunkle sind aber auch an der Glasdecke; eine ebenso dunkle in der zweiten Abteilung, während 2 auf der ersten Leiste verpuppte, also weniger im Schatten, mit grüner Grundfarbe sind.

Ebensowenig kann ich im weißen Kasten aus der Lage der Verpuppung auf den Grad der Färbung der Puppe schließen. Es sind die an der Glasdecke verpuppten sowohl von den ganz hellen als auch von den weniger hellen, ebenso auch die an der Wand oder in den Winkeln.

Bei Durchsicht der Protokolle¹⁾ des schwarzen Kastens schien es manchmal, als ob die in den Winkeln verpuppten viel dunkler seien als die mehr dem Lichte ausgesetzten. So war zum Beispiel unter den Verpuppungen vom 11. IX. geradezu eine steigende Gradation des schwarzen Pigments mit abnehmender Intensität der Beleuchtung zu bemerken: 2. Abteilung, eine an der Glasdecke rückwärts (1 β) grünlichweiß, also hell, eine an der Glasdecke vorne (1 α) nicht ganz dunkel, eine an der ersten Vertikalleiste der Glasdecke mit bräunlicher Grundfarbe, vielen schwarzen Punkten und etwas diffusem schwarzgrauen Pigment, eine über der Türe zwischen (1 β) und (1 α) grünlich und eine an der untersten Leiste, im Winkel zwischen Seiten- und Vorderwand, (1 α) sehr dunkel. Daraus könnte man wohl schließen, daß je geringer die Lichtintensität, desto dunklere Puppen entstehen, aber wir sehen an anderen Stellen, die beleuchtet sind, ebensolche oder sogar noch dunklere Puppen, so zum Beispiel eine vom selben Datum 11. IX. von der ersten Abteilung,

¹⁾ Da diese Verschiedenheiten sich als unwesentlich herausgestellt haben, werden die Protokolle nicht ausführlich, sondern nur summarisch in Tab. B mitgeteilt.

die sich an der Glasdecke vorne verpuppt hat, (1 α) sehr dunkel, graue Grundfarbe und viel diffuses schwarzgraes Pigment, besonders die Seiten der Flügel von einem glänzenden Grauschwarz mit schwarzen Punkten und Strichen, macht geradezu einen schwarzen Eindruck. Und das an demselben Tag, so daß man nicht einmal von einer Verschiedenheit in der Beleuchtung sprechen kann.

Und ebenso steht es mit den Puppen vom orangefarbigem und vom gelbgrünen Kasten, wo ja gerade zweierlei grundverschiedene Puppen vorkommen: grüne und die vom 1. Typus. Es haben sich nacheinander Raupen an ganz genau denselben Stellen fixiert, ich konnte das auf dem Plan, wo ich die Stellen eintrug, genau feststellen, und das eine Mal grüne, das andere Mal Puppen Typus 1 ergeben. Auch hier sind sowohl auf der Glasplatte als auch auf den Wänden und in den Winkeln Puppen beider Typen.

Es müssen hierbei viele Momente mitgespielt haben, die sich unserer Kontrolle entziehen, so daß aus der Verpuppungslage im Kasten allein keine Schlüsse gezogen werden können.

B. Versuch mit farbigen Kasten bei direktem Sonnenlicht.

Die 1. Versuchsreihe A ist bei diffusem Licht ausgeführt, bei diesem Versuch handelte es sich darum, zu sehen, was für Resultate die verschiedenen Farben bei direktem Sonnenlicht ergeben würden.

Es wurden dazu nur diese Farben gewählt, welche die vier Hauptarten von Puppen: helle, mittlere, grüne und dunkle, bis dahin ergeben hatten, also Weiß, Grau, Gelb und Schwarz. Es kamen hierbei Müllergazekäfige (wie sie im Handbuch der Biochemischen Arbeitsmethoden von ABDERHALDEN in der Abhandlung von H. PRZIBRAM »Über das lebende Tiermaterial für biochemische Untersuchungen« S. 28 — das Insektarium — beschrieben und S. 29 Fig. 24 abgebildet sind), die in den Dimensionen mit einer Abteilung der früher verwendeten Holzkasten übereinstimmen, zur Verwendung, indem sie innen ganz mit dem farbigen Papier ausgekleidet wurden. Eine schiefe Wand von demselben Papier wurde ebenfalls hergestellt, um möglichst den Bedingungen der 1. Versuchsreihe gleichzukommen.

Die 4 Käfige wurden nebeneinander in einem Raum¹⁾ aufgestellt, wo durch Südfenster direktes Sonnenlicht einfiel.

Es wurden je 10 Raupen am 24. IX. mittags hineingegeben. Die Puppen wurden am 26. X. miteinander verglichen.

¹⁾ Es sind das die zur Zeit der Versuche außer Betrieb befindlichen Temperatorkammern der Anstalt.

Ergebnisse der Sonnenlichtversuche (in Tabelle D zusammengestellt).

In diesem Versuch ergibt sich bis auf die 4 Puppen aus dem gelben Kasten, die alle schön grün sind, ein von der 1. Versuchsreihe etwas verschiedenes Resultat: von den im weißen Kasten verpuppten sind 3 sehr hell, die anderen 4 etwas mehr grünlich, als die aus dem weißen Kasten der 1. Versuchsserie.

Die grauen und schwarzen haben eine Verschiebung gegen das Hellere erfahren. Es ist daher kein solcher Kontrast zwischen Weiß, Schwarz und Grau wie bei der 1. Versuchsserie, obwohl auch hier die weißen heller, dann die grauen und darauf die schwarzen kommen. Es entsprechen die vom schwarzen Käfig denen aus dem blaugrauen Kasten der 1. Versuchsserie und nicht den schwarzen, die aus dem hellgrauen Käfig den dunkleren (helle Puppen) aus dem weißen oder denen aus dem blaugrünen Kasten. Die eine grüne aus dem schwarzen Käfig ist heller als die im schwarzen Kasten sporadisch auftretenden »blaugrünen«, sie entspricht denen aus dem gelben Kasten.

C. Hell- und Dunkelversuche.

Zur ersten Versuchsreihe sind auch drei Versuche zu rechnen, wobei es sich um die Wirkung der gänzlichen Verdunkelung und im Gegensatz dazu die eines intensiven durch Himmelstrahlung reflektierten Lichtes handelte.

a. Versuch bei intensivem diffusen Licht.

Zwei Müllergazekäfige mit je 10 Raupen stellte ich am 19. IX. in einem Gang, wo diffuses Licht von oben einfällt, ganz oben gegenüber einem schrägen Oberlichte auf.

b. Verdunkelter Kasten.

Es wurde dazu einer von den farbigen Holzkasten genommen (ein dunkelbrauner) und an der Decke mittels Reißnägeln ein Karton befestigt, der als Vorsprung weit über die Musselinwand herausragte. Das Ganze wurde sowohl vorne als auch seitlich mit schwarzem Papier überdeckt, so daß eine kleine Dunkelkammer gebildet wurde mit einem entsprechend großen Vorraum, so daß keine ungünstigen Luftverhältnisse entstanden. Ich ließ den Kasten in demselben Raum, wo auch die anderen farbigen Kasten standen. Der Versuch wurde am 4. IX. aufgestellt, es kamen in die eine Abteilung 10, in die andere 11 Raupen.

c. Dunkelkammerversuche.

Da in dem vorigen Versuch doch immerhin die Möglichkeit nicht ausgeschlossen war, daß eine Spur von Licht in den Kasten eindringen konnte, war es notwendig, denselben Versuch unter strengeren Vorsichtsmaßregeln zu wiederholen.

Ich stellte zu diesem Zwecke am 18. IX. 2 Müllergazekäfige in der Dunkelkammer auf, nachdem ich in den einen 10, in den anderen 11 verpuppungsreife Raupen hineingegeben hatte.

Die Dunkelkammer wurde erst eine Woche später, am 25. IX. wieder geöffnet und die Puppen herausgenommen.

Am 25. IX. stellte ich noch einen Käfig mit 8 Raupen in der Dunkelkammer auf, da beim vorigen Versuch aus dem einen Käfig die meisten Raupen entkommen waren und sich im ganzen bloß 7 verpuppt hatten.

Ergebnisse der Hell- und Dunkelversuche (Tabelle E).

a) Haltung unter Einwirkung von starkem diffusen Licht ohne reflektierende Flächen ergab im allgemeinen dunklere Puppen als im weißen reflektierten Licht, und zwar stehen sie zwischen den Puppen aus dem weißen und denen aus dem blauen, beziehungsweise blaugrünen Kasten.

b) Im verdunkelten Kasten hatten die Puppen ebenfalls eine Mittelstellung. Was das Auftreten einiger grüner Puppen in diesem Versuch betrifft, so ist es möglich, daß etwas Licht eingedrungen war, und, weil der benutzte Kasten mit braunem Papier überklebt war, die Wirkung dadurch erklärlich oder weil überhaupt, wenn etwas Licht eindringt, es hauptsächlich die gelben Strahlen sind.

c) Dunkelkammerversuch. Im allgemeinen haben auch diese Puppen eine Mittelstellung. Im Vergleich zu den Puppen aus dem schwarzen Kasten sind sie viel heller und stimmen am besten mit den grauen überein.

Im Vergleich zu den belichteten erscheinen die Puppen aus den Dunkelversuchen etwas dunkler; es erscheint mir aber ein anderer Unterschied bemerkenswert: die aus den Dunkelversuchen haben im Vergleich zu den belichteten ein etwas mehr grünliches oder gelbliches Aussehen, wogegen die belichteten weiß oder grau erscheinen.

2. Versuchsreihe: Spektralversuch.

Es handelte sich hierbei darum, zu sehen, wie eigentlich die reinen Spektrallichter wirken und ob sie dieselben Resultate ergeben

würden wie die farbigen Papiere. In der modernen Versuchsmethodik bei Analyse mit Farben ist es wünschenswert, möglichst ungemischtes Licht zu benutzen, und dieser Anforderung entspricht wohl am besten das Spektrum.

Noch eine zweite Frage konnte durch den Spektralversuch entschieden werden: nach den Darlegungen von HESS soll für die niederen Tiere das Maximum an Helligkeit im Gelbgrün und Grün sein, ebenso wie für unser dunkeladaptiertes Auge und den farbenblinden Menschen, während es für das normale Auge des Menschen und der höheren Tiere im Gelb (bis Grüngelb) ist.

Es war nun zu sehen, wenn wir uns vorerst auf den HESSschen Standpunkt stellen und annehmen wollten, daß der Helligkeitsgrad die Verschiedenheiten der Puppenfärbung bedinge, wo für die Puppen das Maximum an Helligkeitswirkung sein würde. Nach HESS war zu erwarten, daß es im Gelbgrün und Grün sein würde.

Wir müssen uns aber vorerst darüber klar werden, was für eine Wirkung das Licht hervorbringen könnte. Betrachten wir getrennt die einzelnen Merkmale, welche durch ihr Variieren die verschiedene Puppenfärbung bedingen:

1) die Menge des schwarzen Pigments.

Wir müssen dabei zwei Möglichkeiten in Betracht ziehen:

Entweder das schwarze Pigment nimmt bei zunehmender Helligkeit zu, dann mußten an den beiden Enden des Spektrums hellere Puppen sein und in der Mitte des Spektrums dunkle Puppen vorkommen und die dunkelsten im Helligkeitsmaximum; oder die Menge des schwarzen Pigments nimmt mit wachsender Helligkeit ab, dann müssen die Puppen gegen die beiden Enden des Spektrums dunkler werden, und da nach HESS für diese Tiere das Spektrum im roten Ende verkürzt erscheint, mußten sie im roten Ende dunkler sein als im violetten. Dagegen mußte gegen die Mitte des Spektrums hin das Pigment abnehmen, und die geringste Menge schwarzen Pigments mußte im Helligkeitsmaximum gebildet werden, nach der HESSschen Ansicht wäre das also im Gelbgrün bis Grün zu erwarten.

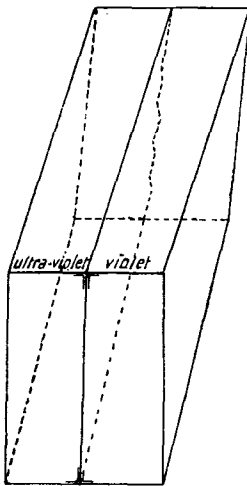
2) Ebenso müssen wir bei der Betrachtung des zweiten die Puppenfärbung bedingenden Merkmals, des Hervortretens der grünen Grundfärbung, die zwei Alternativen in Erwägung ziehen: Entweder sie wird durch geringere Intensität hervorgerufen, dann müssen an beiden Enden des Spektrums grüne Puppen auftreten und in der Mitte nichtgrüne, oder sie tritt bei zunehmender Helligkeit auf, dann müssen in der Mitte des Spektrums grüne Puppen vorkommen

und an den Enden nichtgrüne, und dann ist zu erwarten, daß im Helligkeitsmaximum, also nach HESS im Gelbgrün bis Grün die grünsten Puppen auftreten. Es müßten also hier die grünsten Puppen mit der geringsten Menge schwarzen Pigments und, als eine Folge davon, durchsichtigem Aussehen vorkommen.

Versuchsanordnung.

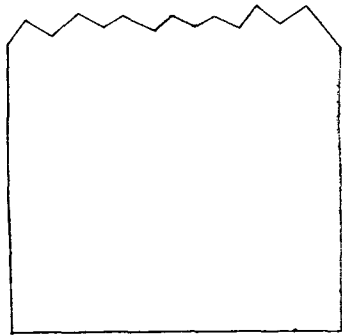
Mittels einer Bogenlampe von 1000 Kerzenstärken, die bis auf eine runde Öffnung ganz in einen Blechzylinder gehüllt war, wurde durch einen davorgestellten Spalt, zwei Linsen (eine zwischen Spalt

Fig. 3.



Glaskästchen in halber Größe gezeichnet.

Fig. 4.



Kartonwand, die jedes Kästchen in zwei Abteilungen teilt. Nat. Format.

und Prisma und eine vor dem Prisma) und ein Prisma ein genügend breites Spektrum in der Dunkelkammer entworfen.

Als Raupenbehälter dienten kleine prismatische Glaskästchen, wie man sie zum Färben der Schnitte benutzt, von 7×5 cm Basis und $8\frac{1}{2}$ cm Höhe. Dieselben haben einen in Zickzack eingekerbten Boden und auf dem zweiten Drittel der Höhe ist die Glaswand vorspringend, so daß darauf eine sogenannte Glasschlange oder ein Glasrost hineinpassen kann, um die Objektträger zu halten. Ich verwendete nun diese Glasschlangen und Glasroste, um damit eine Orandinkappe vor die Öffnung hineinzupressen und so zu verhindern, daß die Raupen entkommen. (Fig. 4 auf Taf. IX zeigt ein solches Glaskästchen, woraus die Musselinkappe, Glasschlange und Glasrost herausgenommen sind und danebenliegen.) Die Kästchen wurden

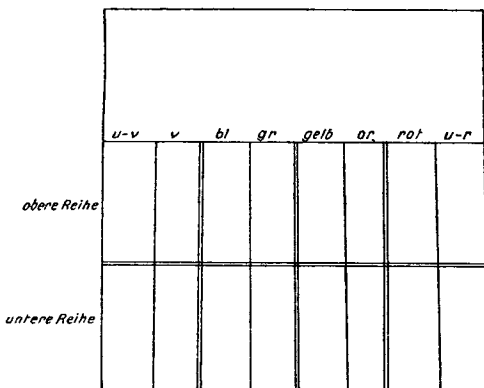
mit der schmalen Fläche als Basis und mit nach vorne gerichteter Öffnung aufgestellt.

Vier solcher nebeneinander aufgestellter Kästchen hatten gerade die Länge des Spektrums. Jedes Kästchen wurde durch eine Kartonwand (Textfig. 4) in zwei Abteilungen geteilt, so daß nun 8 Spektralbezirke in den 8 voneinander getrennten Abteilungen für die Raupen entstanden:

|| ultrarot | rot || orange | gelb || grün | blau || violett | ultraviolett ||

Eine zweite Reihe ebensolcher vier Kästchen wurde auf die erste gestellt, so daß zwei Reihen, eine untere und eine obere, im Spektrum

Fig. 5.



Grundriß des Raupenbehälters für den Spektralversuch.

standen, so daß gleichzeitig die doppelte Anzahl Raupen für jede Farbe aufgestellt werden konnte (Textfig. 5).

Die so nebeneinander und übereinander geordneten Kästchen wurden in eine genau entsprechend große weiße Kartonschachtel aufgestellt und jedes Kästchen außerdem von einer weißen Kartonhülle umgeben, so daß das vorne einfallende Licht, auf die weißen Wände fallend, von allen Seiten vollständig in das Kästchen und auf die darin befindlichen Raupen reflektiert werden sollte. Diese Einrichtung wurde aus dem Grunde getroffen, damit wir auch im Spektralversuch reflektiertes und nicht bloß einfallendes direktes Licht hätten, genau wie in dem Versuch mit den farbigen Kasten (1. Versuchsreihe). Der Unterschied bestand bloß darin, daß wir im letzteren einerseits einfallendes weißes (gemischtes) Licht und andererseits das von den farbigen Wänden reflektierte einfärbige Licht hatten, dagegen beim Spektralversuch das einfallende Licht keine weiße Bei-

mischung enthielt und daher auch von den weißen Wänden bloß die Strahlen des betreffenden Spektralbezirkes reflektiert werden konnten.

Die Raupen wurden zu je 3 in eine Abteilung gegeben, und zwar hatte ich 21 Raupen, die, von den anderen separiert, aus einem Eierpaket gezogen waren, welche für die untere Reihe verwendet wurden, nur in die ultrarote Abteilung kamen 3 von den übrigen Raupen hinein. Für die obere Reihe wurden andere verpuppungsreife Raupen, die von der Zucht, die ich »en masse« betrieben hatte, noch übriggeblieben waren, genommen. Es wurden also für diesen Versuch 48 Raupen aufgestellt, je 6 für jede Farbe. Nach Einbringung der Raupen in die Kästchen wurde das Ganze im Spektrum aufgestellt, so daß das Licht von vorne auf die mit Musselin bedeckten Öffnungen fiel. (Taf. IX Fig. 2 zeigt eine Photographie dieses Raupenbehälters, wie er im Spektrum aufgestellt war; bei der unteren Reihe sind die Musselinkappen entfernt, um die mittlere Abteilung sichtbar zu machen.)

Dieser Versuch wurde am 30. IX. um 11^h30 aufgestellt. Das Spektrum war genügend lichtstark und in den Abteilungen die Farben ganz gut voneinander abgegrenzt, nur beim Zucken der Kohle verschob es sich immer um etwas, entweder nach der violetten oder nach der roten Seite hin, doch dauerte dies nur wenige Sekunden, auch war durch das Zucken in diesen Fällen ein Minimum an Intensität; sobald die Kohlen wieder gut brannten, waren wieder die Farben an ihrem alten Platz und mit der starken Intensität, so daß dieses zeitweilige Schwanken des Spektrums wohl nicht viel ausgemacht haben kann, wie es auch dann aus den Resultaten zu ersehen war. Beim Wechseln der Kohlen wurde der Raupenkasten immer mit einem schwarzen Papier bedeckt, um die Raupen keinem fremden Lichteinfluß, was beim Manipulieren mit der Lampe erforderlich war, auszusetzen.

Die Raupen wurden 5 Tage beleuchtet, und zwar nicht kontinuierlich, in der Nacht überhaupt nicht, und auch sonst waren Unterbrechungen unumgänglich, wenn die Kohle heruntergebrannt war oder sonst die Lampe versagte. Am sechsten Tage wurde der Versuch eingestellt. Die Raupen waren alle bereits verpuppt und die Färbungsunterschiede deutlich. Nach dieser Konstatierung wurden die Puppen noch einen Tag in der Dunkelkammer belassen.

Im ganzen wurde folgendermaßen beleuchtet:

- I. Tag, 30. IX. von 11^h 30—3^h 30 (4 Stunden), sodann wurden frische Kohlen eingesetzt und weiter von 4^h 15—7^h 45 (3½ Stunden) sehr gut beleuchtet.
- II. Tag, 1. X. von 9^h—10^h (1 Stunde), dann mußte unterbrochen werden, sodann wieder von 5^h 30—7^h 30 (2 Stunden).
- III. Tag, 2. X. von 8^h 30—8^h 45 (15 Min.)
 von 9^h 30—10^h (30 Min.)
 von 10^h 45—7^h 40 (9 Stunden) besonders gut.
- IV. Tag, 3. X. von 8^h 30—10^h (1 Stunde 30 Min.).
 Sodann wurde frische Kohle eingesetzt und beleuchtet
 von 10^h 45—4^h 30 (5 Stunden 45 Min.) und von
 5^h 15—6^h 45 (1 Stunde 30 Min.).
- V. Tag, 4. X. von 9^h 45—2^h (5 Stunden 45 Min.) und
 von 3^h 15—abends (5 Stunden).

Am sechsten Tag versagte die Lampe und es mußte mit dem Belichten aufgehört werden.

Es ist also am I. Tag 7 Stunden 30 Min. belichtet worden,

-	II.	-	3	-	
-	III.	-	9	-	45 Min.
-	IV.	-	8	-	45
-	V.	-	9	-	45

Zusammen ist belichtet worden: 38 Stunden 45 Min.

Ergebnisse des Spektralversuches.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in der Tabelle F zusammengestellt.

Von den hineingegebenen Raupen haben sich in der unteren Reihe alle verpuppt; von den oberen waren viele mit Schlupfwespenlarven und noch vor der Verpuppung zugrunde gegangen, nur eine in Rot, zwei in Orange, alle in Gelb, eine in Grün und eine in Blau haben sich verpuppt.

Ultrarot ergab mittlere Puppen mit weißgrünlicher Grundfarbe, Rot etwas dunklere von derselben Art.

Orange ergab grüne Puppen (blaugrüne). Die zwei aus der oberen Kästchenreihe weisen ebenfalls die für den orangefarbenen Kasten charakteristischen Färbungen auf: die eine ist typisch blaugrün, die andere eine helle mit gelblicher Grundfarbe und schwarzem Pigment, wie sie auch im orangefarbenen Kasten vorgekommen sind.

Gelb ergab in der unteren Reihe 2 gelbgrüne, 1 helle mit gelblicher Grundfarbe und der für die hellsten Puppen charakteristischen Fleckenzeichnung. In der oberen Reihe 2 grüne und 1 grüne mit beginnender Pigmentierung.

Im grünen Bezirk sind in der unteren Reihe 2 Puppen mit gelblichgrüner Grundfarbe und schwarzer Fleckenzeichnung und 1 mittlere. In der oberen Reihe eine ebenfalls vom 1. Typus mit grünlicher Grundfarbe. Es sind somit auch im grünen Teil des Spektrums 3 Puppen, die genau so sind, wie die im gelbgrünen Kasten vorkommenden (vgl. Taf. VII Fig. 8 mit Taf. VIII Fig. 15); die eine mittlere hatte sich schon nahe dem blauen Teile des Spektrums verpuppt.

Im Blau sind zwei mit gelblichgrüner respektive weißlichgrüner undurchsichtiger Grundfarbe, eine mittlere mit grauer Grundfarbe, eine aus der oberen Reihe von mittlerer Färbung genau wie für den blauen Kasten charakteristisch.

Im Violett sind alle drei sehr dunkel mit grauer oder rauchgrauer Grundfarbe.

Ebenso die von Ultraviolett. Sie stimmen mit den Puppen aus dem Purpur- oder schwarzen Kasten (die ersten auf Taf. VII Fig. 5) überein.

Überblicken wir die Puppen der unteren Kästchenreihe, die ja eine vollständige Serie repräsentieren (Taf. VIII Fig. 11—18), so sehen wir vor allem die Verschiedenheiten, die durch die einzelnen Farbenbezirke hervorgerufen wurden. Es handelte sich hierbei, wie schon erwähnt, um Raupen, die alle aus einem Gelege stammten.

An den beiden Enden des Spektrums sehen wir Puppen mit mehr schwarzem Pigment, und zwar sind sie im Violett und Ultraviolett viel dunkler als im Rot (und Ultrarot), obwohl bei unserem Spektrum das Rot wesentlich lichtschwächer war.

Gegen die Mitte des Spektrums von Orange bis zu dem an Violett grenzenden Teil des Blau sehen wir grüne Puppen auftreten, mit sehr wenig schwarzem Pigment. Soweit würde das mit der Helligkeitskurve übereinstimmen: gegen die beiden Enden geringere Lichtintensität, Zunahme des schwarzen Pigments, in der Mitte stärkere Lichtintensität, Abnahme des schwarzen Pigments und Auftreten einer grünen Grundfarbe. Aber die grünsten Puppen mit der geringsten Menge schwarzen Pigments, solche, wie sie für den gelben und orangefarbenen Kasten charakteristisch sind, treten auch hier im gelben und orangefarbenen Bezirk auf und nicht, wie es nach Hess zu erwarten war, im Gelbgrün, wo zwar auch grüne Puppen vorkommen,

die aber die schwarze Pigmentierung zeigen. Im Gelb (Grüngelb) sehen wir sogar die hellste Puppe von der ganzen Reihe, wie sie nur bei stärkster Intensität vorkommt.

Was aus diesem Versuch hervorgeht, ist folgendes:

1) die Spektralfarben wirken in ähnlicher Weise wie die farbigen Papiere;

2) die Abnahme des schwarzen Pigments und das Hervortreten einer grünen Färbung stimmt mit der Helligkeitskurve des Spektrums überein, denn wir sehen das Auftreten von dunkeln Puppen gegen die beiden Enden und der grünen Puppen mit der geringsten Menge schwarzen Pigments in der Mitte des Spektrums. Doch sind die dunkelsten im Violett und Ultraviolett und nicht im Rot und Ultrarot, wo die Intensität eine viel geringere war; und das Auftreten der grünen mit der allergeringsten Menge schwarzen Pigments, beziehungsweise auch der hellsten, fällt nicht mit dem von HESS angenommenen Helligkeitsmaximum zusammen, sondern ist im Gelb bis Grüngelb, dort wo auch für die höheren Tiere das Maximum der Helligkeitswirkung liegt.

Nun bezieht sich ja die Ansicht von HESS über das Helligkeitsmaximum dieser Tiere auf deren Gesichtssinn, und vorläufig können wir eigentlich noch nichts mit Bestimmtheit über den Weg des Lichteinflusses bei den Raupen sagen, wir wissen noch nicht, ob durch das Auge oder überhaupt auf dem Weg des Nervensystems der Lichtreiz perzipiert wird (erst spätere Mitteilungen sollen sich damit befassen).

Nach den Versuchen POULTONS durch Lackierung der Augen scheint ja bei den Raupen die Farbenanpassung vom Auge unabhängig zu sein, und POULTON spricht die Vermutung aus, daß die Perzeption durch diffus in der Haut verteilte Nervenendorgane erfolge.

Es erschien trotzdem nicht unangebracht, die von HESS für den Lichtsinn der Raupen vertretene Ansicht auf den Lichteinfluß derselben zu prüfen. HESS selbst scheint Lichtsinn und Lichteinfluß nicht als so ganz verschiedene Dinge zu betrachten: in seinem Abschnitt über den Lichtsinn der Raupen (in WINTERSTEINS Handbuch der vergleichenden Physiologie Bd. IV, S. 644) bespricht er eine Arbeit WOLFGANG OSTWALDS (1908), auf die näher einzugehen ich in der Mitteilung über die Chemie der Puppenfarbtypen Gelegenheit haben werde. Derselbe untersuchte wesentlich an Raupen von POR-THESIA, die auch HESS zu seinen Versuchen betreffs des Lichtsinns der Raupen hauptsächlich verwendet hat, die Lichtempfindlichkeit der

oxydativen Fermente, welche bei der Gewebeatmung eine sehr wichtige Rolle spielen sollen. Er bringt die phototropischen Reaktionen der Tiere in engstem Zusammenhang mit den Vorgängen der allgemeinen Gewebeatmung und erwägt die Möglichkeit, daß die Produktion oxydativer Fermente von der Mitwirkung des Nervensystems, beziehungsweise der lichtempfindlichen Organe abhängig sei. Nun scheint es gerade die Bildung von Fermenten unter den verschiedenen Farbeinwirkungen, welche die Farbenanpassung der Puppen bedingen, wie im folgenden Teile gezeigt werden wird.

Ich wollte hier nur diesen Umstand, daß HESS diese Arbeit von OSTWALD im Anschluß an seine über den Lichtsinn der Raupen gemachten Versuche bespricht, erwähnen, um einem etwaigen Einwand vorzubeugen, daß die HESSsche Ansicht, wobei das Helligkeitsmaximum für diese Gruppe von Tieren im Grün sei, welche nur für den Lichtsinn geäußert wurde, auf keinen Fall von ihm auf die Lichteinwirkung angewendet werden würde.

Nach den Ergebnissen des Spektralversuchs, wobei die grünsten Puppen mit der geringsten Menge schwarzen Pigments im Gelb entstanden, war nun die Frage zu entscheiden, ob diese Wirkung im Gelb eine Wirkung der Helligkeit oder der Wellenlänge sei.

Diese Frage mußte durch eine andere Versuchsanordnung gelöst werden.

3. Versuchsreihe: Versuch mit verschiedenen Intensitäten (Intensitätskala des Weiß und Gelb).

Diese Versuchsreihe galt der Frage, ob bei dem Gelb die Farbe oder die Intensität das Wirksamste sei.

Es galt nun, unter Benutzung des Tageslichtes entsprechend den Versuchen mit den farbigen Kasten eine Versuchsanordnung herzustellen, die eine vollständige Gradation von Intensitäten geben würde, so daß in dieser Skala, wo Weiß den Untergrund bildete, es unter all den erzielten lückenlosen Intensitätsabstufungen von Weiß bis zu einer mittleren Intensität, die dem Dunkelgrau entspräche, unbedingt eine geben müsse, die mit der Intensität des wirksamen Gelb identisch wäre. Es wurde dazu auch eine Skala von verschiedenen Intensitäten des Gelb hergestellt.

Da es bis nun keine Möglichkeit gibt, die Intensitäten verschiedener Farben miteinander direkt zu vergleichen, so mußte auf diese Weise versucht werden, gleiche Intensitäten zu erzielen.

An der Durchkreuzungsstelle der beiden Intensitätenreihen des

Weiß und des Gelb mußten, sollte die Entstehung der grünen Puppen von der Intensität des Gelb abhängen, unbedingt auch in der weißen Umgebung grüne Puppen entstehen, andererseits im Gelb von einer bestimmten Intensität an die Bildung der grünen Puppen unterbleiben.

Sollte hingegen im Verlauf der Intensitätsgradation des Weiß nirgends grüne Puppen, wie sie für Gelb typisch sind, vorkommen und im Kontrollversuch mit Gelb überall, bis zu einem Punkt, wo sehr wenig oder gar kein Licht mehr hinzukam und also die Farbwirkung aufgehoben war, so war es klar erwiesen, daß es sich bei Entstehung der grünen Puppen unter dem Einfluß von Gelb um eine spezielle Farbenwirkung der gelben Strahlen und nicht um eine Intensitätswirkung handle.

Methodik:

Diese Intensitätenskala wurde durch folgende Versuchsanordnung erzielt (»Farbenschlucht« Textfig. 6):

Eine prismatische Kartonschachtel mit einer Basis von 9×7 cm und einer Länge von $81\frac{1}{2}$ cm diente für die weiße Reihe und eine ebensolche Schachtel, nur daß sie bloß 45 cm Länge hatte, für den Versuch mit Gelb. Da man für Gelb keine so hohen Intensitäten erzielen kann, die den höchsten Intensitäten des Weiß gleichkommen, so genügte für Gelb eine beiläufig halb so große Schachtel.

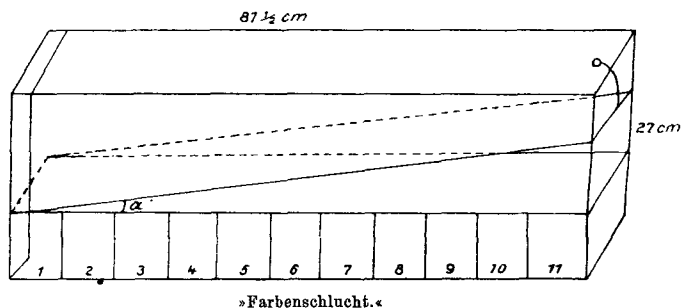
Die eine Längsseite jeder Schachtel wurde an den Längsrändern mit einem Federmesser losgetrennt und an der einen Basis der Schachtel, während die andere ohnehin offen war, eingelenkt gelassen, so daß sie sich auf- und abbewegen ließ und einen beliebigen großen Winkel zur Schachtel bilden konnte. Ein am Ende der Seite angebrachter Bindfaden, der auf einem Reißnagel am Rande der oberen Seite eines die Schachtel umgebenden Kartons in einer beliebigen Höhe angebunden werden konnte, diente als Befestigung dieser beweglichen Seite. Alle Seiten wurden innen mit dem entsprechenden Papier überzogen; für die lange Schachtel weiß, für die kürzere gelb, und zwar mit demselben Papier, wie es auch in der 1. Versuchsreihe verwendet worden war.

Um die Schachtel eng anschließend wurde ein dreiteilig scharf abgebogener Karton gegeben, dessen mittlere Seite genau die Breite der Schachtel, dessen zwei seitliche, den vertikalen Seiten der Schachtel außen ganz dicht angepreßt, eine Höhe von 27 cm hatten. Die Länge entsprach der Länge der Schachtel, und diese wurde am rückwärt-

tigen Ende durch einen darauf passenden Kartondeckel verschlossen, so daß nirgends Licht eindringen konnte, als bloß von vorne. Es wurde überdies bei der Aufstellung des Versuchs, um ganz sicher zu sein, daß kein Licht von den Seiten infolge undichten Abschlusses eindringe, der Karton mit Reißnägeln und Klammern an die Schachtel befestigt und durch schwere Gegenstände angepreßt.

Die einfallenden Lichtstrahlen mußten, um immer tiefer in die Schachtel zu gelangen, eine wiederholte Reflexion an den Wänden erleiden, wobei vom schiefen Deckel die meisten wieder nach außen zurückgeworfen wurden; es war daher durch diese Einrichtung eine allmählich abnehmende Helligkeit erzielt.

Fig. 6.



Die verpuppungsreifen Raupen wurden in die beim Spektralversuch erwähnten kleinen prismatischen Glaskästchen gegeben, wie man sie zum Färben der Schnitte benutzt.

In jedes Kästchen gab ich 5 Raupen und etikettierte die Kästchen in der Reihenfolge, wie ich sie in die Schachtel gab, das heißt von rückwärts, mit Nummer 1 beginnend, nach vorne zu. Die Kästchen wurden sodann mit der größten Fläche als Basis, die mit Musselin bedeckte Öffnung zur rechten Seite, in die hergerichteten Apparate geschoben, wo sie gerade gut hineinpaßten. In der weißen Schachtel hatten 11 solcher Kästchen Platz, in der gelben 6 (Taf. IX Fig. 3). Der Musselin der für die gelbe Schachtel bestimmten Kästchen wurde mit einem gelben Farbstift überstrichen, da kein gelber Musselin zu bekommen war, damit nicht vom Musselin weißes Licht reflektiert wurde, da ja als einfallendes Licht in beiden Fällen diffuses Tageslicht diente.

Die beiden so hergerichteten Apparate wurden nebeneinander in einem Gang gegenüber einem Oberlicht aufgestellt. Ich richtete den Winkel des weißen so, daß eine sichtbar abnehmende Helligkeit er-

zielt wurde, und den Winkel der gelben Schachtel, die ja kürzer war, ebenfalls so, daß ich die abnehmende Helligkeit bemerkte und am Ende beim letzten Kasten den Eindruck gleicher Helligkeit wie am Ende des weißen hatte.

Die so eingestellten Winkel der beweglichen Kartonzunge mit der oberen Fläche der in der Schachtel angeordneten Glaskästchen α waren für die weiße Schachtel $4^{\circ}20'$ und für die gelbe 2° .

Dieser Versuch wurde am Mittwoch, den 22. IX. zwischen 12 und 1^h mittags aufgestellt. Es kamen 55 Raupen in den weißen Kasten (11 Kästchen zu je 5 Raupen) und 30 in den gelben (5 Kästchen zu je 5 Raupen). In beiden Versuchen haben sich alle ganz genau in gleicher Anordnung an der oberen Glaswand verpuppt.

Nach Abschluß aller Versuche (da ich früher nicht dazu kam) habe ich am 3. XII., um eine Darstellung der relativen Helligkeitsabnahme bei dieser Versuchsanordnung zu erhalten, dieselbe durch in die beiden Schachteln hineingeschobenes Bunsen-Eder- (Wiesner-) Papier, das ich mehrere Tage darin ließ und dann 10 Min. in Fixiernatron entwickelte, gleichzeitig gemessen. Dabei wurden aber die Glaskästchen entfernt, sonst aber die Apparate unter ganz denselben Bedingungen wie beim Versuch belassen. Das Ergebnis war sehr befriedigend: während der den vordersten Kästchen entsprechende Teil ganz geschwärzt ist, ist dann eine Abnahme zu sehen und der dem rückwärtigen Kästchen entsprechende ist überhaupt nicht geschwärzt, also scheint sehr wenig Licht bis dorthin gedrungen zu sein. Vorne außerhalb der Schachtel zeigt das Papier den dunkelsten Ton, es ist die Intensität, wie sie im weißen und gelben Kasten bei der 1. Versuchsreihe herrschte. Die den vordersten Kästchen Nr. 11 aus der weißen Schachtel und Nr. 6 aus der gelben entsprechende Stelle des Papiers zeigt die gleiche Schwärzung am Anfang, doch ist der Abfall innerhalb dieses Kästchens im Gelb rascher als im Weiß. In der weißen Schachtel ist der Abfall so, daß vom Kästchen Nr. 6, wo noch eine sehr geringe Schwärzung ist, bis Nr. 1 überhaupt keine Schwärzung mehr zu sehen ist. Bei Gelb ist der Abfall noch rascher. An den Enden bei der Abteilung Nr. 1 ist die gleiche Intensität in beiden Schachteln. Ebenso stimmt auch die Mitte in dem Schwärzungsgrad überein: Abteilung Nr. 3 der gelben Schachtel stimmt mit Nr. 6 der weißen überein.

Um nun die relativen Intensitäten, die in den einzelnen Kästchen der beiden Intensitätsgradationen des Weiß und des Gelb herrschten, berechnen zu können, mußte mit einer konstanten Licht-

quelle von bekannter Intensität eine Vergleichsskala hergestellt werden.

Dank der bekannten Tatsache, daß die Papierschwärzung in einem geraden Verhältnis zur Belichtungszeit und in einem umgekehrten Verhältnis zum Quadrate der Entfernung steht, konnte man verschiedene Grade von Papierschwärzungen durch Belichtung in verschiedenen Zeiten herstellen und mit den in der Versuchsordnung vorkommenden Intensitäten vergleichen und an Stelle derselben die entsprechenden Zeiten setzen. Daraus war es dann leicht die relativen Intensitäten zu berechnen.

Es wurde hierzu eine 200-Kerzen-Azo-Osram-Metallfadenlampe verwendet und in einer bestimmten Entfernung (30 cm) quer davor ein Wiesnerpapierstreifen, der in Zentimeter geteilt war, aufgestellt. Der Papierstreifen wurde in bestimmten Zeitintervallen um eine Abteilung verschoben, die in eine schwarze Papierscheide verschwand und der weiteren Lichtwirkung entzogen wurde. Die erste dem Licht ausgesetzte Abteilung war 25 Min. belichtet worden, die anderen wurden in Intervallen von je 10 Min. verschoben.

Eine zweite Skala wurde für die Grade bis zu der der Belichtung von 25 Min. entsprechenden Schwärzung hergestellt, und zwar mit Intervallen von 5 zu 5 Min., bis zu 60 Min. (Taf. X Fig. 2).

Es wurden sodann in die beim Intensitätenversuch verwendeten Schachteln unter Beibehaltung der Versuchsanordnung und derselben Neigungswinkel Wiesnerpapierstreifen hineingeschoben und dem Lichte der 200kerzigen Lampe exponiert.

Um den Lichtverhältnissen des Versuches nahezukommen, wurde vor den Schachteln in einer Entfernung von 20 cm unter der Lampe eine weiße Kartonwand aufgestellt, so daß das Licht von der über den Schachteln in einer Höhe von 47 cm angebrachten Lampe zuerst auf die weiße Kartonwand fiel und von da in die Öffnungen der Schachteln reflektiert wurde. Die Belichtung dauerte 11 Stunden.

Man sieht auf Tafel X das Resultat dieser Bestimmung der relativen Lichtintensitäten durch die Papierschwärzung, sowie auch die durch die kleine schematische Abbildung dargestellte Versuchsanordnung.

Das Resultat ist dasselbe wie bei der ersten Bestimmung bei diffusem Tageslicht. Die vordersten Kästchen Nr. 11 der weißen und Nr. 6 der gelben Schachtel zeigen gleiche Schwärzung, nur beim Gelb gegen Ende des vordersten Kästchens eine etwas größere Abnahme. Die Enden stimmen ganz genau überein, indem sie ganz unbelichtet

sind. Ebenso die mittleren Abteilungen Nr. 3 des gelben und Nr. 6 des weißen Versuchskastens.

Zur Bestimmung der relativen Lichtintensitäten der verschiedenen Abteilungen dieser beiden Versuchskasten wurden alsdann die Töne dieser Abteilungen mit den früher zu diesem Zwecke hergestellten Intensitätenskalen verglichen und die entsprechenden Zeiten als Intensitäten eingesetzt.

Im weißen Versuchskasten stimmt:

Kästchen Nr. 1 mit der Belichtungszeit von 0 oder 1 Min. überein

- 3	-	5	-
- 6	-	10	-
- 7	-	15	-
- 8	-	25	-
- 9	-	35	-
- 10	-	55	-
- 11	-	195—205	-

Im Versuchskasten mit gelber Auskleidung:

Kästchen Nr. 1	0—1 Min.
- 3	10 -
- 4	15 -
- 5	35 -
- 6	195—205 - (200).

Die relativen Intensitäten wurden gewonnen, indem die höchste Intensität, die der vorderen Abteilungen, gleich 1 gerechnet wurde, $\left(\frac{200}{200} = 1\right)$, und somit die anderen Werte Fraktionen von 1 darstellen.

Auf diese Weise haben wir folgende relativen Intensitäten erhalten:

A) für die Schachtel mit weißer Auskleidung:

Kästchen Nr. 1	1:200 = 0,005
- 3	5:200 = 0,025
- 6	10:200 = 0,05
- 7	15:200 = 0,07
- 8	25:200 = 0,125
- 9	35:200 = 0,175
- 10	55:200 = 0,275
- 11	200:200 = 1

B) für die gelbe Schachtel:

Nr. 1	$1:200 = 0,005$
- 3	$10:200 = 0,05$
- 4	$15:200 = 0,07$
- 5	$35:200 = 0,175$
- 6	$200:200 = 1$

Wir sehen bei Betrachtung dieser Werte deutlich den Abfall: vorne haben wir die gleiche Intensität, die Enden sind ebenfalls gleich, doch ist der Abfall bei Gelb rascher als bei Weiß. Das dem vordersten Kästchen nächstgelegene Kästchen Nr. 5 aus der gelben Schachtel entspricht dem Nr. 9 aus Weiß. Die Abteilungen 5, 4, 3, 2 und 1 der weißen Schachtel und 2 und 1 der gelben sind fast gar nicht mehr belichtet und zeigen so geringe Unterschiede, daß sie sehr schwer mit der Vergleichsskala verglichen werden konnten. Die Werte für die dazwischen liegenden Kästchen 5, 4 und 2 für Weiß und 2 für Gelb könnten aber durch Interpolation leicht ausgerechnet werden.

Ergebnisse der 3. Versuchsreihe (Intensitätenversuch).

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in der Tabelle G zusammengestellt, woraus man am besten die verschiedene Wirkung des Weiß und des Gelb ersehen kann.

Im Weiß sind bei allen Lichtintensitäten, die von einer dem weißen Kasten der 1. Versuchsreihe beinahe gleichen Intensität beginnen, denn so groß wie im weißen Kasten war die Intensität selbst im vordersten Kästchen nicht, bis zu einer dem Grau entsprechenden Intensität, die für den weißen beziehungsweise grauen Kasten charakteristischen Puppen entstanden, also helle und mittlere. Es treten aber in keiner Intensität des Weiß grüne Puppen auf.

Betrachten wir dagegen die in allen Intensitäten des Gelb gebildeten Puppen (vgl. Tabelle), so sehen wir durchweg grüne Puppen, wie sie für den gelben Kasten charakteristisch sind, auftreten; wir sehen nirgends ein Aufhören der Wirkung und eine Annäherung zu den weißen.

Auf Tafel VIII Fig. 19—26 sind die Puppen aus einigen Intensitäten dieser Versuchsreihe dargestellt, und zwar von den auf Gelb verpuppten (Fig. 19—21) aus 3 Intensitäten, die des vordersten Kästchens (Fig. 19) mit der größten Intensität, des mittleren Kästchens Nr. 3 (Fig. 20) und des ganz rückwärts gelegenen Nr. 1 (Fig. 21), wo schon eine sehr geringe Intensität herrschte. Fig. 22—26 stellen

Puppen aus einigen Intensitäten des Weiß dar, und zwar des vordersten Kästchens Nr. 11, sodann Nr. 10, Nr. 6, Nr. 3 und Nr. 1.

Die oberen Farbmarken stellen die diesen Kästchen entsprechenden Helligkeitsgrade dar, wobei, um die Darstellung anschaulicher zu machen, der hellste Ton die größte Lichtintensität repräsentiert, der dunkelste die schwächste Lichtintensität. Über die Art, wie diese Grade mit den in der Methodik dieses Versuches besprochenen relativen Intensitäten zusammenhängen und aus ihnen gewonnen wurden, s. Näheres in der Tafelerklärung.

Betrachten wir diese Reihe von Puppen auf der Tafel, so muß uns gleich die Scheidung zwischen den beiden Partien von Puppen des Gelb und des Weiß auffallen: auf der einen Seite sind alle grün (gelbe Abteilung), auf der anderen (weiße Abteilung) alle dem anderen Typus angehörend: helle mit schwarzer Fleckenzeichnung. Nur eine etwas grünliche im Kästchen Nr. 3 der weißen Schachtel, die als eine halbgrüne bezeichnet werden könnte oder (17) POULTONS, wobei die obere Seite grünlich, die untere undurchsichtig weiß ist und mit weniger schwarzem Pigment als bei der normalen Fleckenzeichnung, scheint eine Ausnahme zu bilden, doch kommen solche Puppen sporadisch auch im schwarzen und grauen Kasten vor.

Gehen wir ins Detail und vergleichen die einzelnen annähernd gleichen Intensitäten entsprechenden Partien der gelben und weißen Abteilung, so zum Beispiel die Puppen der beiden vordersten Kästchen Nr. 11 der weißen Abteilung (Fig. 22) und Nr. 6 der gelben Abteilung (Fig. 19). Ferner Fig. 20 mit Fig. 24, die in beiden Versuchen die mittleren Kästchen Nr. 3 der gelben und Nr. 6 der weißen darstellen und auch dieselben relativen Intensitäten zeigen, und die am wenigsten belichteten letzten Abteilungen Fig. 21 und Fig. 26, so sieht man keine Ähnlichkeit zwischen ihnen, sondern man sieht deutlich, wie sich auf der einen Seite die Wirkung des Gelb in dem Mangel an schwarzem Pigment und dem Hervortreten einer grünen Färbung selbst bei der schwächsten Intensität geltend macht, im Gegensatz zu den Puppen aus der weißen Abteilung, die nicht grün sind und schwarz pigmentiert. Auch für die dazwischenliegenden, auf der Tafel nicht dargestellten Intensitäten ist genau dasselbe zu konstatieren.

Sollte die Wirkung im Gelb denn doch auf der Intensität beruhen, so müßte die im Apparat erzielte ganze Intensitätenreihe des Gelb in keinem Punkte mit den Intensitäten des Weiß zusammenreffen, man müßte daher notgedrungen annehmen, daß sie vor dem

Weiß oder hinter der weißen Reihe gelegen ist. Eine solche Annahme erscheint aber ausgeschlossen, da nach den früher mitgeteilten Versuchen höhere Intensitäten von Weiß den 1. Typus, niedrigere den 3. Typus der Puppenfärbung hervorbringen, welche Farbtypen noch mehr als der in dem Skalenversuch mit Weiß auftretende 2. Typus von dem grünen 4. Typus abweichen. Demnach bleibt nur der Schluß übrig, daß wir es in der Wirkung des Gelb auf das Auftreten der grünen Puppen mit einer spezifischen Farbenwirkung und nicht mit einer Wirkung der Helligkeit zu tun haben können.

Dritter Teil: Chemie der Farbtypen.

VII. Hauptpunkte des Programms dieser Untersuchungen.

Wird durch Anstechen einer Puppe das Blut (Hämolymphe), welches eine klare gelbgrüne bis grüne Farbe hat, abgetropft, so schwärzt es sich nach dem Verlassen des Körpers bei Luftzutritt. Diese als Melanose bezeichnete Eigenschaft des Insektenblutes beruht, wie v. FÜRTH und SCHNEIDER (1902) an Puppen von *Deilephila elpenor* und *euphorbiae* feststellen konnten, auf der Wirkung eines oxydativen Fermentes, einer Tyrosinase auf ein Chromogen. Zur Abtrennung der Tyrosinase von dem Chromogen und den kristalloiden Bestandteilen des Insektenblutes bediente sich v. FÜRTH folgenden Verfahrens: die durch Anstechen der Puppen erhaltene frische Blutmenge wurde durch Halbsättigung mit Ammonsulfat gefällt, der Niederschlag abfiltriert, mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen, dann scharf zwischen Filtrierpapier abgepreßt und schließlich in 0,05% Soda gelöst. Die so erhaltene Flüssigkeit erwies sich reich an Tyrosinase. Wurde von dieser Fermentlösung zu einer wäßrigen Tyrosinlösung zugesetzt, so färbte sich die Flüssigkeit erst violett, dann schwarz und schließlich schieden sich dunkle Flocken ab. Dieses Umwandlungsprodukt des Tyrosins ist nach v. FÜRTH den Melaninen beizuzählen, da es sich durch seine physikalischen Eigenschaften, Lösungsverhältnisse, Unlöslichkeit selbst in konzentrierten Säuren und Alkalien, insbesondere aber durch die Fähigkeit, bei der Kalischmelze skatolartig riechende Substanzen zu liefern, genau so wie die als Melanine bekannten Pigmente der Haut verhält. Ähnliche Produkte hat auch DUCCESCHI (1901) durch vorsichtige Oxydation von Tyrosin mit chloresaurom Kali in salzsaurer Lösung erhalten. Nach diesen und anderen Beobachtungen, wie denen von PRZIBRAM, der den Tyrosinasenachweis beim Tintenbeutel von *Sepia* erbrachte, ist die Vermutung durch

v. FÜRTH ausgesprochen worden, die Bildung der melanotischen Pigmente beruhe auf einer fermentativen Wirkung einer Tyrosinase auf ein Chromogen unter dem Einfluß von Sauerstoff.

Infolge dieses Zusammenhanges schien es wichtig zu untersuchen, ob eine Tyrosinase auch im Blute der *Pieris*-Puppen vorhanden sei und ob sich Verschiedenheiten in der Menge und dem Grade der Wirksamkeit derselben bei den verschiedenen Puppenfarbtypen zeigen würden, die im Zusammenhange mit der gebildeten Pigmentmenge stünden. In diesem Falle sollte auch untersucht werden, ob nicht durch Anwendung verschiedener Faktoren eine Umwandlung »in vitro« der einen Tyrosinase in die andere möglich wäre.

Was die grüne Färbung anbelangt, so wird sie bei Insekten vielfach auf Chlorophyll zurückgeführt, namentlich von POULTON, aber auch noch von vielen anderen. (Vgl. Literatur bei v. FÜRTH, Physiologische Chemie der niederen Tiere 1903, S. 493 u. ff., und PRZIBRAM 1913.) PRZIBRAM (1913) stellte durch Reaktionen (Säurereaktionen, Kochen mit Kalilauge) sowie auch durch das spektroskopische Verhalten der Farbstofflösungen einer ganzen Reihe von Insekten und auch von höheren Tieren (*Hyla*, *Rana*) fest, daß das »Tiergrün«, wie er es nannte, sich ganz anders verhalte als das Chlorophyll, andererseits aber auch die Lipochromreaktion (mit konzentrierter Schwefelsäure charakteristische Blaufärbung) zum Unterschiede vom grünen Pigment des Tieres *Bonellia viridis* nicht gebe.

Es war daher sehr naheliegend, auch den grünen Farbstoff der Puppen von *Pieris brassicae* daraufhin zu prüfen und dieselben Reaktionen anzuwenden, sowie auch das spektroskopische Verhalten zu untersuchen.

Dies sind die Hauptumrisse des Programms der hier im nachfolgenden aufgezählten Untersuchungen über die Chemie der Farbtypen der Puppen von *Pieris brassicae*. Die Untersuchungen gliedern sich in drei Abschnitte, von denen der erste allgemein orientierende Reaktionen über die Stoffe der Weißlingspuppe enthält. Ein folgender behandelt sodann die chemische Unterscheidung der vier Hauptfarbtypen, und schließlich sind im letzten Versuche mitgeteilt, welche eine Umwandlung der Extrakte aus den Hauptfarbtypen ineinander ergeben haben.

Jeder der Abschnitte behandelt immer die zwei Seiten der Frage, nämlich betreffend den schwarzen Farbstoff respektive das ihn bedingende Ferment und Chromogen und andererseits den grünen Farbstoff.

VIII. Methodik.

Die uns interessierenden Teile der Puppe: 1. das Blut, wegen seiner Farbe und der mutmaßlichen Beziehungen zu den auftretenden Puppenfärbungen, und 2. die Hüllen wegen des in denselben abgelagerten Pigments, wurden getrennt verarbeitet. Es ergab sich daraus, daß auch die inneren Organe eine getrennte Bearbeitung erfordern.

Das Blut. Durch Anstechen der Puppen an der Flügelscheide und vorsichtiges Drücken wurde das Blut, das in klaren, gelbgrünen Tropfen herausfloß, in eine graduierte Epruvette aufgefangen und sofort weiter verarbeitet, entweder nach der in der Einleitung angeführten Methode von O. v. FÜRTH zur Gewinnung der Tyrosinase oder in anderer Weise, wie im einzelnen bei den betreffenden Versuchen angegeben werden wird. Jede Puppe ergab gewöhnlich 3 reine Tropfen. Bei den als Stichproben bezeichneten Versuchen, wo keine Verarbeitung »en masse« erfolgte, sondern einzelne Blutropfen einer jeden Puppe zu Reaktionen verwendet wurden, wurden dieselben direkt aus der Puppe in die Epruvette mit der betreffenden Flüssigkeit aufgefangen.

Nach der Blutentnahme und sofortigen Verarbeitung desselben wurden die Puppen auf einer Glasplatte aufgemacht, mit einem scharfkantigen Glasstab die inneren Teile ausgekratzt und auf diese Weise die inneren Organe von den Hüllen, so gut es eben auf diesem Wege ging, getrennt. Nur beim 1. Versuch (s. Tabelle 1) sind die Hüllen von den Organen nicht getrennt, sondern, wie in der Tabelle angegeben ist, die Puppen nach Blutentnahme zerkleinert und mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Jeder der beiden Teile wurde in einem Pulvergläschen mit einer entsprechenden Menge 0,5% physiologischer Kochsalzlösung übergossen, und zwar wurden die Organe von je 14 Puppen mit 5 cm³, die Hüllen mit 7 cm³ versetzt und bis zum nächsten Tage stehen gelassen, um das noch darin befindliche Blut sowie auch Plasma, welche sich in der physiologischen Kochsalzlösung lösen, auf diese Weise zu entfernen. Am nächsten Tage wurde abfiltriert. Die Filtrate wurden zu Reaktionen verwendet, entweder gleich oder nach längerem Stehen. Die Rückstände, mit den entsprechenden Mengen Äther versetzt, wobei sich der Äther sofort schön gelbgrün färbte, ergaben Auszüge des grünen Farbstoffs, mit welchen die Reaktionen ausgeführt wurden und welche auch zu den spektroskopischen Untersuchungen verwendet wurden. Zu den spektro-

skopischen Untersuchungen dienten auch noch Ätherauszüge aus ganzen Puppen sowie auch solchen nach Entnahme einiger Tropfen Blutes, die aber nicht weiter behandelt wurden, sondern ganz in die entsprechende Menge des Lösungsmittels hineingeworfen wurden, ferner analoge Auszüge mit Alkohol und Petroläther.

Auch von der Futterpflanze der Larve von *Pieris brassicae*, dem Kohl, wurden analoge Auszüge mit physiologischer Kochsalzlösung, Äther, Alkohol und Petroläther hergestellt, indem die Blätter erst gereinigt, dann zerkleinert mit dem Lösungsmittel versetzt wurden. Bei dem Extrakte mit physiologischer Kochsalzlösung wurden die Blätter zuerst mit Quarzsand zerrieben.

IX. Die Stoffe der Weißlingspuppe.

1. Das Blut.

Wir haben im Puppenblute folgende Stoffe zu betrachten: a) das Eiweiß, b) Fermente, c) ein durch Oxydation die Melanose bedingendes Chromogen und d) den grünen Farbstoff.

1. Versuch.

a) Eiweiß, Gerinnung. Beim Erwärmen im Wasserbade ist nach Verdünnung des Blutes mit physiologischer Kochsalzlösung bei 63°C eine beginnende Trübung wahrzunehmen, der Koagulationspunkt fürs Blut wurde zwischen 69° und 70° C festgestellt, wobei eine flockige gelbe Masse sich absetzte, während die darüber befindliche Flüssigkeit farblos wurde. Die Farbe des Koagulums konnte durch Äther nicht ausgezogen werden (vgl. Tabelle 1, Reihe 11).

Bei Zusatz von konzentrierten Säuren, und zwar Schwefelsäure oder Salzsäure (je 1 Tropfen auf 1 cm³ eines mit physiologischer Kochsalzlösung sechzehnfach verdünnten Blutes, vgl. Tab. 1) entsteht ein gelblicher Niederschlag und die Flüssigkeit ist ebenfalls gelb gefärbt. Zusatz von Eisessig ergab keine Fällung (die Probe wurde etwas mehr rötlichgelb), wohl deshalb, weil im Verhältnis zur geringen Konzentration der Eiweißlösung stets Säure im Überschuß dazugegeben war und sich der spärliche Niederschlag wieder löste.

Die Fällung des Eiweißes des Blutes durch Ätherzusatz habe ich nicht gemacht, dieselbe wird unter Anderen von GEYER (1913) angegeben. Es bildet sich nach ihm ein dickes Koagulum, welches das eigentliche Grün einschließt, während sich der Äther leuchtend gelbgrün färbt. Dagegen habe ich gelegentlich eines Versuches, das Chromogen aus dem Blute zu gewinnen, die Fällung des Eiweißes

durch Zusatz von gleicher Menge Alkohol beobachtet, wobei eine Schichtung erfolgt war: zu unterst ein dunkler Niederschlag deutete auf gebildetes Melanin hin, darüber ein gelblicher Niederschlag, das Eiweiß. Die darüber befindliche Flüssigkeitsschicht zeigte wieder Melaninbildung und über dem Ganzen eine klare, grünlichgelb gefärbte Flüssigkeit gelagert.

Durch Zusatz von Alkalien, Ammoniak oder Kalilauge wurde die Flüssigkeit deutlich rötlicher. (Vgl. Tab. 1, 1. Versuch, Reihe 7 und 10.)

Ich will hier nicht auf die sonstigen Gerinnungserscheinungen des Eiweißes im Blute, die sich bei den verschiedenen Verarbeitungsarten, so bei der Tyrosinasebereitung durch Ammonsulfat u. a. ergeben haben, eingehen, da dieselben wie ja auch die oben angeführten keine Reaktionen sind, die nur den *Pieris*-Puppen zukommen, sondern allgemeinere Bluteiweißreaktionen sind und die ich eigentlich nur der Vollständigkeit halber hier erwähnt habe.

b) Tyrosinase. Wie bereits eingangs bemerkt wurde, zeigt das Blut der Puppen von *Pieris brassicae* die Eigenschaft, sich nach dem Verlassen des Körpers an der Luft zu schwärzen. An derselben Stelle wurde auch ausgeführt, worauf diese Verfärbung des Insektenblutes zurückzuführen sei, nämlich auf die Gegenwart eines oxydativen Enzyms, einer Tyrosinase, so genannt, weil es imstande ist, Tyrosin unter Bildung eines melaninartigen Produktes zu oxydieren. Dieses Enzym bewirkt die Oxydation eines ebenfalls im Blute vorhandenen Chromogens. Nach v. FÜRTH (Gewebechemie S. 536) vermag die Tyrosinase außer Tyrosin auch Brenzkatechin, Suprarenin und Homogentisinsäure zu oxydieren, nicht aber das Phenylalanin, Indol und Prolin. Ihre Wirkung wird verstärkt durch Wasserstoff-superoxyd, jedoch nur bei geringen Mengen derselben, während bei größeren Mengen Hemmung erfolgte, ferner durch Eisensulfat und kolloidale Edelmetalle.

Es mußte daher ein Versuch angestellt werden, der den Nachweis einer Tyrosinase im Blute der Weißlingspuppe erbringen sollte.

2. Versuch.

Zu diesem Zwecke wurde das Blut von 20 mittleren Puppen aus dem Freien durch Anstich an der Flügelscheide in eine in zehntel ccm graduierte Epruvette aufgefangen; es ergaben sich 0,7 cm³ Blut, die nach der FÜRTHschen Methode zur Abtrennung der Tyrosinase vom Chromogen verarbeitet wurden, das heißt, es wurde ebensoviel

gesättigte Ammonsulfatlösung dazugegeben und der gebildete Niederschlag abfiltriert. Dadurch erhält man aus dem Blute zwei Partien, den Rückstand a, der tyrosinasereich sein soll, und das Filtrat a'. Der Rückstand wurde sodann mit der gleichen Menge halbgesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen, der auf dem Filter befindliche Niederschlag mittels eines Glasstabes abgenommen und in 0,7 cm³ 0,05% NaOH gelöst, also in einer der ursprünglichen Blutmenge gleichkommenden Menge Sodalösung. (Ich will fernerhin eine solche Menge der Kürze halber als adäquate Menge bezeichnen.)

Diese beiden Partien: der in Soda gelöste Blutrückstand a und das Filtrat a' wurden nun auf Tyrosinase geprüft. Diese Versuchsreihe ist in der Tabelle 2 dargestellt. Es wurden zwei Reihen aufgestellt, die eine, wobei Tyrosin (je 1 cm³ auf einen Tropfen Fermentlösung) als Indikator benutzt wurde, die zweite Reihe mit Indol, und folgende Proben, wie sie in der Tabelle 2 ersichtlich sind, aufgestellt, die eine Hälfte mit Fermentlösung, die andere als Kontrolle mit physiologischer Kochsalzlösung. Die Aufstellung erfolgte am 12. XI. 5^h 30 abends und die Kontrolle am nächsten Tage um 11^h vormittags.

Bei der Probe, die Tyrosin und 1 Tropfen der a-Flüssigkeit enthielt, war am nächsten Tage eine starke Schwärzung zu sehen (Rubrik I, 5), dagegen eine sehr schwache Schwärzung bei der a'-Flüssigkeit. Die Probe mit a' wurde zwar um einen Tag später aufgestellt, doch hat dieser Unterschied in der Zeit nichts zu bedeuten, denn es wurde zur Kontrolle an demselben Tage auch eine Probe mit einem Tropfen der Flüssigkeit a noch einmal aufgestellt, die Schwärzung setzte sogar noch rascher ein, was auf eine Erhöhung der Wirksamkeit des Fermentes beim Stehen an der Luft hinweisen würde.

Im Gegensatz dazu bleibt das Indol unverändert, was ja ein charakteristisches Verhalten sein soll.

Es wurden auch noch in einer der Probe 5 analogen Weise zwei Proben aufgestellt, die eine mit 1 cm³ Tyrosin, die andere mit 1 cm³ Indol, und anstatt der Fermentlösung 1 Tropfen Ammonsulfat zugesetzt, aber es zeigte sich am nächsten Tage keine Schwärzung, also enthält das Blut die wirksame Substanz.

Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd und Eisensulfat, wobei je ein Tropfen davon auf einen Tropfen Ferment kam, verhinderte ganz die Schwärzung, was erklärlich ist, da offenbar im Verhältnis zum Ferment zu große Mengen davon zugesetzt worden waren, was nach v. FÜRTH die Wirkung hemmt. Dagegen würde vielleicht die Bildung von kleinen Bläschen beim Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd

(Rubrik I, 6 und II, 6) auf eine Zersetzung desselben hindeuten, was auf die Gegenwart einer Katalase, eines Fermentes, von dem man freilich nichts weiß, als daß es Wasserstoffsuperoxyd zersetzt, schließen lassen würde. Nach Wo. OSTWALD (1907), der verschiedene Insekten, aber vornehmlich Rupchen von *Porthesia chrysorrhoea* untersucht hat, sind in den Extrakten und Körperflüssigkeiten der Organismen zwei Enzyme vorhanden, die Wasserstoffsuperoxyd zersetzende Katalase und die guajakblauende Peroxydase. Von dieser letzteren Wirkung konnte ich mich bei meiner Fermentlösung, die Tyrosinase selbst ist ja auch ein oxydierendes Ferment, nicht überzeugen, indem 1 cm³ von einer ganz frischen bis dahin im Dunkeln gehaltenen Guajaklosung nach Zusatz eines Tropfens nach v. FÜRTH bereiteter Tyrosinase ganz unverändert gelb blieb. (S. Tab. 2 die mit III bezeichneten Reihen.) Es dürfte aber hierbei zu berücksichtigen sein, daß ich diese Reaktion nicht in der von OSTWALD angegebenen Art ausführte.

Auf das sehr interessante Abhängigkeitsverhältnis, das OSTWALD zwischen den gebildeten Fermentmengen und den Lichtverhältnissen, sowohl der Intensität als auch der Wellenlänge, gefunden hat, wobei weißes Licht und Violett Katalase zerstörend und Peroxydase fördernd sind, Dunkelheit und gelbes Licht Katalase günstig und Peroxydase zerstörend, das etwas an die von uns gefundenen Beziehungen der Puppenfärbungen zu den Lichtverhältnissen, namentlich aber an die antagonistischen Wirkungen des gelben und violetten Teils des Spektrums in der Ausbildung des dunkeln und des grünen Farbstoffs erinnert, will ich jetzt nicht eingehen und behalte mir dies gelegentlich einer nächsten Mitteilung vor über Belichtungsversuche an den Fermentextrakten von *Pieris brassicae*, wobei ich jedenfalls auch auf den Nachweis auch beim Kohlweiling der von OSTWALD angenommenen Enzyme in einer den OSTWALDSchen Versuchen analogen Verarbeitung zururckkommen werde.

Der hier beschriebene Versuch ergab also das Vorhandensein einer Tyrosinase im Blute von *Pieris brassicae* mit den von v. FÜRTH als charakteristisch angegebenen Eigenschaften, und zwar analog den FURTHschen Angaben in dem durch Ammonsulfat gefällten Teil des Blutes, während im Filtrat wohl auch noch etwas vorhanden ist, aber viel weniger als im Rückstand.

c) Chromogen. Über das Chromogen des Insektenblutes, dessen Oxydation durch die Tyrosinase die Melanose bedingt, gibt v. FÜRTH an, daß es anscheinend der aromatischen Reihe angehöre, aber nicht

gerade Tyrosin sein müsse. Hinsichtlich der Natur des Chromogens stellte er nur so viel fest, daß es weder durch Phosphorwolframsäure noch durch Schwermetallsalze, ammoniakalische Silberlösung oder Bromwasser fällbar und in wasserhaltigem Alkoholäther löslich sei.

Da sich im Laufe der angestellten Versuche, über die weiter unten berichtet wird, interessante Analogien zwischen dem Verhalten des Tyrosins einerseits und des Puppenblutes (Chromogens) andererseits ergeben hatten, so schien es eine wichtige Voraussetzung, sich über die Natur dieses Chromogens näher zu orientieren und zu sehen, ob es Tyrosin oder wenigstens ein der Tyrosingruppe angehörender Körper sei.

3. Versuch: Tyrosinnachweis im Puppenblut.

Nach einer von Herrn Prof. v. FÜRTH freundlichst mitgeteilten Methode zum Nachweise von Tyrosin oder eines der Tyrosingruppe angehörenden Körpers (MILLONSche Reaktion nach Eiweißkoagulation) wurde das Blut von 10 *Pieris*-Puppen in eine graduierte Eprouvette aufgefangen. Es ergaben sich 0,9 cm³. Das Blut wurde in einer gleichen Menge einer 1% wäßrigen Lösung von Kaliummonophosphat (KH₂PO₄) gelöst und im Wasserbade so lange gekocht, bis ein dicker Rückstand unter vollständiger Klärung der Flüssigkeit entstanden war. Der Rückstand wurde in einer gleichen Menge einer 10% wäßrigen Lösung von Sulfosalicylsäure aufgenommen und filtriert. Bei Anwesenheit von Tyrosin oder eines Körpers aus der Tyrosingruppe muß dieses mit dem MILLONSchen Reagens eine rosenrote Färbung geben. Es wurden nun einige Proben mit dem so erhaltenen Filtrat und andererseits als Kontrollversuch mit gleichen Mengen einer Tyrosinlösung aufgestellt und mit dem MILLONSchen Reagens versetzt. (Siehe Näheres bezüglich der Versuchsanordnung in der Tabelle 3.)

Die Tyrosinlösung gab, mit dem MILLONSchen Reagens versetzt, zuerst einen ganz kleinen gelben Niederschlag, dann nach einiger Zeit, etwa 1/2 Stunde—1 Stunde, begann die Flüssigkeit sich rosenrot zu färben. Tyrosinpulver gab mit einem Tropfen MILLONS Reagens sofort eine tiefrote Färbung.

Die in der angegebenen Weise präparierte Blutflüssigkeit ergab bei Zusatz schon eines Tropfens des MILLONSchen Reagens sofort einen starken weißlichen Niederschlag; einen schwächeren gelblich opaleszierenden Niederschlag ergab eine Probe einer verdünnten Lösung des Blutes. Diese wurde erhalten, indem nochmals 0,8 cm³ Sulfosalicylsäure auf dem Eiweißkoagulum durchfiltriert wurde. Auch bei

diesen Proben trat die Rosafärbung bald in der gleichen Weise wie beim Tyrosin auf.

Wir haben also im Puppenblute Tyrosin oder jedenfalls einen der Tyrosingruppe angehörenden Körper, der als Chromogen fungiert.

d) Der grüne Farbstoff des Blutes. Die gelbgrüne bis grüne Farbe des Blutes wird durch einen im Blute gelösten Farbstoff bedingt.

Über diesen grünen Farbstoff des Blutes von pflanzenfressenden Insekten sagt POULTON, er sei akzessorischen Ursprungs, indem er vom Chlorophyll der Nahrung abstamme. Bevor dieses aber in das Blut übergehe, erfahre es einige Veränderungen (Metachlorophyll). Der grüne Farbstoff gelange dann aus dem Blute in die Zellen der Körperoberfläche vieler Raupen, gehe jedoch bei der Verpuppung wieder in das Blut über. Bei manchen Arten soll er dann zur Färbung der Eier dienen und so schließlich in den Körper der jungen Larven gelangen.

Ich könnte hier nur wiederholen, was ich an anderen Stellen über den grünen Farbstoff sage.

Beim Kochen des Blutes verschwindet die grüne Farbe, das gebildete Koagulum erscheint gelb, doch kann daraus der Farbstoff durch Äther nicht ausgezogen werden. Durch Zusatz von Schwefelsäure entsteht ein weißlichgelblicher Niederschlag, die darüber befindliche Flüssigkeit wird gelblich. Alkalien bewirken ein Rötlichwerden des Blutes (vgl. Tab. 1).

Dadurch, daß bei allen diesen Reaktionen das im Blute enthaltene Eiweiß einen mächtigen Niederschlag gibt, der auch den Farbstoff mitreißt, ist es nicht möglich, das Verhalten des Blutfarbstoffes bei dieser Behandlungsart zu prüfen. Auch die Schwierigkeit, ihn durch Äther auszuziehen (GEYER 1912), machte es, daß ich die grüne Farbe des Blutes nicht speziell untersuchte. Jedoch scheint dieselbe mit dem in der Hülle abgelagerten grünen Pigment identisch zu sein, mit demselben genetisch zusammenzuhängen. Deutliche Unterschiede in der Farbe des frischen Blutstropfens bei den grünen Puppen (leuchtend grün) und den nichtgrünen Puppen (mehr gelblichgrün), sowie in dem sonstigen Verhalten desselben deuten darauf hin, daß zwischen der Färbung des Blutes und der Hülle Beziehungen bestehen müssen. Die weiter unten mitgeteilten Versuche und Reaktionen, die grünen Extrakte betreffend, sowie auch auftretende Veränderungen des Blutes dürften sowohl für das eine als auch für das andere Geltung haben.

2. Die inneren Organe.

Die inneren Teile der Puppen wurden immer zuerst in physiologischer Kochsalzlösung gelöst; darin löst sich das noch enthaltene Blut und das Muskeleiweiß. Sodann wurde filtriert. Das Filtrat war etwas trüb, grünlich- bis rötlichgelb und zeigte neutrale Reaktion. Der Koagulationspunkt ist bei 48° — 50° und entspricht wahrscheinlich dem Muskeleiweiß, denn der Muskelkoagulationspunkt liegt bei Insekten zwischen 46° und 55° .

Der rötlichbräunliche Rückstand der Organe löst sich in Äther mit schöner gelbgrüner Farbe, aber es bleibt noch eine in Äther unlösliche bräunliche Substanz zurück.

Auf die Reaktionen sowohl des wäßrigen Filtrates als auch des Ätherauszuges möchte ich erst bei Besprechung der Hüllenextrakte eingehen.

3. Die Hülle.

Die Puppenhülle besteht aus der Hypodermis oder Matrix und aus einer festen Substanz (Cuticula), die von den Zellen der Hypodermis sezerniert wird oder, wie es in neuerer Zeit angenommen wird, auf einer Metamorphose des Zellprotoplasmas beruht.

In der Hülle sind die Farbstoffe eingelagert, und zwar der dunkle Farbstoff und ein gelber Farbstoff, welcher letzterer uns aber weiter nicht beschäftigen wird, da er keine Verschiedenheiten bei den einzelnen Farbtypen zeigt, in der äußersten Schicht, in der Cuticula, und in den Zellen der Hypodermis der grüne Farbstoff.

Es wird dann auch kurz das Seidengespinnst zu erwähnen sein, mittels dessen sich die Raupen vor ihrer Verpuppung fixieren.

a) Die Hüllsubstanz besteht bei allen Insekten aus Chitin, soll jedoch nach GRIFFITH (1892) bei Schmetterlingspuppen (er hat *Pieris*-Arten untersucht) kein Chitin, sondern ein Albuminoid sein, das er Pupin nennt.

Es wird daher vielleicht von Interesse sein, hier einige Reaktionen anzuführen, die ich auf die Puppenhüllen angewendet habe.

Es wurden tote Puppen mit dem Wiegemesser zerkleinert und, um sie von allen übrigen Teilen zu reinigen, zwei Tage in konzentrierter Kalilauge stehen gelassen, sodann in durchströmendem Leitungswasser ausgewaschen, bis dasselbe ganz ungefärbt hindurchströmte, so daß nur die reine Hüllsubstanz und der von dem Alkali ebenfalls unangreifbare dunkle Farbstoff übrig blieb. Das Material wurde in festem Zustande auf einen Objektträger gebracht, etwas mit

Nadel und Pinzette zerrissen und die Chitinreaktionen durch Tropfen-zusatz des Reagens ausgeführt.

Als Vergleichsmaterial dienten Häute von *Sphodromantis bi-oculata*, deren Chitinnatur unzweifelhaft feststeht, und zwar Häute von verschiedenen Stadien: die ersten Häute, die auf dem Kokon zurückbleiben, dann Häute eines halberwachsenen Stadiums und schließlich die abgeworfenen Imaginalhäute, welche der Puppenhülle entsprechen.

Löslichkeitsverhältnisse:

1) Bei Zusatz von kalter konzentrierter Salzsäure lösten sich alle Hautstücke, aber sehr langsam, die Flüssigkeit wurde grüngelb gefärbt.

2) Konzentrierte Schwefelsäure löste sie farblos, rascher zwar als die Salzsäure, aber auch noch ziemlich langsam.

Farbreaktionen:

1) Bei Zusatz eines Tropfens Jodjodkalium wurden sofort alle Hautstücke braunrot gefärbt, der Flüssigkeitstropfen herum gelb. Diese Reaktion war sogar am schönsten bei der Puppenhülle, weil es das dickste Stück war.

2) Je ein Stückchen von den durch Jodjodkalium braungefärbten Hautstücken wurde auf einen zweiten Objektträger gegeben und je ein Tropfen Schwefelsäure dazugesetzt. Sofort trat ein Umschlag in Violett ein und gleichzeitig löste sich auch die Substanz in der Schwefelsäure und sowohl die Flüssigkeit als auch die festen Teile wurden dunkelviolet, beinahe schwarz.

3) Je ein Stückchen der Puppenhülle wie auch von den Sphodromantishäuten wurde mit einem Tropfen blauer Jodstärkelösung versetzt. Derselbe wurde innerhalb kurzer Zeit ganz entfärbt, während ein Kontrolltropfen blauer Jodstärkelösung ohne Chitin unverändert blieb.

Bei allen ausgeführten Reaktionen, die ja doch die für das Chitin charakteristischen Reaktionen sind, war kein Unterschied zwischen dem Verhalten der Puppenhülle und der Häute von *Sphodromantis* zu verzeichnen. Es würde demnach kein Grund bestehen, die Puppenhüllsubstanz als eine von Chitin verschiedene Substanz zu betrachten.

b) Der dunkle Farbstoff (Melanin). Unter »Melanine« werden zusammengefaßt: schwarze oder braunschwarze Pigmente, die unlöslich in Wasser, Alkohol, Äther, verdünnten Alkalien und kochender starker Salzsäure sind. Beim Schmelzen mit Ätznatron geben sie einen indol- oder skatolartigen Geruch.

Ich will über die Natur des dunkeln Farbstoffs, welcher in der Puppenhülle um die Porenkanälchen und in dem Netzwerk von anastomosierenden horizontal gelagerten Kanälen eingelagert ist, hier nicht viel Worte verlieren. Zweifellos handelt es sich um Melanin, wie es bei anderen Insekten festgestellt wurde. Die Unlöslichkeit und Unangreifbarkeit bei Behandlung mit verschiedenen starken Reagenzien, Säuren und Alkalien (s. zum Beispiel die Behandlung bei den ausgeführten Chitinreaktionen) möge hier als Beweis gelten.

Die Kalischmelze wurde aus technischen Gründen an den *Pieris*-Puppen noch nicht ausgeführt, dürfte aber so ziemlich gegenstandslos sein; die Melaninnatur kann nach v. FÜRTHS Versuchen an anderen Schmetterlingsarten der von ihm vorgenommenen Identifizierung des melanotischen Pigments mit dem künstlichen durch Oxydierung des Tyrosins mittels Puppenblut-Tyrosinase gewonnenen dunkeln Produkte als ziemlich sicher gelten.

Nur eines möchte ich hier bezüglich der Löslichkeitsverhältnisse bemerken: das durch Hinzusetzen von Tyrosinase des Blutes von *Pieris brassicae* zum Tyrosin gewonnene, schwarzbraune Produkt konnte ich nach gänzlichem Verdunsten des Wassers, wobei nur ein dunkles Produkt an den Wänden der Eprouvette blieb, in konzentrierter Kalilauge lösen. Es löste sich darin mit orangeroter Farbe. Es scheint also das, was sich aus dem Blute bildet, noch nicht das eigentliche Melanin zu sein, sondern eine Vorstufe desselben, die sich erst in der Hülle zum echten Melanin umwandelt. Diese Vorstufe stimmt mit der Durchgangsstufe zu Melanin überein, die von PRZIBRAM beim Tintenbeutel von *Sepia* gefunden wurde und die sich ebenfalls mit orangeroter Farbe löste. Ich konnte auch an frischen Puppen, die kaum die Raupenhaut abgestreift hatten, oder selbst an Raupen kurz nach einer Häutung das Auftreten der Zeichnung verfolgen, zuerst in einer roten Farbe, die dann schließlich in Schwarz überging. Das ist wohl nichts anderes als eine Vorstufe des Melanins, wie wir sie auch in der Eprouvette bei der Verfärbung des Tyrosins beobachten konnten. PETERSEN (1891) fand, daß unter der Raupenhaut, die er durch Behandlung der Raupen mit kochendem Wasser entfernte, die in Bildung begriffene Puppenhaut genau die Zeichnungen der abgestreiften Raupenhaut zeige, und zwar erscheinen die unter den schwarzen Flecken der Raupenhaut gelegenen Partien genau in demselben Umfange karminrot, während alles übrige gelblichweiß blieb. Das rote Pigment wird durch Chromsäure, Alkohol, Terpentin, Kreosot nicht verändert. Er nimmt an, daß es sich dabei um das grüne

Pigment der Hypodermis handle, welches an den Stellen, wo es von der dunkel pigmentierten Cuticula überdeckt ist, ein anderes chemisches Verhalten zeige als dort, wo es vermittels der durchsichtigen Cuticula dem Licht ausgesetzt ist.

In Wirklichkeit scheint es sich dabei um das in Bildung begriffene Melanin zu handeln, das durch die Erhitzung nur die Rotstufe erreichte (vgl. die weiter unten mitgeteilten Versuche mit Erwärmung der Tyrosinase).

c) Der grüne Farbstoff. Der in den Puppenhüllen vorhandene grüne Farbstoff wurde teilweise durch 0,5% physiologische Kochsalzlösung extrahiert: Das Filtrat dieses Auszuges zeigte anfänglich eine trübe grünliche Färbung, die durch Stehen sich klärte und mit der Zeit an Intensität der Färbung zunahm.

Viel besser wurde jedoch der grüne Farbstoff aus den Hüllen mittels Äther ausgezogen, und zwar war der Extrakt klar gelbgrün gefärbt.

Es wurden auch noch Petrolätherextrakte hergestellt, die im Vergleich zum Ätherextrakt mehr grün sind, während der Ätherauszug eine gelblichgrüne Farbe zeigte.

Nicht so schön waren die Alkoholauszüge, dieselben färbten sich kaum und erst nach längerem Stehen und bloß mit einer gelblichen Farbe. Es scheint, daß durch den Alkohol das Eiweiß koaguliert und den Farbstoff mitreißt, was bei den anderen zwei Lösungsmitteln nicht der Fall zu sein scheint.

Über die Natur des grünen Farbstoffs herrscht Meinungsverschiedenheit, indem ihn die einen als aus dem Chlorophyll der Nahrung herstammend, Metachlorophyll, PRZIBRAM ihn als in seiner Genese vom pflanzlichen Chlorophyll durchaus unabhängigen tierischen Farbstoff — Tiergrün — betrachten.

Es mußte nun festgestellt werden, ob auch der grüne Farbstoff unserer Puppen sich ähnlich wie das von PRZIBRAM bei einer ganzen Reihe von Tieren untersuchte, ganz gleich reagierende »Tiergrün« verhalte. Dies geschah einerseits durch Anwendung der von PRZIBRAM angegebenen »Tiergrün«-Reaktionen an den wäßrigen und ätherischen Extrakten sowohl der Puppenhüllen als auch der inneren Organe, andererseits durch die spektroskopische Untersuchung aller Extrakte, deren Resultate weiter unten angegeben sind.

Ich möchte hier nur vorwegnehmen, daß sowohl die eine Untersuchungsmethode als auch die andere die Identität des grünen Farbstoffs der Pierispuppen mit dem »Tiergrün« ergeben haben, und ver-

weise im übrigen auf die die »Tiergrün«-Reaktionen darstellenden Tabellen (Tabellen 4 und 5).

Nur noch einige Worte zur Erläuterung derselben: PRZIBRAM (1913) fand, daß beim Kochen der Ätherauszüge des tierischen grünen Farbstoffs (Heuschrecken, Kanthariden, Frösche) mit gleicher Menge alkoholischer Kalilauge derselbe klar bleibt und einen Umschlag in Gelb erfahre im Gegensatz zu Pflanzengrünextrakt, der unter Trübung die grüne Farbe beibehalte. Bei abermaligem Zusatze von Kalilauge und weiterem Kochen zeigt sich ein durchschlagender Unterschied: die tierischen bleiben klar und setzen farbige Flocken ab, die pflanzlichen sondern unter Trübung schwarze Flocken ab.

Eine zweite Reaktionsreihe betraf die Frage, ob das »Tiergrün« den Lipochromen zuzuzählen sei. Die charakteristische Lipochromreaktion besteht in dem Auftreten einer Blaufärbung bei Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure, ein Verhalten, welches unter den grünen Farbstoffen der Tiere dem Grün der *Bonellia* zukommt (Bonellein). Die »Tiergrün«-Extrakte gaben die Lipochromreaktion nicht. Bei Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure trat bei den Tiergrünextrakten unter Trübung zunächst eine weingelbe Färbung auf, die später braun wurde, die Chlorophyllextrakte blieben grün. Salpetersäure entfärbte die Tiergrünextrakte, während die pflanzlichen grün blieben oder kaum etwas gegen Gelb abblaßten.

Ich habe dieselben Reaktionen bei den Puppenextrakten angewendet, wie in den am Schlusse beigegebenen Tabellen ersichtlich ist, jedoch außer ätherischen auch wäßrige Extrakte benutzt.

Tabelle 4: Tiergrünreaktionen der wäßrigen Extrakte (Plasma, Hülle),

Tabelle 5: Tiergrünreaktionen der Ätherextrakte (Plasma, Hülle).

Wir sehen bei den Reaktionen der wäßrigen Extrakte (Tabelle 4) ein umgekehrtes Verhalten der tierischen Extrakte gegenüber dem Pflanzenextrakte den Alkalien und Säuren gegenüber: bei Zusatz von Alkalien klären sich die tierischen Extrakte, während der Kohlextrakt sich trübt oder einen Niederschlag gibt. Dagegen verursachen die Säuren starke Fällung bei den tierischen, die pflanzlichen bleiben klar. Auf ihre Reaktion geprüft, ergaben die unveränderten Extrakte neutrale Reaktion bei den tierischen, schwach saure Reaktion beim Kohlextrakt.

Beim Kochen mit Kalilauge wurde das Plasmafiltrat klar rotgelb, das Hüllenfiltrat hellgelb, der Kohlextrakt unter Trübung rotgelb.

Nach abermaligem Zusatze und weiterem Kochen schieden sich bei den tierischen gelbbraune Flocken, beim Kohlchlorophyll schwarze Punkte ab. Die Säurereaktionen sind infolge der starken Eiweißfällung nicht sehr deutlich, doch kann man auch hier eine Entfärbung bei Zusatz von Salpetersäure, ein Gelb- (Hülle) oder Bräunlichwerden (Plasma) bei Zusatz von Schwefelsäure beobachten, hingegen der Kohleextrakt in beiden Fällen unverändert bleibt.

Viel deutlicher und schöner sind die Reaktionen der Ätherauszüge (Tabelle 5):

Die klare gelbgrüne Anfangsfarbe der beiden Extrakte, des Organ- sowie auch des Hüllenextraktes, verwandelt sich durch Kochen mit Kalilauge in Gelb, bei abermaligem Zusatze und weiterem Kochen scheiden sich gelbe Flocken ab. Bei Zusatz von Salpetersäure zu den Extrakten tritt sofort Entfärbung ein. Bis hierher sind auch keine, oder jedenfalls keine nennenswerten Unterschiede zwischen dem Hüllen- und Organeextrakt.

Bei Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure wird der Organeextrakt klar gelb und am Grunde der Eprouvette scheidet sich ein farbloser, klarer Tropfen ab, bei dem Hüllenextrakt wird der Farbstoff ebenfalls klar gelb, am Grunde der Eprouvette scheidet sich aber ein violett gefärbter Tropfen ab. Nach einigen Stunden ist beim Organeextrakt nur noch ein gelber Ring auf der wasserhellen farblosen Flüssigkeit zu sehen, beim Hüllenextrakt hat sich alles in eine violette klare Flüssigkeit umgewandelt.

Ich habe diese Reaktion einigemal wiederholt, um mich zu überzeugen, daß dieser auffallende Unterschied nicht auf einem Versuchsfehler beruhe, aber immer dasselbe gefunden. Hingegen verhielt sich der Ätherextrakt von ganzen Puppen (wo der Äther nur mit der Oberfläche der Hülle in Berührung kam) genau wie der Organeextrakt.

Dieses Auftreten einer Violett färbung bei dem Hüllenextrakt bei Zusatz von Schwefelsäure ist noch nicht aufgeklärt. Vielleicht ist es die Seide, die an der Innenseite der Hülle einen glänzenden Überzug bildet, die diese Reaktion verursacht (vgl. bei Seidenreaktion die an der Innenseite der Hülle ausgeführte Biuretreaktion). Dabei müssen aber zwei Hilfshypothesen angenommen werden: 1) daß der Äther die Seide mitgelöst habe, 2) daß im grünen Farbstoff Kupfer vorhanden sei, denn die Schwefelsäure allein gibt die Biuretreaktion nicht. Das wäre die eine ziemlich erzwungene Erklärungsmöglichkeit. Andererseits könnte man vielleicht auch an eine Lipochromreaktion denken, da für dieselbe neben der charakteristischen Blau-

färbung auch eine Violett-färbung angegeben wird. Jedenfalls ist diese Frage noch nicht sichergestellt.

d) Das Gespinst. Die Lepidopterenraupen sezernieren ein eigentümliches Sekret (die Seide), dessen sich dieselben zur Herstellung ihrer Kokons bedienen. Bei den Puppen von *Pieris brassicae* (und allen sog. *Pupae liberae*) dient es nur zu ihrer Befestigung an dem Objekt, an dem sie sich verpuppen.

Ich habe mit diesem Gespinst und als Vergleichsmaterial mit Seide von *Bombyx mori* einige Reaktionen ausgeführt, um zu sehen, ob sie sich identisch verhalten.

Das Material wurde in festem Zustande, aber zerkleinert (zerschnitten) auf einer Glasplatte mit einem Tropfen des betreffenden Reagens versetzt.

Löslichkeit: Bei Zusatz eines Tropfens konzentrierter Natronlauge wurde es gelöst.

Biuretreaktion. Von der mit dem Tropfen Natronlauge versetzten Substanz wurde je ein Teil auf einen anderen Objektträger übertragen, noch ein Tropfen Sodalösung dazu gegeben und je ein Tropfen einer sehr schwachen wäßrigen Lösung von Kupfersulfat (hell grünlichblau) darauf tropfen gelassen. Sowohl die Seide als auch das *Pieris*-Gespinst, respektive die in Soda gelöste Substanz, wurden violett. (Das Chitin gab diese Reaktion nicht.)

Seide, mit einem Tropfen Kupferoxydulammoniak versetzt, wird violett. Ebenso verhielt sich auch das *Pieris*-Gespinst. Verdünntes Kupferoxydulammoniak zeigte diese Farbenreaktion noch deutlicher.

Sowohl die Seide als auch das Gespinst färbten sich bei Zusatz eines Tropfens Pikrinsäure intensiv gelb. Das Gespinst der *Pieris brassicae*-Puppen ist also auch nichts anderes als Seide.

Wurde nun auf der inneren Fläche einer Puppenhülle, und zwar einer getrockneten, sonst unveränderten Puppe die Biuretreaktion wiederholt (1 Tropfen Natronlauge + 1 Tropfen Kupfersulfat), so trat eine Violett-färbung auf wie bei der Seide.

X. Die chemische Unterscheidung der vier Hauptfarbtypen.

Die vier Hauptfarbtypen unterscheiden sich morphologisch, wie wir gesehen haben:

- 1) in bezug auf den dunkeln Farbstoff,
- 2) bezüglich der grünen Färbung.

1) Die Entstehung des dunkeln Farbstoffs (Melanin) wird, wie wir bereits erörtert haben, auf einen fermentativen Prozeß zurückgeführt, und zwar auf die oxydierende Wirkung der Tyrosinase des Blutes auf ein Chromogen, welches für *Pieris*-Puppen als Tyrosin oder der Tyrosingruppe angehörend befunden wurde.

Wir haben also hier zu prüfen:

ob ein verschiedenes Verhalten der Tyrosinase in den verschiedenen Farbtypen vorliege, und dies geschah einerseits durch Prüfung der nach der FÜRTHSchen Methode isolierten Tyrosinasen, andererseits mittels Reaktion des einzelnen unveränderten Blutstropfens (Stichproben), und

ob die Möglichkeit einer Verschiedenheit des Chromogens vorliege.

2) Bezüglich der grünen Färbung wurden Beobachtungen angestellt über ein verschiedenes Verhalten des Blutes, sowie Farbe des Blutes; Verschiedenheiten in den Reaktionen und dem Verhalten der Tiergrünextrakte (Farbe, Tiergrünreaktionen, spektroskopisches Verhalten).

1. Versuchsreihe: Nachweis einer Verschiedenheit der Tyrosinase in den vier Hauptfarbtypen.

a. Puppen aus dem Freien.

Es wurden hierzu am 17. XI. Puppen genommen, die sich im Garten verpuppt hatten, und zwar je 14 von jedem Hauptfarbtypus (helle, mittlere, dunkle, grüne).

Das Gewicht der 14 Puppen betrug zusammen: für die hellen 4,71 gr., mittleren 4,34 gr., dunkeln 3,99 gr., grünen 3,92 gr.

Sie wurden in derselben Reihenfolge (helle, mittlere, dunkle, grüne) verarbeitet, immer partienweise zu je fünf von jeder Sorte auf einmal, damit die Zeit keinen Unterschied mache: durch Anstich an der Flügelscheide wurde das Blut gewonnen und in je eine graduierte Eprouvette aufgefangen. Diese Prozedur erfolgte in der Zeit von 12^h mittags mit Unterbrechungen bis 3^h 30 p.m. Sie ergab eine Blutmenge von:

0,8 cm ³	für die hellen,
0,8 - - -	mittleren,
0,7 ¹ / ₂ - - -	dunkeln,
0,7 ¹ / ₂ - - -	grünen.

Die übrigen Teile der Puppen wurden in der üblichen Weise (s. Methodik) weiter verarbeitet.

Das Blut der vier Puppensorten wurde sofort nach der FÜRTH'schen Methode (s. Methodik) zur Herstellung der Tyrosinasen verarbeitet. Die bereiteten Tyrosinasen wurden über Nacht stehen gelassen und erst am nächsten Tage die Proben aufgestellt.

Es wurde je ein cm^3 wäßriger gesättigter Tyrosinlösung mit einem Tropfen Tyrosinase versetzt, und zwar wurden für jede der vier Tyrosinasen gleichzeitig sechs gleiche Proben aufgestellt, davon je drei bei Tageslicht belassen und je drei verdunkelt (mit einem Sturz bedeckt).

Die Temperatur wurde während des ganzen Verlaufes des Versuches mittels eines Thermographen registriert. Die Anfangstemperatur betrug 18° und schwankte während der vier Tage des Reaktionsverlaufs untertags um ein bis zwei Grade (19° oder 20°), sank jedoch in der Nacht bis auf 15° .

Die erste Registrierung der Proben erfolgte nach drei Stunden von der Aufstellung, wo sich schon deutliche Unterschiede zeigten. Sie bestand in einer Wiedergabe der Farben mittels farbiger Bleistifte in ein Eproutetten darstellendes Schema und auch durch schriftliches Notieren der Farbe. (Diese Art der Registrierung ist überhaupt bei allen Versuchen angewendet worden.)

Die zweite Registrierung erfolgte 7 Stunden 40 Minuten vom Beginn des Versuches an und mußte bereits bei künstlichem Lichte vorgenommen werden.

Was den Dunkelversuch anbetrifft, so wurde in den beiden Kontrollzeitpunkten der Dunkelsturz für einen Augenblick abgenommen, um die Färbung zu registrieren.

V Versuchsergebnisse: Tabelle 6 zeigt den Verlauf dieses Versuches: Nach drei Stunden sind merkliche Unterschiede zu konstatieren, und zwar sind die hellen am intensivsten gefärbt, sie zeigen eine rötliche Farbe. Alle anderen zeigen einen violetten Ton. Am schwächsten gefärbt sind die dunkeln. Die mittleren und grünen halten die Mitte, und zwar sind die mittleren dunkler, also zwischen den hellen und den dunkeln, aber mit violetttem Ton, wie auch die dunkeln und grünen. Die Intensität der Färbung nimmt in der Reihenfolge ab: helle $>$ mittlere $>$ grüne \cong dunkle. Dabei zeigen die hellen einen rosa Ton, der sich bis zu kirschrot steigert, im Gegensatz zu den mittleren, dunkeln und grünen, die Violettfärbung zeigen.

Was die Reaktionen im Dunkeln betrifft, so zeigen sie dasselbe, jedoch verlaufen die Reaktionen langsamer als bei Licht, indem nach

den ersten drei Stunden die Färbung in allen Proben schwächer als bei den belichteten ist.

b. Puppen mit den experimentell induzierten Farben.

Es wurden hierzu (24. XI. 15) Puppen der 1. Versuchsreihe aus dem weißen, perlgrauen, schwarzen und gelben Kasten verwendet, und zwar für jeden Kasten die charakteristischen, so die hellsten aus dem weißen Kasten; die vom perlgrauen Kasten waren alle mittlere Puppen, die dunkelsten aus dem schwarzen Kasten und typische grüne aus dem gelben Kasten. Es wurden auch hier 14 von jeder Sorte genommen und das Blut durch Anstich an der Flügelscheide in Eproutetten aufgefangen. Es ergaben sich diesmal:

helle	1,2 cm ³
mittlere	1,1 -
dunkle	1,2 -
grüne	1,1 -

Jede der Partien wurde in zwei geteilt und nur der eine Teil (0,6 cm³) in der bereits beschriebenen Weise nach der FÜRTHSchen Methode zu Tyrosinase verarbeitet, während die andere Partie zu einem anderen Versuche, nämlich zur Gewinnung des Chromogens verwendet wurde, wie weiter unten beschrieben werden wird.

Tyrosinase: Infolge der geringeren Menge Blutes war nur ein schwacher Niederschlag bei Zusatz von Ammonsulfat erzielt worden, der sehr schwer vom Filter abzunehmen war, es gelangten daher auch einzelne Stücke des Filtrierpapiers mit in die Sodalösung, so daß das Ganze am nächsten Tag filtriert werden mußte. Es ging eine farblose Flüssigkeit durch, der Filter blieb gefärbt.

1) Es wurden am 25. XI. früh vier Eproutetten, je 1 cm³ Tyrosinlösung enthaltend, mit je einem Tropfen der Tyrosinase aufgestellt. Diesmal wurde kein Dunkelversuch aufgestellt, aber um die Reaktion langsamer ablaufen zu lassen, wurden die Proben jedesmal für die Nacht mit einem Sturz bedeckt, um die Reaktion während der ersten Morgenstunden, an welchen die Kontrolle nicht vorgenommen werden konnte, etwas zu verlangsamen.

2) Eine zweite Reihe von Proben wurde von denselben Tyrosinase am 26. XI. aufgestellt.

3) Gleichzeitig wurden auch die noch Tyrosinase enthaltenden Filterstücke in ihren Eproutetten belassen, mit je 0,5 cm³ Tyrosin versetzt.

Auch die Filtrerrückstände der zweiten Filtrierung der Tyrosinase wurden je mit einem Tropfen Tyrosin befeuchtet. Die hellen gaben einen roten Hof, die mittleren dann ebenfalls, aber nicht so stark, die grünen und dunkeln viel weniger. Am Nachmittag war die Rötung verschwunden. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in der Tabelle 7 ersichtlich. Es zeigte sich, daß offenbar infolge der geringeren Menge des verarbeiteten Blutes und der infolgedessen nicht ganz tadellos bereiteten Tyrosinase und Filtrierung derselben sie viel weniger wirksam war (in geringerer Konzentration), und so sehen wir die Proben des ersten Tages (1) einige Stunden nach der Aufstellung (zu Mittag) noch nicht die geringste Verfärbung zeigen. Am Nachmittag zeigt die »helle« eine schwach rosa Tönung, während alle anderen noch ungefärbt sind. Also auch hier wieder sehen wir die Verfärbung zuerst bei den hellen auftreten, und zwar wieder mit einer rosa Farbe, während die mittleren, dunkeln und grünen noch keine Veränderung zeigen. Am nächsten Tage sind die hellen bereits violett und auch die mittleren sind violett. Die dunkeln und grünen dagegen fast gar nicht gefärbt. Nach weiteren zwei Tagen sind die hellen und mittleren intensiver violett und auch die dunkeln sind schon schwach gefärbt, aber gleich violett ohne rosa Stufe. So auch die grünen, jedoch noch viel schwächer.

Die Reaktion setzte hingegen bei der zweiten Reihe (2), wo die Tyrosinase verwendet wurde, nachdem sie einen Tag gestanden war, viel rascher ein und die Färbung war hier viel intensiver. Also scheint wiederum durch das Stehen die Tyrosinase an Wirksamkeit zuzunehmen. Wir sehen hier noch viel deutlicher, wie die Verfärbung bei der Tyrosinase der hellen viel rascher auftritt (es trat sehr bald nach der Aufstellung der Proben die Rötung der hellen Probe auf, während alle anderen noch ungefärbt waren) und einen deutlich rötlichen Ton zeigt, der sich bald bis kirschrot steigert. Etwas später trat eine Färbung der dunkeln auf, aber nicht so intensiv wie bei den hellen, und zwar gleich violett. Als drittes färbten sich die mittleren und auch gleich violett, während die grüne noch spät am Nachmittag (4^h p. m.) beinahe ganz ungefärbt war. Nach zwei Tagen ist auch die mit der Tyrosinase der hellen Puppen versetzte Probe schon ins Violett übergegangen; sie zeigt auch die intensivste Färbung. Die Intensität nimmt ab in der Reihenfolge helle, mittlere, dunkle, grüne. Diese letzteren sind ganz ungefärbt; das ist auch die Reihenfolge des zeitlichen Auftretens der Färbung, wobei aber die hellen allen anderen gegenüberstehen, durch die Rotstufe, die immer mehr an Intensität zunimmt

und erst nach zwei Tagen ins Violett übergeht, während die mittleren, dunkeln und grünen die Rotstufe nicht haben und sich, etwas später allerdings, aber gleich violett färben.

Die dritte Reihe (3), bei der die Färbung sofort aufgetreten ist, zeigt in bezug auf die dunkeln ein umgekehrtes Verhalten gegenüber den ersten zwei Reihen. Hier sind in der Tat die Tyrosinase der dunkeln Puppen enthaltenden Proben am dunkelsten (schwarz-violett), die grünen auch hier am schwächsten gefärbt, die mittleren halten die Mitte. Andererseits sind die hellen auch hier die einzigen, die Rotfärbung zeigen. Sobald die grünen den Ton der hellen erreicht haben, sind sie nicht rötlich, sondern violett.

Fassen wir die Ergebnisse der beiden Versuche zusammen, so scheint sich eine Tatsache mit vollkommener Sicherheit zu ergeben, nämlich der sehr deutliche Unterschied in dem Verhalten der Tyrosinase der hellen gegenüber den anderen drei Typen: in allen Versuchen erfolgt die Verfärbung des Tyrosins am raschesten unter der Einwirkung der Tyrosinase der hellen, und zwar zuerst durch eine rosa Stufe, die sich bis kirschrot steigert, um erst nach zwei Tagen in ein (intensives) Violett überzugehen. Dagegen tritt die Färbung bei den anderen erst viel später auf, und ohne eine Rotstufe gehen sie gleich von der Farblosigkeit zu einem schwach violetten Ton über, der ebenfalls immer mehr an Intensität zunimmt. Was im übrigen die Unterschiede zwischen diesen letzteren drei Typen, die sich in bezug auf den Mangel einer Rotstufe alle gleich verhalten, bezüglich des zeitlichen Auftretens der Färbung und der Intensität derselben betrifft, so sind hier keine ganz eindeutigen Verschiedenheiten zu verzeichnen gewesen. Bezüglich des zeitlichen Auftretens sind immer die hellen voran, sodann folgen die mittleren, dunkeln, grünen, nur einmal tritt sie bei den dunkeln vor den mittleren auf (Versuch b, Tabelle 7, 2. Reihe). Was die Intensität der Färbung betrifft, so zeigen sich in drei Fällen die dunkeln und grünen am schwächsten gefärbt, während die mittleren auch hier die Mitte halten. Ist dieses Zurückbleiben der dunkeln vielleicht darauf zurückzuführen, daß bei ihnen die Tyrosinase aktiver ist und schon während der Verarbeitung des Blutes in einer regeren Melaninbildung mit dem eigenen Chromogen aufgebraucht wird und es nachher einige Zeit dauert, bis sie sich wieder erneuert hat? Fast scheint es so, denn die dritte Reihe des Versuches b, wo die Reaktion mit den Filterstücken gemacht wurde, zeigt ein umgekehrtes Verhalten in bezug auf die dunkeln, indem sie hier in der Intensität der Färbung in erster Reihe stehen.

Hingegen zeigen die grünen auch hier die schwächste Färbung, es scheint also (sollte nicht ein Fehler in der Verarbeitung liegen, was unwahrscheinlich ist, da alle in gleicher Weise behandelt wurden), daß die grünen tatsächlich eine schwächere (weniger wirksame) Tyrosinase haben. Jedenfalls steht die Tatsache fest, daß, obwohl sichtlich wenig Tyrosinase vorhanden ist, sei es aus welchem Grunde immer, doch keine Rotfärbung der Violett färbung vorangeht. Die Rotfärbung bei den hellen scheint also keine Folge einer geringeren Menge (weniger konzentrierter oder weniger aktiver) Tyrosinase zu sein. — PRZIBRAM fand beim Tintenbeutel von *Sepia*, nachdem er durch wiederholte Auszüge das Melanin erschöpft hatte, aus dem ganz farblosen Tintenbeutel, den er nochmals auspreßte und mit Tyrosin versetzte, eine kirschrote Färbung des Tyrosins, die später durch Violett in Schwarz überging. Die Stufen der Umwandlung des Tyrosins zu Melanin sind also danach in der Reihenfolge rot—violett—schwarz. Es scheint eine veränderte Tyrosinase bei den hellen vorhanden zu sein, und das frühere Auftreten der Färbung bei Einwirkung dieser Tyrosinase würde vielleicht darauf hindeuten, daß das oxydierende Ferment im Blute der hellen in einer Vorstufe der eigentlichen Tyrosinase vorhanden sein könnte, die aktiviert wurde durch die starke Belichtung (weißes, reflektiertes Licht, vgl. die analogen Resultate durch Erhitzungsversuche), und diese Vorstufe vermag eben nur die erste Phase der Tyrosinoxydation zu bewirken, nämlich die Rotfärbung, wie sie auch bei der Autooxydation des Tyrosins auftritt (s. die diesbezüglichen Versuche vorliegender Arbeit und die Angaben DUCESCHIS 1901). Erst nachher geht sie in die eigentliche Tyrosinase über und verursacht den Umschlag in Violett. v. FÜRTH hat bei seinen Versuchen an Puppentyrosinase niemals eine Rotfärbung gefunden, die der Violett färbung voranging. Die von ihm benutzten Schwärmerpuppen sind alle dunkel gefärbt.

Vergleichen wir nun die sich aus diesen Versuchen ergebenden Verschiedenheiten der Tyrosinase bei den vier Hauptfarbtypen mit der verschiedenen Ausbildung des dunkeln Farbstoffs in den Hüllen der entsprechenden Typen, wie sie uns das mikroskopische Bild (vgl. Taf. VI) am besten vor Augen führt, so sehen wir die Übereinstimmung im Verhalten der Tyrosinase mit dem Grad der Färbung und der Menge des die Kanälchen der Chitinhülle erfüllenden Pigments. Auch dort finden wir diese Gegenüberstellung der hellen Puppen zu den drei anderen. Bei den hellen sind die Punkte (Porenkanälchen) nur von einem gelblichen bis hellbraunen Pigment umgeben, während

bei allen anderen, sogar die grünen mit eingeschlossen, das Pigment schwarzbraun (*Sepia*) erscheint. Dazu kommen noch die Unterschiede in der Verteilung, respektive, wie wir jetzt ruhig sagen können, in der Menge des Pigments, die auch in derselben Reihenfolge wie bei der Tyrosinase (Reihe 3 des Versuches b auf Tabelle 7) $D > M > H > G$ erscheint. Bei den hellen nur auf die Umgebung der Porenkanälchen beschränkt, beginnt es bei den mittleren sich von da auch teilweise in das Netzwerk der horizontal gelagerten Kanälchen auszubreiten und es bei den dunkeln ganz zu erfüllen. Und auch hier stehen die grünen an letzter Stelle in bezug auf die Menge des ausgebildeten Pigments (es fehlt ihnen sogar ganz die typische große Fleckenzeichnung), während sie jedoch in der Farbe dasselbe Pigment haben, wie die mittleren und dunkeln, wie ja auch die Violettfärbung bei der Einwirkung der Tyrosinase auf Tyrosin allen dreien in gleicher Weise zukommt. Nur die hellen sind davon verschieden mit ihrem bräunlichen Pigment, und das stimmt mit der Rotstufe überein. Bei der hellen Puppe ist es eben auf dieser Stufe stehen geblieben, während es in der Epruvette doch noch schließlich in die zweite Stufe (Violettfärbung) übergeht. Bei der Puppe ist dies nicht mehr möglich, denn hier tritt die Erstarrung der Chitinhülle dazwischen und es dürften die gebildeten Färbungen dadurch fixiert werden. Nur an den Stellen, wo Ansammlungen mehrerer Porenkanälchen sind — das ist an den Stellen, die durch die schon makroskopisch sichtbaren schwarzen Flecken gekennzeichnet sind — und wahrscheinlich eine regere Oxydation gestatten, ist auch bei den hellen das Melanin bis zur letzten Oxydationsstufe (schwarze Fleckenzeichnung der hellen) vorgeschritten.

2. Versuchsreihe: Prüfung der Verschiedenheit des Chromogens bei den vier Hauptfarbtypen.

A. Es wurden

- a) die Blutfiltrate des mit Ammonsulfat zur Tyrosinasebereitung versetzten Blutes,
- b) die wäßrigen Extrakte der Organe und
- c) - - - der Hüllen

mit Tyrosinase von einer Puppenart (mittlere Puppen) versetzt, und zwar je 1 Tropfen Tyrosinase auf 1 cm³ der zu prüfenden Flüssigkeit, doch hat sich weder Schwärzung noch irgendeine andere Veränderung ergeben.

B. Zu diesem Versuche wurde das Blut der charakteristischsten

Puppen des weißen, grauen, schwarzen und gelben Kastens genommen, dessen einer Teil zur Bereitung der Tyrosinase verwendet worden war (siehe 1. Versuch b). Diese zur Gewinnung des Chromogens bestimmte Partie (0,5 cm³ Blut) wurde mit adäquaten Mengen 95% Alkohol versetzt, der das Eiweiß und Tyrosin (Chromogen) fällt und den grünen Farbstoff lösen soll. Bei Zusatz des Alkohols bildete sich eine Schichtung: zu unterst ein dunkler Niederschlag, wahrscheinlich Melanin, sodann ein gelbliches Koagulum — das Eiweiß und darüber eine Flüssigkeit, in deren unterem Teil eine Schwärzung (Melaninbildung) zu sehen war, während der obere Teil eine klare, grünlich gefärbte Flüssigkeit darstellte.

Durch Filtrieren wurden zwei Partien gewonnen: das Filtrat a, das die in Alkohol gelösten Teile enthielt, und der Rückstand b, der außer Eiweiß auch noch das Tyrosin enthalten konnte und welcher in physiologischer Kochsalzlösung gelöst wurde.

1) Die Filtrate a wurden in je vier Portionen geteilt und mit je einem Tropfen der vier verschiedenen aus denselben Puppen gewonnenen Tyrosinasen versetzt, so daß folgende Kombinationen entstanden (wenn mit den großen Anfangsbuchstaben der Typen die zu prüfenden Filtrate, mit den kleinen die gewonnenen Tyrosinasen bezeichnet werden):

H + h,	H + m,	H + d,	H + g;
M + h,	M + m,	M + d,	M + g;
D + h,	D + m,	D + d,	D + g;
G + h,	G + m,	G + d,	G + g.

2) Die in physiologischer Kochsalzlösung gelösten Rückstände b, die das Tyrosin (Chromogen) enthalten sollen, wurden mit einem Tropfen der mittleren Tyrosinase versetzt. Da am nächsten Tage keine Veränderung zu bemerken war, wurde noch je ein Tropfen davon dazugegeben, aber auch dann hat es keine Veränderungen ergeben.

Auch die erste Partie ergab keine in bezug auf die gestellte Frage zu deutenden Resultate. Es waren wohl einige Tage nach der Aufstellung Verschiedenheiten in der Menge und Farbe des abgelagerten Sedimentes (Melanin) bemerkbar, aber anscheinend hatte da die eigene Tyrosinase, die durch den Alkohol nicht unwirksam gemacht worden war, mitgewirkt und die Lösung der Frage, ob das Chromogen der verschiedenen Puppen sich bei Zusatz einer Art von Tyrosinase verschieden verhalten würde und ob also auch eine Verschiedenheit der Chromogene anzunehmen sei, verhindert.

3. Versuchsreihe: Stichproben an den Puppen der vier Hauptfarbtypen.

Es war von Interesse zu sehen, ob nicht schon durch die Reaktionen mit einzelnen Blutstropfen die Verschiedenheiten der Farbtypen zum Ausdruck kommen würden (so zum Beispiel das Auftreten einer Rosafärbung bei Zusatz eines Tropfen Blutes einer hellen Puppe zu einer bestimmten Menge Tyrosinlösung), um nicht immer soviel Material für die Versuche aufwenden zu müssen.

Es wurde hierbei jeweils eine einzelne (ganz typisch gefärbte) Puppe aus den Versuchskasten genommen und durch Anstich an der Flügelscheide je ein Tropfen in eine bereitstehende Epruvette mit der zur Reaktion verwendeten Flüssigkeit hineinfallen gelassen. Es wurden immer von jeder Puppe nur zwei, selten drei Tropfen verwendet, weil nachher das Blut nicht mehr ganz rein kommt. Auch für die Bereitung der Tyrosinase nach v. FÜRTH waren immer nur drei Tropfen von jeder Puppe genommen worden.

Der frisch herausquellende Blutstropfen zeigt einen deutlichen Unterschied in der Färbung der grünen Type gegenüber allen unseren anderen Puppenfarbtypen: bei den hellen, mittleren und dunkeln mehr gelblich, ist er bei den grünen von deutlich grünerer Farbe.

A. Untersuchung über die Farbe des Blutes bei ♂- und ♀-Puppen.

Es ist noch einem etwaigen Einwande zu begegnen, es handle sich bei diesem Farbenunterschiede wie auch vielleicht den sonstigen erwiesenen Verschiedenheiten im Blute der verschiedenen Farbtypen um Geschlechtsunterschiede, wie sie STECHE (1912) und GEYER (1913) für die Hämolymphe der Lepidopteren-Puppen angeben, indem im allgemeinen die Hämolymphe der männlichen Raupen und Puppen stets hellere gelbliche Töne zeige, während die weibliche leuchtend grüne aufweise, wobei der grüne Farbstoff aus dem Blute der Weibchen dann in die grünen Eier abgelagert werden soll. Beim Kohlweißling soll das Verhältnis umgekehrt sein, weil hier die Eier goldgelb gefärbt sind. Ich habe deshalb von jedem Farbtypus je zwei ganz gleich gefärbte Puppen genommen, wovon eine ein Männchen und die andere ein Weibchen war; das Geschlecht ist bei den Puppen sehr leicht zu unterscheiden; die Unterschiede sind an der Bauchseite zu erkennen, und zwar betreffen sie das als viertes an der Bauchseite frei erscheinende Segment oder, wenn man alle Hinterleibsegmente zählt, das achte: beim ♂ ist es ganz glatt und weist keine beson-

deren positiven Merkmale auf, erst auf dem fünften ist hier die Geschlechtsöffnung — eine Furche, umgeben von zwei Höckerchen, während beim ♀ die Furche sich auch noch am vierten Segment hinzieht und hier ebenfalls von zwei Höckerchen umgeben ist. (Textfigur 7 und 8.)

Der erste Blutstropfen jeder Puppe wurde unverändert in eine Eprouvette aufgefangen und sofort auf weißer Unterlage mit dem anderer Exemplare verglichen, der zweite wurde in 1 cm³ physiologischer Kochsalzlösung aufgefangen und ebenfalls verglichen.

Fig. 7.

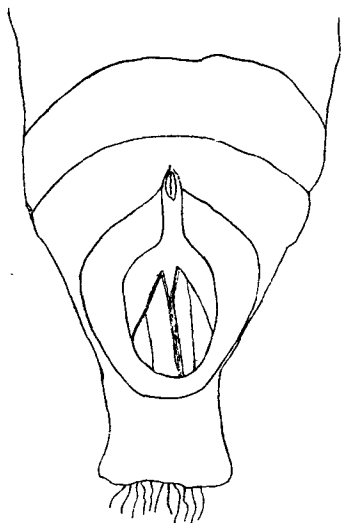
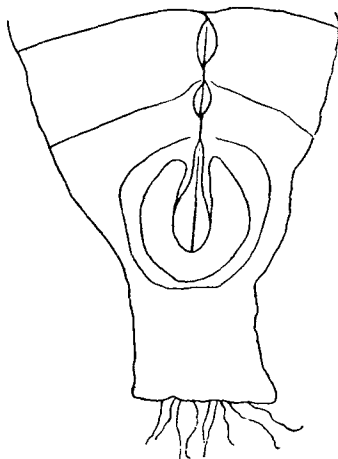
*Pieris-Puppe* ♂.

Fig. 8.

*Pieris-Puppe* ♀.

Bei den hellen und mittleren Puppen waren zwischen Männchen und Weibchen gar keine Unterschiede in der Farbe des Blutes zu bemerken, während der Unterschied zwischen diesen Typen und den grünen Puppen sehr deutlich war.

Bei den grünen Puppen zeigte sich einmal ein Unterschied, indem sowohl beim unverdünnten Blutstropfen als auch bei dem in der physiologischen Kochsalzlösung gelösten das Blut der weiblichen Puppe etwas grünlicher war und das der männlichen hingegen heller, gelblicher.

Eine zweite Probe mit anderen zwei grünen Puppen ergab jedoch keinen Unterschied mehr, es hatte hier sowohl das ♂ als auch das ♀ ganz genau dieselbe grüne Farbe des Blutes, sowohl des unverdünnten Tropfens als auch in der physiologischen Kochsalzlösung.

Diese Untersuchung eines Geschlechtsunterschiedes in der Farbe der Hämolymphe von *Pieris-brassicae*-Puppen, wobei alle Typen daraufhin geprüft worden sind (bis auf die ganz dunkeln, von denen nur noch wenige Puppen da waren), hat also keine konstanten Geschlechtsunterschiede erkennen lassen, nur in einem Falle war ein ganz leichter Unterschied zu konstatieren. Der gefundene Unterschied ist aber gerade das Gegenteil von dem, was nach STECHE zu erwarten war: Bei *Pieris brassicae* nämlich soll ja das Blut der Männchen hellgrün sein und das der Weibchen leuchtend gelb, in unserem Falle war aber gerade das der männlichen Puppe gelblicher.

Hingegen war ein sehr deutlicher Unterschied in der Farbe der Hämolymphe zwischen den hellen und mittleren einerseits (gelblich) und den grünen Puppen andererseits, welches grün war, zu erkennen. Es ist aus den Angaben STECHES und GEYERS nicht zu ersehen, ob sie beim Vergleiche immer in der Färbung gleich gefärbte Puppen verwendet haben, der Zufall mag ihnen also bei *Pieris* infolge dieser Fehlerquelle mitgespielt haben. Es lag also kein Grund vor, bei unseren Versuchen weiterhin das Geschlecht zu berücksichtigen.

B. Untersuchung über die Farbe des Blutes bei den vier Farbtypen.

Es wurden (am 30. XI.) vier Puppen genommen, und zwar von den hellsten aus dem weißen Kasten, eine mittlere aus dem perlgrauen, eine typische gelbgrüne aus dem gelben und eine von den ganz dunkeln aus dem schwarzen Kasten, und je ein Tropfen Blutes in eine Eprouvette mit 1 cm³ 1% wäßriger Lösung von Kaliumrhodanat, welches die Schwärzung verhindern soll durch Hemmung der Tyrosinase und daher als Kontrollprobe aufgestellt wurde; je ein Tropfen wurde in 1 cm³ physiologischer Kochsalzlösung hineinfallen gelassen. Aus einer zweiten Partie von ebensolchen vier Puppen wurde je ein Tropfen zu je 1 cm³ Tyrosin zugesetzt und der zweite in auf 60°-erwärmtes Tyrosin hineingetropt. Dabei wurde das Blut in das 60° warme Tyrosin hineingetropt, so daß die Reaktion bei dieser Temperatur verlief.

Der Verlauf dieser Reaktionen ist auf der Tabelle 8 ersichtlich:

Die Proben mit Kaliumrhodanat zeigten alle dieselbe gelbgrüne Färbung, so daß man also daraus keine Verschiedenheit der grünen Farbe des Blutes erkennen konnte; am nächsten Tag zeigen sie auch schon Schwärzung.

Die Proben mit physiologischer Kochsalzlösung zeigen eine halbe

Stunde nach der Aufstellung bereits Schwärzung gegenüber denen mit Kaliumrhodanat, die unverändert bleiben, und zwar erscheint die mit dem Blute der hellen versetzte Probe am dunkelsten und beinahe ebenso dunkel die mittlere; diese beiden schwärzen sich auch zuerst, während die grüne und dunkle noch unverändert bleiben. Später tritt erst die Schwärzung bei den dunkeln auf, jedoch in viel schwächerem Grade, während die grüne kaum merklich oder fast gar nicht geschwärzt ist.

Was die Tyrosinproben anbetrifft, sowohl die bei gewöhnlicher Temperatur als auch bei 60°, so war die Melaninbildung viel zu rasch erfolgt, so daß bei der Kontrolle am Nachmittag keine Unterschiede zu sehen waren. Es wurde daher das gebildete Melanin abfiltriert, aber auch dann war bei den nicht erwärmten Proben die Verschiedenheit der hellen nicht wahrzunehmen, es erscheinen alle Proben violett. Dagegen zeigten die erwärmten Proben nach der Filtrierung einen rötlichen Schimmer: die helle zeigte sogar die charakteristische Rotfärbung, sie erschien schön kirschrot, etwas rötlich auch die grüne, viel weniger die mittlere, während bei der dunkeln das Violett übertönt. Ich muß hier vorgreifend erwähnen, was im nächsten Abschnitt ausführlicher behandelt wird, daß durch Erwärmen jede Tyrosinase verändert wird und dann wie die der hellen den rötlichen Ton bei der Verfärbung des Tyrosins hervorruft, daher auch das Auftreten des rötlichen Schimmers bei den eben beschriebenen Proben. Nach einer Stunde ungefähr ist auch bei diesen Proben kaum mehr der rötliche Ton wahrzunehmen, sie sind schon ins violette Stadium übergetreten.

Durch diesen in der beschriebenen Weise angestellten Versuch war es also nicht gelungen, die Verschiedenheit der Tyrosinase zu erkennen, wie dies so deutlich war bei den mit nach der v. FÜRTH'schen Methode zur Isolierung der Tyrosinase angestellten Reaktionen.

Hingegen trat nach 5 Tagen eine andere interessante Veränderung an den Proben mit Tyrosin hervor. Die Proben waren fortwährend kontrolliert worden, und man hatte nichts weiter beobachten können, als daß sich das noch gebildete Melanin am Grunde der Eprouvette absetzte und die darüber gelagerte Flüssigkeit nur noch ganz schwach hellgrau gefärbt schien.

Unter den Proben, die bei gewöhnlicher Temperatur aufgestellt worden waren, zeigte nun die grüne nach Absetzung des Melanins eine Verschiedenheit gegenüber den anderen: es trat hier eine Grün-

färbung der Flüssigkeit auf, während die anderen drei grau blieben, bei den mittleren mit einem schwachen grünlichen Schimmer.

Die erwärmten Proben hingegen waren alle grün geworden.

Es ist nicht anzunehmen, daß diese grüne Färbung das anfängliche Grün des hineingegebenen Blutstropfens ist, das nach Absetzung des Melanins wieder zum Vorschein kam, denn der kleine Tropfen hatte nur eine schwache Gelbfärbung des Tyrosins hervorgerufen, genau wie bei der physiologischen Kochsalzlösung und dem Kaliumrhodanat, die nun auftretende Grünfärbung ist hingegen ziemlich intensiv.

4. Versuchsreihe (am 17. I. 1916): Reaktionen der verschiedenen Farbtypen eines Versuchskastens.

Dieser Versuch wurde aus folgenden Gründen angestellt: Wir hatten in den Versuchsergebnissen des Licht- und Farbeinflusses auf die Puppenfärbung gesehen, daß nicht alle Puppen, die sich unter denselben Licht- und Farbeinflüssen (in demselben Kasten) verpuppt hatten, die für die Farbe charakteristische (d. h. die nach der Anzahl am allerrhäufigsten vorkommende) Färbung aufwiesen, sondern es waren in manchen Fällen Abweichungen von der typischen Färbung notiert worden, die in verhältnismäßig sehr geringem Prozentverhältnis zu den typischen standen, so zum Beispiel waren einige wenige Puppen von mittlerer Färbung im weißen Kasten (1. Versuchsreihe) unter der sehr großen Menge von hellen notiert worden (s. Tab. C), ebenso einige helle im schwarzen Kasten, es waren sogar oft zwei bis drei Typen, die sporadisch in einem Kasten neben den typischen aufgetreten waren, neben hellen auch drei grüne im schwarzen Kasten, in anderen Fällen schien das Auftreten von zwei oder drei im bestimmten Zahlenverhältnis zueinander stehenden Typen, die nebeneinander unter denselben Farbbedingungen zur Verpuppung gelangt waren, geradezu die Regel zu bilden. Ich erinnere hier an das gleichzeitige Vorkommen beinahe in gleicher Zahl der grünen und nichtgrünen Puppen im gelbgrünen und orangefarbenen Kasten (1. Versuchsreihe).

Wie würden sich nun diese verschiedenen Typen ein und desselben Kastens in bezug auf ihre Fermente oder Chromogenbeschaffenheit verhalten?

Waren allen diesen Typen, die anscheinend unter denselben Bedingungen zur Verpuppung gelangt waren, dieselben Veränderungen induziert worden, nur daß sie bei einigen, die vielleicht schon in einem zu späten Stadium unter die Versuchsbedingungen gebracht

würden waren, oder aus irgend einem anderen Grunde, nicht mehr in der Färbung der Hülle zum Ausdruck kommen konnten, mit anderen Worten: war trotz der Verschiedenartigkeit des Aussehens (Hülle) gleichartige Einwirkung auf das Blut erfolgt, oder waren die einander gleichsehenden Typen in den verschiedenen Versuchsbedingungen in ihrer Reaktionsfähigkeit wirklich gleich? Also zum Beispiel würden die hellen Puppen des schwarzen Kastens in bezug auf ihre Tyrosinase sich so verhalten wie die hellen des weißen Kastens oder wie die dunkeln des eigenen (schwarzen) Kastens? Diese Frage schien auch in bezug auf die eventuell später einmal zu untersuchende Vererbungsfrage von Wichtigkeit und interessant zu prüfen.

Leider hatten wir bis nun noch kein befriedigendes Kriterium mit den Stichproben erzielt, wonach die Tyrosinasebeschaffenheit hätte erkannt werden können, auch für die Bereitung der Tyrosinase nach der FÜRTHschen Methode, die uns vor allem den deutlichen Unterschied zwischen der Tyrosinase der hellen und der anderen Typen gezeigt hatte, waren nicht mehr genügend Puppen von jeder Sorte vorhanden.

Es wurden daher nur folgende Versuche angestellt:

a) Wir haben bei den Stichproben (Tabelle 8) nach einigen Tagen bei der mit dem Blute einer grünen Puppe aus dem gelben Kasten versetzten Tyrosinprobe im Gegensatze zu den anderen eine grüne Farbe auftreten sehen. Das wurde jetzt als Kriterium benutzt, um zu sehen, ob die grünen aus allen Kasten die Eigentümlichkeit zeigen würden, dagegen die nichtgrünen in den Kasten, wo die grünen die typischen sind, das Ergrünen nicht zeigen würden.

b) Durch das Einfließenlassen eines Tropfens frischen Blutes anstatt der nach v. FÜRTH bereiteten Tyrosinase in 1 cm³ Tyrosin (3. Versuch vom 30. XI., Tabelle 8) hatte man keine Rosastufe bei den hellen beobachten können, weil der Oxydationsprozeß des Tyrosins unter dem Einflusse des Blutes zu rasch verlief. Es wurde nun versucht, den Prozeß in der Weise zu verlangsamen, daß bei gleichbleibender Menge der Tyrosinase (Blut) die zu oxydierende Menge vergrößert wurde, indem zu einem Tropfen Blut anstatt 1 cm³ 3 cm³ genommen wurden. Würde da die Rosafärbung auftreten, so hätte man somit ein zweites Kriterium, womit man die Reaktionsfähigkeit der einzelnen Puppen prüfen könnte.

c) Zur Prüfung der Chromogene mußte die eigene Tyrosinase unwirksam gemacht werden. Dies geschah durch Erwärmen des Blutstropfens auf 100° und Hinzusetzen von nach v. FÜRTH bereiteter

Tyrosinase eines mittleren Puppentypus, von dem noch genug Material zur Verfügung stand. Würden Verschiedenheiten auftreten, so war dies nur auf eine Verschiedenheit der Chromogene zurückzuführen.

Es wurde zu diesem Zwecke je 1 Tropfen frischen Blutes der verschiedenen zu prüfenden Puppentypen in je eine Epruvette mit 1 cm³ auf 100° im Wasserbade erwärmter physiologischer Kochsalzlösung hineinfließen gelassen und für einige Minuten ins Wasserbad zurückgegeben, wobei das Eiweiß koagulierte. Sodann wurde die Probe bis zum nächsten Tage stehen gelassen, dann filtriert. Das Filtrat, das beinahe farblos oder ganz schwach gelblich gefärbt war (wahrscheinlich enthielt es das tyrosinähnliche Chromogen, das sich in der physiologischen Kochsalzlösung gelöst hatte), wurde mit einer zwei Tage vorher nach v. FÜRTH bereiteten Tyrosinase von 14 Puppen aus dem Dunkelversuch behandelt, indem je 1 Tropfen derselben zum Filtrat c zugesetzt wurde.

Zum Koagulum (d) des Blutes, das nach dem Filtrieren übrig geblieben war, wurde 1/2 cm³ physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt und ebenfalls mit einem Tropfen Tyrosinase beschickt.

Die Resultate sind in der Tabelle 9 zusammengestellt.

V Versuchsergebnisse.

a) und b) Zu den Versuchen a und b ist zu bemerken, daß gerade die hellen aus allen Versuchskasten die stärkste Melaninbildung zeigen, so die weißen hellen, schwarzen hellen, gelben hellen und grünen hellen.

In bezug auf die gestellte Frage scheint es, daß die verschiedenen Typen aus ein und demselben Versuchskasten sich verschieden verhalten, dagegen die von demselben Farbtypus aus den verschiedenen Kästen sich gleich verhalten.

c) Im Versuch c ist das Auftreten einer Grünfärbung (und keine Schwärzung) zu bemerken, doch konnte eine Verschiedenheit in der Färbung bzw. Intensität derselben, die auf eine Verschiedenheit der Chromogene hätte schließen lassen, nicht konstatiert werden, dagegen sind jene Proben, die das Koagulum enthalten haben (d), trotz Zusatz des Tyrosinasetropfens ganz unverändert geblieben.

Wiederholung des vorigen Versuches.

Um auf die Frage näher einzugehen, weshalb gerade die hellen die stärkste Melaninbildung zeigen und ob dies nicht nur ein Zufall sei, wurde eine Wiederholung des vorigen Versuches (Reihe b) vor-

genommen, und um gleichzeitig die Rolle des Tyrosins bei der Schwärzung zu prüfen, ob es hierbei als Chromogen fungiere oder ob die Schwärzung nur auf der Einwirkung der Tyrosinase auf das eigene Chromogen beruhe, wurden parallel damit Proben mit je 3 cm³ physiologischer Kochsalzlösung aufgestellt.

Es wurden hierfür folgende Puppen genommen:

aus dem weißen Kasten eine helle und eine mittlere,

- - schwarzen - - helle,

- - gelben - - helle und eine grüne,

- - orangefarbigen - helle, eine mittlere und grüne,

- - gelbgrünen - helle und eine mittlere,

und je ein Tropfen Blut in 3 cm³ Tyrosin und 1 Tropfen in 3 cm³ physiologische Kochsalzlösung gegeben.

Dieser Versuch zeigte, daß die Tyrosinase auf das Tyrosin einwirke und nicht nur auf das eigene Chromogen, denn die Schwärzung trat bei den Tyrosinproben viel rascher und intensiver auf (Violett färbung, von der Oberfläche nach der Basis der Epruvette hin abnehmend), während die Proben mit physiologischer Kochsalzlösung selbst am nächsten Tage noch fast ganz unverändert erscheinen.

Die Frage nach der regsten Melaninbildung bei den hellen hat durch diesen Versuch keine eindeutige Bestätigung erfahren. Es sind wohl Verschiedenheiten bei den einzelnen Tyrosinproben zu verzeichnen gewesen, bei denen aus dem weißen Kasten war die Probe mit den hellen intensiver gefärbt als die mittlere, und auch die schwarze helle war wie die weiße helle, doch bei denen aus dem orangefarbigem Kasten zeigte gerade die mittlere die intensivste Melaninbildung.

5. Versuchsreihe: »Tiergrün«-Reaktionen an den wäßrigen Extrakten der Hüllen und Organe der vier Puppenhauptfarbtypen.

Die Extrakte wurden in der in der Methodik angegebenen Weise hergestellt. Die Farbe derselben sowie auch die ausgeführten Reaktionen sind in der Tabelle 10 ersichtlich.

Es zeigte sich ein Unterschied in der Farbe der unveränderten Hüllenextrakte: sobald sie abfiltriert worden waren (am 17. XI.), waren alle trüb, schwach grünlich, ein Unterschied war nicht bemerkt worden. Nach einigen Tagen jedoch (am 20. XI.), und dies sowohl beim Stehen am Licht als auch im Dunkeln, war Klärung eingetreten und die Grünfärbung deutlicher geworden. Nun waren auch Unterschiede zwischen den Extrakten der verschiedenen Typen zu bemerken, in-

dem die hellen, mittleren und dunkeln gelbgrün erschienen, im Gegensatz zum Extrakte der grünen Puppen, der sich durch eine schöne blaugrüne Färbung auszeichnete. Auch nach abermaligem Filtrieren des abgelagerten Sedimentes blieben die Unterschiede erhalten und erhielten sich überhaupt dauernd.

Bei den Reaktionen zeigen sich keine besonderen Unterschiede zwischen den Extrakten der verschiedenen Hauptfarbtypen. Bisweilen zeigte sich bei Zusatz von Kalilauge ein Unterschied bei dem Hüll-extrakte der dunkeln, indem dabei eine rotgelbe Färbung auftrat, wie bei den Extrakten der inneren Organe, während die der anderen Hüllen weingelb wurde.

XI. Die Umwandlung der Extrakte aus den Hauptfarbtypen ineinander.

A. Durch Temperatur. 1. Umwandlung der Tyrosinase.

6. Versuchsreihe: Prüfung der Wirksamkeit der Tyrosinase bei verschiedenen Temperaturen.

(Hierzu Tabelle 11a und 11b.)

Methodik: Die nach der FÜRTHSchen Methode bereitete Tyrosinase irgend eines Puppentypus (ich machte die Versuche mit der Tyrosinase der dunkeln Puppen) wurde in der Eprouvette im Wasserbad erwärmt. Ein im Wasser eingesenktes Thermometer zeigte die Temperaturen an. Nun wurde bei den einzelnen zu prüfenden Temperaturpunkten je ein Tropfen der bis zu diesem Punkt erwärmten Tyrosinase mittels einer Pipette (es wurde immer ein und dieselbe Pipette verwendet, nachdem sie jedesmal gewaschen wurde, um keine Unterschiede durch die Größe der Tropfen hineinzubekommen) in eine bereitstehende Eprouvette gegeben, die entsprechend etikettiert (und mit Wattepfropf verstopft) stehen gelassen wurde, während die übrige Tyrosinase weiter erwärmt wurde. Der letzte Tropfen verblieb immer in der Eprouvette, in der erwärmt worden war. Vor der Erwärmung war ebenfalls ein Tropfen Tyrosinase (Zimmertemperatur 19°) in eine Eprouvette gegeben worden und diente, nicht weiter erwärmt, als Kontrolle.

Nach Erkalten bis auf die Zimmertemperatur wurde zu jeder Probe 1 cm³ nicht vorerwärmte gewöhnliche Tyrosinlösung dazugegeben und der Beginn der Reaktion notiert. Die Intervalle, in denen die Kontrollen vorgenommen wurden, richteten sich nach dem Bemerken von Veränderungen an den Proben und wurden in der üblichen Weise schriftlich und mit farbigen Bleistiften vorgenommen.

Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen 11a und 11b dargestellt. Ich verwendete jedesmal die von den anderen Versuchen (Nachweis der Verschiedenheit der Tyrosinase bei den vier Farbtypen) zurückgebliebenen Fermentmengen, und in beiden Fällen war es die Tyrosinase der dunkeln, die ich prüfte. Bei der Serie a war es die der dunkeln Puppen aus dem Freien und nur bis 50° bei der Serie b die künstlich induzierten — 2 Tage nach der Bereitung der Tyrosinase —, wobei ich die übrigen Grade prüfte von 40° bis 90° inkl.

Ergebnisse des Versuches:

Nach v. FÜRTH (v. FÜRTH und SCHNEIDER 1902, v. FÜRTH und JERUSALEM 1907) ist der Einfluß der Temperatur auf die Tyrosinasewirkung der einer Reaktionsbeschleunigung bei steigender Temperatur, andererseits erfolge in der Wärme eine schneller fortschreitende Zerstörung des labilen Fermentes, so daß die Melaninbildung in der Wärme schneller einsetzt, aber auch viel früher zum Stillstand kommt, die Wirkung der Tyrosinase des Insektenblutes soll aber nach v. FÜRTH und SCHNEIDER bei bereits 30° sistieren, was nach dem hier mitgeteilten Versuch viel zu niedrig bemessen ist.

Wir sehen bei der Serie a sowohl die bis 30° erwärmte Tyrosinase als auch die auf 40° bei der Kontrolle nach vier Stunden des Reaktionsverlaufs dieselbe Violettfärbung aufweisen. Die auf 50° erwärmte gibt eine schwach rosa Färbung. Für diese Temperatur war nur noch ein kleiner Rest Tyrosinase in der Eprouvette geblieben, der etwas weniger als ein Tropfen war.

Serie b, wobei — bei einer anderen Tyrosinase, ebenfalls der dunkeln — die anderen Grade geprüft wurden, ergab, daß selbst die auf 60°, 70° und 80° erwärmte Tyrosinase ihre Wirksamkeit nicht eingebüßt hatte, die Verfärbung des Tyrosins erfolgte bei diesen Proben viel früher als bei den niedrigeren Temperaturen; die von 60° und 70° zeigten bereits nach 2½ Stunden eine Färbung, die auf 80° nach 3½ Stunden und etwas schwächer, zu einer Zeit, wo die auf 40° und 50° erwärmten noch ganz farblos erschienen. Aber zugleich hatte sich auch die Tyrosinase verändert: die von 60° und 70° sind nicht mehr violett, sie zeigen gleich beim Auftreten eine deutlich rötliche Färbung, die sich bis kirschrot steigert und erst nach zwei Tagen ins Violett übergeht. Die von 80° ist schwächer gefärbt, aber auch rötlich und geht ebenfalls nach zwei Tagen in Violett über. Das Maximum der Intensität der Färbung ist bei 70°. Die auf 40° und 50° erwärmten, die nach zwei Tagen auch schön gefärbt sind,

zeigen gleich eine violette Färbung, und zwar sind sie sehr schwach gefärbt. Die bis 90° erwärmte schien ihre Wirksamkeit verloren zu haben, doch trat auch bei dieser nach 8 Tagen eine blaßrosa Färbung auf, die sich später bis intensiv kirschrot steigerte, doch erfolgte keine Überführung ins Violette; diese Probe blieb rot, und nach völliger Verdunstung der Flüssigkeit blieb ein rötlichbraunes Sediment übrig.

Wir sehen also nicht nur nicht ein Erlöschen der Wirksamkeit der Tyrosinase durch Erhitzung, sondern geradezu eine Aktivierung derselben und Reaktionssteigerung, die bei 70° das Maximum erreicht, bei 80° im Abklingen ist und bei 90° scheinbar erloschen ist und erst nach langer Zeit sich wieder erholt. Die Tyrosinase ist aber durch die Erhitzung verändert worden, und zwar in demselben Sinne wie die Tyrosinase der hellen bei Normaltemperatur gegenüber anderen Farbtypen; sie ruft so wie jene die Rotstufe des Tyrosins hervor. Vielleicht ist das 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.

Wie nun die Erklärung dieses Vorganges auch sei, das eine ergibt sich mit Sicherheit, daß wir imstande sind, durch Einwirkung eines äußeren Faktors (in unserem Falle durch Temperatur) die Tyrosinase eines Puppenfarbtypus in einen anderen und zwar in eine in ihrer Wirkung in der Normaltemperatur bei den hellen vorkommende Tyrosinase überzuführen.

7. Versuchsreihe: Ergrünen der Proben.

Wir haben bereits im vorigen Abschnitte der bei einigen Versuchen neu auftretenden Grünfärbung Erwähnung getan: 1) bei den mit dem unveränderten Blute einer grünen Puppe versetzten Tyrosinproben im Gegensatz zu der Wirkung der nichtgrünen Puppen; 2) bei einer bei 60° erfolgenden Reaktion eines Blutstropfens von jedem Farbtypus auf Tyrosin, und zwar trat diese Grünfärbung in beiden Fällen erst nach einigen Tagen (5 Tagen) auf, nachdem vorerst eine rege Melaninbildung erfolgt war, deren Produkt sich dann absetzte; 3) bei dem in physiologischer Kochsalzlösung gelösten, auf 100° erwärmten Blut, das mit einem Tropfen Tyrosinase versetzt worden war, erfolgte keine Schwärzung, sondern bereits am nächsten Tage ein Ergrünen der Proben, deren ursprüngliche Farbe schwach gelblich oder beinahe farblos zu nennen war (Tab. 9c).

Um zu sehen, einerseits, welche Rolle die Tyrosinase bei diesem Ergrünen der Proben hätte, das offenbar auf einem fermentativen Prozeß beruht, und ob nicht die Grünfärbung auch in dem in der physiologischen Kochsalzlösung gelösten Blut auch ohne Zusatz der Tyrosinase auftreten würde, andererseits, um Vergleiche zwischen dem Verhalten des Tyrosins bei Erwärmung und dem auf 100° erwärmten, in physiologischer Kochsalzlösung gelösten Blute anzustellen, wurde eine Versuchsreihe (am 26. I. 1916) mit folgenden Versuchskombinationen aufgestellt:

- 1) auf 100° erwärmte physiologische Kochsalzlösung mit Blut ohne Tyrosinase im Lichte,
 - 2) auf 100° erwärmte physiologische Kochsalzlösung mit Blut ohne Tyrosinase im Finstern,
 - 3) auf 100° erwärmte physiologische Kochsalzlösung mit Blut mit Tyrosinase im Lichte,
 - 4) auf 100° erwärmte physiologische Kochsalzlösung mit Blut mit Tyrosinase im Finstern,
 - 5) auf 100° erwärmtes Tyrosin ohne Tyrosinase im Lichte,
 - 6) - - - - - im Finstern,
 - 7) - - - - mit - im Lichte,
 - 8) - - - - - im Finstern,
 - 9) auf 100° erwärmte physiologische Kochsalzlösung mit Blut mit Tyrosin im Lichte,
 - 10) auf 100° erwärmte physiologische Kochsalzlösung mit Blut mit Tyrosin im Finstern,
 - 11) nicht erwärmtes Blut mit Tyrosin im Lichte,
 - 12) - - - - - im Finstern,
 - 13) - - - mit 100° erwärmtem Tyrosin im Lichte,
 - 14) - - - - - im Finstern,
 - 15) 100° erwärmte physiol. NaCl mit Blut + 100° erwärmte Tyrosinase im Lichte,
 - 16) 100° erwärmte physiol. NaCl mit Blut + 100° erwärmte Tyrosinase im Finstern,
 - 17) gewöhnliches Tyrosin + 100° erwärmte Tyrosinase im Lichte,
 - 18) - - + 100° - im Finstern,
 - 19) 100° erwärmtes Tyrosin + 100° erwärmte Tyrosinase im Lichte,
 - 20) - - - + 100° - im Finstern
- und Kontrollprobe gewöhnliches Tyrosin + gewöhnliche Tyrosinase im Lichte
- und Kontrollprobe gewöhnliches Tyrosin + gewöhnliche Tyrosinase im Finstern.

Die zu diesem Versuch verwendete Tyrosinase wurde aus dem Blute von 14 mittleren Puppen in der gewöhnlichen Weise am 22. I. 1916 hergestellt.

Auf 100° erwärmtes Blut in physiologischer Kochsalzlösung. Es wurden hierzu am 25. I. 1916 6 mittlere Puppen (teils aus dem weißen Kasten, teils aus dem Intensitätenversuch) genommen und in 12 cm³ auf 100° im Wasserbade erwärmte physiologische Kochsalzlösung je zwei Tropfen Blut aus jeder Puppe hineinfließen gelassen, so daß ein Tropfen auf 1 cm³ physiol. NaCl kam. Sie bildeten sofort ein Koagulum. Dann wurde noch einige Minuten weitergekocht. Am nächsten Tage wurde die physiologische Kochsalzlösung mit den darin gelösten Substanzen des Blutes vom Koagulum abfiltriert und das Filtrat in die verschiedenen Eprouvetten (je 1 cm³) verteilt.

Auf 100° erwärmtes Tyrosin. Gleichzeitig mit dem Erwärmen des Blutes am 25. I. wurde auch von der gewöhnlichen Tyrosinlösung eine größere Menge in einer Eprouvette im Wasserbade auf 100° erwärmt und dann erkalten gelassen und am nächsten Tage ebenfalls für die betreffenden Reaktionen verwendet.

Die Reaktionen, auch die mit den vorerwärmten Flüssigkeiten, wurden alle bei gewöhnlicher Temperatur ausgeführt.

Bei allen Proben kam 1 Tropfen Blut oder Tyrosinase auf 1 cm³ der zu prüfenden Flüssigkeit. Bei den Proben mit nicht erwärmtem Blut (11, 12, 13, 14) wurde der Tropfen direkt aus der Puppe in die Flüssigkeit hineinfallen gelassen. Bei den Proben 9 und 10, wo auf 100° erwärmtes Blut in physiologischer Kochsalzlösung mit Tyrosin zu versetzen war, mußte, um den Konzentrationsgrad zu wahren, anstatt der Tyrosinlösung etwas Tyrosinpulver bis zur Sättigung zugesetzt werden; das Ganze wurde nachher filtriert.

Die Proben wurden am 26. I. zwischen 11 und 12^h mittags aufgestellt. Davon wurden die Proben 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 und eine Kontrollprobe (gewöhnliches Tyrosin + gewöhnlicher Tyrosinase) am Lichte belassen und die analogen Proben 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 und eine Kontrollprobe mit einem Dunkelsturz bedeckt, welcher nur bei den Kontrollen für 1 bis 2 Minuten abgenommen wurde. Die Proben im Lichte wurden die ganze Zeit über beobachtet, die Registrierungen erfolgten, sobald Veränderungen auftraten. Die erste Registrierung erfolgte 5 Stunden nach der Aufstellung. Die Ergebnisse aller Registrierungen dieses Versuches sind in der Tabelle 12 ersichtlich.

Melaninbildung: Bei der 1. Registrierung hatte nur die Verfärbung der Proben mit Tyrosin und einem Tropfen Tyrosinase oder unverändertem Blutstropfen begonnen (Melaninbildung), und zwar zeigte es sich, daß die Reaktion rascher bei dem auf 100° erwärmten Tyrosin eingesetzt hatte, denn während die Probe 7 (100° erwärmtes Tyrosin + Tyrosinase) 5 Stunden nach der Aufstellung deutlich violett gefärbt ist, erscheint die Kontrollprobe (gewöhnliches Tyrosin + gewöhnlicher Tyrosinase) beinahe noch farblos und erscheint erst am nächsten Tage violett, doch bleiben die Unterschiede in der Intensität der Färbung auch noch einige Tage nachher erhalten. Auch zwischen den Proben 11 und 13 sind dieselben Unterschiede wahrzunehmen. Bei den verdunkelten Proben, wo die Reaktion im Vergleich zu den belichteten etwas langsamer verläuft, ist jedoch dieser Unterschied zwischen dem erwärmten und nicht erwärmten Tyrosin nicht wahrzunehmen.

Ergrünen: Am nächsten Tage nach der Aufstellung zeigten bei der Kontrolle um 9^h früh die Proben 3 und 4, welche auf 100° erwärmtes Blut in physiologischer Kochsalzlösung enthielten, dem ein Tropfen Tyrosinase zugesetzt worden war, eine deutlich grüne Färbung, während die analogen Proben, jedoch ohne Tyrosinase (1 und 2) oder mit auf 100° erhitzter Tyrosinase (15 und 16) oder die, welche auf 100° erwärmtes Blut in physiologischer Kochsalzlösung enthielten, ohne Tyrosinase, dagegen mit Tyrosinpulver (9 und 10), ganz unverändert geblieben waren. Die Anfangsfarbe aller dieser Proben, die mit der Tyrosinase mit eingeschlossen, war ein schwach grauer Ton. Nach zwei Tagen erschienen diese acht Proben, welche auf 100° erwärmtes Blut in physiologischer Kochsalzlösung enthielten, vorübergehend getrübt, unter Beibehaltung der Färbungsunterschiede; nach zwei Tagen waren sie wieder geklärt und ein weißliches Sediment am Boden der Eproutetten abgelagert, und die schöne grüne Färbung der Proben 3 und 4 hob sich deutlich von den anderen ungefärbten ab. Es geht also aus diesem Versuch zweifellos hervor, daß die Tyrosinase notwendig ist, um die Grünfärbung des auf 100° erwärmten Blutes hervorzurufen. Diese ergrünzten Proben zeigten eine schöne grüne fluoreszierende Farbe, die sich sehr lange Zeit erhielt und dann schließlich etwas verblaßte. Sie wurde sowohl spektroskopisch untersucht als auch zu den »Tiergrün«-Reaktionen verwendet (siehe Tabelle 13).

Auch die Proben, die Tyrosin mit einem Tropfen Blut enthielten, die nach Absetzung des Melanins zuerst eine eisenviolett gefärbte

Flüssigkeit, die sich einige Tage unverändert hielt, aufwiesen, wurden am 4. Tage nach der Aufstellung grün.

Autooxydation des Tyrosins: Am 4. II., also am 9. Tage von der Aufstellung, tritt zum erstenmal bei der Probe 5 eine Rosafärbung auffallend hervor. Das ist auf 100° erwärmtes Tyrosin ohne Tyrosinase. Ganz genau so, wenn auch etwas schwächer, ist die korrespondierende Probe in der Dunkelheit Nr. 6, und ebenso zeigen die Proben 19 und 20, die auf 100° erwärmtes Tyrosin + 100° erwärmte Tyrosinase enthalten, wenn man sie mit den ganz farblosen Proben 17 und 18 vergleicht, die gewöhnliches Tyrosin und 100° erwärmte Tyrosinase enthalten, einen schwachen Rosaschimmer. Die Rosafärbung nimmt bei allen Proben immer mehr zu, doch während nachher die am Lichte wieder verblassen, erhalten sie im Dunkeln ihre Färbung, die sogar immer mehr an Intensität zunimmt, bis zu einem intensiven Kirschrot. Bei der letzten Kontrolle am 5. IV. waren schon, trotzdem sie mit Wattepfropf verschlossen waren, beinahe alle verdunstet, doch ist ein dunkler (sepiabrauner) Rückstand in der Eprouvette zu sehen.

Diese Erscheinung des Rosawerdens des Tyrosins ist kein Zufall, sondern bedeutet die Autooxydation des Tyrosins, welche hier durch die Erwärmung beschleunigt wurde, so daß die erste Stufe, die Rosafärbung auftritt (die wir ja auch bei Einwirkung der Tyrosinase der hellen und der auf 60°, 70°, 80° erwärmten Tyrosinase auftreten sahen). Die Tyrosinase selbst nimmt ja an der Bildung des Melanins nicht als Bestandteil teil, in ihrer Gegenwart wird der Oxydierungsprozeß nur beschleunigt, beziehungsweise eingeleitet. Die durch Erhitzen geschwächte Tyrosinase bewirkt die langsame Oxydation des gewöhnlichen Tyrosins — Rosastufe —, welche aber auch erreicht werden kann ohne die Gegenwart der Tyrosinase, bloß durch Erwärmen des Tyrosins. Kurz vor Abschluß aller Versuche wurde sogar die ganze Tyrosinlösung, die zu Beginn der Untersuchungen am 8. XI. 1915 bereitet worden war, schon bei gewöhnlicher Zimmertemperatur rosa (vgl. Tabelle 14).

Die gewöhnliche Tyrosinase wirkt aber auf das gewöhnliche Tyrosin, indem es die rasche Oxydation (Violettstufe) bewirkt, so daß sie die Rosastufe überspringt und gleich die Violettstufe hervorruft.

Diese Tatsache erklärt nun auch, warum das auf 100° erwärmte Tyrosin + einen Tropfen Blut (Probe 13) rascher und stärker geschwärzt war als Probe 11, wo nicht erwärmtes Tyrosin war, und

ebenso warum Probe 7 (100° Tyrosin + Tyrosinase) sofort die Violettfärbung zeigte, während die Kontrollprobe (gewöhnliches Tyrosin + Tyrosinase) noch ganz farblos war: das Tyrosin ist nämlich durch die Erwärmung in gleicher Richtung verändert und die Resultate summieren sich.

8. Versuchsreihe: Umwandlung des Tyrosins durch Erwärmen resp. längeres Kochen.

Es wurden am 4. II. folgende Tyrosinproben (je 1 cm³) aufgestellt:

4 Proben gewöhnlichen Tyrosins (um 5^h),
 4 - auf 100° erwärmten Tyrosins (um 12^h 30'),
 4 - wurden ebenfalls im Wasserbade auf 100° erwärmt, aber dann auch weiter darin kochen gelassen. Es wurde aber nicht kontinuierlich gekocht, und zwar am ersten Tage am Vormittag 1½ Stunden, von 11^h 30'—1^h, sodann bei kleiner Flamme (Temperatur war auf 80° gesunken) bis 3^h belassen, dann wieder kontinuierlich bis 7^h gekocht. Am nächsten Tage wurden sie wieder von 2^h 45'—5^h 45' weiter gekocht, sie zeigten damals schon eine gelbe Färbung. Von diesen Proben, die 8½ Stunden gekocht hatten, wurden zwei herausgenommen (mit I bezeichnet), durch Zusatz von destilliertem Wasser auf die ursprüngliche Höhe gebracht, wobei sie die gelbliche Färbung beibehielten, und neben den anderen nicht erwärmten und auf 100° erwärmten Proben aufgestellt.

Die übrigen zwei wurden nachher am Montag, den 7. II. von 10^h 45'—12^h 45' weiter gekocht, ebenfalls nachdem vorher destilliertes Wasser bis auf die ursprüngliche Höhe hineingegossen wurde. Nach einigen Tagen (am 10. II.) wurde mit dem Kochen dieser 2 Proben wieder eingesetzt, und zwar vormittags von 10^h 30'—12^h 30' und dann von 3^h 30'—8^h. Diese Proben, die also ca. 17 Stunden gekocht haben (die Anzahl der Stunden, in denen sie gekocht haben, ist eigentlich nicht genau, denn es ist dabei auch jedesmal die Zeit der Erwärmung des Wassers bis zum Siedepunkt mit eingerechnet), zeigen beim Herausnehmen aus dem Wasserbade eine viel stärker gelbliche Färbung. Eine von diesen Proben wurde unverändert aufgestellt (II), die andere (III) nach abermaligem Zusetzen von destilliertem Wasser noch einige wenige Stunden weiter gekocht; sie zeigte eine gelbliche Färbung wie die andere Probe. Nur wurde zu dieser letzten Probe ein Tropfen einer übrigens ziemlich schwachen Tyrosinase zugesetzt.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind aus der Tabelle 14 er-

sichtlich. Die nach den Ergebnissen des vorigen Versuches zu erwartende Rosafärbung des auf 100° erwärmten Tyrosins blieb aus, hingegen wurden ca. 2 Wochen nach der Aufstellung die nicht erwärmten Proben rosa. Diese Erscheinung erfuhr ihre Bestätigung dadurch, daß bald darauf auch der ganze übrige Vorrat an Tyrosinlösung (die am 8. XI. 1915 gemacht worden war) ebenfalls rosa geworden war. Dagegen blieben die auf 100° erwärmten, die eigentlich bei 100° einige Minuten gekocht hatten, alle farblos unverändert, nur eine erscheint etwas gelblich.

Die Proben, die ca. 8½ Stunden gekocht hatten, waren gleich nach dem Kochen gelblich. Bei der Registrierung vom 7. III., also einen Monat später, erschienen sie gelblich mit einem Stich ins Rosa. Bei den Proben, die am meisten gekocht hatten, die gleich nach dem Kochen eine stärker gelbliche Farbe zeigten, hatte die gelbe Farbe an Intensität zugenommen, sie war deutlich weingelb, und zwar ist zwischen diesen beiden Proben (bei Kontrolle am 7. III.) ein großer Unterschied in der Färbung, die Probe II erscheint hellgelb, die Probe III, die mit einem Tropfen Tyrosinase versetzt worden war, ist nicht schwarz geworden, sondern dunkler gelb, sogar etwas grünlich, und verglichen mit der ergrünten tierischen Probe zeigt sich fast kein Unterschied, vielleicht sind diese etwas mehr grünlich. Die zugesetzte Tyrosinase war wohl schwach, aber nicht unwirksam gewesen, denn Proben mit gewöhnlichem Tyrosin und derselben Tyrosinase wurden deutlich violett und schwärzten sich nach einiger Zeit, wenn auch nicht mit einer so reichlichen Melaninbildung wie bei den ersten Versuchen.

Wir sehen also, daß durch längeres Kochen (7—8 Stunden) das Tyrosin eine Umwandlung erfährt, einen Farbumschlag in Gelb. Ein solches lange gekochtes gelb gewordenes Tyrosin scheint sich auch bei Zusatz von Tyrosinase nicht so wie gewöhnliches Tyrosin zu verhalten, es ist da vielleicht ein Grünlichwerden zu verzeichnen.

Ich möchte diese Beobachtungen sowie auch den sich ergebenden Vergleich mit ergrünten tierischen nur mit einiger Reserve mitteilen, genauere Versuche hierüber werden noch angestellt werden. Wir finden übrigens für diese Veränderung des Tyrosins auch eine Stütze in einer Angabe von DUCCESCHI (1901), der bei Oxydation des Tyrosins in salzsaurer Lösung mittels einiger Tropfen von Kaliumchlorat und Erwärmung zuerst eine lebhaft rote Färbung erhielt, die dann in Schwarz überging und sich absetzte (Melanin). Gab er zuviel Kaliumchlorat, so verschwand die ursprüngliche rote Farbe, und die

Flüssigkeit erschien schwach gelbgrün gefärbt. Dieselbe Erscheinung beobachtete er auch beim Oxydieren mit Natriumnitrit: bei geringerem Zusatz lebhaft rote Farbe und dann Melaninbildung, im Überschuß zugesetzt verblaßt die rote Farbe, um gelbgrün zu werden.

Ebenso wie beim Tyrosin könnte es sich auch beim Auftreten der Grünfärbung bei den tierischen Proben um ein verändertes Chromogen handeln, auf das die Tyrosinase einwirkt und eine Grünfärbung anstatt einer Schwärzung hervorruft. Nur daß dabei schon eine geringere Erwärmung genügt, um die Veränderung zu bewirken, so ein Erwärmen des Blutes auf 100°, ja sogar nur auf 60°, wie eine Beobachtung zeigt (Tabelle 15), wobei je ein Blutstropfen in 60° warme physiologische Kochsalzlösung hineingegeben wurde und sich überhaupt nicht schwärzte, während bei derselben Temperatur Tyrosin sich durch Zusatz eines Blutstropfens intensiv schwärzte. Das kann nur so erklärt werden, daß in dem einen Falle die Tyrosinase auf das Tyrosin wirkt, in dem anderen es nur auf das eigene Chromogen wirkt; wenn also hier die Schwärzung nicht auftritt, während sie bei gewöhnlicher Temperatur auch in der physiologischen Kochsalzlösung sehr deutlich ist, so kann die Ursache nur im Chromogen zu suchen sein, denn die Tyrosinase ist wirksam geblieben, wie die Einwirkung auf das Tyrosin zeigt.

Es scheint ziemlich naheliegend bei der Erscheinung des Ergrünes der tierischen Proben, dabei an einen Zusammenhang mit dem grünen Farbstoff zu denken und die Möglichkeit seiner Entstehung ebenfalls auf einen fermentativen Prozeß zurückzuführen. Die Homologie mit dem Verhalten des Tyrosins zeigt uns vielleicht den Weg, wie dieser Zusammenhang zu denken wäre. Es erscheint sehr verlockend, diesen Zusammenhang zu erforschen, besonders, da sich hier vielleicht genetische Beziehungen zwischen dem dunkeln und dem grünen Farbstoff auffinden lassen könnten, welche das von äußeren Faktoren abhängige wechselnde Verhältnis in der Menge der beiden Farbstoffe zueinander erklären könnten.

Doch seien diese Beobachtungen über das Ergrünen wegen der daraus sich ergebenden wichtigen Schlußfolgerungen nicht ohne einen gewissen Vorbehalt mitgeteilt. Eine Bestätigung dieser Erscheinung und genauere Beobachtungen hierüber sind noch weiteren Untersuchungen vorbehalten. Einstweilen möchte ich eine Befürchtung nicht verhehlen, es könnte beim Ergrünen der tierischen Proben eine Kontamination durch Bakterien diese Erscheinung hervorgerufen und dabei die Tyrosinase nur deren Stoffwechselprozeß beschleu-

nigt haben. Dagegen spricht: 1) daß bei der mikroskopischen Untersuchung eines Tropfens der ergrünten Probe nur Blutkristalle gefunden wurden, während in einem ähnlich behandelten Chlorophyllauszug, der ebenfalls ergrünt war, wo jedoch eine Kontamination unzweifelhaft vorlag, Algen und Kokken und andere Bakterien gefunden wurden; 2) das gesetzmäßige Auftreten der Grünfärbung a) bei den mit dem Blute der grünen Puppen versetzten Tyrosinproben im Gegensatze zu dem der nichtgrünen, b) bei den erwärmten Proben und schließlich c) bei den wäßrigen Hüllenextrakten der grünen, wo ein stärkeres Grün auftrat. Warum hätten es nicht die anderen Proben, die genau dieselben Voraussetzungen für eine Bakterieninfektion enthalten?

XII. Spektroskopische Untersuchungen der grünen Farbstoffextrakte.

Die spektroskopischen Untersuchungen wurden gemacht an den grünen Farbstoffextrakten: der Puppenhüllen aller 4 Hauptfarbtypen, sowohl aus dem Freien und aus den Puppen mit den induzierten Farben, der ganzen Puppen (und zwar der grünen und mittleren), an den ergrünten Proben und als Vergleichsobjekt an den Chlorophyllextrakten des Kohles als Futterpflanze der Raupen von *Pieris brassicae* (nachdem sie meist auf die gleiche Helligkeit mit den tierischen Auszügen gebracht worden waren). Es wurden sowohl die wäßrigen Extrakte mit physiologischer Kochsalzlösung als auch die Äther-, Alkohol- und Petrolätherauszüge spektroskopisch untersucht. Nur beim Chlorophyll gab die wäßrige Lösung kein Resultat, da dieser Extrakt überhaupt keine eigentliche Lösung, sondern nur eine Suspension war.

Als Apparat diente ein Spektralapparat von SCHMIDT und HAENSCH im II. physikalischen Universitäts-Institute. Die Benutzung des Apparates verdanke ich dem Entgegenkommen des Herrn Prof. HASCHKE. Die Werte (Beginn und Ende von Absorptionen) wurden auf einer Trommel abgelesen. Der Apparat war so justiert, daß beim Teilstrich 2000 der Trommel die Natriumlinie sich in der Mitte des Fadenkreuzes befand. Die auf der Trommel abgelesenen Werte wurden mittels einer im Institute vorhandenen, für diesen Apparat nach bekannten Emissionsspektren gemachten Eichungskurve in Wellenlängen umgerechnet.

Die Lösungen wurden in kleinen Glaströgen mit planparallelen Wänden und aufgeschliffenen Deckeln untersucht. Je nachdem dieselben mit der breiten oder schmalen Wand vor den Spalt hingestellt

wurden, konnte man die Beobachtung an zwei verschiedenen Schichtdicken machen. Am meisten ist bei der Schichtdicke 30 mm untersucht worden, aber auch bei 10 und 15 mm. Außerdem wurden die Lösungen auch in Eprouvetten untersucht (kleine von 10 mm und große von 15 mm im Durchmesser).

Es wurde zu den Untersuchungen das Spektrum einer elektrischen Glühlampe benutzt, und dank einer besonderen Vorrichtung des Apparates, eines vor der einen Hälfte des Spaltes befindlichen kleinen Prismas, wie auch seitlich eines kleinen Spiegels, war immer gleichzeitig mit dem jeweiligen Absorptionsspektrum auch das unveränderte Vergleichsspektrum der Glühlampe zu sehen.

Ergebnisse der spektroskopischen Untersuchungen.

(Vgl. die angeschlossenen Tabellen 16, 17, 18 und 19.)

Alle untersuchten tierischen Extrakte geben ein an beiden Enden verkürztes Spektrum: eine Totalabsorption am roten Ende, die höchstens bei 675 $\mu\mu$ aufhört; ein getrenntes Band in Rot konnte ich nicht beobachten, sondern nur das Ende dieser Totalabsorption. Sodann beginnt eine Totalabsorption am blauvioletten Ende von 505 an. Diese Endabsorptionen schwanken etwas bei den einzelnen Extrakten, doch konnte eine charakteristische Verschiedenheit zwischen den Farbtypen und auch bei den verschiedenen Lösungsmitteln nicht konstatiert werden, sie verhalten sich alle so ziemlich gleich, wie aus der Durchsicht der Tabellen genau zu ersehen ist. Dasselbe Spektrum zeigt auch die ergrünte Probe.

Im Gegensatz dazu fällt das charakteristische Spektrum des Chlorophylls bei allen verwendeten Lösungsmitteln, Schichtdicken und Verdünnungsgraden auf. Die typischen Bänder sind besonders bei den Ätherauszügen zu sehen, hier treten nämlich alle vier Bänder auf: Betrachten wir das auf gleiche Helligkeit mit den tierischen Extrakten gebrachte und bei derselben Schichtdicke 30 mm der Küvette beobachtete Spektrum, so sehen wir das Ende einer Totalabsorption bei 716, sodann nach vollständiger Aufhellung des Spektrums ein

I. breites schwarzes Band in Rot von 682, das sein Maximum bei 660 erreicht und dann abnimmt und bis 645 reicht. Die eingeklammerten Ziffern in den Tabellen bedeuten schwächere Absorptionen;

II. Band in Orange von 613—597;

III. Band in Grün von 538—530;

IV. Band, das bei 508 beginnt, ist bei dieser Schichtdicke nicht mehr von der Totalabsorption in Violett zu unterscheiden.

Bei dem Alkoholauszuge konnte ich ebenfalls bei derselben Schichtdicke und gleichem Helligkeitsgrad wie das der tierischen das Band in Rot 680—658 (—647) und ein ganz schwaches, aber deutliches Band in Orange 609—595 beobachten. Der Petrolätherauszug zeigt nur ein breites schwarzes Band in Rot von 677—666 Maximum (—656).

Die Deutlichkeit, mit der jedesmal das Band in Rot auftrat, sobald eine Chlorophylllösung untersucht wurde, wobei ich mehrere Male abwechselnd bald eine tierische, bald eine pflanzliche Lösung vornahm, dürfte vielleicht als Beweis gelten, daß ich dasselbe Band in Rot bei den tierischen nicht übersehen hätte. Ich habe aber bei diesen nur das Ende einer Totalabsorption bemerken können.

Es ist schon mehrmals die Chlorophyllnatur des grünen Farbstoffs von pflanzenfressenden Insekten auf Grund von spektroskopischen Untersuchungen vertreten worden (namentlich von POULTON — vgl. Lit. bei PRZIBRAM 1913 und BIEDERMANN — Farbe und Zeichnung der Insekten in WINTERSTEINS Handbuch der vergleich. Physiologie).

GEYER (1913) hat die frische Hämolymphe von *Pieris-brassicae*-Puppen spektroskopisch untersucht, er gibt hierfür das für Chlorophyll charakteristische Band in Rot von 682—660 an, vorher sei aber das Spektrum getrübt, und eine Totalabsorption am blauviolettten Ende von 495,3 beginnend. Er schließt daraus, daß es sich beim grünen Farbstoff des Blutes von *Pieris brassicae* um Chlorophyll handle. Die Tatsache, daß sein wäßriger Chlorophyllextrakt (Spinatblätter) auch nur dieses Band in Rot gegeben hat, läßt ihn die Vermutung aussprechen, daß das Auftreten der 4 charakteristischen Bänder des Chlorophylls mit dem organischen Lösungsmittel zusammenhänge, denn eine Lösung von Chlorophyll in Kalilauge zeige auch niemals mehr als zwei Bänder, und zwar ein dunkles Band in Rot und die Totalabsorption. Diese vier Streifen können regeneriert werden, wenn man die anorganische Lösung mit einem nicht leicht mischbaren organischen Lösungsmittel leicht schüttelt.

Seine Versuche, den grünen Farbstoff der Hämolymphe von *Pieris brassicae* in ein organisches Lösungsmittel überzuführen (Ausschütteln des Blutes mit Äther), blieben erfolglos. Das gebildete Eiweißkoagulum schloß das eigentliche Grün ein, während sich der Äther nur gelb färbte.

Leider habe ich die Hämolymphe selbst einer spektroskopischen Untersuchung nicht unterzogen. Zuzufolge der raschen Schwärzung war

es nicht recht möglich, da die spektroskopischen Untersuchungen in einem anderen Institut gemacht wurden. Aber die wäßrigen Extrakte der Puppenhüllen sowie auch die Extrakte der ganzen Puppen enthielten jedenfalls auch das Blut. Es zeigen aber, und das betrifft durchweg alle Puppenextrakte, sowohl die wäßrigen Extrakte als auch die in den organischen Lösungsmitteln dasselbe an beiden Enden absorbierte Spektrum ohne die Chlorophyllbänder, während die parallel damit und bei derselben Schichtdicke in denselben Lösungsmitteln untersuchten Pflanzenextrakte das charakteristische Chlorophyllspektrum zeigen.

Eine Verschiedenheit des grünen Farbstoffs bei den vier Hauptfarbtypen ist aus den spektroskopischen Untersuchungen nicht ersichtlich, sowie auch nicht die Zusammensetzung der grünen Farbe aus mehreren Farbstoffen wie beim Chlorophyll, was namentlich in einer Verschiedenheit des spektroskopischen Verhaltens zwischen den Petrolätherauszügen und den anderen hätte zum Ausdruck kommen müssen.

Es sind offenbar nur quantitative Unterschiede im grünen Farbstoff zwischen den Farbtypen, die keine Unterschiede im Spektrum ergeben.

Zusammenfassung des ersten bis dritten Teiles.

I. Teil. An den Puppen von *Pieris brassicae* können wir vier Hauptfarbtypen unterscheiden: helle, mittlere, dunkle und grüne, welche alle in der Natur bei entsprechender Umgebung vorkommen.

II. Teil. 1) Die hellsten Puppen entstehen experimentell auf weißem Hintergrunde, die dunkelsten auf schwarzem, die grünen auf gelb reflektierendem (orange bis gelbgrün gefärbtem), die mittleren auf allen anderen Hintergrundfarben und in vollständiger Dunkelheit.

2) Auch im Spektrum zeigte sich im Gelb das Maximum an Grünfärbung der Puppen.

3) Weißes Licht liefert in keiner, gelbes Licht in jeder noch als solcher wirksamen Abstufung grüne Puppen.

III. Teil. A) Die hellen Puppen sind charakterisiert durch die geringe Ausbildung des dunkeln und des grünen Pigments in der Hülle; ihre Bluttyrosinase verfärbt Tyrosin rosa, im Gegensatz zu der violetten Verfärbung bei den drei übrigen Farbtypen.

B) Die mittleren Puppen haben mehr dunkles und grünes Pigment.

C) Die dunkeln Puppen haben das meiste dunkle Pigment.

D) Die grünen Puppen haben wenig dunkles, aber viel grünes Pigment und im Gegensatz zum gelbgrünen Blute der anderen drei Typen leuchtend grünes Blut. Dasselbe erzeugt auch mit der Zeit in einer farblosen Tyrosinlösung im Gegensatze zum Blute der anderen Farbtypen eine schön grüne Farbe.

Durch Erwärmen läßt sich diese grüne Verfärbung auch bei den Blutproben der anderen Farbtypen herstellen und die violettverfärbende Tyrosinase in die rosaverfärbende überführen.

Am Schlusse sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. HANS PRZIBRAM, für die rege Anteilnahme und für die mir zuteil gewordenen Anregungen und Anleitung bei der Arbeit meinen innigsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

- BARBER, M. E., Notes on the peculiar habits and changes which take place in the larva and pupa of *Papilio nireus* communicated by CHARLES DARWIN. Transactions of the Entomological Society of London. 519. 1874.
- BIEDERMANN, W., Physiologie der Stütz- und Skelettsubstanzen. WINTERSTEINS Handbuch der vergleichenden Physiologie. III. 814. Chitinstrukturen. 1913.
- Farbe und Zeichnung der Insekten. WINTERSTEINS Handbuch der vergleichenden Physiologie. III. (Energie und Formenwechsel.) 1793. Der Farbenwechsel der Schmetterlingspuppen. 1914.
- BORDAGE, E., Expériences sur la relation qui existe entre la couleur du milieu et la couleur des chrysalides de certains Lépidoptères. Proc. 4. Internat. Congr. Zool. 235. 1899.
- Sur les différentes colorations de *Papilio demoleus* et de *Danaüs Chrysippus*. Bull. Soc. Ent. France. 234. 1900.
- DUCCESCHI, V., Sulla natura delle melanine e di alcune sostanze ad esse affini. Atti del Accademia dei Lincei ser. V. Scienze fisiche Rendiconti. X. 180. 1901.
- v. FRISCH, KARL, Über farbige Anpassung bei Fischen. Zoologische Jahrbücher, Abteilung für allgemeine Zoologie und Physiologie. XXXII. 171. 1912.
- v. FÜRTH, O., und SCHNEIDER, Über tierische Tyrosinasen und ihre Beziehungen zur Pigmentbildung. HOFMEISTERS Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie. I. 229. 1902.
- v. FÜRTH, O., Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere. Jena, Fischer. 1903.
- v. FÜRTH, O., und JERUSALEM, E., Zur Kenntnis der melanotischen Pigmente und der fermentativen Melaninbildung. HOFMEISTERS Beiträge zur chemischen Physiologie. X. 131. 1907.
- v. FÜRTH, O., Über Nitrochitine. HOFMEISTERS Beiträge. X. 188. 1907.
- Chemie des Muskelgewebes aus Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere von CARL OPPENHEIMER. 244. Jena. 1908.

- GEYER, KURT, Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung der Insektenhämolymph und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung. Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie. CV. 350. 1913.
- GRIFFITH, GEORGE C., Experiments upon the colour-relation between the pupae of *Pieris rapae* and their immediate surroundings. Transactions of the Entomological Society of London. 247. 1888.
- La pupine nouvelle substance animale. Compt. rend. Académie Paris. CXV. 320. 1892.
- Bulletin Acad. roy. Belg. (3) XXIV. 592. 1892.
- HESS, C., Gesichtssinn in WINTERSTEINS Handbuch der vergleichenden Physiologie. IV. 555. 1912.
- Untersuchungen zur Frage nach dem Vorkommen von Farbensinn bei Fischen. Zool. Jahrbücher, Physiol. XXXI. 629. 1912.
- Neue Untersuchungen zur vergleichenden Physiologie des Gesichtssinnes. Zool. Jahrbücher, Abteilung f. allgemeine Zoologie u. Physiologie der Tiere. XXXIII. 387. 1913.
- MAST, S. O., Changes in shade, colour and pattern in fishes and their bearing on certain problems of behaviour and adaptation. Proceedings of the National Academy of Sciences. I. 214. 1915.
- MELDOLA, RAPHAEL, On a certain class of cases of variable protective colouring in Insects. Proceed. of the Zoological Society of London. 153. 1873.
- MERRIFIELD, F., The colouring of pupae of *Papilio machaon* and *Pieris napi* caused by the exposure to coloured surroundings of the larvae preparing to pupate. Trans. Ent. Soc. London Proc. 30. 1898.
- MÜLLER, FRITZ, Die Farbe der Puppen von *Papilio polydamus*. Kosmos. XII. 448. 1882.
- OSTWALD, WO., Über die Lichtempfindlichkeit tierischer Oxydasen und über die Beziehungen dieser Eigenschaft zu den Erscheinungen des tierischen Phototropismus. Biochemische Zeitschrift. X. 1. 1908.
- PETERSEN, W., Zur Frage der Chromophotographie bei Schmetterlingspuppen. Sitzungsberichte der Naturforschergesellschaft Dorpat. IX. 232. 1891.
- POULTON, EDWARD B., An enquiry into the cause and extent of a special colour-relation between certain exposed Lepidopterous pupae and the surfaces which immediately surround them. Philosophical Transaction. CLXXVIII. B. 311. 1887.
- PRZIBRAM, HANS, Versuch zur chemischen Charakterisierung einiger Tierklassen des natürlichen Systems auf Grund ihres Muskelplasmas. HOFMEISTERS Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie. II. 143. 1902.
- Das lebende Tiermaterial für biochemische Untersuchungen. In Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden von ABDERHALDEN. VII. 28 u. 29. 1913.
- Grüne tierische Farbstoffe. Archiv für die gesamte Physiologie. CLIII. 385. 1913.
- Experimental-Zoologie. V. Funktion. Wien u. Leipzig, F. Deuticke. 7 u. ff. 1914.
- STANDFUSS, M., Handbuch der paläarktischen Groß-Schmetterlinge. 2. Aufl. Jena. 1896.
- STECHE, O., Die sekundären Geschlechtscharaktere der Insekten und das Problem der Vererbung des Geschlechts. Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre. VIII. 284. 1912.

- STECHE, O., Beobachtungen über Geschlechtsunterschiede der Hämolymphe von Insektenlarven. Verhandlungen der Deutschen Zoologischen Gesellschaft auf der 22. Jahresversammlung zu Halle. 1912.
- TRIMEN, ROLAND, South african butterflies. III. Papilionidae and Hesperidae. 225. 1889.
- WOOD, T. W., Remarks on the coloration of chrysalids. Entomological Soc. Proceedings. 49. 1867.

Verzeichnis der Tabellen.

- Tabellen A—J Versuche über den Lichteinfluß.
- 1—15 Versuche über die Chemie der Farbtypen.
 - 16—19 Absorptionsspektren.

- Tabelle A. Anzahl der in die verschiedenen Kästen der 1. Versuchsreihe A hineingegebenen Raupen.
- B. Erste Registrierung der Puppen aus der 1. Versuchsreihe A mit Angabe des Ortes der Verpuppung und der Färbung der Puppen.
 - C. Zweite Registrierung der Puppen aus der 1. Versuchsreihe A. Statistische Zusammenstellung.
 - D. Versuch mit farbigen Kästen bei direktem Sonnenlicht.
 - E. Hell- und Dunkelversuche.
 - F. Ergebnisse des Spektralversuches.
 - G. Ergebnisse der 3. Versuchsreihe: Versuch mit verschiedenen Intensitäten des Weiß und des Gelb.
 - H. Tabellarische Zusammenstellung aller Versuchsergebnisse.
 - J. Tabellarische Zusammenstellung aller Versuche nach den für die einwirkende Beleuchtungsart charakteristischen Hauptfarbtypen.
 - 1. Bestimmung der Koagulationspunkte und Reaktionen mit Säuren und Alkalien an dem Blute sowie an dem wäßrigen Extrakt der übrigen Puppenteile.
 - 2. Tyrosinase-Nachweis im Blute von *Pieris*-Puppen.
 - 3. Nachweis von Tyrosin im Puppenblut.
 - 4. »Tiergrün«-Reaktionen der wäßrigen Extrakte des Plasmas und der Hülle.
 - 5. »Tiergrün«-Reaktionen der Ätherextrakte des Plasmas und der Hülle.
 - 6. Nachweis der Verschiedenheit der Tyrosinase in den Puppen der vier Hauptfarbtypen (Puppen aus dem Freien).
 - 7. Wiederholung dieses Versuches an Puppen mit den experimentell induzierten Färbungen.
 - 8. Stichproben an den vier verschiedenen Puppenfarbtypen.
 - 9. Blutreaktionen der verschiedenen Typen eines Versuchskastens.
 - 10. Reaktionen mit den wäßrigen Extrakten der Puppenhüllen und der Organe der vier Hauptfarbtypen.
 - 11a und 11b. Prüfung der Wirksamkeit der Tyrosinase bei verschiedenen Temperaturen.
 - 12. Rolle der Tyrosinase beim Ergrünen des in physiologischer Kochsalzlösung gelösten, auf 100° erwärmten Blutes; Autooxydation des Tyrosins.

Tabelle 13. »Tiergrün«-Reaktionen mit den ergrüntten tierischen Proben.

- 14. Umwandlung des Tyrosins durch Erwärmen bzw. längeres Kochen.
- 15. Reaktionen des Puppenblutes auf das Tyrosin bei gewöhnlicher Temperatur und bei 60° und auf die physiologische Kochsalzlösung bei denselben Temperaturgraden.
- 16. Absorptionsspektren der wäßrigen Extrakte.
- 17. Absorptionsspektren der Ätherauszüge.
- 18. Absorptionsspektren der Alkoholauszüge.
- 19. Absorptionsspektren der Petrolätherauszüge.

Tabelle A.

Anzahl der in die verschiedenen Kasten der 1. Versuchsreihe
hineingegebenen Raupen.

Datum	Weiß		Hell- grau		Gelb		Perl- grau		Schwarz		Blau		Blau- grün		Gelb- grün		Orange		Purpur	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
1915	Anzahl der Raupen:																			
19. VIII.															6					
20. -																				
21. -	6								6											
22. -																				
23. -		6							7						7		6	7		
24. -	8								7	1					8		8	1		
25. -		5													5					
26. -									4						6		6			
27. -					10	9														
28. -																	5			
29. -	6																			
30. -	4	3							10						10		10			
31. -		7			10	10									10					
1. IX.																				
2. -									11								10			
3. -											11	12								
4. -																				
5. -																				
6. -	10				10				10						10		10			
7. -																				
8. -	2	12			2	12			4	12										
9. -																				
10. -	8						10	10												
11. -									10											
12. -																				
13. -		10			10	10				9										
14. -																				
15. -			10	10															10	10
16. -	11						10		11				10	10	9					
17. -																				
18. -					10	10			9											
unbe- stimmt	}		10																	
Summe	55	43	20	10	52	51	20	10	58	53	11	12	10	10	43	28	39	24	10	10
Gesamt- anzahl	98		30		103		30		111		23		20		71		63		20	

Tabelle B. Ergebnis der ersten Registrierung der Puppen aus der ersten Versuchsreihe.

Farbe d. Kastens	Weiß	Hellgrau	Gelb	Schwarz	Blau	Blau-grün	Gelbgrün	Orange	Purpur
Bezeichnung der Puppenfar- bung, meist nach FOURTOS Typen und Abbildungen	helle 1 β; Fig. 27 × 2	1 β mit grauer Grundfarbe	1 β mit grüner Grundfarbe; ähnlich Fig. 26 × 2	1 α; Fig. 21 × 2 (3); Fig. 29 × 2	helle 1 β; Fig. 27 × 2 1 β gelblich; Fig. 25 × 2 (2); Fig. 28 × 2 (3); Fig. 29 × 2 und 30 × 2	1 β; Fig. 27 × 2 dunkleres 1 β; Fig. 25 × 2	1 γ; Fig. 27 × 2 halbgrün; ähnlich der Fi- gur 29 × 2 (3)	1 β grünlich; Fig. 27 × 2 dunkleres 1 β; Fig. 25 × 2 (2) oder (1 γ) (3); Fig. 30 × 2	1 α dunkleres 1 β wie Fig. 26 × 2
	1 β; Fig. 25 × 2 1 γ oder (2); Fig. 28 × 2	1 β mit grauer Grundfarbe	1 β mit grüner Grundfarbe; ähnlich Fig. 26 × 2	1 α; Fig. 21 × 2 (3); Fig. 29 × 2	helle 1 β; Fig. 27 × 2 1 β gelblich; Fig. 25 × 2 (2); Fig. 28 × 2 (3); Fig. 29 × 2 und 30 × 2	1 β; Fig. 27 × 2 dunkleres 1 β; Fig. 25 × 2	1 γ; Fig. 27 × 2 halbgrün; ähnlich der Fi- gur 29 × 2 (3)	1 β grünlich; Fig. 27 × 2 dunkleres 1 β; Fig. 25 × 2 (2) oder (1 γ) (3); Fig. 30 × 2	1 α dunkleres 1 β wie Fig. 26 × 2
	1 β; Fig. 25 × 2 1 γ oder (2); Fig. 28 × 2	1 β mit grauer Grundfarbe	1 β mit grüner Grundfarbe; ähnlich Fig. 26 × 2	1 α; Fig. 21 × 2 (3); Fig. 29 × 2	helle 1 β; Fig. 27 × 2 1 β gelblich; Fig. 25 × 2 (2); Fig. 28 × 2 (3); Fig. 29 × 2 und 30 × 2	1 β; Fig. 27 × 2 dunkleres 1 β; Fig. 25 × 2	1 γ; Fig. 27 × 2 halbgrün; ähnlich der Fi- gur 29 × 2 (3)	1 β grünlich; Fig. 27 × 2 dunkleres 1 β; Fig. 25 × 2 (2) oder (1 γ) (3); Fig. 30 × 2	1 α dunkleres 1 β wie Fig. 26 × 2
obere Glasplatte	23 4	8 7 4	4	3 6 17 16	1	6 11 1 2 6 8	2 2 3	2 2 3	1
Seiten- glaswand	12		1	1	4	5	1 1 1 3 1	3 1 1	1
Leisten der Glasdecke (beschattet)	6 1	2 4	1 1 1 6 2 2 3 6 3	8 1 4	1 1	1 1 1 2 1	2 2 3		
mit farbigem Papier über- zogene Wand (beschattet)	1							2	
mit farbigem Papier über- zogene Wand, im Lichte	6 1	1	1 1 5 3 3 2 2 1	2 1 2	2 1 2	2 1 1 4 4 1 5	1 1	1 1	1
Winkel zwisch. zwei Wänden	4 1 1		3	4 1 1 1	2	4 1 4	2 1 1 8	3 1	
auf dem Musse- lin	1 1	1	1 2 2 3			3 1 2			

Tabelle C.

Ergebnisse der 1. Versuchsreihe A mit farbigen Kästen bei diffusem Licht. (Zweite Registrierung.)

Farbe des Kastens	Gesamtzahl der Puppen	A. Helle Puppen			B. Mittlere Puppen		C. Dunkle Puppen		D. Grüne Puppen			
		a) hellste Puppen helle (1 β) Poulton	b) helle Puppen (1 β) Poulton	c) helle mit geringerer Fleckenzeichnung (1 γ) Poulton	d) Grundfarbe grau (1 β) Poulton	e) Grundfarbe grün (1 β) Poulton	f) dunkle Puppen (1 α) Poulton	g) sehr dunkle Puppen dunkle (1 α) Poulton	h) gelbgrüne (2) oder (3) Poulton	i) blaugrüne typische (3) Poulton	j) gelbgrüne mit begin- nender Pigmentierung (2) Poulton	k) halbgrüne (1 γ) Poulton
1) Weiß	76	35 (3)	34 (3)	1	6							
2) Hellgrau	29				9 (2)	8 (2)	11 (2)			1		
3) Gelb	78	5		14 (1)					30 (3)	9 (1)	20 (1)	
4) Perlgrau	24				24 (6)							
5) Schwarz	78	3					44 (4)	23 (2)		3		2
6) Blau	15		1		14 (6)							
7) Blaugrün	22		21 (6)		1							
8) Gelbgrün	46		15 (2)	19 (3)						4	3	5 (1)
9) Orange	43			2	20 (3)					13 (2)		8 (1)
10) Purpur	19				8 (3)	2	8 (3)			1		

Anmerkung. Die Ziffer in Kursiv bedeutet die Anzahl der für die Farbphotographie aus jedem Typus entnommenen Puppen.

Tabelle D.

Ergebnisse der 1. Versuchsreihe.

B. Versuch mit farbigen Kästen bei direktem Sonnenlicht.

Farbe des Kastens	Gesamtzahl der Puppen	A. Helle Puppen			B. Mittlere Puppen		C. Dunkle Puppen		D. Grüne Puppen			
		a) hellste Puppen helle (1 β) Poulton	b) helle Puppen (1 β) Poulton	c) helle mit geringerer Fleckenzeichnung (1 γ) Poulton	d) Grundfarbe grau (1 β) Poulton	e) Grundfarbe grün (1 β) Poulton	f) dunkle Puppen (1 α) Poulton	g) sehr dunkle Puppen dunkle (1 α) Poulton	h) gelbgrüne Puppen (2) oder (3) Poulton	i) blaugrüne Puppen typische (3) Poulton	j) gelbgrüne mit begin- nender Pigmentierung (2) Poulton	k) halbgrüne (1 γ) Poulton
Weiß	7	3	4									
Hellgrau	8			8								
Gelb	4								4			
Schwarz	5				4				1			

Tabelle E. Ergebnisse der 1. Versuchsreihe. C. Hell- u. Dunkelversuche.

	Gesamtzahl der Puppen	A. Helle Puppen			B. Mittlere Puppen		C. Dunkle Puppen		D. Grüne Puppen			
		a) hellste Puppen helle (1 β) Poulton	b) helle Puppen (1 β) Poulton	c) helle mit geringerer Fleckenzzeichnung (1 γ) Poulton	d) Grundfarbe grau (1 β) Poulton	e) Grundfarbe grün (1 β) Poulton	f) dunkle Puppen (1 α) Poulton	g) sehr dunkle Puppen dunkle (1 α) Poulton	h) gelbgrüne (2) oder (3) Poulton	i) blaugrüne typische (3) Poulton	j) gelbgrüne mit begin- nender Pigmentierung (2) Poulton	k) halbgrüne (1 γ) Poulton
a) starkes diffuses Licht	17	6			11							
b) verdunkelter Kasten	19			1	13	3					2	
c) Dunkelkammer	15				15							

Tabelle F. Ergebnisse der 2. Versuchsreihe: Spektralversuch.

Farben des Spektrums	Kästchen-reihe	Gesamtzahl der Puppen	A. Helle Puppen			B. Mittlere Puppen		C. Dunkle Puppen		D. Grüne Puppen			
			a) hellste Puppen helle (1 β) Poulton	b) helle Puppen (1 β) Poulton	c) helle mit geringerer Fleckenzzeichnung (1 γ) Poulton	d) Grundfarbe grau (1 β) Poulton	e) Grundfarbe grün (1 β) Poulton	f) dunkle Puppen (1 α) Poulton	g) sehr dunkle Puppen dunkle (1 α) Poulton	h) gelbgrüne (2) oder (3) Poulton	i) blaugrüne typische (3) Poulton	j) gelbgrüne mit begin- nender Pigmentierung (2) Poulton	k) halbgrüne (1 γ) Poulton
ultrarot	obere untere	3 3				3							
rot	obere untere	3 3				3							
orange	obere untere	2 3		1						3	1		
gelb	obere untere	3 3	1							2 2		1	
grün	obere untere	1 3				1						1 2	
blau	obere untere	1 3				1 1						2	
violett	obere untere	3 3				3							
ultravio- lett	obere untere	3 3				1		2					

Tabelle G.

Ergebnisse der 3. Versuchsreihe: Versuch mit verschiedenen Intensitäten des Weiß und des Gelb.

Farbe des Unter- grundes	Nummer des Kästchens	Gesamtzahl der Puppen	A. Helle Puppen			B. Mittlere Puppen		C. Dunkle Puppen		D. Grüne Puppen			
			a) hellste Puppen helle (1 β) Poulton	b) helle Puppen (1 β) Poulton	c) helle mit geringerer Fleckenzeichnung (1 γ) Poulton	d) Grundfarbe grau (1 β) Poulton	e) Grundfarbe grün (1 β) Poulton	f) dunkle Puppen (1 α) Poulton	g) sehr dunkle Puppen dunkle (1 α) Poulton	h) hellgrüne Puppen (2) oder (3) Poulton	i) blaigrüne typische (3) Poulton	j) gelbgrüne mit begin- nender Pigmentierung (2) Poulton	k) halbgrüne (1 γ) Poulton
Weiß	Nr. 11	5	1	3	1								
	- 10	5	3	2									
	- 9	5		5									
	- 8	5	1	4									
	- 7	2	2										
	- 6	5	3	2									
	- 5	5	2			3							
	- 4	5		5									
	- 3	5	2	2	1								
	- 2	5	1	3		1							
	- 1	5	2	2		1							
Gelb	Nr. 6	5								3		2	
	- 5	5								2		3	
	- 4	5								3		2	
	- 3	5								5			
	- 2	5								3		2	
	- 1	5								2		3	

Tabelle J.

Tabellarische Zusammenstellung aller Versuche nach den für die einwirkende Beleuchtungsart charakteristischen Hauptfarbtypen.

	Versuche	Gesamtzahl der Puppen	A. Helle	B. Mittlere	C. Dunkle	D. Grüne
A. Helle	Im Freien, auf weißem Musselin	90	90			
	Weißer Kasten bei diffusum Licht	76	70	(6) ¹⁾		
	Blaugrüner Kasten	22	21	(1)		
	Gelbgrüner Kasten	46	34			12
	Weißer Kasten bei direktem Sonnenlicht	7	7			
	Hellgrau - - - - -	8	8			
	Intensitätenversuch, weiße Auskleidung	52	47	(5)		
	Summe	301	277	12		12
B. Mittlere	Im Freien	197		158		39
	Hellgrauer Kasten bei diffusum Licht . .	28		17	11	
	Perlgrauer Kasten	24		24		
	Blauer Kasten	15	(1)	14		
	Purpurkasten	19		10	8	(1)
	Schwarz bei direktem Sonnenlicht	5		4		(1)
	Starkes diffuses Licht	17	6	11		
	Verdunkelter Kasten	19	(1)	16		(2)
	Dunkelkammer	15		15		
	Spektralversuch: ultrarot	3		3		
	- rot	3		3		
	- violett	3		3		
	Summe	348	8	278	19	43
C. Dunkle	In dunklen Terrarien	20			20	
	Schwarzer Kasten	75	(3)		67	(5)
	Spektralversuch: ultraviolett	3		1	2	
	Summe	98	3	1	89	5
D. Grüne	Im Freien auf Blättern	62				62
	Gelber Kasten bei diffusum Licht	78	(19)			59
	Orangefarbiger Kasten	43	(2)	20		21
	Gelber Kasten bei direktem Sonnenlicht	4				4
	Spektralversuch: orange	5	(1)			4
	- gelb	6	(1)			5
	- grün	4		1		3
	- blau	4		2		2
	Intensitätenversuch, gelbe Auskleidung .	30				30
	Summe	236	23	23		190

¹⁾ Die Nummern in Klammern bedeuten die vom charakteristischen Typus abweichenden Puppen.

Tabelle H. Tabellarische Zusammenstellung

1) nach den Unterstufen

Versuchsreihen	Versuche	Gesamtzahl der Puppen	A. Helle Puppen			B. Mittlere Puppen	
			a) hellste Puppen	b) helle Puppen	c) helle mit geringerer Flecken- zeichnung	d) Grund- farbe grau	e) Grund- farbe grün
			helle (1 ♂) POULTON	(1 ♂) POULTON	(1 γ) POULT.	(1 ♂) POULTON	(1 ♂) POULTON
Puppen aus dem Garten	auf weißem Musselin ?	90	90			158	
	auf grünen Blättern	197					
	in dunklen Terrarien	62					
		20					
1. Versuchs- reihe: A. farbige Kasten bei diffu- sem Licht	1) weiß	76	35	34	1	6	
	2) hellgrau	28				9	8
	3) gelb	78	5		14		
	4) perlgrau	24				24	
	5) schwarz	75	3				
	6) blau	15		1		14	
	7) blaugrün	22		21		1	
	8) gelbgrün	46		15	19		
	9) orange	43			2	20	
	10) purpur	19				8	2
B. farbige Kasten bei direk- tem Sonnen- licht	weiß	7	3	4			
	hellgrau	8		8			
	gelb	4					
	schwarz	5				4	
C. Hell- und Dunkelversuche	a) bei starker Lichtintens.	17		6		11	
	b) verdunkelten Kasten	19			1	13	3
	c) Dunkelkammer	15				15	
2. Versuchs- reihe: Spektralversuch	ultrarot	3				3	
	rot	3				3	
	orange	5		1			
	gelb	6	1				
	grün	4				1	
	blau	4				2	
	violett	3				3	
3. Versuchs- reihe: A. mit verschie- denen Intensitä- ten des Weiß	ultraviolett	3				1	
	Kästchen Nr. 11	5	1	3	1		
	- - 10	5	3	2			
	- - 9	5		5			
	- - 8	5	1	4			
	- - 7	2	2				
	- - 6	5	3	2			
	- - 5	5	2			3	
	- - 4	5		5			
	- - 3	5	2	2	1		
B. des Gelb	- - 2	5	1	3		1	
	- - 1	5	2	2		1	
	Kästchen Nr. 6	5					
	- - 5	5					
	- - 4	5					
	- - 3	5					
	- - 2	5					
	- - 1	5					
		983					

aller Versuchsergebnisse.

2) nach Hauptfarbtypen gruppiert

C. Dunkle Puppen		D. Grüne Puppen				A.	B.	C.	D.
f) dunkle Puppen	g) sehr dunkle Puppen	h) gelbgrüne	i) blaugrüne	j) gelbgrüne mit begin- nender Pig- mentierung	k) halbgrüne	Helle Puppen	Mittlere Puppen	Dunkle Puppen	Grüne Puppen
(1 α) POULTON	dunkle (1 α) POULTON	(2) oder (3) POULTON	typische (3) POULTON	(2) POULTON	(1 γ) POULTON				
20		62			39	90	158	20	39 62
11		30	9	20		70 19	6 17 24	11	59
44	23		3		2	3 1 21 34 2	14 1	67	5
8			4 13 1	3	5 8		20 10	8	12 21 1
		4 1				7 8			4 1
				2		6 1	11 16 15		2
		3 4	1	1 3 2		1 1	3 3 1 2 3 1	2	4 5 3 2
2						5 5 5 5 2 5 2 5 5 4 4	3		
		3 2 3 5 3 2		2 3 2 2 3			1 1		5 5 5 5 5 5
						311	314	108	250

**Tabelle 1. Bestimmung der Koagulationspunkte und Reaktionen
Extrakte der**

Untersuchungsobjekt:	Anfangs- farbe der unver- änderten Flüssigkeit	je 1 cm ³ der Flüssigkeit	1.	2.	3.		
			+ 1 cm ³ physiolo- gischer Kochsalz- lösung	Zusatz von 1 cm ³ physio- logischer Kochsalz- lösung und eines Trop- fens alter Tyrosin- lösung	Bestimmung der Koagulations- punkte durch Erwärmen. 1 cm ³ der Flüssigkeit mit 1 cm ³ physiologischer Kochsalzlösung versetzt und im Wasserbade er- wärmt		
					bei 40—50°	bei 63°	bei 69—70°
Hämolympe von <i>Pieris brassicae</i> , gewonnen aus 20 mittleren Puppen aus dem Freien (das Gewicht der Puppen betrug 5 g) durch An- stech an d. Flügelscheide; aufgefangen in eine gra- duierte Epruvette, ergab 1,7 cm ³ . Schwärzt sich bei Luftzutritt. Dieses Blut wurde durch Verdünnen mit physiologischer Koch- salzlösung auf das 8fache Volumen gebracht	klar, gelbgrün		Farbe unver- ändert, nur etwas heller	unver- ändert	keine Koagula- tion	begin- nende Trübung	flockige gelbe Fällung, darüber befind- liche Flüssig- keit farb- los
Wäßriger Extrakt der übrigen Puppenteile. Nach der Blutentnahme aus den obigen Puppen wurden die übrigen, innere Organe und Hüllen ent- haltenden Teile, deren Ge- wicht 3,5 g betrug, zer- schnitten, mit 7 cm ³ phy- siologischer Kochsalz- lösung versetzt und nach 2 Tagen filtriert	schöne tiefgrüne Färbung	Filtrat auf das 4fache verdünnt und je 1 cm ³ :	hellgrün	unver- ändert	48—50° Fällung. teilweise Entfär- bung der übrigen Flüssig- keit	nicht weiter unter- sucht	nicht weiter unter- sucht

mit Säuren und Alkalien an dem Blute sowie an dem wäßrigen übrigen Puppenteile.

4.	5.	6. 6'. Reaktionen mit Schwefelsäure		7.	8.	9.	10.	11.
1 cm ³ der Flüssigkeit + 1 Tropfen Eisessig	1 cm ³ der Flüssigkeit + 1 Tropfen Chloroform	1 cm ³ Flüssigkeit + 2 Tropfen	den in 6) gebildet. Rückstand abfiltriert und Hälfte des Filtrates mit 1 Tropfen Schwefels.	1 cm ³ der Flüssigkeit + 2 Tropfen Ammoniak	1 cm ³ der Flüssigkeit + 2 Tropfen konzentrierter Salzsäure	1 cm ³ der Flüssigkeit + 1 Tropfen rauchender Salpetersäure	1 cm ³ der Flüssigkeit + konzentrierte wäßrige Kalilauge (zu gleich. Teilen)	Koagulum aus 3) in 1 cm ³ Äther
im Vergleich zur unveränderten Flüssigkeit etwas mehr rötlichgelb	es entstehen 1) Fäden, 2) am Boden d. Eprouvette sammelt sich Chloroform in Tröpfchen an. Zurückzuführen 1) auf Unreinheiten im Chloroform, 2) darauf, daß Chloroform sich nicht mit Wasser mischt	Trübung, weiß-gelblicher Niederschlag; darüber befindliche Flüssigkeit gelblich	keine Veränderung	zuerst unverändert, wird nach einigen Stunden rötlichgelb	Trübung, gelblicher Niederschlag, darüber befindliche Flüssigkeit gelblich	unverändert	rötlich	der Äther hat nichts gelöst
nicht untersucht	nicht untersucht	(unverdünnte Probe) starker gelblich-grüner Niederschlag verdünnte Probe gibt dasselbe, aber schwächer.	Umschlag in Braun	rötlich	sofort weißlicher Niederschlag	Flüssigkeit entfärbt, graubrauner Niederschlag über der Flüssigkeit	rötlichbraun	/

Tabelle 2. Tyrosinase-Nachweis im Blute von *Pieris*-Puppen.

a) Rückstand des mit Ammonsulfat versetzten Blutes in Soda gelöst (tyrosinasereich)									
je 1 cm ³	Zeit	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
I. Tyrosin-lösung	aufgestellt 12. XI. 5h 30' p. m., registriert 13. XI. 11h a. m.	+ 3 Tropfen physiolog. Kochsalz-lösung	+ 2 Tr. physiol. Kochsalzlösung + 1 Tr. Wasser-stoffsuperoxyd	+ 2 Tr. physiol. Kochsalzlösung + 1 Tr. Eisensulfat (Ferrousulfat)	+ 1 Tr. physiol. Kochsalzlösung + 1 Tr. Wasser-stoffsuperoxyd + 1 Tr. Eisensulfat	+ 2 Tr. physiol. Kochsalzlösung + 1 Tr. Blut-lösung	+ 1 Tr. physiol. Kochsalzlösung + 1 Tr. Wasser-stoffsuperoxyd + 1 Tr. Blut-lösung	+ 1 Tr. physiol. Kochsalzlösung + 1 Tr. Eisensulfat + 1 Tr. Blut	+ 1 Tr. Blut + 1 Tr. Wasserstoff-superoxyd + 1 Tr. Eisensulfat
II. Indol-lösung	-	unverändert farblos	unverändert farblos	klar, etwas gelblich	gelbliche Flüssigkeit, gelbbrauner Niederschlag	schwarz (Melanin-bildung)	unverändert farblos, wasserhell; nur einige kleine Blasen in der Flüssigkeit	klare, etwas grünliche Flüssigkeit, gelber Rückstand	bräunlich-graue Flüssigkeit, am Grunde starker schwarzer Niederschlag
III. Guajak-lösung	-	+ 1 Tropfen physiolog. Kochsalz-lös.	nach weiterem Zusatz 1 Tropf. Terpeninöls			+ 1 Tropfen Blutlösung	dasselbe nach Zusatz eines Tr. Terpeninöls		
I. Tyrosin-lösung	weit. behand. 13. XI. 5h 30' p. m., registriert 14. XI. 9h a. m.	unverändert, farblos				etwas geschwätzte Flüssigkeit mit gering Menge von schwarzer Abscheidung			
II. Indol-lösung	-	unverändert, farblos				klar, etwas gelblich wohl infolge des Blutserums			
III. Guajak-lösung	-	+ 1 Tr. phys. Kochsalz-lös.				+ 1 Tr. Blutfiltrat			
		gelblich				getrübt, etw. blasser. Gelb; gelber Niederschlag am Grunde der Epruvette			

Tabelle 3.
Nachweis von Tyrosin im Puppenblut (*Pieris brassicae*).

Untersuchungs- objekt	+ 1 Tropfen MILLONS Reagens		+ 3 Tropfen MILLONS Reagens	
	Anfangsfarbe; Beginn der Reaktion 12 ^h a. m.	Kontrolle nach 3 Stunden 3 ^h p. m.	Anfangsfarbe; Beginn der Reaktion 12 ^h a. m.	Kontrolle nach 3 Stunden 3 ^h p. m.
Tyrosinlösung	schwacher gelb. Niederschlag	rosa	schwacher gelb. Niederschlag	kirschrot
Tyrosinlösung zur Hälfte mit Wasser ver- dünnt	- -	schwach rosa	- -	schwächer rosa, etwas gelblich
Filtrat des Puppenblutes	sofort, starker weißlicher Niederschlag	schwach rosa gefärbt	starker weiß- licher Nieder- schlag	blaßrosa Lösung rosa gefärbter Niederschlag
Filtrat des Puppenblutes verdünnt (Rückstand wurde ein zwei- tes Mal mit der gleichen Menge Sulfosalicylat gewaschen)	geringerer, gelblicher, opaleszenter Niederschlag	rosa Flüssig- keit; Niederschlag gelblichrosa gefärbt	geringerer, gelblicher, opaleszenter Niederschlag	ebenfalls rosen- rot

Tabelle 4. *Tiergrün-Reaktionen (nach Puzoskum) der wäßrigen Extrakte von Plasma und Hülle der Puppen von *Pieris brassicae* im Gegensatz zu den Chlorophyllreaktionen, wobei die Futterpflanze von *Pieris brassicae*, der Kohl (*Brassica*) genommen wurde.

Untersuchungsobjekt	I. Wässrige Extrakte (Filtrate)		Kochen mit alkoholischer Kalilauge zu gleichen Teilen (je 1/2 cm ³)	nach abnormalem Zusatz v. 1/2 cm ³ KOH und so lange gekocht, bis keine Flüssigkeit bleibt	Zusatz von Ammoniak auf 1/2 cm ³ des Filtrates 1 Tropfen	Säurezusatz auf 1/2 cm ³ 1 Tropfen rauchende Salpetersäure	konzentrierte Schwefelsäure
	Anfangsfarbe						
a) Blut (in anderer Weise verwendet, s. Tab. 2)	/	/	/	/	/	/	/
b) Plasma (innere Organe) in physiologischer Kochsalzlösung — Filtrat (über Herstellung siehe Methodik)	etwas trüb, grünlich; neutrale Reaktion	am 14. XI. gekocht, klar, rotgelb	15. XI. weiter gekocht, etwas trüb, gelbbraune Flocken	klar, rötlich	gelber Niederschlag über der Flüssigkeit, Flüssigkeit klar gelb, fast entfärbt	bräunlichgelber, sehr starker Niederschlag	
c) Hülle (Filtrat) (über Herstellung siehe Methodik)	etwas trüb, grünlich; etwas heller als das Plasma; neutrale Reaktion	klar, gelb (rötlichgelb, jedoch heller als das Plasma)	gelbbraune Substanz am Epprouvettenboden, viel mehr gefärbt als beim Plasma	klar, rötlich-braun, etwas heller als beim Plasma	gelblicher Niederschlag, die darunter befindliche Flüssigkeit entfärbt	klare, hellgelbe Flüssigkeit, gelblicher Niederschlag	
A. Puppen von <i>Pieris brassicae</i> (20 mittlere Puppen aus dem Freien)							
B.							
<i>Brassica</i> (Kohl) wässriger Extrakt (gewonnen aus Kohlblättern, die zuerst in Leitungswasser gewaschen, in einem Tuche getrocknet wurden, mit d. Wiegemesser zerkleinert u. mit physiol. Kochsalzlösung und Quarzsand zerrieben am nächsten Tag filtriert)	klar, rötlichgelb, saure Reaktion (rötet blaues Lackmuspapier)	trüb, rotgelb	schwarze Punkte	gelber Niederschlag; auch die darüber befindliche Flüssigkeit gelb gefärbt	klar, gelblich	beinahe unverändert, klar, rötlichgelb	

Tabelle 5. Tiergrün-Reaktionen der Ätherextrakte (des Plasmas und der Hülle) der Puppen von *Pieris brassicae* (Mittlere Puppen).

	Untersuchungs- objekt	II. Ätherauszug		Kochen mit alkoholischer Kalilauge		Säurezusatz auf $\frac{1}{2}$ cm ³ 1 Tropfen	
		Anfangsfarbe	zu gleichen Teilen (je $\frac{1}{2}$ cm ³)	nach abermaligem Zusatz	rauchende Salpetersäure	konzentrierte Schwefelsäure	
A. Puppen von <i>Pieris brassicae</i> (20 mittlere Puppen aus dem Freien)	a) Blut (in anderer Weise verwendet, siehe Tab. 2)	/	/	/	/	/	
	b) Plasma (über Herstel- lung siehe Me- thodik)	klar, gelbgrün	klar, gelb	gelbe Flocken	grüne Farbe sofort ver- schwindend; klar, gelblich	klar, gelb; am Grunde der Eprouvette ein farbloser klarer Trop- fen. Nach einigen Stunden nur noch ein gelber Ring auf der wasserhellen farblosen Flüssigkeit	
	c) Hülle (über Herstel- lung siehe Me- thodik)	klar, gelbgrün	getrübt, gelb	gelbe Flocken	grüne Farbe sofort ver- schwindend, etwas rötlich	klar, gelb; am Grunde der Eprouvette ein violetter klarer Trop- fen. Nach einigen Stunden ist alles in violette, klare Flüssigkeit umgewandelt	

Tabelle 7. Wiederholung des Versuches zum Nachweis der Ver

b) Puppen mit den experi

A. hellste (a) Puppen aus dem weißen Kasten

B. mittlere (d) Puppen aus dem perlgrauen Kasten

C. dunkelste (g) Puppen aus dem schwarzen Kasten

D. typische grüne (h) Puppen aus dem gelben Kasten

Probe: 1 cm ³ Tyrosin + 1 Tropfen Tyrosinase aus dem Puppen- blut, bereitet am 24. XI. 15	1) Versuch aufge- stellt am näch- sten Tage nach der Tyrosinase- bereitung, am 25. XI. früh	Kontrolle:			
		zu mittag	nachmittag	nach einem Tage, 26. XI. früh	nach weiteren 2 Tagen, 28. XI.
A. Helle (hellste aus dem weißen Kasten) (a)	ungefärbt	ungefärbt	schwach rosa	violett	violett (etwas intensiver)
B. Mittlere (perlgrauer Kasten)	ungefärbt	ungefärbt	ungefärbt	violett	violett
C. Dunkle (dunkelste aus dem schwarzen Kasten)	ungefärbt	ungefärbt	ungefärbt	fast gar nicht gefärbt oder jedenfalls sehr schwach, aber violett	schwach violett gefärbt
D. Grüne (gelbgrüne aus dem gelben Kasten)	ungefärbt	ungefärbt	ungefärbt	fast gar nicht oder sehr schwach ge- färbt, noch weniger als die dunklen	kaum gefärbt
Reihenfolge des Auf- tretens der Färbung		1. H ²⁾ Rotstufe	2. M gleich	3. D violet	4. G ohne Rotstufe
Reihenfolge der Inten- sität der Färbung, be- dingt durch die ver- schiedenen Tyrosinasen		H	M > D > G		
		rot	violet		

1) 0 in den Rubriken bedeutet, daß noch keine Färbung zu bemerken ist.

2) Es sind hier die Tyrosinasen mit den Anfangsbuchstaben der Typen bezeichnet.

schiedenheit der Tyrosinase in den Puppen der vier Hauptfarbtypen.
mentell induzierten Färbungen.

der 1. Versuchsreihe.

2)					3)		
Versuch auf- stellt nach 2 Tagen seit der Tyrosinaseberei- tung, 26. XI. früh	Kontrolle:				Versuch auf- stellt am 26. XI. Filter, Tyrosi- nase enthaltend mit je $\frac{5}{10}$ cm ² Tyrosin	Kontrolle:	
	I nach sehr kurzer Zeit	II später	III 4 h p. m.	nach 2 Tagen, 28. XI.		Färbung tritt sofort auf	nach 2 Tagen, 28. XI.
ungefärbt	rötlich- kirschrot	kirschrot	kirschrot	violett (am inten- sivsten)		rötlich- kirschrot	violett
ungefärbt	0 ¹⁾	0	violett	violett (etwas schwäch. als die hellen)		violett	violett
ungefärbt	0	violett (nicht so in- tensiv wie beim Auftre- ten der roten Farbe der hellen)	violett	schwach violett gefärbt		violett- schwarz	sehr dunkel- violett, fast schwarz
ungefärbt	0	0	beinahe unge- färbt	beinahe unge- färbt		am schwäch- sten ge- färbt, aber gleich violett	violett; schwä- cher ge- färbt als die anderen
1. 2. 3. 4. H D M G rot-kirschrot violett ungefärbt					fast gleichzeitig aufgetreten		
H > M > D > G					D > M > H > G		

Tabelle 8. Stichproben an den vier

	1)			2)		
	1 cm ³ Rhodankalium + 1 Tropfen Blut			1 cm ³ physiologische Kochsalzlösung + 1 Tropfen Blut		
	Anfangs- farbe 30. XI. vorm.	Kontrolle:		Anfangs- farbe 30. XI. vorm.	Kontrolle nach:	
		am Nach- mittag	nach 1 Tag 1. XII. früh		1/2 Stunde	1 Tag 1. XII. 15
A. Helle Puppe (hellste aus dem weißen Kasten)	gelbgrün	unver- ändert	ge- schwärzt (aber we- niger als die ande- ren)	gelbgrün	geschwärzt (die erste im Auftreten u. am meisten geschwärzt)	geschwärzt (weniger als die mittleren, kommt ihnen aber beinahe gleich)
B. Mittlere Puppe (dunkelste aus dem schwarzen Kasten)	gelbgrün	unver- ändert	ge- schwärzt	gelbgrün	geschwärzt (fast gleich- zeitig mit den weißen)	am meisten geschwärzt
C. Dunkle Puppe (dunkelste aus dem schwarzen Kasten)	gelbgrün	unver- ändert	gelb- bräunlich, wenig verändert	gelbgrün	unverändert (Schwärzung tritt erst später auf)	bräunlich, sehr wenig geschwärzt
D. Grüne Puppe (typische aus dem gelben Kasten)	gelbgrün	unver- ändert	ge- schwärzt (mehr als die and.)	gelbgrün	unverändert	nur sehr wenig, fast gar nicht verändert

1) Das Blut wurde in das 60° warme Tyrosin direkt hineingetropt.

verschiedenen Puppenfarbtypen.

3)				4)			
1 cm ³ Tyrosin + 1 Tropfen Blut				1 cm ³ auf 60° erwärmtes Tyrosin + 1 Tropfen Blut ¹⁾ (bei 60° hineinfließen lassen)			
Anfangs- farbe 30. XI. vorm.	Kontrolle nach:			Anfangs- farbe und Melaninbil- dung wie bei den nicht- erwärmten	Kontrolle nach:		
	ganz kurzer Zeit	nachmittags nach Abfil- trieren des gebildeten Melanins gleich	5 Tagen 4. XII. 15		Abfiltrieren des Melanins am Nachmittag	1 Stunde	5 Tagen 4. XII.
gelbgrün	starke Schwärzung, Abscheidung von Melanin	violett	Melanin wieder abge- setzt, graue Flüssigkeit	- -	schön kirschrot	violett	Melanin am Boden abgesetzt, grün
gelbgrün	- -	violett	Melanin abgesetzt, Flüssigkeit grau	- -	kaum rötlich	violett	grün
gelbgrün	- -	violett	Melanin abgesetzt, Flüssigkeit grau	- -	violett mit einem Stich ins Rötliche	violett	grün
gelbgrün	- -	violett	grün	- -	rötlich	violett	grün

Tabelle 9. Blutreaktionen der verschiedenen

Farbe des Versuchskastens	Färbung der Puppe	a) 1 cm ³ Tyrosin + 1 Tropfen Blut			b) 3 cm ³ Tyrosin + 1 Tropfen	
		Anfangs- farbe 17. I. 16	Kontrolle nach:		Anfangs- farbe 17. I. 16	Kontrolle 4 Tagen 21. I. 16
			1 Tag nach Abfil- trieren des gebil- deten Melanins	2—3 Tagen 20. u. 21.		
1. weiß	A. helle	gelbgrün; sehr bald Schwär- zung	etwas geschwärzte, hellgraue Flüssigkeit	am schwächsten gefärbt	¹⁾ klar gelbgrün	Schwärzung schreitet sehr langsam fort. Keine Rotstufe zu bemerken
	B. mittlere	- -	- -	bräunlich- grau	- -	- -
2. schwarz	A. helle	- -	- -	grau (dunkelste von allen)	- -	- -
	B. mittlere	- -	- -	grau (heller)	- -	- -
3. gelb	A. helle	- -	- -	grau	- -	- -
	D. grüne	- -	- -	grünlich	- -	- -
4. gelbgrün	A. helle	- -	- -	bräunlich	- -	- -
	D. grüne	- -	- -	grünlich	- -	- -
5. orange	B. mittlere	- -	- -	grau	- -	- -
	D. grüne	- -	- -	grünlich	- -	- -

¹⁾ Bei der Probe 3 cm³ Tyrosin + 1 Tropfen Blut der hellen wurde noch ein zweiter Tropfen dazugegeben, da der erste zu klein gewesen war.

1 cm ³ physiologische Kochsalzlösung + 1 Tropfen Blut auf 100° erwärmt						
Blut	c) Filtrat + 1 Tropfen Tyrosinase			d) Koagulum + 1/2 cm ³ phys. NaCl + 1 Tr. Tyrosinase		
nach:	Kontrolle nach:			Kontrolle nach:		
Absetzen des Melanins 4. III. 16	Anfangs- farbe 18. I. 16	1 Tag 19. I. 16	3 Tagen 21. I. 16	Anfangs- farbe 18. I. 16	3 Tagen 21. I. 16	längerer Zeit
am dunkelsten. Dunkelbraunes Sediment	farblos	etwas geschwärzt	grün	Koagulum gelb, Flüssigkeit farblos	unver- ändert	unver- ändert
gelbbraunes Sedi- ment viel heller als die hellen; klare, etwas gelbliche Flüssigkeit	farblos	etwas geschwärzt	grün	- -	-	-
gelbbraunes Sedi- ment wie bei den weißen mittleren	farblos	etwas geschwärzt	grün	- -	-	-
ebenso wie die schwarzen hellen, sogar etwas gerin- gerer Niederschlag	farblos	etwas geschwärzt	grün	- -	-	-
große Menge schwarzbraunen Niederschlags, auch die Flüssigkeit bräunlich	farblos	etwas geschwärzt	grün	- -	-	-
geringe Menge braunen Sedi- mentes; grünliche Flüssigkeit	ganz schwach gelblich tingiert	etwas ge- schwärzt mit schwach gelblich. Ton	grün (vielleicht etwas mehr gelblich)	- -	-	-
dunkles, sehr reich- liches Sediment von schwarzbrauner Farbe, Flüssigkeit deutlich grün	farblos	etwas geschwärzt	grün	- -	-	-
gelbbraunes Sedi- ment, beinahe farb- lose Flüssigkeit	ganz schwach gelblich	etwas geschwärzt, schwach gelblich. Ton	grün (etwas gelblich)	- -	-	-
hellbraunes Sedi- ment, beinahe unge- färbte Flüssigkeit	farblos	etwas geschwärzt	grün	- -	-	-
hellbraunes Sedi- ment, beinahe unge- färbte Flüssigkeit	ganz schwach gelblich	etwas geschwärzt, schwach gelblich. Ton	grün, etwas mehr gelblich	- -	-	-
	Kontrollprobe: 1 cm ³ Tyrosin + 1 Tropfen Tyrosinase					
	farblos	schwach vio- lett gefärbt	intensiver violett			

Tabelle 6. Nachweis der Verschiedenheit der Tyrosinase in den Puppen der vier Hauptfarbtypen.
a) Puppen aus dem Freien.

Probe: 1 cm ³ Tyrosin + 1 Tropfen Ferment- lösung aus dem Puppenblut	Reaktion bei Tageslicht			Reaktion im Finstern		
	Kontrolle nach:			Kontrolle nach:		
	Beginn der Reaktion 18. XI. 15, 12h 15' mittags Temp.: 18° (Thermograph)	3 Stunden (3h 15' p. m.)	7 Stunden 40 Minuten (7h 55' abends; bei künst- lichem Licht registriert)	Beginn der Reaktion 12h 15' mittags	3 Stunden	7 Stunden 40 Min.
A. Helle	klar, farblos	rötlich	rötlich-kirschrot	farblos	alle zeigen sich schwach gerötet, ohne den Grad der Färbung von der Lichtreaktion zu erreichen	noch immer um eine Spur schwächer ge- färbt als die belichteten
B. Mittlere	-	violett	alle Proben haben in der Färbung an Inten- sität zugenommen, je- doch unter Beibehal- tung der Verschieden- heiten bei den einzel- nen Typen	-	-	-
C. Dunkle	-	sehr schwach violett	-	-	-	-
D. Grüne	-	schwach violett wie die der dunklen	-	-	-	-

Tabelle 10.

Reaktionen mit den wäßrigen Extrakten der Puppenhüllen und
-organe der vier Hauptfarbtypen (aus dem Freien).

Untersuchungs- objekt	I. Wäßrige Extrakte (Filtrate) vom 17. XI. Anfangsfarbe beobachtet am 20. XI.	Kochen mit Kalilauge		Säurezusatz auf 1/2 cm³ 1 Tropfen		
		zu gleichen Teilen	nach abermalig- em Zusatze	rauchende Salpetersäure	konzentrierte Schwefelsäure	
b) Plasmafiltrate (Herstellung s. Methodik.)	A. helle	bräunlichgelbe Flüssigkeit; rotbrauner Satz am Grunde der Eprouvette	klar, rotgelb	Abscheidung von rotgel- ben Flocken bei allen	Entfärbung und Bildung eines Nieder- schlags. Alle gleich gelblich	bräunlichgelb. Niederschlag, darüber klare Flüssigkeit
	B. mittlere	dasselbe, um eine Spur dunkler und klarer	klar, rotgelb	- -	- -	- -
	C. dunkle	dasselbe	klar, rotgelb	- -	- -	- -
	D. grüne	dasselbe	klar, rotgelb, etwas heller als die and.	- -	- -	- -
c) Hüllensfiltrate (s. Methodik.)	A. helle	gelbgrün, gelber Satz	klar, weingelb	- -	- -	grünlichweiß. Niederschlag, darüber klare Flüssigkeit
	B. mittlere	genau wie die hellen	klar, weingelb	- -	- -	ebenso
	C. dunkle	gelbgrün, fast kein Satz, der obere Teil der Flüssigkeit bräunlich	" rotgelb, wie bei den Organen	- -	- -	ebenso
	D. grüne	trübe, blaugrüne Flüssigkeit; gelber Satz	klar, weingelb	- -	- -	Niederschlag etwas mehr grünlich

" bedeutet zweimal wiederholt.

Tabelle 11a. Prüfung der Wirksamkeit der Tyrosinase bei verschiedenen Temperaturen.

Serie a: Tyrosinase der dunklen Puppen aus dem Freien.

Erwärmung der Tyrosinase bis:	bei 19° (Zimmertemperatur)	30°	40°	50°
Zeit	1 cm ³ Tyrosin + 1 Tr. Ferment	1 cm ³ Tyrosin + 1 Tr. Ferment ¹⁾	1 cm ³ Tyrosin + 1 Tr. Ferment	1 cm ³ Tyrosin + etwas weniger als 1 Tr. Ferment (Rest)
Beginn der Reaktion 11 h a. m.	farblos	farblos	farblos	farblos
Kontrolle um 3 h (nach 4 Stunden)	violett	violett	violett	schwach rosa

1) Die Tyrosinase wurde, nachdem sie auf die bestimmte Temperatur gebracht worden war, wieder bis auf die Zimmertemperatur erkalten gelassen und dann nicht vorerwärmtes Tyrosin dazugesetzt (s. Methodik dieser Versuche) und die Reaktion bei gewöhnlicher Zimmertemperatur verlaufen gelassen.

Tabelle 11b. Serie b: Tyrosinase von dunklen Puppen (aus dem schwarzen Kasten), bereitet am 24. XI.

Erwärmung bis:	40°	50°	60°	70°	80°	90°
Zeit:	1 cm ³ Tyrosin + 1 Tr. Ferment	—	—	—	—	—
Beginn der Reaktion 26. XI. 12 ^h 30	farblos	farblos	farblos	farblos	farblos	farblos
Kontrolle nach 2½ Stunden 26. XI. 3 h p. m.	farblos	ganz schwacher, anscheinend violetter Schimmer	deutlich rötliche Färbung	deutlich rötliche Färbung (etwas weniger intensiv als die von 60°)	sehr schwach gefärbt, aber auch rötlich	farblos
nach 2 Tagen (28. XI. 15)	ganz schwach gefärbt; violett ohne vorhergehende Rotstufe)	schwach violett gefärbt	violett (nach Anhalten von 2 Tagen der Rotfärb. rötlich-kirschrot geht sie ins Violette über)	violett (Maximum)	sehr schwach gefärbt, bereits violett	farblos
nach 8 Tagen und noch später	- -	- -	- -	- -	- -	bläßrosa-kirschrot, sehr intensiv, keine Überführung ins Violette

Tabelle 13. »Tiergrün«-Reaktionen mit den ergrünten tierischen Proben Nr. 3 und Nr. 4 aus dem Versuch, der auf Tabelle 12 dargestellt ist.

Untersuchungsobjekt	Filtrierte oder dekantierte	Kochen mit alkoholischer Kalilauge		Säurezusatz auf $\frac{1}{2}$ cm ³ 1 Tropfen	
	Anfangsfarbe Kontrollprobe	zu gleichen Teilen	nach abermaligem Zusätze	rauchende Salpetersäure	konzentrierte Schwefelsäure
Ergrünte Proben. 100° erwärmtes Blut in physiolog. Kochsalzlösung + 1 Tropf. Tyrosinase	grün	/	brauner Ring	sofort entfärbt	gelbbraun

Tabelle 14. Umwandlung des Tyrosins durch Erwärmen bzw. längeres Kochen.

Proben je 1 cm ³	Anfangsfarbe. Datum der Aufstellung	Kontrolle nach:		
		2 Wochen	7. III. 1916	5. IV.
gewöhnliches Tyrosin (4 Proben)	4. II. 4 ^h 30' — 5 ^h p. m. farblos	rosa	rosa	kirschrot-bräunlichrot
auf 100° erwärmtes Tyrosin (4 Proben)	4. II. 12 ^h 30' p. m. farblos	farblos	eine etwas gelblich, die anderen farblos	hellgelb
I. auf 100° erwärmtes Tyrosin und weiter kochen lassen 8½ Stunden. Durch destilliertes Wasser auf die ursprüngliche Höhe gebracht (4 Proben)	5. II. 5 ^h 45' p. m. gelblich	gelblich	gelblich mit einem Stich ins Rosa	dunkelgelb oder hellbraun
II. Tyrosin nach 17 stündigem Kochen und durch Zusatz von destilliertem Wasser auf die ursprüngliche Höhe gebracht (2 Proben)	10. II. 8 ^h p. m. stärker gelblich	gelblich	hellgelb	weingelb
III. Tyrosin II nach weiterem Kochen von einigen Stunden + 1 Tropfen schwacher Tyrosinase	gelblich	gelblich	dunkelgelb, ähnlich den ergrün-ten tierischen, s. Tab. 12, Nr. 3 u. 4, nach längerem Stehen derselben	verdunstet; weißlicher Rückstand

Tabelle 12. Rolle der Tyrosinase beim Ergrünen des in physiologischer Koch

Nummern	Proben (je 1 cm ³ von der physiol. NaCl oder Tyrosin je 1 Tropfen Blut oder Tyrosinase zugesetzt bei gewöhnlicher Temperatur)	Anfangs- farbe. Aufge- stellt 26. I. 16 11—12 h. a. m.	Im Lichte						
			Kontrolle nach:						
			5 Stunden 4h 30—5h p. m.	etwa 1 Tag 27. I. 16 9h a. m.	2 Tagen 28. I. 16 und 29. I. 16	4. II. 16	8. II. 16	15. II. 16	15. III. 16
1.	auf 100° erwärmte physiol. Kochsalzlösung + 100° erwärmtes Blut ohne Tyrosinase		schwach grauer Ton	schwach grauer Ton unverändert	trüb	geklärt, schwach gelblich, Sediment	unverändert	unverändert	
3.	100° erwärmte physiol. Kochsalzlösung mit 100° Blut mit Tyrosinase		etwas dunkler bräunlich-grau	grün	grün; trüb	klar grün	schön grün	unverändert	
5.	100° erwärmtes Tyrosin ohne Tyrosinase		ganz farblos	ganz farblos	unverändert	rosa Färbung tritt auf	rosa Färbung intensiver	rosa Färb. verblaßt	ganz verblaßt
7.	100° erwärmtes Tyrosin mit Tyrosinase		violett	dunkel violett, fast schwarz	unverändert	schwarz	sepia-braun	unverändert	
9.	100° erwärmte physiol. Kochsalzlösung mit 100° Blut mit Tyrosin (Pulver)		ganz farblos	farblos	trüb	klar, farblos, weißliches Sediment	ganz farblos	unverändert	
11.	nicht erwärmtes Blut mit Tyrosin		geschwärzt (violett), gegen die Oberfläche zunehmend	geschwärzt; Melanin abgesetzt, dazwischen Flüssigkeit durchsichtig eisenviolett	unverändert	Melanin abgesetzt, Flüssigk. grün seit dem 30. I.	grün mit braunem Melanin-ring	unverändert	
13.	nicht erwärmtes Blut mit 100° erwärmtem Tyrosin		ganz geschwärzt, mehr als 11	ganz geschwärzt, mehr als 11	unverändert	Flüssigkeit grün wie 11	grün mit braunem Melanin-ring	unverändert	
15.	100° erwärmtes Blut in physiol. NaCl-Lösung + 100° erwärmte Tyrosinase		bräunlich-grau wie 3	sehr deutlich bräunl. Färbung	trüb	klar, schwach gelblich	unverändert	unverändert	
17.	gewöhnliches Tyrosin + 100° erwärmte Tyrosinase		ganz farblos	ganz farblos	unverändert	unverändert	unverändert	unverändert	
19.	100° Tyrosin + 100° Tyrosinase		ganz farblos	ganz farblos	unverändert	wasserhell, aber mit ganz schwach. rosa Schimmer	deutlich rosa, aber schwächer als 5	sehr verblaßt lachs-rosa	verblaßt
Kontroll- probe	gewöhnliches Tyrosin + gewöhnliche Tyrosinase		beinahe farblos	violett, aber heller als 7	violett	eisen-violett, etwas schwäch. als 7	sepia-braun	unverändert	

salzlösung gelöst, auf 100° erwärmten Blutes. Autooxydation des Tyrosins.

5. IV. 16	Nummern	Anfangs- farbe 28. I. 16 [1]—[12] a. m.	Im Finstern							
			Kontrolle nach:							
			5 Stunden 4h 30—5h p. m.	etwa 1 Tag 27. I. 16 10h a. m.	2 Tagen 28. I. 16 u. 29. I.	4. II. 16	8. II. 16	15. II. 16	15. III. 16	5. IV. 16
	2.		schwach grau	schwach grau	trüb	geklärt schwach gelblich; Sediment	schwach grünlich	unver- ändert		
	4.		bräunlich grau	grün, genau wie 3	grün, trüb	klar grün	schön grün	unver- ändert		
verdun- stet, hell- bräunlich. Satz	6.		farblos	farblos	un- verän- dert	deutlich rosa, aber schwäch. als 5	rosa, intensiver als 5	rosa, sehr intensiv geworden	kirsch- rot	verdunstet, hellbrauner Satz
	8.		violett, etwas heller als 7	violett, viel schwächer als 7 und als Kontroll- probe	un- verän- dert	ge- schwärzt wie 7	sepia- braun	unver- ändert		
	10.		ganz farblos	beinahe farblos	trüb	klar, farblos	sehr schwach gelblich- grünlich	unver- ändert		
	12.		ge- schwärzt	ge- schwärzt	un- verän- dert	grün	schön grün mit Melanin- ring	unver- ändert		
	14.		ge- schwärzt	sehr ge- schwärzt	un- verän- dert	grün. Färbung schwäch. als bei 12	mehr trüb, graugrün	unver- ändert		
	16.		bräunlich grau wie 15	bräunlich grau	trüb	klar, schwach gelblich	unver- ändert	unver- ändert		
	18.		ganz farblos	ganz farblos	un- verän- dert	unver- ändert	rosa geworden seit dem 6. II.	lachs- rosa, sehr intensiv	kirsch- rot	sepiabrauner Rückstand umgeben von etwas helle- rem Hof
hellbräun- lich rosa Flüssig- keit	20.		ganz farblos	ganz farblos	un- verän- dert	schwach rosa Schimmer	rosa. intensiver als 19	lachs- rosa > > 19 < 6 < 18	kirsch- rot	braune Flüssigkeit
	Kontroll- probe		violett, ins Röt- liche	dunkel- violett (dunkler als 8)	violett	ge- schwärzt	sepia- braun			

Tabelle 15. Reaktionen des Puppenblutes auf Tyrosin bei gewöhnlicher Temperatur und bei 60° und auf die physiologische Kochsalzlösung bei denselben Temperaturgraden.

Puppenblut	1 cm ³ Tyrosin + 1 Tropfen Blut						1 cm ³ physiologische Kochsalzlösung + 1 Tropfen Blut					
	bei gewöhnlicher Temperatur			bei 60			bei gewöhnlicher Temperatur			bei 60		
	Kontrolle am:			Kontrolle am:			Kontrolle am:			Kontrolle am:		
aufgestellt 28. I. 11 b	28. I.	20. I.	7. III.	28. I.	29. I.	7. III.	28. I.	29. I.	7. III.	28. I.	29. I.	7. III.
B. Mittlere	gelb; sofortige Schwärzung	ge-schwärzt	keine besonderen Veränderungen	gelb; Schwärzung tritt etwas später auf	ge-schwärzt	keine weiteren Veränderungen	gelb; Schwärzung bald nach der Aufstellung; aber viel geringere als b. den Tyrosinproben	ge-schwärzt, viel weniger als Tyrosin	keine besonderen Veränderungen	gelb	unverändert, keine Schwärzung	unverändert, klar gelbgrün
D. Grüne	gelb; sofortige Schwärzung	ge-schwärzt	-	gelb; Schwärzung tritt etwas später auf	ge-schwärzt	-	-	-	-	gelb	unverändert, keine Schwärzung	unverändert, klar gelbgrün

Tabelle 16. Absorptionsspektre
a) der wäßrigen Extrakte (physiologische Kochsalzlösung 0,5%).
Wellenlängen in $\mu\mu$.

Untersuchungsobjekt	Schichtdicke in mm; Gefäß, in welchem untersucht wurde: C = Cavette, E = Epruvette	Rot	Orange	Gelb	Grün	Blau	Violett	
Kohlblätter		das ganze Spektrum getrübt; dieser Extrakt ist nur eine Suspension u. keine Lösung						
Puppenhüllen: A. Helle	C 10	Totalabsorption —684;						
- - -	E 10	T. A. —676;	sehr geschwächt;				T. A. von: 495	
- - -	E 15	—678;					486	
- B. Mittlere	C 10	—689;					500	
- - - verdünnt	C 30	T. A. m_{λ} —680—(656) ¹⁾ ; allgemeine Schwächung;						T. A. 504
- C. Dunkle	C 10	—681;					473	
- - -	E 10	—677; im allgemeinen sehr geschwächt;						T. A. 514
- - -	E 15	—690;					478	
- - -	C 30	—676;	stark absorbiert;				482	
- D. Grüne	C 30	—690;					497	
Ergrünte tierische (100° erw. Blut in physiol. NaCl + 1 Tr. Tyrosinase — s. Tab. 12, Probe 3 und 4)	E 10	—690;					497	
Ergrünte tierische (100° erw. Tyrosin + 1 Tr. nicht erwärmtes Blut — s. Tabelle 12, Probe 13)	E 10	—689;					497	

¹⁾ Die Nummern in Klammern bedeuten eine schwächere Absorption.

Tabelle 17. Absorptionsspektren
b) der Ätherauszüge.

Untersuchungsobjekt	Schichtdicke in mm; Gefäß, in welchem untersucht wurde: C = Cuvette, E = Eprouvette	Rot	Orange	Gelb	Grün	Blau	Violett
Kohlblätter	C 15	T. A. -711; mx 683-651-(636);	618-595;	mx 538-533-529;	509-495;		T. A. 476
auf gleiche Helligkeit wie die tierischen Extrakte	C 30	-716; mx (nicht untersucht)	(613-597);	(538-530);	508		Beginn einer Absorption
Puppenhüllen: Helle (Freien)	C 30						
- (weißen K.)	C 30	T. A. -694(-657);	etwas geschwächt;	Beginn einer Absorption (516)			mx 486
- Mittlere (Freien)		(nicht untersucht)					
- - (grauen K.)	C 30	-680;					482
- Dunkle (Freien)	C 30	-679(661);			497		
- - (schwarz. K.)	C 30	-686;			492		
- Grüne (Freien)	C 30	-693;			506		
- - (gelben K.)	C 30	-691(-662);			Beginn einer Absorption		mx 484
Ganze Puppen nach Blutent- nahme: nichtgrüne	C 10	-697;			(505)		mx 498
- -	C 15	-687;			(506)		489
- -	C 30	ganz absorbiert					
Ganze Puppen nach Blutent- nahme: grüne		(nicht untersucht)					

Tabelle 18. Absorptionsspektre
c) der Alkoholauszüge.

Untersuchungsobjekt	Schichtdicke in mm; Gefäß, in welchem untersucht wurde: C = Cuvette, E = Eprouvette	Rot	Orange	Gelb	Grün	Bian	Violett
Kohlblätter	C 10	T. A. —694; mx 675—655(—647);					T. A. 476
-	C 15	T. A. —718;	683—653(—647);	611—605;			T. A. 498
verdünnt und auf gleiche Helligkeit gebracht wie die tierischen	C 30	T. A. —694;	680—658(—647);	(609—595);			T. A. 490
Ganze mittlere Puppen in 95%igem Alkohol	C 30	T. A. —676;		(516—)504			
-	C 30	T. A. —680;		(506—)482			
in 75%igem Alkohol	C 30						

Tabelle 19. Absorptionsspektre
d) der Petrolätherauszüge.

Untersuchungsobjekt	Schichtdicke in mm; Gefäß, in welchem untersucht wurde: C = Cuvette, E = Eprouvette	Rot	Orange	Gelb	Grün	Bian	Violett
Kohlblätter	C 30	—701;	677—666(—656);			491	
Ganze mittlere Puppen	C 30	—690;				490	
Ganze grüne Puppen	C 30	—690;				491	
Hüllen der mittleren Puppen	C 30	—686;	das ganze Spektrum geschwächt;			488	
Organe der mittleren Puppen	C 30	—675;				486	

Verzeichnis der Tafeln.

Tafel VI.

Mikroskopisches Bild (Vergr. Ok. 0, Obj. 5 bei eingeschobenem Tubus) von homologen frischen Stücken der Puppenhülle der vier Hauptfarbtypen, die die verschiedene Pigmentverteilung zeigen (gezeichnet mit dem ABBESchen Zeichenapparat, koloriert nach der Natur), und entsprechende Photographien der ganzen Puppen in natürlicher Größe.

Fig. 1 von den hellen,
Fig. 2 - - mittleren,

Fig. 3 von den dunklen,
Fig. 4 - - grünen.

Tafel VII.

(Farbenphotographie. Dreifarbendruck.)

Puppen aus der ersten Versuchsserie mit farbigen Kästen. Unter jeder Farbmarke sind die auf der betreffenden Farbe vorgekommenen Puppen.

Die Puppen wurden aus der Gesamtzahl der Puppen eines jeden Kastens in demselben Zahlenverhältnis, wie sie in dem Kasten vorgekommen waren, entnommen. So z. B. sind im weißen Kasten 35 hellste, 34 etwas dunklere (helle) und 6 mittlere, davon wurden also je 3 von den hellsten und 3 von den etwas dunkleren zur Tafel verwendet, während die 6 dunkleren vernachlässigt wurden.

Fig. 1. 6 Puppen aus dem weißen Kasten: 1.—3. hellste, 4.—6. von den etwas dunkleren.

Fig. 2. 6 Puppen aus dem hellgrauen Kasten: 1. und 2. Puppe mit grüner Grundfarbe und schwarzer Fleckenzeichnung, 3. und 4. mittlere Puppe, 5. und 6. ganz dunkle.

Fig. 3. 6 Puppen aus dem gelben Kasten: 1. sehr hell, gelbe Grundfarbe und fast gar kein schwarzes Pigment (von den 20 mit beginnender Pigmentierung). 2., 3., 4. und 5. von den typischen gelbgrünen, 6. von denen, die schon etwas undurchsichtig sind (gelbgrünlich), aber schon etwas mehr Pigment (17 POULTON).

Fig. 4. 6 Puppen aus dem perlgrauen Kasten: alle mittlere Puppen.

Fig. 5. 6 Puppen aus dem schwarzen Kasten: die 1. bis 4. von den dunklen, die 5. und 6. von den ganz dunklen.

Fig. 6. 6 Puppen aus dem blauen Kasten (mittlere Puppen).

Fig. 7. 6 Puppen aus dem blaugrünen Kasten (helle).

Fig. 8. 6 Puppen aus dem gelbgrünen Kasten: 1. halbgrüne, 2. und 3. grünlich mit geringerer als der normalen Fleckenzeichnung, die 4. bis 6. helle Puppen.

Fig. 9. 6 Puppen aus dem orangefarbigem Kasten: 1. und 2. blaugrüne, durchsichtig, ganz ohne schwarzes Pigment; 3. eine halbgrüne; 4., 5. und 6. von den mittleren mit normaler Fleckenzeichnung und gelblicher oder grünlicher Grundfarbe.

Fig. 10. 6 Puppen aus dem Purpurkasten: die 1. bis 3. von den mittleren, die 4., 5. und 6. von den dunklen.

Tafel VIII.

(Kolorierte orthochrome Photographie.)

Puppen aus dem Spektral- und Intensitätenversuch.

a) Puppen aus dem Spektralversuch.

Es sind hier alle Puppen der unteren Kästchenreihe, aus einem Gelege stammend, dargestellt; je drei Puppen aus jedem Kästchen, rechts davon die betreffende Spektralfarbe, in der sie gehalten wurden. Der Abstand zwischen den Farben bedeutet die Trennung durch die Glaswände der Kästchen (breiterer Abstand) oder durch die Kartonwände in jedem Glaskästchen im Raupenkasten (schmälerer Abstand).

Fig. 11 ultrarot,	Fig. 15 grün,
Fig. 12 rot,	Fig. 16 blau,
Fig. 13 orange,	Fig. 17 violett,
Fig. 14 gelb,	Fig. 18 ultraviolett.

b) Puppen aus dem Intensitätenversuch.

Aus der gelben Schachtel (Fig. 19—21),

- - - weißen - (Fig. 22—26).

Die Intensitätsabnahme ist rechts dargestellt, links die Puppen aus dem entsprechenden Kasten.

g.	{	Fig. 19.	3	Puppen aus dem	vordersten Kästchen	Nr. 6.			
		Fig. 20.	3	- - -	mittleren	- -	3.		
		Fig. 21.	3	- - -	letzten	- -	1.		
w.	{	Fig. 22.	3	Puppen aus dem	vordersten Kästchen	Nr. 11.			
		Fig. 23.	3	- - -	- -	- -	9.		
		Fig. 24.	3	- - -	mittleren	- -	6.		
		Fig. 25.	3	- - -	- -	- -	3.		
		Fig. 26.	3	- - -	rückwärtigsten	- -	1.		

Die Farbmarken stellen die entsprechenden Helligkeitsgrade dar, wobei, um die Darstellung anschaulicher zu machen, der hellste Ton die größte Lichtintensität repräsentiert, der dunkelste die schwächste Lichtintensität. Sie wurden aus den in der Methodik der 3. Versuchsreihe beschriebenen, durch Papier-schwärzung gewonnenen relativen Lichtintensitäten durch Umkehrung der entsprechenden Werte erzielt: für die höchste Intensität wurde unbelichtetes Papier, für das dunkelste Kästchen der dunkelste Ton genommen, also 0 Min. Belichtung für die vordersten Kästchen und 205 Min. für das letzte Kästchen. Die dazwischenliegenden wurden aus der Differenz herausgerechnet. Zum Beispiel für Kästchen Nr. 10 wird von der wirklichen Intensität des Kästchens Nr. 11, 200, die Intensität des Kästchens Nr. 10, 55, subtrahiert. Die Differenz 145 ergibt den für dieses Kästchen geltenden Ton, der auf der Intensitätenskala der 145 Min. belichteten Abteilung entspricht.

Um nun den Farbton, wie er in den Versuchsschachteln war, darzustellen, wurden die Marken für Gelb mit einer gelben Farbe übermalt. Für Weiß wurde, da das Wiesnerpapier einen bräunlichgelblichen Ton hat, genau in derselben Weise eine Intensitätenskala auf Celloidinpapier (Jea), das im Platinbad 10 Min. fixiert wurde, was einen grauen bis schwarzen Ton ergab, hergestellt und die Töne des Wiesnerpapiers durch die gleichen Töne des photographischen Papieres ersetzt, indem die Töne unter einer Gelbscheibe verglichen wurden.

Für den Kasten Nr. 11 (Fig. 22) wurde das unbelichtete Wiesnerpapier verwendet.

Belichtungszeit des Celloidinpapiers Minuten:		Belichtungszeit des Wiesnerpapiers Minuten:		
	weiß Nr. 11	berechnet	Skalentöne	
30	- 10	0—1	0—1	Nr. 6 gelb
40	- 6	145	145	
50	- 3	182	185	Nr. 3
65	- 1	192	195	
		199—200	205	Nr. 1

Tafel IX.

Photographien, die in den verschiedenen Versuchsserien verwendeten Apparate darstellend.

Fig. 1. 3 farbige Kasten aus der ersten Versuchsserie.

Fig. 2. Raupenbehälter für den Spektralversuch.

Man sieht in einer Schachtel die beiden Glaskästchenreihen, zu je 4 in einer Reihe. Bei den oberen Kästchen ist vor die Öffnung die Musselinkappe und der Glasrost hineingepreßt. Bei der unteren sind die Musselinkappen entfernt, damit man die Kartonabteilung in der Mitte des Kästchens sehen kann. (Auf der oberen Reihe liegt ein Beschwerer aus Holz, um den umgebenden weißen Karton niederzudrücken.)

Fig. 3. Die zum Intensitätsskalaversuch verwendeten Apparate: a) die gelbe Schachtel im Profil, die Kästchenreihe (6 Kästchen) ist herausgenommen und daneben (b) in derselben Anordnung aufgestellt. In c) sieht man — gerade mit der Öffnung nach vorn aufgestellt — die weiße Schachtel; man sieht innen die Glaskästchen, in die die Raupen hineingegeben wurden.

Fig. 4. Detailfigur in größerem Maßstabe: ein Glaskästchen mit den daraus herausgenommenen Teilen, wie sie für den Spektral- und Intensitätenversuch verwendet wurden.

a: das Glaskästchen; man sieht innen die vorspringende Wand, in die die Musselinkappe hineingepreßt wird.

b: Musselinkappe.

c: Glasschlange.

d: Glasrost.

Tafel X.

Fig. 1. Bestimmung relativer Lichtintensitäten durch Papierschwärzung, bei der durch die Abbildung dargestellten Anordnung (verkleinerte Photographie).

Die Abbildung ist eine schematische Darstellung der Versuchsanordnung. Der Versuchskasten ist schraffiert gezeichnet.

Der Neigungswinkel α beträgt für die weiße Schachtel $4^{\circ}20'$, für die gelbe 2° .

Die sechs Abteilungen der gelben Schachtel sind auf dem Schema durch punktierte Linien angedeutet; eine Abteilung hat 7 cm. Für den weißen Kasten sind 11 Abteilungen.

Die Schachtel ist 20 cm entfernt von einer weißen reflektierenden Wand, auf die das Licht einer (als punktierter Kreis gezeichneten) 200-Kerzen-Azo-Osram-Lampe fällt, die über dem Versuchskasten in einer Höhe von 47 cm angebracht ist.

A. Die zwei oberen Reihen sind die durch Papierschwärzung dargestellten relativen Intensitäten für die Schachtel mit weißer Auskleidung (Genaueres über Herstellungsart siehe Versuchsmethodik der 3. Versuchsreihe).

B. Die relativen Intensitäten für die Schachtel mit gelber Auskleidung.

Die Ziffern über den Streifen sind die Nummern der den Abteilungen entsprechenden Kästchen des Intensitätsversuches.

Die unteren Reihen von Nummern sind die relativen Intensitäten der Abteilungen:

A: weiß	Nr. 11	10	9	8	7	6	3	1
	I — 1	0,275	0,175	0,125	0,07	0,05	0,025	0,005
B: gelb	Nr. 6		5		4	3		1
	I — 1		0,175		0,07	0,05		0,005

Man sieht deutlich den Abfall der Intensität. Vorn in beiden Reihen gleiche Schwärzung, die Enden ebenfalls gleich. Der Abfall ist bei Gelb rascher als bei Weiß: Kästchen Nr. 5 gelb entspricht dem Kästchen Nr. 9 weiß, Nr. 4 gelb dem Nr. 7 weiß, Nr. 3 gelb dem Nr. 6 weiß.

Fig. 2. Verkleinerte Photographie der Skalen zur Bestimmung der Lichtintensität durch Papierschwärzung.

(Als Lichtquelle wurde eine 200-Kerzen-Azo-Osram-Metallfadenlampe benutzt, bei 30 cm Abstand.)

Die erste Reihe stellt eine Skala mit Ideal-Celloidin-Papier matt (Jca), Fixierung 10 Min. im Platinbad, dar. Das Zeitintervall zwischen den einzelnen Abstufungen ist 5 Min., von 5—100 Min.

Die zweite und dritte Reihe stellen eine Skala dar, bei welcher Bunsen-Eder-(Wiesner-)Papier verwendet wurde. Fixierung 10 Min. in 20% Fixiernatron. Bei der zweiten Reihe sind die Intervalle 10 Min., von 25—285 Min. Die dritte Reihe stellt die geringeren Schwärzungen dar und zeigt Abstufungen von 5 zu 5 Min., und zwar von 0 (ganz unbelichtet) bis 60 Min.

Nachschrift.

Während des durch den Krieg verzögerten Druckes der vorliegenden Abhandlung erschien in der Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie. Bd. CXVI. Heft 4. 1916 eine Arbeit von BERNHARD DÜRKEN (Göttingen) »Über die Wirkung verschiedenfarbiger Umgebung auf die Variation von Schmetterlingspuppen. Versuche an *Pieris brassicae*«, welche, im gleichen Sommer wie meine Versuche angestellt, zu ganz ähnlichen Ergebnissen gelangten, ohne jedoch chemische Untersuchungen zu umfassen. Ich möchte nun hinzufügen, daß ich wie Dr. DÜRKEN auch auf rotem Untergrunde einen schwach rötlichen Ton bemerkte, wie auf Tafel VII Fig. 10 ersichtlich gemacht ist, jedoch wegen der geringen Deutlichkeit diese Puppen nicht als eigene Farbklasse behandelt habe.