

Die Reaktion der Chromatophoren des Seeigels *Centrostephanus longispinus* auf Licht*

MARTIN DAMBACH

Zoologisches Institut der Universität zu Köln, Lehrstuhl für Tierphysiologie

Eingegangen am 23. Juni 1969

The Reaction of the Chromatophores of the Sea Urchin Centrostephanus longispinus to Light

Summary. 1. When stimulated with white light of intensity between 0,4 and 53 Lux the chromatophores on isolated spine bases of *Centrostephanus longispinus* show a degree of pigment dispersion which is proportional to the light intensity (Fig. 2).

2. With stronger intensities, light induces a maximal pigment dispersion; darkness causes a maximal pigment concentration. Concentration is quicker than dispersion. In different chromatophore stages both processes differ in the forms of pigment distribution (Fig. 3).

3. The most common chromatophores are brown but there are also violet and yellow ones; they differ in the size and form of the pigment granules. With the method employed a difference in the reaction to white light could not be demonstrated. Possibly they are different developmental stages of one single type of chromatophore.

I. Einleitung

Der physiologische Farbwechsel von *Centrostephanus longispinus* PETERS (Diadematidae) kommt durch in der Epidermis liegende Chromatophoren zustande, deren Pigment beim dunkeladaptierten Tier konzentriert ist und bei Lichtreizung ausgebreitet wird (v. UEXKÜLL, 1896; KLEINHOLZ, 1938; DAMBACH und JOCHUM, 1968). Ähnliche Farbwechsellerscheinungen sind von *Diadema antillarum* und *D. setosum* bekannt (Übersicht bei YOSHIDA, 1966). Aus der Tatsache der maximalen Pigmentdispersion bei hellem Tageslicht und der maximalen Pigmentkonzentration nach einem genügend langen Aufenthalt im Dunkeln ergab sich die Frage nach dem Verhalten der Chromatophoren bei schwacher Beleuchtung. Es wurde deshalb versucht, zu bestimmten Beleuchtungsstärken korrelierte Stadien der Pigmentverteilung zu bestimmen. Von Interesse war außerdem ein qualitativer und quantitativer Vergleich zwischen Pigmentdispersion und -konzentration.

* Die Untersuchungen wurden an der Zoologischen Station Neapel ausgeführt und durch eine Beihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Begriffe. Pigmentdispersion: Prozeß bei dem sich die Pigmentgrana von einem (Chromatophoren-) Zentrum aus in zentrifugaler (distaler) Richtung bewegen. Die vom Pigment bedeckte Fläche wird größer (andere Bezeichnungen: P.-Ausbreitung, P.-Expansion). *Pigmentkonzentration:* Prozeß der zentripetal (proximal) gerichteten Pigmentbewegung. Die pigmentbedeckte Fläche wird kleiner (andere Bezeichnungen: P.-Ballung, P.-Kontraktion). *Pigmentverteilung:* Der zu einem bestimmten Zeitpunkt bestehende Grad der Pigmentdispersion bzw. -konzentration. Er kann beschrieben werden durch Größe, Form, Farbe und optische Dichte der Chromatophoren bzw. der vom Pigment bedeckten Fläche.

II. Material und Methoden

Versuchstiere und Auswahl des Materials. Die Tiere (Körperdurchmesser 3,5—6,5 cm) stammten aus 18—30 m Tiefe von den Felsküsten des Golfes von Neapel. Für alle Untersuchungen wurden die Chromatophoren auf den Stachelbasen ausgewählt (Abb. 1), weil sie relativ groß und gut zugänglich sind. Es lassen sich

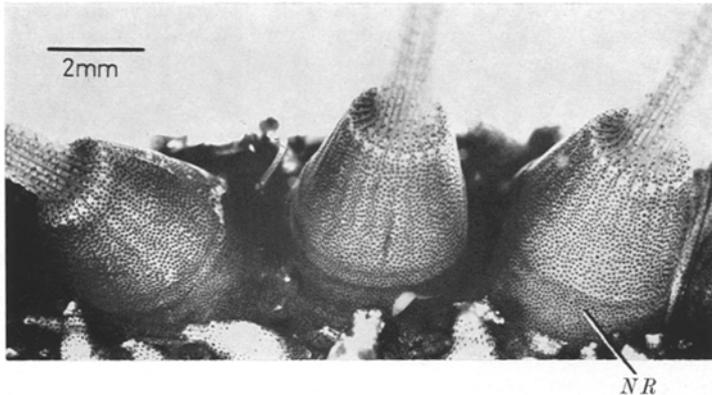


Abb. 1. Schalenstück mit 3 Stachelbasen von Primärstacheln und Chromatophoren nach Adaptation bei einer Beleuchtungsstärke von 5 Lux. Formol-fixiert. NR subepidermaler Nervenring. Reste von Sekundärstacheln und Pedicellarien am unteren Bildrand

3 deutlich abgegrenzte Bereiche unterscheiden. Ein distal vom Nervenring gelegener Teil, der etwa $\frac{2}{3}$ der Stachelbasis ausmacht, der Epidermisbereich auf dem Nervenring und der zwischen Nervenring und Schale liegende Abschnitt. Die einzelnen Bereiche sind in sich homogen. Sie unterscheiden sich in der Zahl der Chromatophoren. Die folgenden Untersuchungen gelten für den Bereich distal vom Nervenring (Abb. 1).

Adaptation. (4 Versuchstiere.) Gleichwertige Schalenstücke mit 4—6 Primärstacheln wurden in Seewasser (Wasserstand über dem Objekt = 3 cm) unter eine Beleuchtungsanordnung aus folgenden Teilen gebracht: Mikroskopierlampe mit einer durch stabilisierte Gleichspannung von 8 V betriebenen 6 V-Birne, Wärmefilter, Neutralgraufilter, Diffusor aus weißem Plastik. Mit den Neutralgraufiltern in verschiedenen Kombinationen konnten folgende Beleuchtungsstärken hergestellt werden: 0,4; 0,7; 2; 5; 24; 53 Lux (gemessen mit Luxmeter: Dr. Lange Multiflex-Galvanometer mit Meßkopf Type MG 2). Zur Adaptation blieben die Objekte

50 min lang der jeweiligen Beleuchtung ausgesetzt und wurden dann, noch bei der gleichen Beleuchtung, in 4% Formol-Seewasser überführt. Protokolliert wurde durch mikrophotographische Aufnahmen totaler Stachelbasen (Leitz Aristophot, Obj.: Summar, 42 mm).

Pigmentdispersion. (3 Versuchstiere.) 15 Schalenstücke mit Stachelbasen wurden einzeln in Küvetten mit Seewasser gebracht und 3 Std lang verdunkelt. Nach Beginn eines Dauerlichtreizes von 380 Lux (100 Watt-Lampe in 65 cm Höhe) wurden die einzelnen Schalenstücke der Reihe nach, in Abständen von 4 min, durch Zugabe einer abgemessenen Menge Formol fixiert. In einer anderen Anordnung konnten individuelle Chromatophoren auf einer Stachelbasis durch Serienfotos festgehalten werden. Nach Ablauf der ersten Dispersion ließ sich, nach anschließend durch Verdunklung erreichter Konzentration, nochmals eine zweite Dispersion auslösen. Da sich die Stacheln noch von Zeit zu Zeit bewegen, ist die Photographie bei dieser Methode erschwert.

Pigmentkonzentration. (4 Versuchstiere.) 15 einzeln in Seewasser gehaltene Schalenstücke wurden, nach zusätzlicher Helladaptation von 15 min bei 380 Lux (das ganze Tier war bereits vorher helladaptiert), bei Dunkelheit in Abständen von 2 min fixiert. Die Temperatur des Seewassers in den Versuchsanordnungen lag zwischen 22 und 24,5° C und war während der Versuche konstant.

III. Ergebnisse

1. Adaptation bei verschiedenen Beleuchtungsstärken

Um eine Vorstellung von der Helligkeit am Biotop von *Centrostephanus* zu bekommen, wurden zunächst an 3 Fundplätzen am Capo di Sorrento Lichtmessungen durchgeführt¹. Das Wasser ist dort blauklar und das Ufer besteht aus Kalkfelsen. Bei wolkenlosem Himmel im Oktober zwischen 10 und 11 Uhr wurden in 18 m Tiefe 1,4 und an zwei Stellen in 20 m Tiefe 0,7 Lux gemessen.

Für die Messungen wurde ein Belichtungsmesser (Lunasix, Fa. Gossen) verwendet, der in ein druckfestes Einmachglas eingebaut war. Am Fundort des Tieres konnte dann durch den Boden des Glases das von schräg oben einfallende Licht gemessen werden.

Die spektrale Zusammensetzung des Lichtes in dieser Tiefe entspricht natürlich nicht mehr der des Tageslichtes oder der im Versuch verwendeten. Die Meßwerte aus der Tiefe² wären mit denen aus dem Labor vergleichbar, wenn Chromatophoren und Belichtungsmesser gleiche spektrale Empfindlichkeiten hätten. Es wird angenommen, daß die wahrscheinlich bestehende Abweichung vernachlässigt werden kann.

Das Ergebnis der Adaptationsversuche bei Beleuchtungsstärken zwischen 0,4 und 53 Lux zeigt Abb. 2. Bei jeder Beleuchtungsstärke stellt sich ein konstant bleibender Grad der Pigmentausbreitung ein.

1. Den Tauchern, Fischern und Assistenten der Station bin ich für ihre stete Hilfsbereitschaft zu großem Dank verpflichtet.

2. Für diese Messungen ist die Einheit „Lux“ streng genommen nicht mehr gültig, da sie sich auf die spektrale Empfindlichkeit eines helladaptierten menschlichen „Standard-Auges“ bezieht.

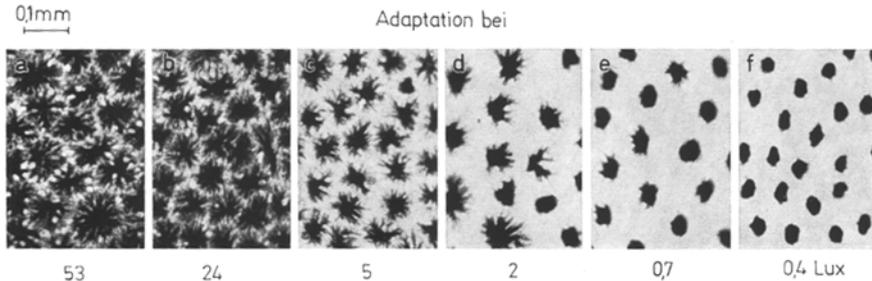


Abb. 2. Verschiedene Grade der Pigmentverteilung bei Chromatophoren nach 50 min langer Adaptation bei verschiedenen Beleuchtungsstärken. Tier C7, 24° C. Ausgangszustand für *a* war ein aus dem Hellen genommenes Schalenstück. Für die übrigen Beleuchtungsstärken waren die Objekte vorher dunkeladaptiert

Bei der schwächsten Beleuchtung (0,4 Lux) ist das Pigment der Chromatophoren noch nahezu punktförmig konzentriert. Bei der stärksten (53 Lux) ist es ausgebreitet, doch sind Einzelchromatophoren noch zu erkennen. Das Zentrum ist noch dicht mit Pigment gefüllt und die Peripherie besteht aus Ausläufern, die sich mit denen der Nachbarchromatophoren verzahnen. Bei den dazwischenliegenden Beleuchtungsstufen ist die Verästelung mehr oder weniger stark. Auffallend ist, daß bei 0,7 und 2 Lux starke Unterschiede auch bei benachbarten Chromatophoren auftreten können (Abb. 2 d u. e). Bisweilen zeigen sich auch zwischen einzelnen Stachelbasen geringe Unterschiede, obwohl für alle gleiches Adaptationslicht herrschte (vgl. z.B. linke und rechte Stachelbasis in Abb. 1). Die dabei auftretenden Unterschiede bleiben jedoch geringer als die zwischen den verschiedenen Adaptationsstufen.

2. Pigmentdispersion durch einen Licht-an-Reiz nach vorausgegangener Dunkeladaptation

Die Pigmentdispersion als Reaktion auf einen Dauerlichtreiz läßt sich als Abnahme der Leuchtdichte eines Chromatophorenareals kontinuierlich registrieren. Sie verläuft exponential und an den Stachelbasen langsamer als in den Chromatophorenbereichen dazwischen (DAMBACH und JOCHUM, 1968). Um auch eine Aussage über das Muster der Pigmentverteilung und die Form der Einzelchromatophoren machen zu können, wurden Chromatophoren nach einem Licht-an-Reiz in bestimmten Abständen fixiert. Abb. 3 (oben) zeigt die verschiedenen Grade der Pigmentdispersion in Abständen von 8 min. Die zunächst punktförmigen Pigmentflecke erreichen eine immer größere Ausdehnung und zunehmende Verästelung. Im Endzustand, nach \pm maximaler Ausbreitung des Pigments, sind die Grenzen der Einzelchromatophoren

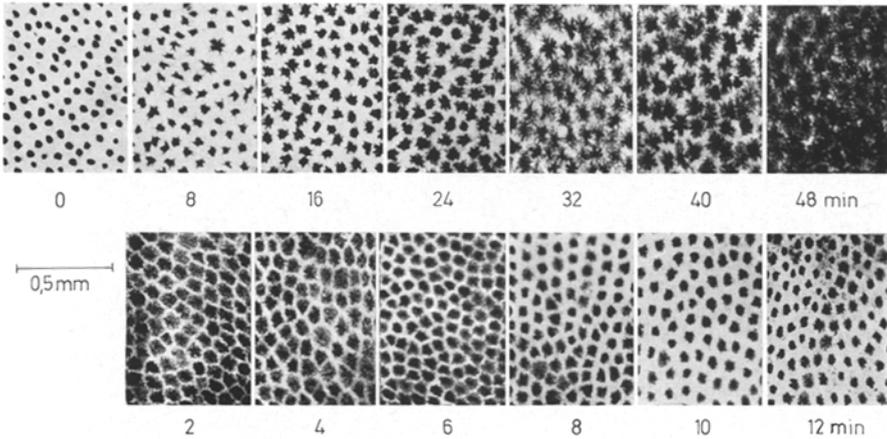


Abb. 3. Verschiedene Stadien der Pigmentdispersion und -konzentration. Obere Reihe: Dispersion nach einem Licht-an-Reiz bei vorausgegangener Dunkeladaptation. Zeitpunkt 0 = Licht an. Tier C 11, 23° C. Untere Reihe: Konzentration nach einem Licht-aus-Reiz bei vorausgegangener Helladaptation. Tier C 9, 22,5° C

nicht mehr zu erkennen. Der vorher schwarz erscheinende Pigmentfleck wirkt jetzt durch die dünnere Verteilung braun.

3. Pigmentkonzentration durch einen Licht-aus-Reiz nach vorausgegangener Helladaptation

Die Pigmentkonzentration läßt sich photometrisch nicht mit einer Methode registrieren, bei der das Registrierlicht gleichzeitig als Reiz wirkt. Um einen qualitativen Vergleich mit der Pigmentdispersion anstellen zu können, boten sich wieder Serienversuche an Proben gleichartigen Materials von einem Tier an (Abb. 3, unten). Der Ausgangszustand (= 0 min) entspricht der maximalen Pigmentausbreitung nach einer Helladaptation. Bereits 1 min nach der Verdunklung treten helle Grenzen zwischen dunklen Pigmentflecken auf. Innerhalb der Flecken ist das Pigment sehr viel homogener verteilt und nicht so grob verästelt wie bei den Adaptations- und Pigmentausbreitungsstadien. Aus dem Fleckenmuster wird im Verlauf von ca. 10 min ein Punktmuster.

4. Verschiedenfarbige Chromatophoren und Amoebocyten

Die genaue Morphologie der Chromatophoren ist noch unbekannt. Elektronenmikroskopische Untersuchungen im Hinblick auf Strukturen zur Pigmentbewegung, Größe und Verteilung der Pigmentgrana, Zellgrenzen etc. sind im Gange. Bei der mikroskopischen Untersuchung abgegebener Hautstückchen sieht man bei den Chromatophoren Unter-

schiede in der Farbe und in Form und Größe der Pigmentgrana. Am häufigsten sind braune Chromatophoren, dazwischen liegen violette und seltener gelbe. Die Grana der violetten scheinen etwas kleiner zu sein als die der braunen; die der gelben sind am größten. Eine Untersuchung der Fälle, wo einzelne Chromatophoren auf Licht deutlich anders reagieren als benachbarte (vgl. Abb. 2d und e) hat gezeigt, daß eine solche Ausnahmereaktion sowohl violette als auch braune, etwa entsprechend der Häufigkeit ihres Vorkommens zeigen können (es wäre noch zu prüfen, ob die 3 Typen auf farbiges Licht verschieden reagieren). Es wird angenommen, daß es sich nicht um ein echtes polychromatisches Chromatophorensystem handelt, sondern daß die violetten Entwicklungsstadien der braunen sind. In diesem Falle müßte dort, wo viele Chromatophoren neu gebildet werden, wie z. B. an einer Regenerationsstelle, das Verhältnis von braunen zu roten anders sein. In dem einen untersuchten Fall konnte, wie das nachfolgende Protokoll zeigt, ein solcher Unterschied festgestellt werden.

Protokoll. Tier C 12. Primärstachel am Gelenk abgeschnitten. Haut vom abgetrennten Basisteil abgezogen. Auszählung der Chromatophoren eines 1,9 mm² großen Ausschnittes davon: 317 braune, 48 violette, 15 gelbe. Nach 6 Tagen (bei 15° C) Untersuchung der über dem Stumpf gebildeten Regenerationshaut: Grenzen einzelner Chromatophoren schwer zu erkennen. Zahlen- und flächenmäßiges Verhältnis von violetten zu braunen Flecken etwa 1:1.

Eine weitere auffällige Erscheinung in der Epidermis sind Amöbocyten. Leuchtend rote, dicht mit Grana gefüllte, bewegen sich amöboid, manchmal mitten durch Chromatophoren hindurch, indem sie die Pigmentgrana zur Seite drängen und eine für längere Zeit bleibende Spur hinterlassen. Besonders zahlreich sind die roten an frischen Regenerationsstellen, wo sie anscheinend dem Wundverschluß (und der Chromatophorenbildung?) dienen. Ein weiterer Amöbocytentyp hat etwas größere, farblose Grana und kriecht langsamer als die roten. Man findet ihn z. B. in den pigmentfreien „Löchern“ zwischen oder in den Chromatophoren (s. Abb. 2a—c). Nach JACOBSON und MILLOTT, 1953, werden bei *Diadema antillarum* in Amöbocyten (Coelomocyten) Melaninvorstufen gebildet und transportiert.

IV. Diskussion

Chromatophoren, die als unabhängige Effektoren auf Licht reagieren, sind sicher nachgewiesen bei Crustaceen, Fischen, Amphibien und Reptilien (Übersicht bei STEVEN, 1963). Im Vergleich zur verbreiteten humoralen oder nervösen Kontrolle gilt diese Funktionsweise als ursprünglich. Das von *Diadema* (Übersicht bei YOSHIDA, 1966) und *Centrostephanus* bekannte Verhalten der Chromatophoren stellt in bezug auf Empfindlichkeit und Schnelligkeit einen extremen Fall dar. In den adaptierten Zuständen stellt sich ein Gleichgewicht zwischen Dispersion

und Konzentration ein, das durch die experimentellen Licht-an- bzw. Licht- aus-Reize maximal gestört wird. Die „auf dem schnellsten Weg“ durchlaufenen Zwischenstadien unterscheiden sich voneinander und von den Adaptationstadien. Der Unterschied in der Geschwindigkeit der beiden Prozesse könnte z. B. darauf beruhen, daß die Bildungsgeschwindigkeit und Effektivität kontraktile Elemente im Plasma für zentripetale und zentrifugale Granabewegung verschieden sind. GREEN (1968) hat die Granabewegung in Melanophoren von *Fundulus heteroclitus* untersucht. Sie diskutiert die Möglichkeit, daß bei der Dispersion Energie gespeichert und bei der Konzentration wieder freigegeben wird. Dann müßte auch zusätzlich eine unterschiedliche Kinetik angenommen werden, um die Asymmetrie zwischen Dispersion und Konzentration zu erklären. YOSHIDA (1956, 1957 b) wies nach, daß eine sehr lokale Reaktion einzelner Chromatophoren von *Diadema* möglich ist. Er vermutet eine Lichtempfindlichkeit des Cytoplasmas selbst. Denkbar wäre auch ein sehr lokales Reflexsystem zwischen den Chromatophoren und dem epidermalen Nervennetz als rezeptorischem Teil. Eine Lichtempfindlichkeit ist bis jetzt nur beim Radialnerven nachgewiesen (YOSHIDA and MILLOTT, 1959).

Literatur

- DAMBACH, M., u. F. JOCHUM: Zum Verlauf der Pigmentausbreitung beim Farbwechsel des Seeigels *Centrostephanus longispinus* PETERS. Z. vergl. Physiol. **59**, 403—412 (1968).
- GREEN, L.: Mechanism of movements of granules in melanocytes of *Fundulus heteroclitus*. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **59**, 1179—1186 (1968).
- JACOBSON, F. W., and N. MILLOTT: Phenolases and melanogenesis in the coelomic fluid of the echinoid *Diadema antillarum* PHILIPPI. Proc. roy. Soc. B **141**, 231—247 (1953).
- KLEINHOLZ, L. H.: Color changes in echinoderms. Pubbl. Staz. zool. Napoli, **17**, 53—57 (1938).
- STEVEN, D. M.: The dermal light sense. Biol. Rev. **38**, 204—240 (1963).
- UEXKÜLL, J. v.: Vergleichende sinnesphysiologische Untersuchungen. II. Der Schatten als Reiz für *Centrostephanus longispinus*. Z. Biol. **34**, 319—339 (1896).
- YOSHIDA, M.: On the light response of the chromatophore of the sea urchin, *Diadema setosum* (LESKE). J. exp. Biol. **33**, 119—123 (1956).
- Spectral sensitivity of chromatophores in *Diadema setosum* (LESKE). J. exp. Biol. **34**, 222—225 (1957 b).
- Photosensitivity, p. 435—464. In: Physiology of echinodermata (R. A. BOOLOOTIAN, ed.). New York-London-Sydney: Wiley 1966.
- YOSHIDA, M., and N. MILLOTT: Light sensitive nerve in an echinoid. Experientia (Basel) **15**, 13—14 (1959).

Dr. MARTIN DAMBACH
 Zoologisches Institut der Universität
 5 Köln-Lindenthal, Weyertal 119