

Copyright ©

Es gilt deutsches Urheberrecht.

Die Schrift darf zum eigenen Gebrauch kostenfrei heruntergeladen, konsumiert, gespeichert oder ausgedruckt, aber nicht im Internet bereitgestellt oder an Außenstehende weitergegeben werden ohne die schriftliche Einwilligung des Urheberrechtlichsinhabers. Es ist nicht gestattet, Kopien oder gedruckte Fassungen der freien Onlineversion zu veräußern.

German copyright law applies.

The work or content may be downloaded, consumed, stored or printed for your own use but it may not be distributed via the internet or passed on to external parties without the formal permission of the copyright holders. It is prohibited to take money for copies or printed versions of the free online version.

Aus dem Aquarium und Forschungsinstitut für Fischerei, Varna/Bulgarien
und dem Zoologischen Institut der Universität Kiel

Untersuchungen über *Prymnesium parvum* Carter und seine toxische Einwirkung auf die Wasserorganismen

VON ALEXANDER VALKANOV¹⁾

In der Literatur werden zahlreiche Fälle von Massenvergiftung von Fischen und anderen Wassertieren durch das Phytoplankton — im Süßwasser vorwiegend durch Cyanophyceen, im Ozean durch Dinoflagellaten — registriert.

In allen Vergiftungsfällen durch Phytoplankton handelt es sich um Einwirkung von Toxinen organischer Natur. In manchen dieser Fälle sind bedeutende Schritte zur Aufklärung der chemischen Natur der Toxine gemacht worden (RIEGEL u. a., 1949).

Im Sommer 1959 brach ein plötzliches Massensterben der Fische in den beiden Varna-Seen aus. Eingehende Untersuchungen zeigten, daß es sich um ein Sterben, hervorgerufen durch eine Massenentwicklung eines Flagellaten — *Prymnesium parvum* (Chrysomonadina) — handelte. Eben dieser Flagellat ist als stark toxisch bekannt und hat Massensterben von Fischen auch in anderen Ländern hervorgerufen (Holland, Deutschland, Dänemark, Palästina).

Prymnesium parvum wurde von zwei Holländischen Forschern, LIEBERT und DEERNS, 1920 entdeckt. Sie haben es im Workum-See nicht weit des Zuidersees gefunden und unter dem Namen „die Chrysomonadine von Workum“ beschrieben. Die Autoren geben eine befriedigende Beschreibung der Struktur und genaue Zeichnungen des giftigen Organismus, überlassen es aber den Spezialisten, seine genaue taxonomische Stellung aufzuklären.

Die Autoren haben mit Sicherheit festgestellt, daß dieser Flagellat bei seiner Massenentwicklung das Sterben der Fische verursacht. Auf Grund einer Reihe von ihnen durchgeführter Versuche kommen sie zu den folgenden sehr wichtigen Schlußfolgerungen:

1. Durch ein Chamberland-Filter filtriertes Wasser wird von seinen giftigen Eigenschaften befreit.

2. Reines Wasser, das dem Bodensatz des obengenannten Filters zugesetzt wird, erhält giftige Eigenschaften.

3. Erhitzen des Wassers bis zu 60° C 10 Min. lang, tötet die Flagellaten und zerstört das Gift.

Den Autoren zufolge dringt das Gift höchstwahrscheinlich durch die Kiemen in den Körper der Fische ein. Fische, deren Kiemen mit dem aus dem Filter entnommenen Bodensatz beschmiert werden, sterben. Andererseits jedoch ruft ein Einspritzen aktiver Flagellaten in die Rückenmuskulatur keine akute Vergiftung hervor. Die Autoren nehmen an, daß das Gift hämolytische Einwirkung ausübt. Die vergifteten Fische zeigen zuerst zerstörtes Gleichgewicht, erschwertes Atmen und oft treten an ihren Kiemen grüne Schleimfetzen auf.

Als Mittel zum Kampf gegen die Vergiftung empfehlen dieselben Autoren Kupfersulfat. Der Einfluß dieses Salzes hängt ihrer Meinung nach von den chemischen Eigenschaften des Wassers ab: bei größerer Härte des letzteren sind größere Mengen des Kupfersalzes nötig.

¹⁾ Herrn Prof. Dr. A. Remane zu seinem 65. Geburtstag in Verehrung gewidmet.

LENZ (1933) streifte in seiner Arbeit das periodisch auftretende Sterben der Fische im Waterneverstorfersee (an der Hohwachter Bucht) und schreibt es der „Chrysonadine von Workum“ zu.

CARTER (1938) beschrieb ausführlich die Art *Prymnesium parvum*. Die Autorin nimmt an, daß diese Art mit *Wissotzkia biciliata* (WISS.) und *W. gladociliata* LEMM. identisch ist und unterstreicht, daß dieselbe sich scharf von der Art *Prymnesium saltans* MASSART unterscheidet, der einzigen bis dahin bekannten Art der Gattung *Prymnesium*. Die Autorin kannte die Arbeit von LIEBERT u. DEERNS nicht. Wenn man jedoch die Beschreibung und die Abbildungen, welche sie von *Prymnesium parvum* gibt, mit der Beschreibung und den Abbildungen der beiden holländischen Autoren für die „Chrysonadine von Workum“ vergleicht, ist unschwer festzustellen, daß es sich um einund-dieselbe Art handeln dürfte.

CONRAD und LELOUP (1938) identifizieren „die Chrysonadine von Workum“ mit der Art *Prymnesium saltans*. Die Autoren geben die Ansicht von REDECKE weiter, in welcher Weise *Prymnesium* sich an der Oberfläche der Kiemen der Fische mittels seiner kurzen Geißel befestigt, die vielleicht in diesem Falle die Rolle eines Inokulationsstilettes spielt.

OTTERSTROM und STEEMANN-NIELSEN (1940) haben eingehend das durch *Prymnesium parvum* bedingte Sterben der Fische in zwei Seen in Dänemark untersucht. Die Autoren haben ausführliche Laboruntersuchungen durchgeführt und dabei festgestellt, daß die toxische Wirkung durch das Ausscheiden eines Toxins in das Wasser bedingt ist: das zentrifugierte Wasser war ebenso toxisch wie das unbehandelte Wasser. Das Toxin ist ihren Untersuchungen nach thermolabil: das Wasser verliert seine toxischen Eigenschaften, sobald es auf 100° erhitzt wird, während das *Prymnesium* selbst bei 41° abstirbt. — Die Autoren haben festgestellt, daß außer den Fischen auch die Muscheln durch die Toxine von *Prymnesium parvum* sterben, während die Dekapoden (*Carcinus maenas*), die Copepoden und die Larven der Chironomiden nicht von den Toxinen geschädigt werden. Das gibt ihnen Grund zu vermuten, daß das *Prymnesium*-Toxin nicht durch die Chitinhülle der Tiere zu dringen vermag. Was die Ursache des Sterbens der Fische betrifft, so sprechen die Autoren die Vermutung aus, daß der Tod wahrscheinlich durch eine allgemeine Lähmung der Nerven bedingt wird.

Prymnesium parvum ist sehr häufig in den Fischzuchtbasins in Palästina, wo es zuweilen ein Massensterben der Mugiliden hervorruft. Letzthin wurden mehrere Arbeiten über diesen Gegenstand veröffentlicht (SHILO u. ASCHNER, REICH u. ASCHNER, REICH u. ROTBERG). Durch die Untersuchungen der palästinensischen Autoren wurden viele der Angaben älterer Forscher bestätigt und im Zusammenhang damit folgende neue Feststellungen getroffen:

1. Das Toxin von *P. parvum* scheint ein hohes Molekulargewicht und einige Eigenschaften der Proteine zu besitzen.
2. Das Toxin wird in das Wasser ausgeschieden, wodurch es von den Giften anderer toxischer Wasseralgen (Dinoflagellaten, Cyanophyceen), bei welchen die Toxine im Cytoplasma enthalten sind, sich unterscheidet.
3. Es besteht keine direkte Abhängigkeit zwischen der Menge von *Prymnesium*-Zellen in einer gegebenen Wassermenge und ihrer Giftigkeit.
4. Oxydierende Verbindungen (Kaliumpermanganat, Kaliumhypochlorid, Sauerstoff) zerstören das Toxin.
5. Das Toxin wird vom Schlamm absorbiert.
6. Das Toxin wird durch gewisse Mikroorganismen zerstört.

7. Das Licht wirkt hemmend auf die Toxinbildung.
8. Die Konzentration des Toxins im gegebenen Moment spiegelt eine Art dynamisches Gleichgewicht zwischen seiner Produktion und Destruktion wieder.
9. Als das beste Mittel zur Bekämpfung von *P. parvum* wird Ammoniumsulfat in einer Konzentration von 1 : 100000 und mehr empfohlen.
10. Es wird eine toxische Einheit (T. J.) eingeführt, unter welcher die Autoren jene minimale Menge Toxin verstehen, die — in 20 ml Wasser enthalten — eine *Gambusia* von ungefähr 1,5 cm in 12 Stunden zu töten vermag. Für die Kaulquappen ist eine Minimalmenge 2,2 T. J./20 ml festgestellt.

Vor kurzem ist eine Arbeit von LAUGHLIN (1958) über die Ernährung von *P. parvum* erschienen, welche eine Reihe von sehr präzisen Angaben betreffs der Einwirkung des Giftes dieses Flagellaten auf einige Fische enthält. Der Autor kommt zu der Schlußfolgerung, daß sich *P. parvum* auch bei 120‰ NaCl entwickeln kann, aber der optimale Bereich für dieses Salz bei 3—50‰ liegt. Die giftige Wirkung von Ammoniumsulfat vermindert sich bei erhöhter NaCl-Konzentration und beim Ansteigen des pH-Wertes. Bei alkalischer Reaktion ist die Kulturflüssigkeit stärker toxisch als bei saurer Reaktion, was im wesentlichen auch von den holländischen Autoren festgestellt worden ist.

Gewisse Angaben über die toxische Wirkung von *P. parvum* sind in SCHÄPERKLAUS, Handbuch der Fischerkrankheiten, enthalten, wie auch in der Abhandlung von BRONGERSMA-SANDERS über das Massensterben der Tiere in den Meeren.

Die Entwicklung der *P. parvum*-Epidemie in den Varna-Seen wurde uns erst bekannt, nachdem das Massensterben der Fische schon angefangen hatte. Anfänglich verfügten wir leider über keine andere Literatur als die Arbeit von LENZ, aus welcher nicht zu entnehmen war, ob wir es in unserem Fall mit demselben Organismus zu tun hatten, welcher das Fischsterben im Waterneverstorfer See hervorgerufen hatte, eben „die Chrysonadine von Workum“. All das zwang uns, sowohl schnellste und gründliche Untersuchungen über den See und seine Wasserblüte, als auch über den Einfluß des Wassers auf die verschiedenen Organismen, die den See bewohnen, durchzuführen. So wurde ein umfassendes Bild gewonnen, welches keinen Zweifel mehr aufkommen ließ, daß der Grund des katastrophalen Sterbens in unserem Fall wieder die massenhaft entwickelte Chrysonade war. Bevor wir in Einzelnen die Resultate unserer Laboruntersuchungen darlegen, geben wir eine kurze hydrographische Beschreibung der Varna-Seen, was uns unsere weitere Aufgabe erleichtern wird.

Beide Varna-Seen (Abb. 1) liegen im Tal des Flusses Provadia-Devna. Sie sind miteinander durch einen künstlichen Kanal (3,5 km lang, 30 m breit, 2,5 m tief) verbunden; der östliche oder Varna-See steht durch einen künstlichen Kanal (2,5 km lang, 50 m breit, 5 m tief) mit dem Meer in Verbindung. Die beiden Seen sind typische Limanen d. h. sie stellen Teile eines ertrunkenen Flußtales dar.

Der westliche oder Beloslav-See hat eine Länge von 4 km, eine Breite von ungefähr 1 km, eine Fläche von 380 ha, eine maximale Tiefe von 3,5 m und einen Inhalt von ungefähr 8000000 m³. Er erhält durchschnittlich 4 m³/sec. Wasser von seinen Zuflüssen und gibt sein Wasser dann an den Varna-See ab; gleichzeitig kann er von dem zweiten (östlichen) See Salzwasser erhalten, und zwar bei Ostwind. Der Salzgehalt dieses Sees beträgt ca. 1‰.

Der östliche oder der Varna-See hat eine Länge von 14,5 km, eine Breite von 0,8—2,5 km (durchschnittlich 1,2 km), eine Fläche von 1,800 ha, eine mittlere Tiefe von 9 m und maximale Tiefe von 19 m, einen Inhalt von 17000000 m³. Sein Salzgehalt beträgt ca. 12‰ d. h. gleicht zu $\frac{3}{4}$ dem des Meeres (ca. 17‰). Dieser verhältnismäßig hohe Salzgehalt des Varna-Sees beruht auf dem Eindringen bedeutender Mengen Meerwasser in ihn (ca. 12 m³/sec.), und zwar hauptsächlich wieder bei Ostwind. Die beiden Wasserarten vermischen sich im Varna-See nicht vollständig, und infolgedessen entsteht eine scharf ausgeprägte Schichtung seines Wasserkörpers. In ihm können deutlich zwei Schichten abgegrenzt werden: die obere, Sauerstoff enthaltende Schicht mit einem Salzgehalt

von ca. 10‰ und die untere Schicht mit einem Salzgehalt von ca. 14‰ und Schwefelwasserstoff enthaltend. Diese Schichtung ist periodisch; sie beginnt am Ende des Winters und am Anfang des Frühlings, bekommt ihre stärkste Ausprägung im Sommer und dauert bis zum Ende des Herbstes, bis schließlich die starken Nord- und Nordostwinde eine gründliche Durchmischung des Wassers und ein Verschwinden des Schwefelwasserstoffes in den Tiefen des Sees hervorrufen. Im Frühling erscheint zuerst der Schwefelwasserstoff am Boden, dann in der tiefsten Wasserschicht und breitet sich allmählich über das ganze Hypolimnion aus. Bei nicht sehr starken Winden im Sommer wird eine stockwerkartige Durchmischung geschaffen, bei welcher die Grenze des Schwefelwasserstoffes sich um einige Dezimeter oder sogar um einige Meter erhöhen kann (VALKANOV 1936, 1937, 1942).

Aus diesen Darstellungen geht klar hervor, daß der Salzgehalt des Wassers der Varna-Seen sich voll und ganz in den Grenzen hält, welche *P. parvum* ertragen kann, sogar zu für die Art optimalen Werten tendiert.

Die von uns beobachteten Exemplare von *P. parvum* entsprechen ihren Merkmalen nach der Beschreibung, die CARTER (1938) von der Art gegeben hat. Der Körper ist länglich mit ellipsenförmigem Umriß, 10–12 μ lang und 6–8 μ breit (Abb. 2 u. 3). In manchen Proben, welche einige Tage im Laboratorium gestanden haben, veränderte sich die Form des Körpers bis zu einem kugeligen oder stark verlängerten Umriß. Der Kern ist in lebendem Zustand unsichtbar. Im vorderen Ende des Körpers ist eine pulsierende Vakuole erkennbar. Unter den Bedingungen des Beloslav-Sees entleert sich die Vakuole in 70 Sec.; in den sich teilenden Exemplaren (Abb. 2b) pulsieren die Vakuolen der beiden Schwesternindividuen nacheinander in Intervallen von 35 Sec. Die Chromatophoren liegen in Zweizahl vor, und zwar parietal angeordnet. Außer Leucosintropfen im hinteren Teil des Körpers enthält die Art viele stark lichtbrechende Körnchen an der Peripherie angeordnet. Diese Körnchen wurden schon von LIEBERT und DEERNS beobachtet und für die Urheber der giftigen Substanz gehalten. Während der Periode des größten Fischsterbens wurden in einer Menge von Exemplaren von *P. parvum* dunkel-rostbraun gefärbte Leucosintropfen am hinteren Pol des Körpers beobachtet. Die beiden Schwimmgeißeln (Abb. 4 u. 5) gehören zur Kategorie der Flimmergeißeln. Bei der Schwimmbewegung sind die beiden Schwimmgeißeln nach hinten gerichtet, während die Haptonema nach vorn ausgespannt ist und unbeweglich steht. Der Körper ist mit ellipsenförmigen Plättchen von ca. 0,25 μ Länge bedeckt. Sie besitzen eine längliche Verdickung, die in Richtung ihres längeren Durchmessers gelegen ist (Abb. 4 u. 5). Die Zahl der Plättchen ist ziemlich groß (über 400?). Es scheint, daß sie ziegelartig auf der Oberfläche des Körpers angeordnet sind.

Während der stärksten Wasserblüte betrug die Zahl der *P. parvum*-Zellen pro ml wie folgt: Beloslav-See = 110 000/ml (16. 9. 59); Varna-See = 60 000/ml (21. 9. 59) (PETROVA, 1962).

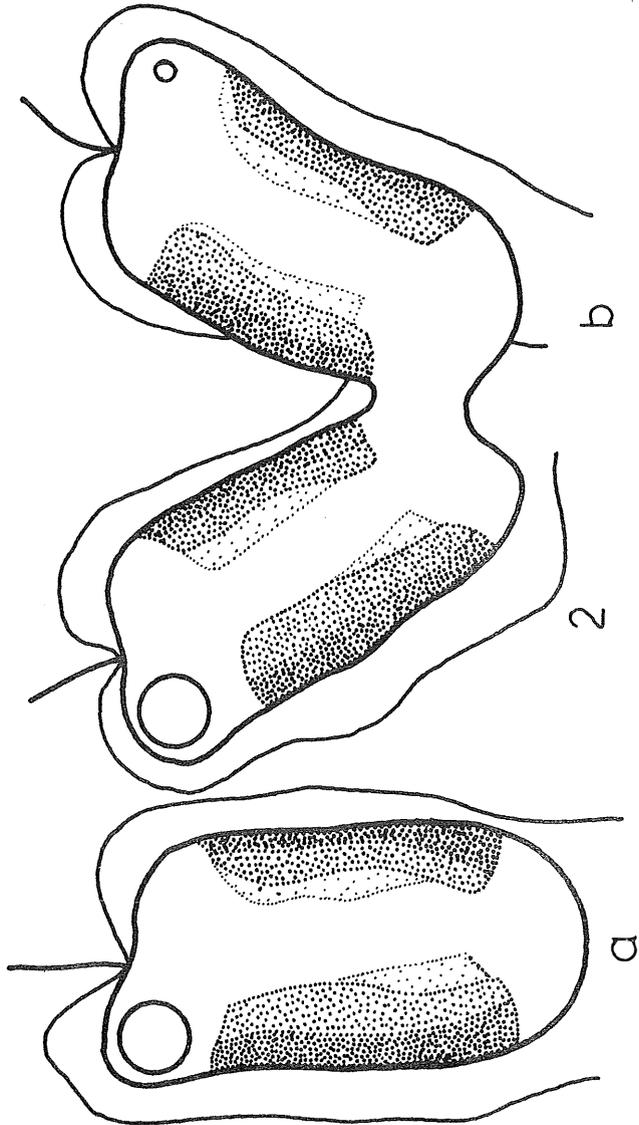
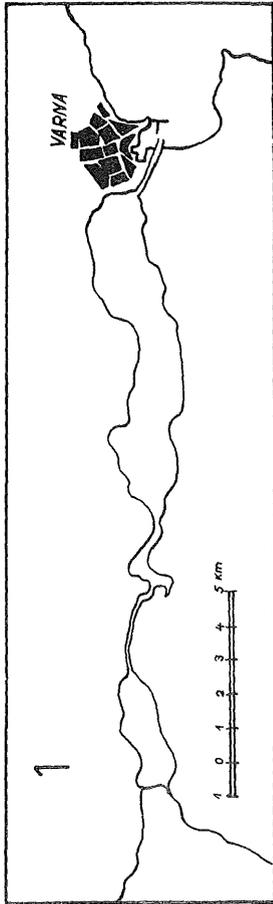
Die massenhafte Entwicklung von *P. parvum* verursachte eine olivgrüne Verfärbung des Wassers, was von einer starken Verminderung der Durchsichtigkeit begleitet wurde: Beloslav-See = von 1 m auf 0,4 m; Varna-See = von 3 m auf 1 m. Gleichzeitig beobachtete man eine Übersättigung des Wassers mit Sauerstoff, an manchen Stationen bis 150%.

Das Fischsterben im Beloslav-See wurde erst am 29. 8. 59 bemerkt. Während der darauffolgenden Tage verstärkte sich das Sterben fast im ganzen See mit Ausnahme des Raumes vor der Mündung des Zuflusses, welcher bei dem starken Regen, der am

Legenden zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 1)

Abb. 1: Die beiden Varna-Seen: links = Beloslav-See, rechts = Varna-See.

Abb. 2: *Prymnesium parvum*. a = Ein normales Exemplar nach dem Leben gezeichnet. b = Ein in Teilung begriffenes Exemplar nach dem Leben gezeichnet. 3 500 \times .



Tafel 1 (zu A. Valkanov)

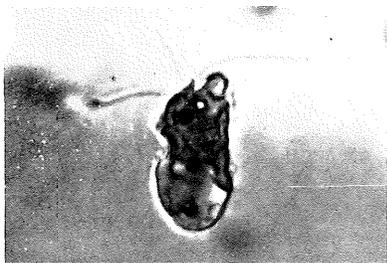


Abb 3



Abb. 4

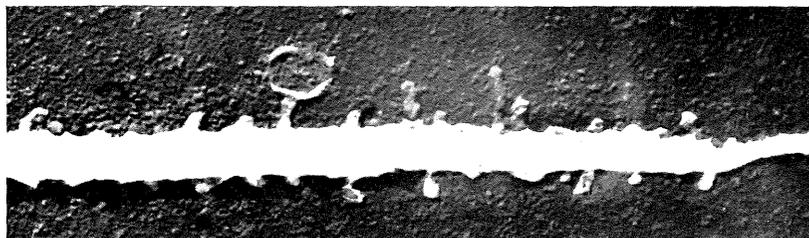


Abb. 5



Abb. 6

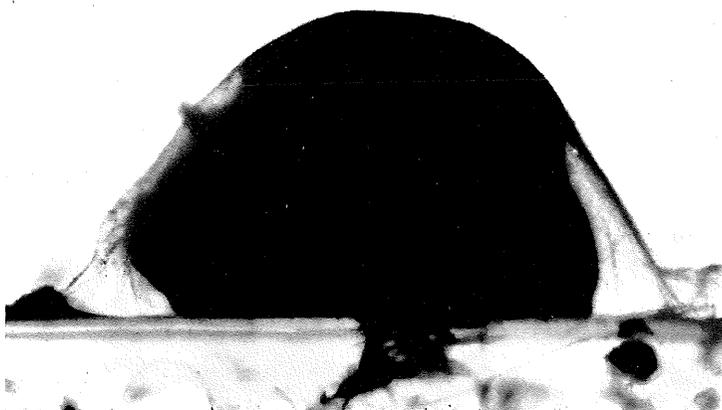


Abb. 7

Tafel 2 (zu A. Valkanow)

31. 8. 59 fiel, eine bedeutende Menge frischen Wassers dem See zuführte. Am 5. 9. 59 war das Fischsterben im Beloslav-See fast beendet; an diesem Tag wurden lebende Fische nur an der Mündung des Zuflusses bemerkt. Dasselbe wurde auch am 13. 9. 59 beobachtet.

Am 5. 9. 59 wurden die ersten toten Fische im Varna-See registriert, und zwar zuerst in seinem östlichen Teil. Zwei Tage später breitete sich das Sterben über den ganzen Varna-See aus.

Das Sterben vernichtet fast den gesamten Fischbestand der Varna-Seen. Nach dem Urteil von Fachleuten sind in diesen wenigen Tagen in beiden Seen ungefähr 300 Tonnen Fische gestorben. Auch die Wirbellose Fauna wurde von dem Sterben betroffen, und das hauptsächlich im Beloslav-See: während dieser Periode starben dort alle Protozoen, Schwämme, Hydrozoen, Plattwürmer, Anneliden, die meisten Crustaceen, alle Weichtiere und Bryozoen. Während der Zeit des Sterbens und auch fast im ganzen September 1959 schwammen auf der Oberfläche des Beloslav-Sees zehntausende tote Exemplare von *Anodonta* und *Unio*.

Die wirbellose Fauna des Varna-Sees wurde ebenso von dem Sterben betroffen und das wiederum besonders in seinem westlichen schmalen Teil, in welchem das Wasser des Beloslav-Sees einfließt und wo die Wasserblüte den Grad erreichte, den wir im Beloslav-See hatten.

Am 13. 10. 59 fand ich die Lebewelt des Beloslav-Sees fast völlig vernichtet vor. Eine Ausnahme machte die kleine Zone um die Zuflußmündung, wo immer noch eine bedeutende Menge *Dreissensia*, Bryozoen, Infusorien u. a. erhalten blieben. Die entnommenen Benthosproben enthielten nur Insektenlarven — eine der wenigen lebend gebliebenen Tiergruppen, die den schlammigen Grund des Sees zu dieser Zeit bewohnten. Im allgemeinen war die Biomasse des Benthos stark gesunken. — Einen nicht weniger traurigen Eindruck machte das Periphyton der Schilfstengel. Deren untergetauchten Teile sind gewöhnlich dicht mit Periphyton bewachsen — vor allem *Dreissensia*, *Plumatella*, *Cordylophora* u. a. Zwischen den *Dreissensien* und den Stolonen der genannten sessilen Tieren wimmelt normalerweise eine reichliche hemisessile und vagile Benthosfauna: Protozoen, verschiedene „Würmer“, Copepoden, Isopoden, Amphipoden u. a. Nach der für den See eingetretenen Katastrophe verschwand auch das Periphyton: die Stengel waren von Periphyton gänzlich entblößt.

Das Zooplankton, das gewöhnlich aus Infusorien, Rotatorien, Cladoceren, Copepoden u. a. zusammengesetzt ist, bestand in diesem Zeitpunkt ausschließlich aus dem Copepoden *Calanipeda aquae dulcis* CRICZ., welcher — wie alle Copepoden (s. u.) — nicht von den Toxinen des *Prymnesium* beeinflusst wird.

Am 26. 10. 59 war *P. parvum* vollständig aus beiden Seen verschwunden. Am 16. 1. 60 fand ich bereits die Biocoenosen des Beloslav-Sees im Anfangsstadium der Restaurierung vor. Im nordöstlichen Teil des Sees, und zwar gerade dort, wo zuerst das Sterben ausgebrochen war, fand ich an einem der geprüften Schilfstengel drei kleine (3—4 mm)

Legenden zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 2)

Abb. 3: *Prymnesium parvum*. Ein mit Alkohol behandeltes Exemplar. Die beiden Schwimmgeißel sind nicht in normaler Lage. Oben rechts die kontraktile Vakuole. 1680 ×.

Abb. 4: *Prymnesium parvum*. Das Vorende der Zelle stark vergrößert. Links vom Körper eine Menge Scheiben. Elektronmikroskopische Aufnahme, 12000 ×.

Abb. 5: *Prymnesium parvum*. — Die Geißelspitze stark vergrößert. Oben neben einer der Geißelflimmer befindet sich eine Scheibe. Elektronmikroskopische Aufnahme, 28000 ×.

Abb. 6: Ein Heliozoon, das ein *Prymnesium*-Exemplar als Nahrung aufgenommen hat. 1000 ×.

Abb. 7: *Cylister viduata*. Ein junges Exemplar, stark zusammengeschrumpft unter dem Einfluß des *Prymnesium*-Toxins und umgeben vom Schleim. ca. 15 ×.

Dreissensien. An verschiedenen Stationen fand ich einzelne Protozoen, Rotatorien und andere Benthostiere und selbstverständlich auch Larven von Chironomiden und anderen Insekten vor.

Im Juli und Oktober 1960 hatte das Zooplankton des Sees wieder seine normale Zusammensetzung entwickelt. Das Periphyton der Schilfstengel war fast normal ausgebildet. Nahezu normal war auch das Benthos des Seebodens entwickelt: es fehlten nur die großen Muschelarten *Anodonta* u. *Unio*.

Die Katastrophe, die den See betroffen hatte, war überwunden: die Biocoenosen waren, wenn auch langsam, wiederhergestellt, soweit die neue Lage — wir denken dabei an die einfließenden Abwässer der inzwischen gebauten chemischen Fabriken — es erlaubte. Die Reserven zur Wiederherstellung der normalen Biocoenosen waren im Mündungsgebiet des Zuflusses erhalten geblieben. Wiederaufgebaut war auch die Fischbevölkerung der Seen; bestimmte Fischarten, z. B. Mugiliden, Gobiiden u. a., waren inzwischen vom Meer erneut eingedrungen. — Natürlich waren die Biocoenosen des Varna-Sees viel schneller restauriert, da dieser auch bedeutend weniger gelitten hatte.

Man kann eine Vorstellung von der Einwirkung des Prymnesiumgiftes auf die gesamte Lebensgemeinschaft eines Wasserkörpers auf Grund folgender Beobachtung gewinnen: in einem Aquarium mit Meerwasser (Inhalt 3 l), welches verschiedene Vertreter der Tier- und Pflanzenwelt des Schwarzen Meeres enthielt (viele Diatomaceen, verschiedene Protozoen, Turbellarien, Rotatorien, Crustaceen und Mollusken), ist nach einiger Zeit *P. parvum* aufgetreten, welches sich schließlich derartig vermehrte, daß der größte Teil der übrigen Organismen ausstarb. Es blieben nur am Leben in der Oberflächenschicht und an den Wänden des Gefäßes 2 Bakterienarten, 2 Algenarten (*Sphaellaria* sp. u. *Navicula* sp.), und eine Copepoden Art (Fam. Harpacticidae). Auf Grund dieser Feststellungen sowie einiger anderer Beobachtungen vermuten wir, daß das von *P. parvum* erzeugte Gift nicht nur auf die Mehrzahl der Wassertiere, sondern auch auf manche Protophyten einwirkt.

Die Entwicklung von *P. parvum* in der Kultur erreichte ihr Maximum im Sommer 1961. Im Herbst verschwand *P. parvum* allmählich aus der Kultur, und in der Kahlhaut erschienen von neuem einige Flagellaten und Infusorien, deren Keime sich offensichtlich in der Kultur befunden hatten oder durch die Luft hineingelangt waren. Im Dezember 1961 übertrug ich in das Kulturgefäß frisches Material aus dem Meer und nach ungefähr 3 Wochen waren in ihr schon verschiedene Vertreter der wirbellosen Meeresfauna reichlich vertreten.

Von uns wurde eine Reihe Laboratoriumsversuche zur Aufklärung des Einflusses des Toxins von *P. parvum* auf die verschiedenen Bewohner der Varna-Seen durchgeführt. Zu diesem Zweck wurde hauptsächlich mit Wasser vom Beloslav-See gearbeitet, welches während der Periode der stärksten Wasserblüte (16. 9. 59) entnommen war und in einem schwach erhellten Raum bei Zimmertemperatur gehalten wurde. Sein pH-Wert betrug ungefähr 8,4. — Für einige Versuche habe ich Wasser vom Varna-See, wie auch solches von der obenerwähnten Kultur verwendet.

Die Versuche wurden mit folgenden fünf Wasserarten durchgeführt:

1. Unverändertes Wasser des Beloslav-Sees Medium I
2. Zentrifugiertes Wasser des Beloslav-Sees Medium II
3. Abgekochtes Wasser des Beloslav-Sees Medium III
4. Unverändertes Wasser des Beloslav-Sees Medium IV
5. Wasser aus der Kultur, Salzgehalt 18⁰/₀₀ Medium V

Ich habe die Versuche in folgenden Zeiten durchgeführt: mit M I, M II, M III und M IV im September und Anfang Oktober 1959; mit M V im Juli 1961.

Es wurde dabei mit verschiedenen Vertretern des Tierreiches, welche die Fauna der Seen repräsentieren, experimentiert. Die Protozoen und einige kleine Metazoen, wie *Hydra*, Rhabdocoelen, Rotatorien u. a., brachten wir auf Objektträger mit Hohl-schliff. Die übrigen wirbellosen Tiere überführten wir in Uhrgläser oder Petrischalen, während die Gambusien und die Froschlarven in kleinen Glasgefäßen untersucht wurden.

Im folgenden Text werden wir die unten angegebenen Abkürzungen gebrauchen:

nVB bedeutet: nach Versuchsbeginn

VT bedeutet: Versuchstier oder Versuchstiere.

Auszüge aus den Protokollen

I. Protozoa

A. Rhizopoda

1. *Amoeba* sp. — M V — 30' nVB waren alle VT tot.
2. *Diffflugia gramen* PEN. — M II — Schon am Anfang des Versuches ziehen die VT ihre Pseudopodien ein und geben keinerlei sichtbares Lebenszeichen mehr von sich. — 2^h nVB wurde konstatiert, daß sie tot sind.
3. *Diffflugia corona* WALLICH. — M II — Die Resultate sind denen des vorhergehendes Versuches analog.

B. Flagellata

4. *Oxyrrhis marina* DUJARDIN. — M V — 1^h nVB sind alle Exemplare tot.
5. *Noctiluca miliaris* SURIRAY. — M V — 2' nVB beginnen nekrotische Veränderungen im Cytoplasma. — 6' nVB: die nekrotischen Veränderungen gehen weiter, die Bewegung der Tentakel fast aller Exemplare steht still. — 10' nVB alle VT sind tot.

C. Infusoria

6. *Stylonychia mytilus* (O. F. M.). — M II — 30'' nVB beginnen die VT sich rückwärts zu bewegen (Phobotaxis), was noch 0,5—2' bei allmählicher Verringerung der Bewegungsgeschwindigkeit fort dauert. Dann hören sie vollständig auf sich zu bewegen. — 3'—4' nVB fängt „körniger Zerfall“ des Körpers der VT an. — 5' nVB sind alle VT tot.
7. *Stentor roeseli* EHR. — M II — 1' nVB fangen die VT sich rückwärts zu bewegen an, parallel damit tritt Verlangsamung des Rhythmus der Wimperschläge auf. — 2' nVB beginnt der Körper der VT sich zusammenzuziehen. — 4'—5' nVB hören die Wimpern, die die Körperoberfläche bedecken, auf zu schlagen, aber die Infundibularwimpern schlagen noch weiter. — 6' nVB sind die VT unbeweglich (tot?). — 9' nVB beginnt ihr Körper zu zerfallen.
8. *Trichodina steinii* CL. et L. (Parasit auf *Planaria polychroa*). — M II — Sobald der Wirt in das giftige Wasser gebracht wird, beginnen die auf der Oberfläche der Planarien kriechenden VT sich schneller zu bewegen. — 2'—10' nVB fallen die VT vom Wirt ab. — 5'—25' nVB sterben die VT.

NB! Es ist zu bemerken, daß die Phobotaxis bei *Stylonychia* und *Stentor* sich in ununterbrochener Rückwärtsbewegungen bis zum vollständigen Stillstand der Bewegungen der VT ausdrückt, während bei den Versuchen von JENNINGS die phobotaktischen sich mit topotaktischen Bewegungen ablösen — jedoch mit gewisser Abweichung seitwärts, um den schädlichen Reiz auszuweichen. Bei den VT wirkt die Phobotaxis ununterbrochen bis zum Stillstand jeglicher Bewegungen. Dieser Unterschied muß dem Umstand zugeschrieben werden, daß bei den Versuchen von JENNINGS der schädliche Reiz nur den vorderen Teil der VT berührte und auch nur für einen Augenblick, während

in unserem Falle der schädliche Reiz ununterbrochen auf die ganze Oberfläche der VT wirkte.

NB! Wir haben mehrmals beobachtet, daß in nicht zu stark giftigem Wasser manche Protozoen die *Prymnesium*-Zellen als Nahrung aufnehmen (Abb. 6). Daraus ist zu schließen, daß nicht die *Prymnesium*-Zellen selbst, sondern gewisse von ihnen in das Wasser ausgeschiedene Substanzen giftig sind.

II. Cnidaria

9. *Chlorohydra viridissima* (PALLAS). — M II — Sofort nach Überführung der VT in das giftige Wasser zieht sich ihr Körper zusammen. — 3' nVB bleibt der Körper der VT weiterhin kontrahiert, ohne Zeichen einer Streckung zu erkennen zu geben. — 5' nVB beginnt die Oberfläche des Körpers ihr glattes Aussehen zu verlieren; einige Penetranten sind explodiert, ohne mit einem festen Gegenstand in Berührung gekommen zu sein. — 10' nVB zahlreiche Ektodermzellen sind infolge Bildung von großen Vakuolen angeschwollen. Das Hypostom öffnet sich stark. — 15' nVB ist das Hypostom weit geöffnet und sogar umgestülpt; viele Entodermzellen sind nun stark angeschwollen. — 20' nVB hat das Ento- und Ektoderm pathologisches Aussehen. Manche der Drüsenzellen des Entoderms, wie auch die Interstitial- und die Nesselzellen des Ektoderms, sind aus dem Gewebeverband herausgepreßt worden. Obwohl die Epithelmuskelzellen der beiden Schichten noch stärker ausgeprägtes pathologisches Aussehen angenommen haben, sind doch die beiden Schichten als gewebliches „Ganzes“ noch erhalten. Die Destruktionsprozesse haben das Körperstielchen etwas schwächer berührt. — 30' nVB reagieren die VT nicht mehr auf Reize; offensichtlich sind sie tot.

10. *Cordylophora lacustris* ALLMANN. — M I — 30' nVB waren die VT tot.

11. *Cyliste viduata* WRIGHT. — M V — 10' nVB sind die VT vollständig zusammengeschrumpft; einige Akontien sind herausgeschleudert und mit herausgepreßten Zellen bedeckt. — 25' nVB ist der Körper mit Schleim bedeckt, der vom Ektoderm abgesondert ist (Abb. 7) und viele abgestoßene Nematocyten und Drüsenzellen enthält (Abb. 8). — 48^h nVB werden die VT in reines Meerwasser übertragen; sie beginnen sich auszu dehnen und zu verlängern; 1—2 Stunden später haben die VT normales Aussehen — die Schleimhülle ist weggefallen. — Der Versuch war dreimal wiederholt worden mit einunddemselben VT mit gleichem Resultat.

III. Turbellaria

12. *Stenostomum leucops* (D. DUG.). — M II — 1' nVB ist die Vorwärtsbewegung verlangsamt. — 2' nVB hört die Kriechbewegung vollständig auf; der Körper ist stark kontrahiert, gibt aber weiter Lebenszeichen. Die Oberfläche des vorderen Körperabschnitts ist relativ rauh. — 7' nVB wird jede Bewegungsreaktion eingestellt; vom vorderen und hinteren Teil des Körpers sondern sich Epithelzellen ab. — 15' nVB ist sowohl im vorderen als auch im hinteren Teil des Körpers das Epithel vollständig in einzelne Zellen zerfallen. Die VT geben keine Lebenszeichen mehr von sich. — 30' nVB

Legenden zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 3)

Abb. 8: *Cyliste viduata*. Das mikroskopische Bild des Schleimes. Unter den vielen degenerierten Zellen sind mehrere Kniden zu sehen. ca. 800 ×.

Abb. 9: *Vortex armyger*. Ein mit *Prymnesium*-Wasser behandeltes (10') Exemplar. Das Epithel ist vollkommen lysiert. ca. 160 ×.

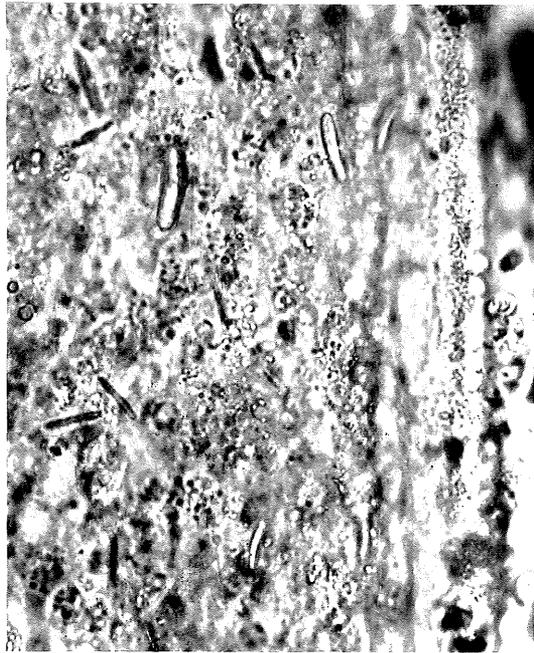


Abb. 8

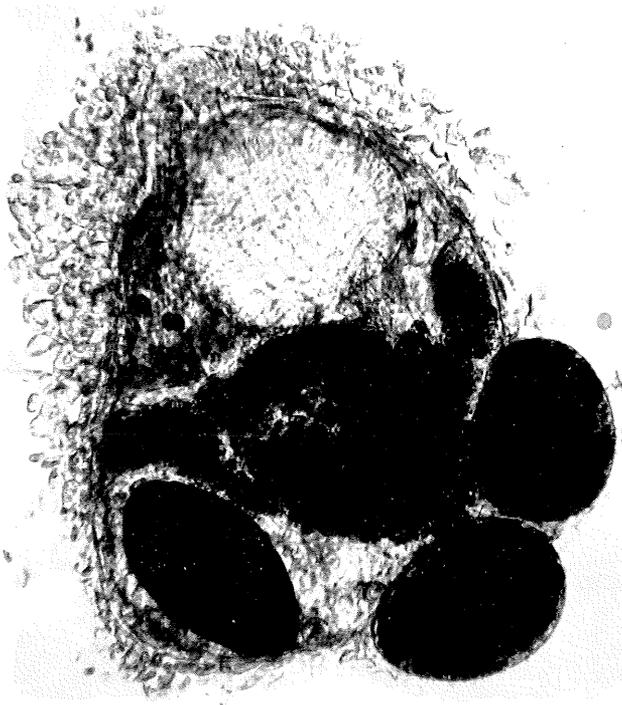


Abb. 9

Tafel 3 (zu A. Valkanov)



Abb. 10



Abb. 11

Tafel 4 (zu A. Valkanov)

ist im mittleren Teil des Körpers das Epithel immer noch erhalten, und die Wimpern fahren fort zu schlagen, wenn auch in verlangsamtem Tempo, ohne daß die Tiere als Ganzes weiterhin irgendwelche Lebenszeichen von sich geben.

13. *Vortex armyger* O. SCHM. — 1' nVB ist der Körper der VT verkürzt, ihre Vorwärtsbewegung ist eingestellt. Der Pharynx beginnt sich aus dem Munde nach außen zu stülpen. — 2' nVB sind die VT unbeweglich; es werden keine koordinierten Wimperbewegungen beobachtet. Allmählich tritt ein Lysieren des Körperepithels ein. — 15' nVB ist das gesamte Epithel in einzelne Zellen zerfallen, die VT sind tot (Abb. 9).

14. *Macrostomum* sp. I. — M IV — 15' nVB bewegen sich die VT nicht mehr, der Körper vollzieht plötzlich Kontraktionen; am vorderen Pol des Körpers zerfällt das Epithel in einzelne Zellen. — 30' nVB sind die VT vollständig unbeweglich, ohne Lebenszeichen zu geben. Das Epithel des größten Teiles des Körpers ist zerfallen.

15. *Macrostomum* sp. II. — M V — Die Resultate sind denen des vorherigen Versuches analog.

16. *Mesostomum* sp. — M I — 5' nVB zeigt das Epithel der VT die ersten Zeichen von Nekrose. — 10' nVB beginnt das Epithel in einzelne Zellen zu zerfallen. — 20' nVB sind die VT tot.

17. *Planaria polychroa* O. SAHM. — M I — 1' nVB stellen die VT das Kriechen auf dem Boden der Glasschale ein, der Körper hat sich zusammengezogen und vollzieht unregelmäßige und unrhythmische Kontraktionen. — 2' nVB sind die Epithelzellen angeschwollen, was der Körperoberfläche ein rauhes Aussehen gibt; es beginnen sich einzelne Zellen abzulösen. — 10' nVB ist das gesamte Epithel des Körpers in einzelne Zellen zerfallen (Abb. 10); die konvulsivischen Bewegungen des Körpers halten an. — 20' nVB sind die VT tot.

18. *Dendrocoelum lacteum* MÜLLER. — M II — Die Resultate sind denen des vorhergehenden Versuches analog.

19. *Polycelis tenuis* IJIMA. — M I — Die Resultate sind denen der vorhergehenden Versuchen analog.

20. *Leptoplana tremellaris* OERST. — M V — 10' nVB sind die VT ziemlich unruhig. — 30' nVB verharren sie unbeweglich auf dem Boden der Schale; das Körperepithel ist bereits zur Hälfte zerfallen. — 45' nVB sind die VT tot.

IV. Nemertini

21. *Prostoma graecense* (BÖHMIG). — M I — 2' nVB ist der Körper stark kontrahiert und zu einem Knäuel zusammengerollt; eine bedeutende Menge Schleim wird vom Epithel abgesondert, welcher bald den ganzen Körper umhüllt. — 5' nVB hat der Schleim eine feste Kapsel um den zusammengerollten Körper gebildet; das VT führt konvulsivische Bewegungen in dieser Kapsel aus, ohne sie zu verlassen. — 24^h nVB ist das VT weiterhin in der Schleimkapsel eingeschlossen und führt konvulsivische Bewegungen wie am Anfang des Versuches aus; es reagiert auf Druck mit einem festen

Legenden zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 4)

Abb. 10: *Planaria polychroa*. Das Körperepithel eines mit *Prymnesium*-Wasser behandeltes (10') Exemplars ist vollkommen lysiert. ca. 200 ×.

Abb. 11: *Stylaria lacustris*. Mittlerer Körperabschnitt eines mit *Prymnesium*-Wasser behandeltes Exemplar (15'). 100 ×.

Gegenstand. — Schließlich zerstörte ich die Kapsel, so daß das giftige Wasser in sie eindringen konnte; 20' später war das VT tot.

V. Nematodes

22. *G. sp. I.* — M I, M II, M III, M IV, M V — Die VT werden nicht von den Toxinen des *Prymnesium* beeinflusst.

23. *G. sp. II.* — M II — Die VT werden nicht von den Toxinen des *Prymnesium* beeinflusst.

VI. Rotatoria

24. *Euchlanis dilatata* EHR. — M I — 5' nVB sind die Bewegungen der VT verlangsamt. Der Trochus ist zusammengeschrumpft aber der Mastax bewegt sich weiter normal. — 4^h nVB ist der Trochus vollständig eingezogen, der Fuß führt leichte konvulsivische Bewegungen aus. — 10^h nVB sind die Tiere tot.

25. *Lecane sp.* — M I — 3^h nVB verharren die VT unbeweglich; der Trochus ist zusammengeschrumpft; die vordere Öffnung des Panzers ist geschlossen; von Zeit zu Zeit stülpt sich der Trochus heraus und zieht sich dann schnell zusammen. — 10^h nVB sind die VT tot.

26. *Synchaeta sp.* — M I — Die Ergebnisse entsprechen denen der vorhergehenden Versuche.

27. *Squatinella tridentata* FRESENIUS. — Die Ergebnisse entsprechen denen des obigen Versuches.

28. *Cephalodella gibba* EHR. — M I — Die Ergebnisse entsprechen denen des obigen Versuches.

VII. Oligochaeta

29. *Stylaria lacustris* L. — M II — 6' nVB führen die VT sehr heftige konvulsivische Bewegungen aus, ohne sich vorwärtszubewegen; die Kutikula ist vom Körper abgehoben und bildet Blasen. — 15' nVB sind die Bewegungen der VT verlangsamt. Die von der Kutikula gebildeten Blasen sind besonders groß in der hinteren Hälfte des Körpers; die Flüssigkeit, welche sie erfüllt, enthält isolierte Epithelzellen (Abb. 11). — 25' nVB sind die VT tot und stark deformiert; das Epithel ist vollständig in einzelnen Zellen zerfallen.

30. *Tubifex tubifex* MÜLL. — M I — 5' nVB führen die VT Konvulsionen aus, ohne sich vorwärts zu bewegen; die Kutikula zusammen mit dem Epithel trennt sich von den übrigen Geweben des Körpers. — 15' nVB ist das Epithel in einzelnen Zellen zerfallen, die in der Flüssigkeit zwischen der Kutikula und dem Muskelschlauch schwimmen. Die Bewegungen der VT werden immer langsamer. — 25' nVB weisen die isolierten Epithelzellen deutliche Merkmale einer Degeneration auf. Die Körpermuskulatur beginnt sich zu desorganisieren und in einzelne Zellen zu zerfallen (Abb. 12 u. 13). — 40' nVB zeigen die VT sehr langsame Bewegungen; am Hinterende setzt Zerfall ein. Der Raum zwischen Kutikula und Darm ist mit „Zellbrei“ angefüllt, der aus Epithel- und Muskelzellen besteht. Der Verdauungstrakt und die Hauptblutgefäße scheinen von der Zerstörung nicht berührt zu sein. — 60' nVB sind die VT tot. Ihr hinteres Ende erscheint wie zerschnitten; durch die Risse der Kutikula läuft ein Teil des Zellbreies aus.

31. *Eiseniella sp.* — M II — Die VT verlangsamen allmählich ihre Bewegungen und nach ungefähr 30' werden sie vollständig bewegungslos. Die anatomischen und histologischen Veränderungen konnten im gegebenen Fall nicht unter dem Mikroskop ver-

folgt werden, aber bei den VT, die 3^h im giftigen Wasser zugebracht hatten, wurde festgestellt, daß nun ein bedeutender Teil der Gewebe vollständig lysiert ist. Beim Anstechen ihres Körpers läuft aus den Stichöffnungen eine breiartige Masse heraus, die aus einzelnen Epithel- und Muskelzellen besteht.

VIII. Polychaeta

32. *Nerilla antennata* SCHM. — M V — 30' nVB liegen die VT fast unbeweglich auf dem Boden der Glasschale. Das Körperepithel ist fast gänzlich lysiert.

33. *Fabricia sabella* EHR. — 30' nVB beginnt das Epithel der Tentakel zu zerfallen. — 1^h nVB sind die Tentakel fast völlig zerfallen — unbeschädigt blieben nur die Blutgefäße (Abb. 14).

IX. Hirudinea

34. *Glossosiphonia* sp. — M I — 15' nVB erweisen sich die VT, ungefähr 50 an der Zahl, als ziemlich unruhig; sie bewegen sich ununterbrochen an der Peripherie der Glasschale. — 2^h nVB liegen die VT unbeweglich auf dem Boden. — 4^h nVB sind alle VT tot. Die Kutikula ist vom Körper abgehoben; es haben sich auf diese Weise große Blasen gebildet, die mit Flüssigkeit angefüllt sind. In der Flüssigkeit schwimmen einzelne Epithelzellen.

Es ist zu bemerken, daß die Embryonen 24^h im giftigen Wasser verbracht haben, ohne Schaden zu nehmen. Solche Embryonen jedoch, die gerade die Eikapsel verlassen hatten, erliegen hingegen sehr schnell dem giftigen Einfluß des *Prymnesium*-Wassers: 10—20' nach dem Ausschlüpfen sind sie schon tot (Abb. 15). Offensichtlich ist die Eikapsel dieser Blutegel impermeabel für die Toxine von *Prymnesium*.

35. *Herpobdella octoculata* L. — Schon am Anfang des Versuches hören die VT auf, sich mit ihren Saugnäpfen an den Wänden des Gefäßes anzusaugen. — 15' nVB liegen die VT frei, unbeweglich am Boden, umgeben von Schleim. — 90' nVB sind die VT tot; die vom Körper abgelöste Kutikula bildet Blasen, welche mit einer breiartigen Masse aus isolierten Zellen angefüllt sind.

X. Cladocera

36. *Simocephalus vetulus* O. F. M. — M I — Die ersten 2—3^h verhalten sich die VT normal. — 24^h nVB sind ungefähr 50% der VT tot. — 40^h nVB sind nahezu alle VT tot.

40^h nVB schwimmen im Wasser des Versuchsgefäßes einige eben ausgeschlüpfte junge Exemplare; sie sind noch nicht von den *Prymnesium*-Toxinen betroffen. Offensichtlich ist auch hier die Eihülle impermeabel für das *Prymnesium*-Gift.

Die ins giftige Wasser gebrachten *Simocephalus*-Exemplare verhalten sich anfangs völlig normal. Nach 2—3^h bemerkt man eine gewisse Verlangsamung im Rhythmus der Bewegungen ihrer Gliedmaßen; die Herztätigkeit ist ebenfalls verlangsamt: von ungefähr 300 Schlägen/min. vor dem Versuch fällt die Schlagfolge allmählich auf 200, 150, 100 usw. ab und erreicht 24^h nVB ungefähr 50/min. um nach 30—40^h gänzlich aufzuhören.

Analoge Resultate wurden mit folgenden Cladoceren erreicht:

37. *Ceriodaphnia pulchella* Sars

38. *Alona rectangularis* Sars

39. *Chydorus sphaericus* O. F. M.

XI. Copepoda

40. *Cyclops* sp. — M I — 24^h, 48^h u. 72^h nVB verhalten sich die VT völlig normal im Vergleich zu den Kontrolltieren. Weder wurde ein totes Exemplar beobachtet, noch wurden irgendwelche Anzeichen von Ermattung festgestellt.

Analoge Resultate wurden mit

41. *Calanipeda aquae dulcis* CRIČ. (M I) erreicht.

XII. Amphipoda

42. *Gammarus* sp. — M I — 2^h nVB verhalten sich die VT normal. — 10^h nVB ihre Bewegungen verlangsamt. — 36^h nVB sind die VT tot.

Analoge Resultate wurden mit folgenden Arten erreicht:

43. *Orchestia bottae* M. EDW.

44. *Corophium volutator* (PALL.)

45. *Caprella acanthifera* LEACH.

XIII. Isopoda

46. *Asellus aquaticus* (L.). — M I — Die Resultate sind denen des Amphipoden-Versuches analog.

XIV. Insecta

47. Chironomiden-Larven. — M I — 72^h nVB sind die VT vollständig munter. — Analoge Resultate wurden mit den Larven folgender Insektenarten erreicht:

48. *Cloëon dipterum* L.

49. *Aeschna* sp.

50. *Agrion* sp.

XV. Gastropoda

51. *Planorbis crista* L. — M II — 7' nVB halten die VT ihre Kriechbewegungen aufrecht. Eine große Zahl von Epithelzellen des Fußes und des Mantelrandes werden abgestoßen. — 15' nVB haben sich die VT in ihre Schale zurückgezogen, sind aber noch lebend. — 1^h nVB ist der Tod aller VT eingetreten.

52. *Rissoa* sp. — 2^h nVB sind die VT tot.

XVI. Pisces

53. *Gambusia affinis* G. — M I — 10' nVB sind die VT ziemlich unruhig; die Atmung ist erschwert, der Mund wird stark geöffnet, ohne daß das Tempo des Wasserschluckens beschleunigt wird. — 15—20' nVB zeigen die VT beginnende Gleichgewichtsstörungen: sie neigen sich langsam und leicht auf eine Seite, danach kehren sie mit schnellen Bewegungen in die normale Lage zurück, um sich aber sofort danach erneut auf die Seite zu neigen. — 30—40' nVB ist die Atmung sehr verlangsamt; der Körper der VT führt konvulsivische Zuckungen aus. — 50' nVB liegen die VT unbeweglich auf dem Boden des Glasgefäßes, von Zeit zu Zeit nehmen sie Wasser in die Mundhöhle und führen hin und wieder konvulsivische Zuckungen aus. — 70'—80' nVB sind die VT tot.

Versuch II. — M II — Die VT sterben nach ungefähr 90'.

Versuch III. — M III — Die VT lebten 4 Tage in dem Medium, ohne Anzeichen von Vergiftungen aufzuweisen.

Versuch IV. — M II — In ein Gefäß von 30 ccm setzte ich nacheinander drei kleine Gambusien von 14 mm Länge. Das erste VT starb nach 85', das zweite nach 105', während das dritte VT nach den gleichen Anzeichen von Erstickung und Gleichgewichtsverlust, die aber mit bedeutender Verspätung auftraten als beim zweiten VT, nach 150' sich allmählich zu erholen begann. Nach ungefähr 4 Stunden hatte das dritte VT völlig normales Aussehen und Verhalten und blieb in diesem Zustand bis zum Ende des Versuches (drei Tage). — Offensichtlich wurde das Toxin in diesem Falle auf irgend eine Art aus dem Wasser entfernt — am wahrscheinlichsten wurde es von der großen Menge Schleim aufgenommen, welchen die VT selbst absonderten, und zwar von ihrer gesamten Körperoberfläche, vor allem aber von den Atemwegen.

54. *Mugil auratus* RISS. — Während des größten Teils des Jahres lebt diese stark euryhaline Art in den beiden Varna-Seen. Für die Versuche wählten wir Exemplare von ungefähr 18 cm Länge und benutzten Glasgefäße mit einem Inhalt von ca. 3 l.

Versuch I. — M I — 7—15' nVB sterben die VT.

Versuch II. — M I — Das giftige Wasser wurde durch ein Bakterienfilter filtriert. Die VT bringen bis zu 5 Tagen darin zu, ohne Anzeichen einer Beeinflussung erkennen zu lassen.

Versuch III. — Reines Meerwasser, das bis zum Salzgehalt des Wassers aus dem Beloslav-See verdünnt war. Die VT verhalten sich in diesem Milieu normal. — Wenn dem Wasser des Versuchesgefäßes der Satz des Bakterienfilters zugesetzt wird, so sterben die VT nach 20—32'.

Versuch IV. — Das Versuchswasser (M I) wurde abgekocht 10' lang bei 100° C, danach abgekühlt und mit Sauerstoff gesättigt. Die VT lebten normal einige Tage lang bis zum Ende des Versuches.

Versuch V. — M I + 20% Meerwasser — die VT sterben nach 26'

Versuch VI. — M I + 40% Meerwasser — die VT sterben nach 45'

Versuch VII. — M I + 60% Meerwasser — die VT sterben nach 85'

Versuch VIII. — M I + 80% Meerwasser — die VT sterben nach 96'

Versuch IX. — M I + 85% Meerwasser — die VT sterben nach 400'

Versuch X. — M I + 90% Meerwasser — die VT leben einige Tage in dem Medium ohne Anzeichen einer Beeinflussung.

Versuch XI. — M IV — Die VT sterben nach 20'

Versuch XII. — M IV — Die VT bleiben nur 3' im Medium und werden danach in verdünntes ungiftiges Meerwasser übertragen; sie sterben nach 160'

55. *Atherina mochon pontica* EICHW. — Ausgesprochen euryhalin.

Versuch I. — M IV — Die VT sterben nach 23'

Versuch II. — M IV — Die VT bleiben 20' im Medium und werden dann in reines Wasser übertragen; sie sterben schon nach 20'

Versuch III. — M IV — Die VT bleiben 15' im Medium und werden dann in reines Meerwasser übertragen; sie sterben nach 70'.

Versuch IV. — M IV — Die VT bleiben 10' im Medium und werden dann in reines Meerwasser übertragen; sie bleiben bis zum Ende des Versuches (drei Tage) am Leben¹⁾.

Bei allen Exemplaren von *Gambusia*, die ich in das giftige Wasser setzte (M I, M II, M IV), wurde eine Verlangsamung des Herzschlages festgestellt, was an der Bewegung des Blutes in den Kapillaren der Flossen beobachtet werden kann. Die Geschwindigkeit der Blutbewegung in denselben nimmt allmählich bis zum völligen Stillstand der Blutzirkulation ab. Es ist zu bemerken, daß die Verlangsamung der Blutzirkulation sich

¹⁾ Den Versuchen mit *Mugil auratus* und *Atherina mochon pontica* wurde besondere Beachtung geschenkt und die Ergebnisse in einer gesonderten Arbeit publiziert (P. KOLAROV 1962).

zuerst in den distalsten Teilen des Körpers bemerkbar macht, also zuerst in der Schwanzflosse und erst danach in den Bauch- und zuletzt in den Brustflossen. Diese Feststellungen zeigen, daß unter dem Einfluß des Toxins das Herz angegriffen wird. Der Einfluß im gegebenen Fall erfolgt wahrscheinlich auf dem Weg über das Nervensystem.

LIEBERT u. DEERNS nehmen an, daß der schädliche Einfluß „der Chryomonadine aus Workum“ auf die Fische sich vor allem durch Hämolyse ausdrückt. Das gab mir Anlaß, zu prüfen, welche Einwirkung des toxischen Wassers auf das Blut der VT eintritt. Trotz sorgfältigsten Suchen konnte ich keine Spur von Hämolyse an den geschädigten oder gestorbenen Gambusien entdecken.

XVII. Amphibia

56. Larven von *Rana ridibunda* PALL. (3 cm lang mit schon entwickelten Hinterbeinen). — Im M I, in welchem die Gambusien in 80—90' sterben, lebten die Larven viele Tage lang ohne Anzeichen von irgendwelcher Störung zu bekunden. Es wurde folgender zusätzlicher Versuch gemacht: in 0,5 l/M I setzte ich 2 Gambusien und 2 Froschlarven. Die Fische starben nach ungefähr 90', während die Froschlarven am Leben blieben. Nach 2 Tagen setzte ich 2 neue Gambusien ein, welche in der gleichen Frist (ungefähr 100') starben, während die Froschlarven wieder ungeschädigt und am Leben blieben. Dieser Versuch wurde nach 2 Tagen zum drittenmal durchgeführt und endete mit demselben Resultat. Im gleichen Wasser lebten die Froschlarven noch einige Wochen, während welcher Zeit sie einige Stadien ihrer Metamorphose durchliefen, ohne irgendwelche Vergiftungssymptome zu zeigen.

Über den Grad der Giftigkeit der von *Prymnesium* erzeugten Toxine kann man sich durch folgenden Versuch überzeugen: die minimale tödliche Cyankalimenge beträgt für die Fische 0,25 mg/l. In einer derartigen Lösung sterben die Fische innerhalb von einiger Stunden, sollten sie aber so schnell absterben, wie dies im *Prymnesium*-Wasser der Fall gewesen ist, d. h. innerhalb von 7—15 min., so müßte man die minimale tödliche Cyankalimenge um das dreihundertfache vergrößern, also 70 mg KCN auf einen Liter Wasser geben!

Aus den von uns sowie von OTTERSTROM u. STEEMANN-NIELSEN durchgeführten Versuchen können wir folgende Schlußfolgerungen ziehen:

In Beziehung auf ihr Verhalten gegenüber dem Toxin von *Prymnesium* können wir die Tiere in drei Kategorien einteilen.

I. Stark empfindliche: Protozoa, Cnidaria, Turbellaria, Oligochaeta, Hirudinea, Polychaeta, Mollusca, Pisces. Sie sterben im giftigen Wasser im Laufe von einigen Minuten bis zu 1—2 Stunden.

II. Weniger Empfindliche: Rotatoria, Cladocera, Amphipoda, Isopoda, Dekapoda. Sie sterben im Laufe von 5—10 Stunden oder höchstens 1—2 Tage.

III. Unempfindliche: Nematodes, Copepoda, Insecta.

Legenden zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 5)

Abb. 12: *Tubifex tubifex*. Mittlerer Körperabschnitt eines mit *Prymnesium*-Wasser behandeltes (40') Exemplar. ca. 90 ×.

Abb. 13: *Tubifex tubifex*. Dasselbe Objekt wie in Fig. 12, jedoch nach längerer Behandlung (60') mit *Prymnesium*-Wasser. ca. 50 ×.

Abb. 14: *Fabricia sabella*. Der Kopf eines mit *Prymnesium*-Wasser behandeltes (15') Exemplar. Das Epithel der Tentakel ist gänzlich lysiert. ca. 200 ×.

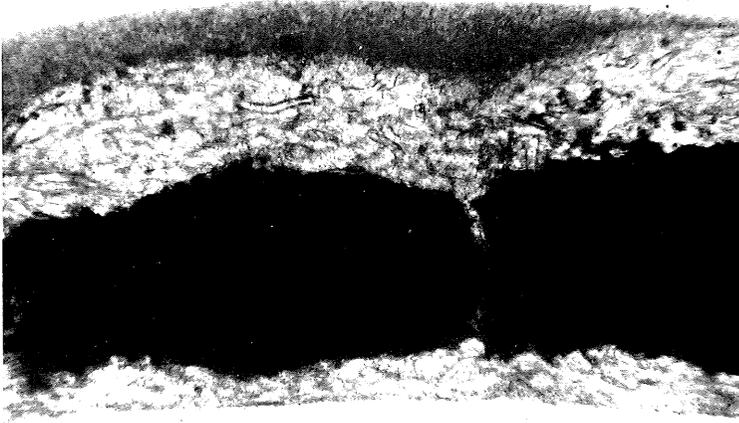


Abb. 12



Abb. 13

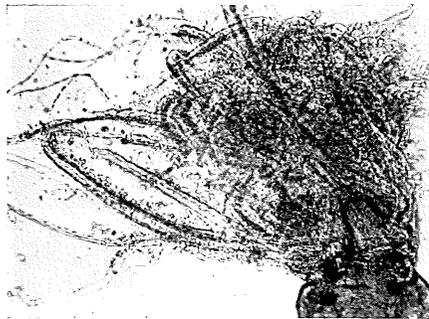


Abb. 14

Tafel 5 (zu A. Valkanov)



Abb. 15

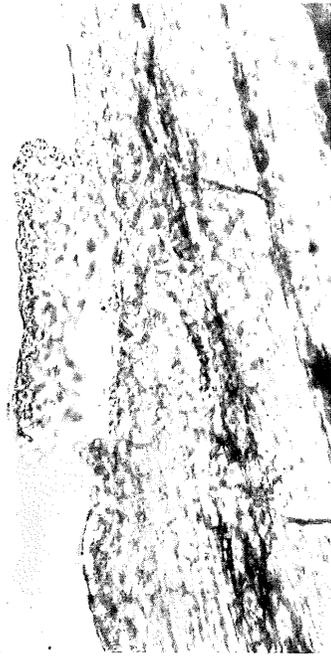


Abb. 16

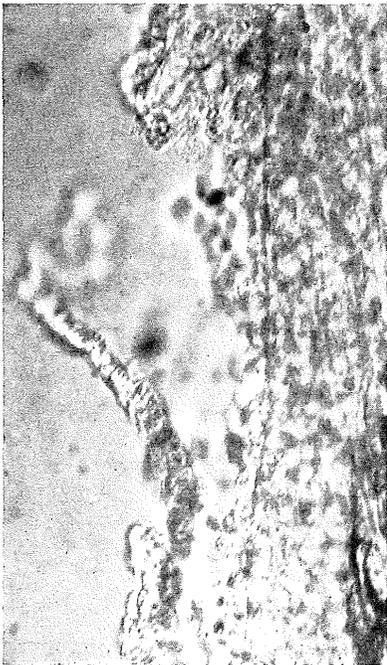


Abb. 17

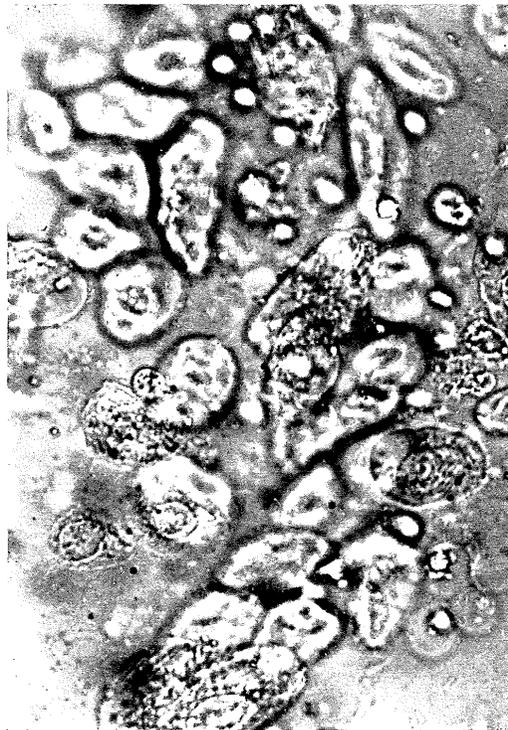


Abb. 18

Tafel 6 (zu A. Valkanov)

Die verschiedene Empfindlichkeit der Vertreter der aufgezählten Gruppen von Tieren wird unserer Meinung nach von der Eigenart ihrer Körperhülle bestimmt. Am empfindlichsten sind die Protozoen sowie auch solche Metazoen, deren Körper mit lebendem Epithel bedeckt ist, nämlich: Cnidaria, Turbellaria, Pisces. Ihr Epithel zerfällt in kurzer Zeit in einzelnen Zellen, die sich sofort vom Körper ablösen. — Die Anneliden sind ebenso empfindlich, aber da ihr Epithel mit einer dünnen Kutikula bedeckt ist, reagieren sie etwas langsamer als die Hydrozoen und Turbellarien. Andererseits treten aber bei ihnen sehr tiefgreifende histologische Veränderungen auf: im Laufe einer Stunde lysieren mehr als 50% ihrer Gewebe (Epithel, Muskelschlauch, Coelothel, Nephridien u. a., ausschließlich Darm und Blutgefäße) vollständig und verwandeln sich in eine aus einzelnen Zellen bestehende breiartige Masse. Schließlich wird der Körper der durch das Toxin von *Prymnesium* zum Exitus gekommenen Anneliden zu einem Schlauch, der mit dem erwähnten Zellbrei erfüllt ist (Abb. 13, 16—18).

Der Körper der Vertreter der II. und III. Kategorie von Tieren ist ausnahmslos mit einer Kutikula bedeckt. Während aber diese Kutikula bei den Vertretern der II. Kategorie doch für das *Prymnesium*-Toxin bedingt durchlässig ist, scheint sie bei den Vertretern der III. Kategorie vollständig impermeabel für dasselbe zu sein. Offensichtlich ist im gegebenen Fall die Kutikula der Tracheenkiemen der Ephemeropteren u. a. durchlässig für Gase (O_2 , CO_2), aber undurchlässig für das Toxin. Dasselbe muß demnach auch von der Kutikularhülle der Eier der Blutegel und Cladoceren gesagt werden.

Ganz abweichend sind die Verhältnisse bei den Aktinien und Nemertinen, deren Körper mit lebendem Epithel bedeckt ist und die demnach zur ersten Kategorie von Tieren gezählt werden müßten. Dank ihrer Fähigkeiten aber, große Mengen von Sekret abzusondern, welches sie vor dem Toxin schützt, bleiben sie faktisch unangreifbar. Interessant ist die Tatsache, daß sie, in diesem Sekret eingehüllt, ihr Leben aufrechterhalten und weiter auf Reize reagieren, was besagt, daß die physiologischen Funktionen weiter normal ablaufen. Demgemäß besitzt dieser eigenartige „Schleimpanzer“ einige Merkmale der Chitinhülle der Kiemen bei den Ephemeropteren-Larven, z. B. die Permeabilität für Gase, aber die Sperrwirkung gegenüber den großen Molekülen des Toxins.

Wodurch trat nun der Tod bei den vom *Prymnesium*-Toxin geschädigten Tieren ein? Wir werden uns bemühen, diese ziemlich komplizierte Frage aufzuklären, soweit es unsere Beobachtungen in der Natur und unsere Versuche im Laboratorium ermöglichen.

Der Körper der Protozoen beginnt unter dem Einfluß des Toxins zu zerfallen, aber sie sterben, noch ehe sie völlig zerfallen sind. Der Körper der *Hydra* zerfällt teilweise, bevor er stirbt. Der Körper der Turbellarien zerfällt ebenso teilweise: es zerfällt an erster Stelle das Körperepithel, dann das Mesenchym usw.

Bei dieser Sachlage erscheint die Antwort auf die oben gestellten Frage vollkommen klar: das Tier geht zugrunde, weil sein Körper teilweise zerstört wird. Genau genommen sterben einige der schon aufgezählten Tiere, noch ehe die Körperoberfläche vollständig zerstört ist. Diese letzte Feststellung gilt am ehesten für die Fische: der Exitus tritt bei

Legenden zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 6)

- Abb. 15: *Glossosiphonia* sp. Ein junges Exemplar, 20' nach dem Ausschlüpfen im *Prymnesium*-Wasser. ca. 60 ×.
- Abb. 16: *Gambusia affinis*. Rand der Rückenflosse — Beginn des Lysis des Epithels: ganze Paketen von Epithelzellen lösen sich ab. ca. 350 ×.
- Abb. 17: *Gambusia affinis*. Dasselbe wie in Abb. 16, jedoch in einem fortgeschritteneren Stadium. ca. 360 ×.
- Abb. 18: *Gambusia affinis*. Das mikroskopische Bild des Schleimes, der aus der Kiemenhöhle ausgeschieden ist. ca. 500 ×.

ihnen ein, noch bevor ihr Epithel völlig zerfallen ist. Es ist das einzige Gewebe, welches bei diesen Tieren eine vollständige Zerstörung erleidet. Und doch könnte nicht behauptet werden, daß die Fische infolge Zerstörung des Epithels z. B. der Kiemen sterben, was vielleicht eine Störung der Atmungsfunktion zur Folge haben könnte: Wie die Versuche mit sauerstofffreiem Wasser zeigen, sterben die Fische beim Fehlen von Sauerstoff viel langsamer (in 120'), als bei der Vergiftung durch das *Prymnesium*-Toxin (KOLAROV).

Obwohl das Toxin von *Prymnesium* die inneren Organe nicht direkt berührt und an ihnen keine pathologischen Veränderungen hervorruft, werden doch im ganzen die Funktionen zweier wichtiger Systeme betroffen, nämlich des Nervensystems und des Blutgefäßsystems. Daß das Nervensystem in Mitleidenschaft gezogen ist, drückt sich vor allem in einer Störung des Gleichgewichtes aus, während der Einfluß auf das Blutgefäßsystem sich in einer Verlangsamung der Blutzirkulation ausdrückt, die mit ihrem völligen Stillstand endet. Wir sind geneigt anzunehmen, daß in diesen Fällen der Einfluß des Toxins auf das Blutgefäßsystem und speziell auf das Herz über den Nervenweg weitergeleitet wird.

Wenn wir nun die Prozesse des Absterbens bei den Vertretern der zweiten Kategorie von Tieren betrachten, stellen wir ein ganz anderes Bild fest: bei ihnen werden keine histologischen Veränderungen am lebenden Tier beobachtet. Das einzig sichtbare Resultat der Toxineinwirkung auf sie ist die allmähliche Verlangsamung der Herztätigkeit, was zum völligen Stillstand und damit schließlich zum Tod des betreffenden Tieren führt. Wir nehmen an, daß auch hier der toxische Effekt auf dem Nervenweg weitergeleitet wird.

Zum Schluß der Betrachtungen über die Frage des toxischen Einflusses von *Prymnesium* auf verschiedene Tiere möchten wir hervorheben, daß wir als besonders charakteristische Folgeerscheinung dieser Intoxikation das Lysieren der Gewebe bei den „nackten“ Tieren ansehen. Es ist kaum eine andere Substanz organogener Natur bekannt, die in der Lage ist, eine so schnelle und vollständige Lysis der tierischen Gewebe hervorzurufen, wie sie im vorliegenden Falle durch das *Prymnesium*-Toxin auftritt¹⁾.

¹⁾ Herr Prof. Dr. L. Kämpfe (Greifswald), der so liebenswürdig war das Manuskript dieser Arbeit durchzusehen und in deutschsprachlicher Hinsicht zu korrigieren, hat mich u. a. darauf aufmerksam gemacht, das ähnliche lytische Vorgänge an Turbellarien und Oligochaeten kürzlich AN DER LAHN und Mitarbeiter bei Anwendung der Insektizide DDT festgestellt haben.

Literaturverzeichnis

BRONGERSIMA-SANDERS, M. (1957): Mass Mortality in the Sea. Geol. Soc. America, Mem. 67, vol. 1, 941—1010. — CARTER, N. (1938): New or interesting algae from brakish water. Arch. Protistenk., 90 (1), 1—68, Taf. 1—8. — CONRAD, W. et E. LELOUP (1938): Intoxications dues à Flagellates autotrophes. Ann. Soc. Roy. Zoologique de Belg., 49, 243—246. — KOLAROV, P. (1962): Observations expérimentales de l'effet toxique du *Prymnesium parvum* Carter sur quelques poissons. Bull. de l'Inst. Centr. de rech. sci. de Piscicult, et de Pecherie, 2, 43—53. — LENZ, F. (1933): Untersuchungen zur Limnologie von Strandseen. Verh. I. V. L., 6, 166—177. — LIEBERT, F. et DEERNS, W. M. (1920—1924): Onderzoek naar de oorzaak van een vischsterfte in den polder Workumer-Nieuwland, nabij Workum. Verh. Rijksinst. Vissch. Onderz., 1, 81—93. — Mc. LAUGHLIN, J. J. A. (1958): Euryhaline Chrysomonads: Nutrition and toxigenesis in *Prymnesium parvum*, with notes on *Isochrysis galbana* and *Monochrysis lutheri*. J. Protozool., 5 (1), 75—81. — OTTERSTROM, C. V. and E. STEEMANN NIELSEN (1940): Two case of extensive mortality on fishes caused by the flagellate *Prymnesium parvum*, Cart. Rep. Dan. Biol. Station, 44, 1—24. — PETROVA, V. (1962): Blossoming of *Prymnesium parvum* Carter in the Varna Lakes during the Summer of 1959. Bull. de l'Inst. Centr. de rech. sci. de Piscicult. et de Pecherie, 2, 55—65. — REICH, C. and M. ASCHNER (1947): Mass development and control of the Phytoflagellate *Prymnesium parvum* in fish ponds in Palestine. Pal. J. Bot., 4, 14—23. — RIEGEL, B., D. W. STANGER, D. M. WIKHOLM, J. D. MOLD and H. SOMMER (1949): Paralytic shellfish poison. V. The primary source of the poison, the marine plankton organism, *Goniaulax catenella*. Jour. Biol. Chemistry, 177, 7—11. — SHILO, M. and M. ASCHNER (1953): Factors governing the toxicity of cultures containing the phytoflagellate *Prymnesium parvum* Cart. J. gen. Microbiol. 8 (3), 333—343.