

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 Urheberrechtinhabers. 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.

Über den Einfluß des Mediums auf die thermische und osmotische Resistenz des Kiemengewebes der Miesmuschel *Mytilus edulis* L.

Von Carl Schlieper und Ruth Kowalski

1. Einleitung

Relativ wenige marine Tierarten sind in Brackwasser, d. h. in verdünntem Meerwasser, lebensfähig. Auch diese sogenannten „euryhalinen“ Arten erscheinen in Brackwasser von niedriger Salzkonzentration häufig mehr oder weniger stark geschädigt. Dabei ist der physiologische Wirkungsmechanismus bisher nur zum Teil bekannt (SCHLIEPER 1932, 1935, 1955). Einzelne im Brackwasser vorkommende Arten sind in ihm aktiv „homoiosmotisch“, d. h. sie erhalten ihr Innenmedium hypertonisch gegenüber dem Außenmedium. Bei anderen „poikilosmotischen“ Arten sind auch im Brackwasser Innen- und Außenmedium isotonisch. Zu dieser letzteren Gruppe gehört die Miesmuschel *Mytilus edulis*, die bis in Brackwasser von nur 4–6‰ Salzgehalt vordringen kann, wobei allerdings die in sehr salzarmem Wasser vorkommenden Exemplare in ihrem Größenzustand stark reduziert sind (VÄLIKANGAS 1932, BOETTGER 1950). Die Stoffwechselintensität der Miesmuschel nimmt bei Abnahme des Salzgehaltes im Außenmedium zunächst mehr oder weniger stark zu und sinkt bei stärkeren Verdünnungen unter das Niveau normaler Meerestiere ab. Die Herzfrequenz und die Aktivität des Cilienschlages der Kiemen sind allgemein bei Brackwasserindividuen geringer als bei solchen Exemplaren, die in unverdünntem Meerwasser vorkommen. Vieles spricht dafür, daß der Mechanismus der Brackwasserwirkung letzten Endes ein zellphysiologisches Problem ist. Es erscheint uns deshalb erwünscht, bei der weiteren Analyse der Brackwasserwirkung mit isolierten, überlebenden Gewebestücken zu arbeiten. Als solche sind besonders geeignet die Kiemen der Miesmuschel, welche bekanntlich aus einzelnen mit mehreren Cilienreihen bedeckten Fäden bestehen. Der Schlag der Cilien kann im Experiment als Anzeiger der Lebensdauer unter der Einwirkung verschiedener Außenfaktoren benutzt werden.

Im einzelnen sind im Brackwasser der Flußmündungen und einiger Nebenmeere, wie besonders der Ostsee, durch das zufließende Süßwasser nicht nur der Salzgehalt

Tabelle 1
Alkalinität und Calciumgehalt im Meer- und Brackwasser
(Nord- und Ostsee), nach WITTIG, 1940

Station	Salz- gehalt S ‰	Chlor- gehalt g Cl/kg	Alkali- nität m Äqu./l	Calciumgehalt		
				vorhanden mg/l	„normal“ mg/l	relativ %
Vor Oslo	33,89	18,76	2,308	409,0	409,0	100
Bornholm-Becken	17,32	9,58	2,005	221,3	213,9	104
Kieler Förde	15,75	8,71	2,175	206,5	194,5	106
Kieler Bucht	12,67	7,00	1,723	165,9	156,5	112
Arkona-Becken	7,34	4,95	1,510	107,4	90,7	116
Östliche Ostsee	6,60	3,64	1,430	92,4	79,7	116
Schwentine-Mündung	5,26	2,90	2,375	107,0	64,8	165
Schwentine-Mündung	0,34	0,17	2,690	57,6	4,1	1405

sondern auch die Alkalinität (das Säurebindungsvermögen) und der Calciumgehalt verändert. Ist das beigemengte Süßwasser praktisch elektrolytfrei, wie etwa in den norwegischen Fjorden, deren Süßwasserzuflüsse aus Urgestein kommen, so nehmen der Salzgehalt, die Alkalinität und der Calciumgehalt proportional der Verdünnung ab. Ist jedoch das zufließende Süßwasser mehr oder weniger hart, d.h. kalkreich, wie an der deutschen Ostseeküste, so können bei stärkerer Verdünnung des Meerwassers die Alkalinität und besonders der Calciumgehalt anomal hohe Werte erreichen (siehe Tab. 1).

In der vorliegenden Arbeit ist die Wirkung des Salzgehaltes, der Alkalinität und des Calciumgehaltes im Außenmedium auf die thermische und osmotische Resistenz des Kiemengewebes der Miesmuschel untersucht worden. Als Maß der Resistenz wurde jeweils die Überlebensdauer bei stärkerer Veränderung eines Faktors untersucht. Das Kiemengewebe wurde als überlebend betrachtet, so lange mindestens 10% der vorhandenen Cilien noch schlugen.

2. Der Einfluß der Salzkonzentration und der Alkalinität des Mediums auf die Temperaturresistenz des Kiemengewebes

Als Versuchstiere wurden Nordsee-Miesmuscheln, bezogen von der „Biologischen Anstalt Helgoland“ in List auf Sylt, und Ostsee-Miesmuscheln aus der Kieler Förde verwendet. Beide Muschelgruppen befanden sich in Meerwasser, dessen Salzgehalt dem des Fundortes entsprach, d.h. die Nordseemuscheln in Nordseewasser von 30‰ S. (477 mMol./l) und die Ostseemuscheln in Brackwasser von 15‰ S. (233 mMol./l). Sämtliche Muscheln wurden vor Versuchsbeginn einige Tage in einem regulierbaren Kühlschrank an die Ausgangstemperatur von 10° C angepaßt.

Zunächst wurde die Temperaturresistenz des Kiemengewebes in dem auf 35° C erwärmten ursprünglichen Medium untersucht. Zu diesem Zweck wurden die in kleine Stücke zerlegten Kiemen in zwei in ein Wasserbad von 35° C eingetauchten Glasschalen mit Meerwasser von 30‰ bzw. 15‰ S. überführt. Dann wurden fortlaufend von fünf zu fünf Minuten kleine Gewebeprobe entnommen und in Petri-Schalen in Meerwasser von Zimmertemperatur mikroskopisch untersucht. Es wurde jeweils festgestellt, ob der Cilienschlag noch kräftig (breiter Balken in Abb. 1) oder abgeschwächt (Balken von halber Breite) oder sehr schwach (nur 50—10% schlagende Cilien, Balken von 1/4 Breite) oder zum Stillstand gekommen war (Tafel 6 und Tab. 2).

An den Kiemenfäden der Miesmuschel lassen sich mehrere Ciliengruppen (frontale, latero-frontale, abfrontale, laterale und terminale Cilien) unterscheiden. Sie sind gegenüber der Einwirkung von Veränderungen im Außenmedium in verschiedenem Maße resistent (GRAY 1928, PILGRIM 1953). Um zu sicheren Ergebnissen zu gelangen, wurde von uns jeweils die Schlagdauer der leicht zu beobachtenden terminalen und lateralen Kiemencilien untersucht. Jeder Einzelversuch wurde 5—10 mal wiederholt, um gesicherte Mittelwerte als Maß der thermischen Resistenz zu erhalten.

Die Schlagdauer beider Cilientypen bei 35° C war in jedem Falle bei den Nordsee-Miesmuscheln in 30‰ S wesentlich größer als bei den Ostsee-Miesmuscheln in 15‰ S. Die terminalen Kiemencilien der Nordseemuscheln schlugen im Mittel doppelt so lange, wie die der Ostseemuscheln, nämlich 100 gegenüber 51 Minuten bei einer mittleren Schwankung von etwa ± 2 Minuten. Hierdurch werden frühere Beobachtungen von LOEB u. WASTENEYS (1912) an *Fundus heteroclitus* und von GOMPEL u. LEGENDRE

Legende zu der nebenstehenden Abbildung (Tafel 6)

Einfluß der Salzkonzentration und der Alkalinität des Mediums auf die Hitzeresistenz des Kiemengewebes. Schlagdauer der terminalen Kiemencilien bei 35° C. Nordsee-Mytilus-Kiemen in Nordseewasser von 30‰ S und in 1/2 Nordseewasser (mit Leitungswasser bzw. aqua dest. verdünnt). Ostsee-Mytilus-Kiemen in Ostsee-Wasser von 15‰ S und in Nordseewasser von 30‰ S.

Abb.1. Der Einfluß der Salzkonzentration und der Alkalinität des Mediums auf die Temperaturresistenz des Kiemengewebes von *Mytilus edulis* L.

Schlagdauer der terminalen Kiemencilien bei 35°C

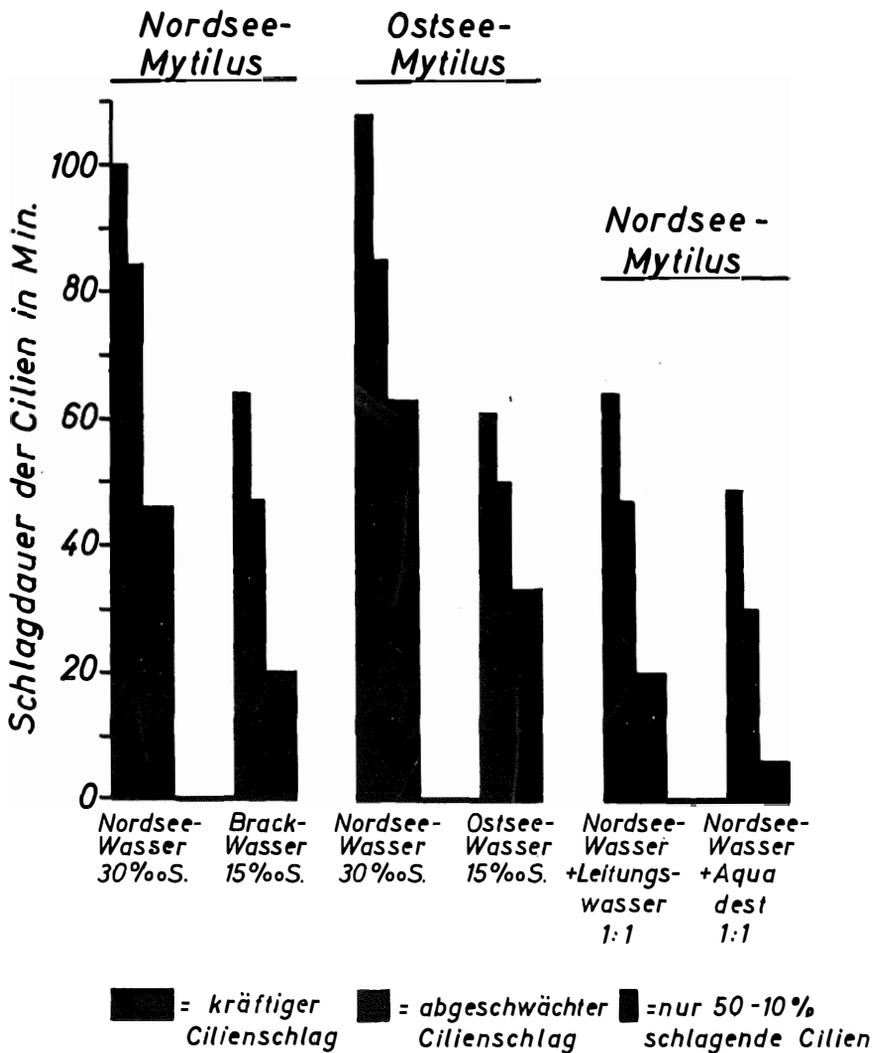
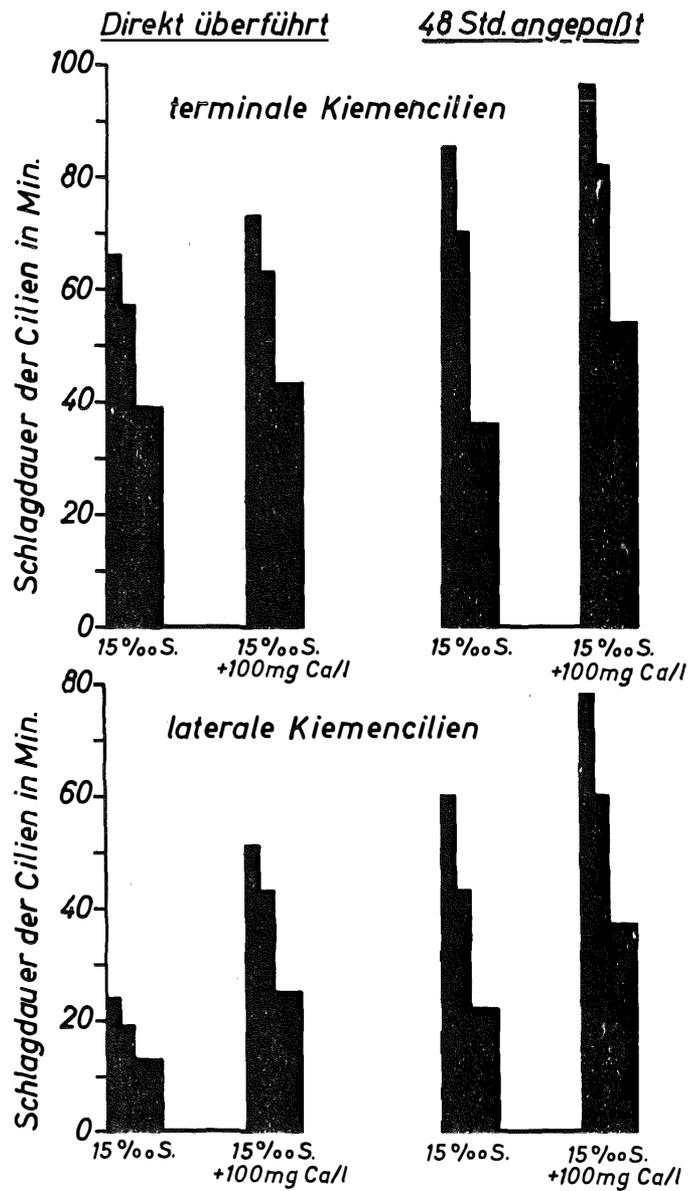


Abb.2. Der Einfluß des Ca-Gehaltes im Medium auf die Temperaturresistenz von *Mytilus edulis* L.(Ostsee)

Schlagdauer der Kiemencilien bei 35°C



(1928) an *Convoluta roscoffensis* bestätigt, die übereinstimmend fanden, daß die Wärmeresistenz ihrer Versuchstiere in verdünntem Meerwasser herabgesetzt war. Auch KINNE (1954) und WAEDE (1954) kamen an anderen marinen Arten zu gleichen Ergebnissen. Allerdings handelt es sich bei diesen früheren Untersuchungen sämtlich um Laboratoriumsbeobachtungen an Versuchstieren, die kurzfristig in Medien von künstlich verändertem Salzgehalt überführt worden waren. Im Gegensatz dazu haben wir Individuen einer Art untersucht, die in Meerwasser von verschiedenem Salzgehalt (30‰ bzw. 15‰ S) aufgewachsen und also dementsprechend maximal angepaßt waren. Die von uns beobachteten Unterschiede der Temperaturresistenz können also nicht auf Grund einer kurzfristigen Veränderung des Salzgehaltes und einer mangelhaften Anpassung an denselben erklärt werden. — Es läßt sich aber außerdem zeigen, daß die Anpassungsdauer bei *Mytilus* in dieser Beziehung keine große Bedeutung hat. Wurden nämlich Nordsee-Miesmuscheln in Ostseewasser von 15‰ Salzgehalt bzw. in Nordseewasser, das zur Hälfte mit Leitungswasser verdünnt war, überführt und 48 Stunden an dieses veränderte Medium angepaßt, so entsprach die thermische Resistenz des Kiemengewebes etwa der der Ostsee-Miesmuscheln in Ostseewasser. Umgekehrt war die thermische Resistenz der in Nordseewasser überführten und zwei Tage angepaßten Ostsee-Miesmuscheln sogar etwas gegenüber der der Nordsee-Individuen in Nordseewasser erhöht.

Das benutzte Ostseewasser von 15‰ Salzgehalt (Alkalinität etwa 2,0—2,2 mÄqu./l) ist, wie bereits oben erwähnt, entstanden durch Vermischung von Nordseewasser mit zufließendem Süßwasser, das in unserm Bereich (d.h. an der deutschen Ostseeküste) stets mehr oder weniger hart ist. Ein ähnliches Brackwasser von 15‰ Salzgehalt stellten

Tabelle 2

Der Einfluß der Salzkonzentration und der Alkalinität des Mediums auf die Temperaturresistenz des Kiemengewebes.

Schlagdauer der lateralen Kiemencilien bei 35° C in Minuten.

Mittelwerte aus zahlreichen Einzelversuchen.

(Die Muscheln waren vor den Versuchen jeweils mindestens zwei Tage an das betreffende Medium angepaßt worden.)

Versuchstier	Nordsee- <i>Mytilus</i>		Ostsee- <i>Mytilus</i>		Nordsee- <i>Mytilus</i>	
	30‰ Nordsee- wasser	15‰ 1/2 Nordsee- wasser	30‰ Nordsee- wasser	15‰ Ostsee- wasser	15‰ ⁰ / ₀₀ * (mit Leitungswasser)	15‰ ⁰ / ₀₀ ** (mit aqua dest.)
Schlag kräftig	36	9	45	13	9	5
Schlag schwach	24	18	25	7	18	6
Schlag sehr schwach	11	9	17	7	9	12
Gesamtdauer	71 ± 2	36 ± 2	87 ± 2	27 ± 2	36 ± 2	23 ± 2

* = 1 Teil Nordseewasser + 1 Teil Leitungswasser (Alkalinität = 4,0 mÄqu./l)

** = 1 Teil Nordseewasser + 1 Teil aqua dest. (Alkalinität = 1,3 mÄqu./l)

Legende zu der nebenstehenden Abbildung (Tafel 7)

Einfluß des Ca-Gehaltes im Medium auf die Hitzeresistenz des Kiemengewebes von Ostsee-Miesmuscheln. Schlagdauer der Kiemencilien bei 35° C. Miesmuscheln aus Ostseewasser untersucht in unverändertem Ostseewasser und in solchem mit Zusatz von 100 mg Ca/l. Miesmuscheln, die 48 Stunden an Ostseewasser mit Zusatz von 100 mg Ca/l angepaßt waren, untersucht in unverändertem Ostseewasser und in solchem mit Zusatz von 100 mg Ca/l.

wir im Laboratorium durch Verdünnung von einem Teil Nordseewasser (Alk. = 2,6 mÄqu./l) mit einem Teil Kieler Leitungswasser (Alk. = 5,8 mÄqu./l) her. Dieses Mischwasser hatte sogar eine mittlere Alkalinität von etwa 4,0 mÄqu./l. Beide Brackwässer von 15⁰/₀₀ S hatten annähernd den gleichen Einfluß auf die Temperaturreistenz der untersuchten Muscheln. Anders verhielten sich jedoch Nordseemuscheln, die in ein Brackwasser überführt worden waren, das aus einem Teil Nordseewasser (Alk. = 2,6 mÄqu./l) und einem Teil aqua destillata (glasdestilliert) bestand, dessen Alkalinität also nur die Hälfte (1,3 mÄqu./l) betrug. Die Schlagdauer der terminalen und lateralen Kiemencilien dieser an ein derartiges Brackwasser von geringerer Alkalinität angepaßten Miesmuscheln war deutlich herabgesetzt (vgl. Tafel 6 und Tab. 2). Hieraus geht hervor, daß nicht nur die Salzkonzentration des Außenmediums, sondern auch die Alkalinität einen gewissen Einfluß auf die thermische Resistenz der Gewebe hat. Da die Alkalinität eines Brackwassers durch die Menge der in ihm vorhandenen Erdalkalikarbonate bestimmt wird, ist es fraglich, welcher Faktor im einzelnen hier wirksam ist. Denkbar ist es, daß sowohl die Wasserstoffionenkonzentration wie auch der Calcium- und der Magnesiumgehalt des Mediums von Bedeutung sind.

3. Der Einfluß des Calciumgehaltes im Medium auf die thermische Resistenz des Kiemengewebes

In unverändertem Meerwasser und in Nordseewasser von 30 bis 35⁰/₀₀ Salzgehalt sind etwa 400 mg Ca/l vorhanden. Im Brackwasser der Kieler Förde, das im Mittel eine Salzkonzentration von 15⁰/₀₀ hat, beträgt dagegen der Calciumgehalt nur etwa 200 mg/l. Die Abnahme des Calciumgehaltes entspricht also in diesem Falle annähernd der Verringerung der Salzkonzentration. Nach den oben geschilderten Befunden ist die thermische Resistenz des Kiemengewebes in Brackwasser von 15⁰/₀₀ Salzgehalt stark herabgesetzt. Man könnte die Ursache dieser Erscheinung sowohl in der Verringerung der Gesamt-Salzkonzentration wie auch allein in der des Calciumgehaltes im Außenmedium suchen. Da aber die thermische Resistenz stärker herabgesetzt wird, wenn wir Nordseewasser nicht mit hartem Calcium-reichen Süßwasser (100 mg Ca/l), sondern mit destilliertem Wasser verdünnen, so liegt es nahe, an einen überwiegenden Einfluß der Calciumionen in dieser Beziehung zu denken. Aus diesem Grunde wurden die Kiemen einiger Ostsee-Miesmuscheln in Ostseewasser untersucht, dem 100 mg Ca/l zugesetzt waren, dessen Gesamt-Calciumgehalt dadurch also auf 300 mg/l erhöht war. Um eine Vergleichsmöglichkeit zu haben, wurde die Hälfte des Kiemengewebes jeder Muschel jeweils in unverändertem Ostseewasser von 15⁰/₀₀ S (200 mg Ca/l) untersucht. Die Schlagdauer der terminalen und lateralen Kiemencilien bei 35⁰ C war in dem Calcium-angereicherten Medium deutlich erhöht (Tafel 7). Dabei war der Unterschied bei den lateralen Kiemencilien größer als bei den terminalen Kiemencilien. Es war nun zu entscheiden, ob diese beobachtete Erhöhung der thermischen Resistenz durch die direkte Einwirkung des höheren Calciumgehaltes im Außenmedium verursacht war? Nach früheren Untersuchungen ist sicher, daß nach Erhöhung des Calciumgehaltes im Außenmedium auch der Calciumgehalt im Innenmedium der Miesmuschel langsam zunimmt, bis wiederum die Calciumkonzentration im Innen- und Außenmedium die gleiche Höhe hat. Da dieser Prozeß aber eine gewisse Zeit beansprucht, erschien es uns nötig, die thermische Resistenz des Kiemengewebes auch nach ein- bzw. zweitägiger Anpassung der lebenden Muschel an das mit Calcium angereicherte Außenmedium zu untersuchen. Wir haben dies getan und nach 24 bzw. nach 48 Stunden Anpassung der Muscheln die herausgeschnittenen Kiemen sowohl in dem veränderten Medium (Ca-reiches Anpassungsmedium) wie auch in Ostseewasser von normalem Calciumgehalt untersucht. In beiden Fällen war die thermische Resistenz erhöht und zwar wesentlich stärker als nach direkter Über-

führung in das Calcium-reiche Medium ohne vorherige Anpassung der Muscheln an das Calcium-reiche Medium. Während beispielsweise die Schlagdauer der lateralen Kiemencilien bei 35° C in unverändertem Ostseewasser 24 Minuten und nach direkter Überführung in Ostseewasser mit erhöhtem Calciumgehalt 51 Minuten betrug, war sie nach 48-stündiger Anpassung auf 78 Minuten gestiegen. Auch nach nur 24-stündiger Anpassung der Muscheln war eine gewisse Erhöhung der thermischen Resistenz zu beobachten. Diese drückte sich jedoch weniger in einer Zunahme der Gesamtschlagdauer aus, als dadurch, daß die Kiemencilien längere Zeit kräftig, d.h. unvermindert, schlugen. — Diese Tatsachen sprechen schon sehr dafür, daß die wesentliche Ursache der thermischen Resistenz in der Erhöhung des Calciumgehaltes im Innenmedium bzw. im Gewebe der Muschel zu suchen ist. Gesichert wird dieser Schluß aber durch die Feststellung, daß die thermische Resistenz des Kiemengewebes der langangepaßten Muscheln auch bei Untersuchung in Ostseewasser von normalem Calciumgehalt beträchtlich erhöht bleibt. Hieraus geht einwandfrei hervor, daß nicht der höhere Calciumgehalt des Außenmediums sondern der des Muschelgewebes selbst die Steigerung der thermischen Resistenz verursacht.

In einer weiteren Versuchsserie wurde der Einfluß einer Erhöhung des Calciumgehaltes im Außenmedium (Ostseewasser) um 200 mg/l untersucht. Dieses Ostseewasser von 15‰ Salzgehalt enthielt dann also ebensoviel Calcium wie das Nordseewasser von 30‰ Salzgehalt, nämlich 400 mg/l. Wie zu erwarten, war auch in diesem Medium eine Zunahme der Temperaturreistenz des Kiemengewebes zu beobachten (vgl. Tafel 8). In diesem Fall war aber die Erhöhung nach zweitägiger Anpassung der Muscheln an das veränderte Außenmedium besonders stark. Aus dem Umstand, daß die Erhöhung nach Zurückführung der Kiemen in normales Ostseewasser nicht sofort und vollständig verschwand, muß wiederum geschlossen werden, daß der entscheidende Faktor der Calciumgehalt des Muschelgewebes selbst ist. Wenn man bedenkt, daß die angeschnittenen Kiemestücke mit dem Versuchsmedium auf großer Oberfläche (äußere Oberfläche, Gefäßwandungen und Schnittflächen) in Berührung stehen und dadurch relativ leicht den überhöhten Calciumgehalt verlieren können, ist es doch erstaunlich, daß bei einer Versuchsdauer von immerhin einer Stunde das geschilderte Ergebnis beobachtet werden konnte.

Vergleichen wir nunmehr die thermische Resistenz des Kiemengewebes der Nordsee-Miesmuschel in normalem Nordseewasser (30‰ S, 400 mg Ca/l) mit der einer Ostsee-Miesmuschel, die zwei Tage an Ostseewasser mit zweifachem Calciumgehalt (15‰ S, 400 mg Ca/l) angepaßt worden war und dann in diesem Medium untersucht wurde, so stellen wir fest, daß beide Gewebe praktisch die gleiche Temperaturreistenz bei 35° C aufweisen. Die Schlagdauer der terminalen Kiemencilien betrug beispielsweise unter diesen Umständen bei den Nordsee-Miesmuscheln im Mittel 100 ± 2 Minuten und bei den betreffenden Ostseemuschem sogar 108 ± 2 Minuten (vgl. Tafel 6 und Tafel 8). Man möchte aus diesen Ergebnissen fast folgern, daß die Veränderung der Temperaturreistenz in $\frac{1}{2}$ -verdünntem Nordseewasser gar nicht mit der Abnahme der Salzkonzentration im Außenmedium, sondern vielmehr mit der gleichzeitig bewirkten Verringerung des Calciumgehaltes zusammenhängt.

Es würde nun nahe liegen, mit einem künstlichen Nordseewasser von halbem Calciumgehalt zu experimentieren. Wir haben das nicht getan, weil wir soweit wie möglich natürliches Meer- und Brackwasser verwenden wollten. Wir haben aber in einem weiteren Versuch Nordseemuschem nach zweitägiger Anpassung an ein Nordseewasser untersucht, dem 200 mg Ca/l in Form von Calciumchlorid zugesetzt worden waren, so daß der Gesamt-Calciumgehalt um 50% von 400 mg auf 600 mg/l erhöht worden war. Der Gesamt-Salzgehalt war dadurch praktisch nicht verändert worden. Trotzdem war die Temperaturreistenz der an dieses Medium angepaßten Nordsee-Miesmuschem

beträchtlich erhöht. Während die terminalen Kiemencilien normaler Nordseemuscheln in unverändertem Nordseewasser bei 35° C etwa 114 Minuten überlebten, schlugen die der gleichzeitig untersuchten Nordsee-Miesmuscheln in dem mit Calcium angereicherten Nordseewasser etwa 187 Minuten lang (s. Tab. 3). Hieraus geht einwandfrei die überragende Bedeutung des Calciumgehaltes im Meerwasser für die Aufrechterhaltung und Ausbildung der thermischen Resistenz der in ihm lebenden Evertibraten hervor.

Tabelle 3

Der Einfluß des Calciumgehaltes im Meerwasser, bei im übrigen unveränderter Salzkonzentration, auf die thermische Resistenz des Kiemengewebes von *Mytilus edulis* L. (Nordsee).

Schlagdauer der Kiemencilien bei 35° C in Minuten.

(Mittelwerte aus zahlreichen Einzelversuchen.)

Nordsee-Miesmuscheln	Angepaßt und untersucht in unverändertem Nordseewasser = 30 ⁰ / ₀₀ S, 400 mg Ca/l	2 Tage angepaßt und untersucht in Nordseewasser + 200 mg Ca/l = 30 ⁰ / ₀₀ S, 600 mg Ca/l
Terminale Cilien		
Schlag kräftig	60	87
Schlag schwach	47	50
Schlag sehr schwach	15	50
Gesamtdauer	122	187
Laterale Cilien		
Schlag kräftig	43	62
Schlag schwach	25	32
Schlag sehr schwach	15	52
Gesamtdauer	83	146

4. Der Einfluß des Calciumgehaltes im Medium auf die osmotische Resistenz des Kiemengewebes

Frühere Beobachtungen an süßwasserlebenden und marinen Arten sprechen dafür, daß die Höhe der thermischen und osmotischen Resistenz bei ein und derselben Art stets parallel geht (SCHLIEPER 1952, WAEDE 1954, SCHMITT 1955). Weiterhin ist bekannt, daß gewisse euryhaline marine Arten um so weiter in salzarmes Brackwasser bzw. Süßwasser vordringen können, je höher der Calciumgehalt desselben ist (WEIL u. PANTIN 1931, OESTING u. ALLEE 1935). Außerdem wird allgemein angenommen, daß das Calcium die Permeabilität der Zellmembranen gegenüber Wasser und gelösten Substanzen herabsetzt (vgl. HEILBRUNN 1952). Es wurde deshalb versucht, auch die Beziehungen zwischen dem Calciumgehalt des Mediums und der osmotischen Resistenz des Kiemengewebes der Miesmuschel zu studieren. Unter osmotischer Resistenz soll einfach die Fähigkeit verstanden werden, in stark verdünntem Meerwasser zu überleben. Wie bereits oben erwähnt, kommt die Miesmuschel in der Ostsee in Brackwasser bis zu einem Salzgehalt von 4—6⁰/₀₀ vor (VÄLIKANGAS 1932, BOETTGER 1950). Trotzdem ist

Legende zu der nebenstehenden Abbildung (Tafel 8)

Einfluß des Ca-Gehaltes im Medium auf die Hitzeresistenz des isolierten Kiemengewebes von Ostsee-Miesmuscheln. Schlagdauer der Kiemencilien bei 35° C. Kiemen von Miesmuscheln aus Ostseewasser untersucht in unverändertem Ostseewasser und in solchem mit Zusatz von 200 mg Ca/l. Kiemen von Miesmuscheln, die 48 Stunden an Ostseewasser mit Zusatz von 200 mg Ca/l angepaßt waren, untersucht in unverändertem Ostseewasser und in solchem mit Zusatz von 200 mg Ca/l.

Abb.3. Der Einfluß des Ca-Gehaltes im Medium auf die Temperaturresistenz von *Mytilus edulis* L. (Ostsee)

Schlagdauer der Kiemencilien bei 35° C

Direkt überführt

48 Std.angepaßt

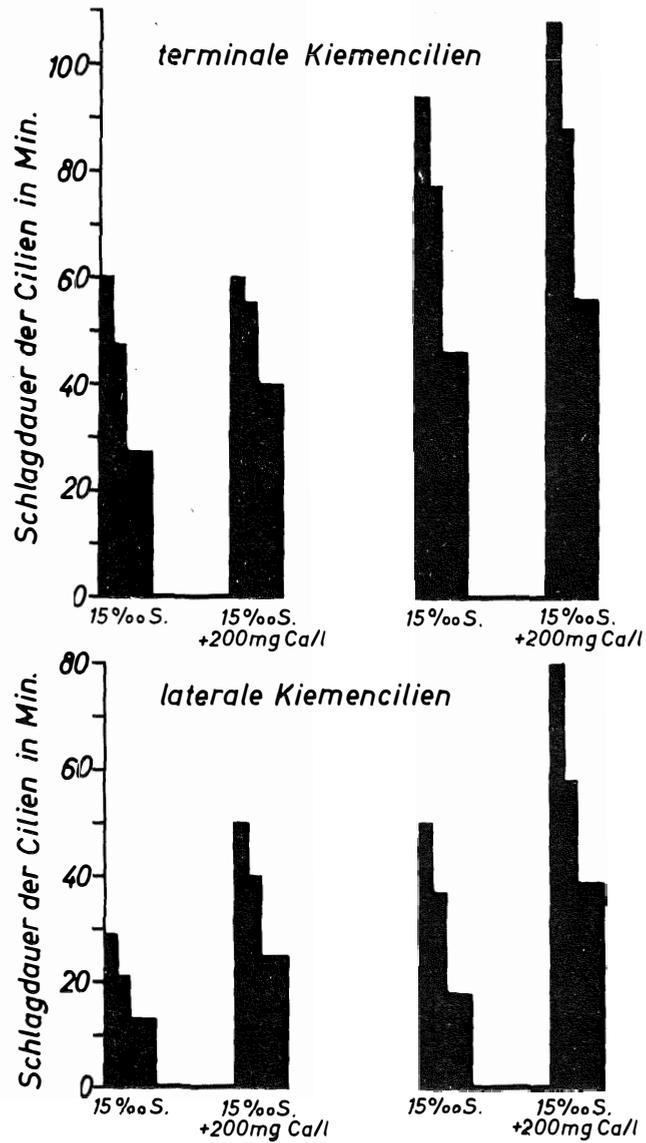
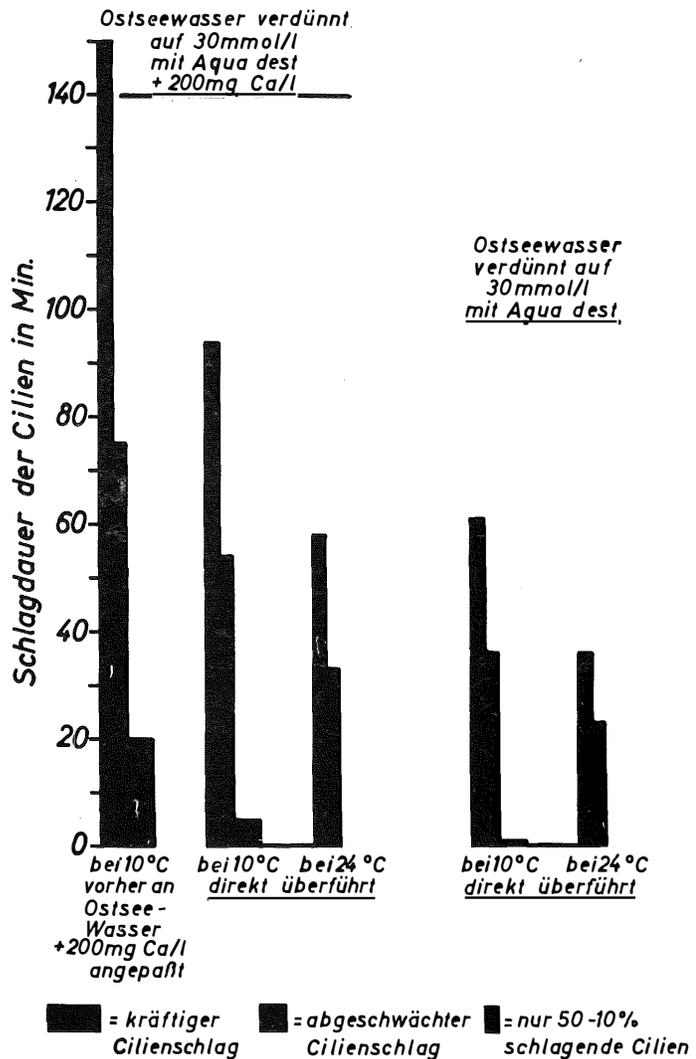


Abb. 4. Der Einfluß des Ca-Gehaltes im Medium auf die osmotische Resistenz des Kiemengewebes von *Mytilus edulis* L. (Ostsee)

Schlagdauer der terminalen Kiemencilien in verdünntem Ostseewasser (233mmol/l verdünnt auf 30mmol/l)



es nicht möglich, Miesmuscheln ohne Schädigung direkt aus normalem Meerwasser in sehr salzarmes Brackwasser zu überführen. Bringt man die herausgeschnittenen Kiemen einer an Nordseewasser angepaßten Miesmuschel direkt in stark verdünntes Brackwasser, so beobachtet man sofort Stillstand der Cilien (Schockeffekt) und eine intensive Schleimbildung, die bei hoher Verdünnung so stark sein kann, daß die Cilien nicht wieder zum Schlagen kommen. Wir haben deshalb nach zahlreichen Vorversuchen folgende Methode benutzt, um die Abhängigkeit der osmotischen Resistenz von dem Calciumgehalt des Außenmediums zu studieren: Als Versuchstiere verwendeten wir Ostsee-Miesmuscheln, die an normales Ostseewasser (15‰ S = 0,80° C Δ = 233 mMol/l) oder an Ostseewasser mit einem Zusatz von 200 mg Ca/l angepaßt waren. Das normale Ostseewasser wurde auf 30 mMol/l verdünnt mit aqua destillata bzw. mit aqua dest., das 200 mg Ca/l = 545 mg CaCl₂/l enthielt. Um wirklich isotonische Versuchslösungen herzustellen, wurde einerseits die erwähnte Verdünnungslösung bestehend aus aqua dest. + 200 mg Ca/l und andererseits eine mit ihr isotonische Verdünnungslösung bestehend aus aqua dest. + 4,8‰ Ostseewasser von 10‰ Salzgehalt benutzt. Mit diesen beiden Verdünnungslösungen wurde das Ausgangsmedium (normales Ostseewasser) zunächst auf 20% (2 : 8), dann auf 15% (1,5 : 8,5) und schließlich auf 10% (1 : 9) verdünnt. Die herausgeschnittenen Kiemen wurden zuerst zwei Stunden in der 20%igen Lösung, darauf 1/4 Stunde in der 15%igen Lösung und schließlich bis zum Absterben in der endgültigen 10%igen Lösung gehalten. Durch diese stufenweise Verdünnung wurde erreicht, daß die Schleimausscheidung der Kiemenfäden in normalen Grenzen blieb und den Cilienschlag nicht behinderte. Als Maß der osmotischen Resistenz wurde allein die Schlagdauer der terminalen Kiemencilien in dem 10%igen Ostseewasser benutzt. Stets wurde jeweils die Hälfte der Kiemenblätter einer Miesmuschel in dem einen „normalen“ hypotonischen Medium und die andere Hälfte in dem anderen entsprechenden Medium mit erhöhtem Calciumgehalt untersucht. Zahlreiche Versuchsserien sowohl bei 10° C wie auch bei höherer Zimmertemperatur ergaben, daß die Überlebenszeit des Kiemengewebes vom Calciumgehalt des Mediums beeinflusst wird. Bei Verdünnung mit aqua dest. und bei 10° C überlebten die Kiemen im Mittel 66 Minuten. Wurde jedoch die Calcium-haltige Verdünnungslösung benutzt, so überlebten die Kiemen 94 Minuten (s. Taf. 9). Bei höherer Temperatur (24° C) wurden entsprechende Unterschiede beobachtet. Auch in diesem Falle war es zunächst fraglich, ob der Calciumgehalt des Außenmediums oder die während der Versuchszeit von dem Gewebe aufgenommene Calciummenge entscheidend für die Höhe der osmotischen Resistenz war. Aus diesem Grunde wurde eine weitere Anzahl von Ostsee-Miesmuscheln für 48 Stunden an Ostseewasser von 15‰ Salzgehalt mit einem Zusatz von 200 mg Ca/l angepaßt. Die Kiemen dieser auf die beschriebene Weise mit Calcium angereicherten Muscheln wurden dann in gleicher Weise in verdünntes Ostseewasser von relativ erhöhtem Calciumgehalt überführt. Die Überlebenszeit der Kiemen dieser Muscheln betrug nun im Mittel 145 Minuten im Vergleich zu 94 Minuten bei den Kiemen nicht vorbehandelter Ostsee-Miesmuscheln in dem gleichen Medium (s. Taf. 9). Hieraus geht einwandfrei hervor, daß maßgebend für die osmotische Resistenz des Kiemengewebes in diesen Versuchen vor allem der Calciumgehalt des Gewebes selbst ist. Dieses Ergebnis stimmt mit den Befunden der entsprechenden Versuche bei der Prüfung der thermischen Resistenz überein.

Legende zu der nebenstehenden Abbildung (Tafel 9)

Einfluß des Ca-Gehaltes im Medium auf die osmotische Resistenz des isolierten Kiemengewebes von Ostsee-Miesmuscheln. Schlagdauer der terminalen Kiemencilien in verdünntem Ostseewasser von nur 30 mMol/l Salzgehalt. Kiemen von Miesmuscheln aus normalem Ostseewasser (233 mMol/l) untersucht in Ostseewasser verdünnt mit aqua dest. bzw. mit aqua dest. + 200 mg Ca/l. Kiemen von Miesmuscheln, die vorher 48 Stunden an Ostseewasser mit Zusatz von 200 mg Ca/l angepaßt waren, untersucht in Ostseewasser verdünnt auf 30 mMol/l mit aqua dest. mit 200 mg Ca/l.

5. Diskussion der Ergebnisse

Die thermische Resistenz der Nordsee-Miesmuscheln in Meerwasser von 30⁰/₀₀ Salzgehalt ist, wie oben gezeigt wurde, wesentlich höher als die der Ostsee-Miesmuscheln in Brackwasser von 15⁰/₀₀ Salzgehalt. Die Ursache dieses Unterschiedes steht wohl mit einem höheren Wassergehalt und Quellungsgrad der Gewebe der Ostsee-Miesmuscheln in Beziehung, denn nach allen bisherigen Erfahrungen sinkt die Hitzeresistenz „lebender Systeme“ bei Erhöhung ihres Wassergehaltes (vgl. auch HEILBRUNN 1952, S. 486). Wahrscheinlich ist hierbei ein wesentlicher Faktor eine geringere Menge des freien intermizellaren, nicht durch elektrische Kräfte an Kolloide gebundenen Wassers im Gewebe der Nordsee-Miesmuscheln, mit welcher eine höhere Beständigkeit der Proteinmoleküle des Protoplasmas im Sinne von BOGEN (1948) und BÜNNING (1953, p. 43) verbunden ist.

Wir haben weiterhin nachgewiesen, daß bei gleichbleibender Gesamtsalzkonzentration aber relativ erhöhtem Calciumgehalt des Meerwassers bzw. Brackwassers die Hitzeresistenz der Miesmuschel-Kiemensblättchen ebenfalls stark vergrößert ist. Zur Deutung dieser Erscheinung könnte man wiederum mit BOGEN annehmen, daß durch die Calciumionen die Stabilität der Proteinmoleküle im Protoplasma und damit die plasmatische Resistenz erhöht worden ist. Dafür spricht unser Nachweis, daß für den Grad der Hitzeresistenz anscheinend nicht das im Außenmedium befindliche Calcium, sondern nur das von dem Gewebe aufgenommene Calcium maßgebend ist. — In dieser Beziehung ist es interessant, daß nach früheren Befunden hitzegeschädigte Zellen von *Elodea* und *Rana* (Muskelbrei) Calciumionen abgeben. Die Zellwandung (cell cortex) soll dabei Calcium nach innen in das Protoplasma abgeben und hierdurch die Viskosität desselben irreversibel erhöhen (vgl. HEILBRUNN 1952, S. 487 u. 490).

Die von uns nachgewiesene Erhöhung der osmotischen Resistenz bei relativer Steigerung des Calciumgehaltes in Brackwasser kann *einerseits* damit erklärt werden, daß die vermehrten Calciumionen die allgemeine plasmatische Resistenz des Miesmuschelgewebes vergrößert haben, von der Hitzeresistenz und osmotische Resistenz ja nur Spezialfälle sind. Dementsprechend wäre es durchaus denkbar, daß durch eine erhöhte Beständigkeit der plasmatischen Struktur insgesamt sowohl die Hitzeresistenz wie auch die osmotische Resistenz im positiven Sinne beeinflusst wird. Es muß aber auch darauf hingewiesen werden, daß *andererseits* zahlreiche frühere Beobachtungen dafür sprechen, daß durch einen erhöhten Calciumgehalt im Außenmedium die Permeabilität der Zellmembranen (der Plasmamembranen der Zellen) für Wasser und gelöste Substanzen herabgesetzt wird. Bei Amöben und den Eiern mariner Wirbelloser ist es möglich, durch Calcium die Rindenschicht des Protoplasmas, das corticale Plasmagel, zu festigen bzw. die protoplasmatische Viskosität der Rindenschicht zu erhöhen (vgl. HEILBRUNN 1930). In diesem Falle würde die Erhöhung der osmotischen Resistenz allein durch die Stabilisierung der äußeren Protoplasmaschicht der Zelle zustande gekommen sein. Beide Deutungen bewegen sich aber in der gleichen Richtung.

Weitere noch im Gange befindliche Versuchsreihen bestätigen anscheinend die Richtigkeit der vorgetragenen kolloidchemischen Deutungen.

6. Zusammenfassung

Es wurde die thermische und osmotische Resistenz des isolierten Kiemengewebes der Miesmuschel *Mytilus edulis* L. in Abhängigkeit von der Salzkonzentration, der Alkalinität und dem Calciumgehalt des Mediums untersucht. Dabei wurde als Maß der Resistenz jeweils die Schlagdauer der Kiemencilien benutzt.

Die Hitzeresistenz (Überlebenszeit bei 35° C) des Kiemengewebes der Nordsee-Miesmuschel in Meerwasser von etwa 30⁰/₀₀ Salzgehalt (477 mMol/l) ist etwa doppelt so groß wie die der Ostsee-Miesmuschel in Brackwasser von 15⁰/₀₀ Salzgehalt (233 mMol/l).

Die Hitzeresistenz wird außerdem in Brackwasser von der Höhe der Alkalinität und dem Calciumgehalt des enthaltenen Süßwassers positiv beeinflusst.

Hält man bei Verdünnung des Meerwassers auf die Hälfte der ursprünglichen Salzkonzentration den Calciumgehalt konstant, so bleibt die Hitzeresistenz des Kiemengewebes praktisch unverändert.

Erhöhung des Calciumgehaltes im Meerwasser auf das Doppelte bewirkt eine starke Zunahme der Hitzeresistenz des Kiemengewebes.

Auch die osmotische Resistenz des Kiemengewebes (Überlebenszeit in Brackwasser von 30 mMol/l) hängt stark vom Calciumgehalt des Mediums ab. Sie ist um so höher, je größer der Calciumgehalt des Mediums ist.

Sowohl bei der Hitzeresistenz wie auch bei der osmotischen Resistenz läßt sich nachweisen, daß entscheidend für ihre Höhe weniger der Calciumgehalt des Außenmediums als vielmehr der der Gewebe selbst ist. Ein Gewebe, das durch Vorbehandlung in einem Ca-reichen Medium mit Calcium angereichert ist, hat selbst in relativ Ca-armen Außenmedien eine erhöhte Resistenz.

Die Untersuchung wurde durch eine Beihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.

Literaturverzeichnis

- BOETTGER, C. R.: Ein Beitrag zur Frage des Ertragens von Brackwasser durch Molluskenpopulationen. *Hydrobiologia* (Den Haag) **2**, 360—379, 1950. — BOGEN, H. J.: Untersuchungen über Hitzetod und Hitzeresistenz pflanzlicher Protoplaste. *Planta* **36**, 298—340, 1948. — BÜNNING, E.: Lehrbuch der Pflanzenphysiologie. Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. 3. Aufl. Springer, Berlin, 1953. — GOMPEL, M. et LEGENDRE, R.: Limites de temperature et de salure supportées par *Convoluta roscoffensis*. *Compt. rend. Soc. Biol. Paris*, **98**, 572—573, 1928. — GRAY, J.: Ciliary movement. Cambridge, University Press, 1928. — HEILBRUNN, L. V.: Reactions of various salts on the first state of the surface precipitation in *Arbacia* at eggs and protoplasm. *Protoplasma* **11**, 558—573, 1930. — HEILBRUNN, L. V.: An outline of general physiology. Philadelphia, W. B. Saunders Company, Third Edition, 1953. — HENDERSON, J. T.: Lethal temperatures of Lamellibranchiata. *Contr. Canad. Biol. Fish., N. S.*, **4**, 397—411, 1929. — KINNE, O.: Untersuchungen über den Einfluß des Salzgehaltes auf die Hitzeresistenz von Brackwassertieren. *Zool. Anz.* **152**, 10—16, 1954. — KOWALSKI, R.: Untersuchungen zur Biologie des Seesternes *Asterias rubens* L. in Brackwasser. *Kieler Meeresforschungen* **11**, 201—213, 1955. — LOEB, J. and WASTENEYS, H.: On the adaption of fish (*Fundulus*) to higher temperatures. *Jour. exp. Zool.* **12**, 543—557, 1912. — OESTING, R. and ALLEE, W. C.: Further analysis of the protective value of biologically conditioned fresh water for the marine Turbellarian, *Procerodes wheatlandi*. IV. The effect of Calcium. *Biol. Bull., Woods Hole*, **68**, 314—326, 1935. — PILGRIM, R. L. C.: Osmotic relations in molluscan contractile tissues. II. Isolated gill preparations from Lamellibranchs (*Mytilus edulis* L., *Ostrea edulis* L., *Anodonta cygnea* L.). *Jour. exp. Biol.*, **30**, 318—330, 1953. — SCHLIEPER, C.: Die Brackwassertiere und ihre Lebensbedingungen, vom physiologischen Standpunkt aus betrachtet. *Verhandlg. Int. Ver. theor. u. angew. Limnologie* **6**, 113—146, 1932. — SCHLIEPER, C.: Neuere Ergebnisse und Probleme aus dem Gebiet der Osmoregulation wasserlebender Tiere. *Biol. Rev., Cambridge*, **10**, 334—360, 1935. — SCHLIEPER, C.: Versuch einer physiologischen Analyse der besonderen Eigenschaften einiger eurythermer Wassertiere. *Biol. Zbl.* **71**, 449—461, 1952. — SCHLIEPER, C.: Über die physiologischen Wirkungen des Brackwassers (Nach Versuchen an der Miesmuschel *Mytilus edulis*). *Kieler Meeresforschungen* **11**, 22—33, 1955. — SCHLIEPER, C. et alii: Experimentelle Veränderungen der Temperaturtoleranz bei stenothermen und eurythermen Wassertieren. *Zool. Anz.*, **149**, 163—169, 1952. — SCHMITT, E.: Über das Verhalten von Süßwasserplanarien (*Planaria gonocephala* DUGES und *Pl. lugubris* O. SCHMIDT) in Brackwasser. *Kieler Meeresforschungen* **11**, 48—58, 1955. — VÄLIKANGAS, I.: Über die Biologie der Ostsee als Brackwassergebiet. *Verh. internat. Ver. theoret. u. angew. Limnol.* **6**, 62—112, 1933. — WAEDE, M.: Beobachtungen zur osmotischen und thermischen Resistenz der Scholle (*Pleuronectes platessa*) und Flunder (*Pleuronectes flesus*). *Kieler Meeresforschungen* **10**, 58—67, 1954. — WEIL, E. and PANTIN, C. F. A.: The adaption of *Gunda ulvae* to salinity. 2. The water exchange. *Jour. exp. Biol.*, **8**, 73—81, 1931. — WELLS, G. P., LEDINGHAM, I. C. and GREGORY, M.: Physiological effects of a hypotonic environment. II. Shock effects and accommodation in cilia (Pleurobrachia, *Mytilus*, *Arenicola*), following sudden salinity change. *Jour. exp. Biol.* **17**, 378—385, 1940. — WITTIG, H.: Über die Verteilung des Kalziums und der Alkalinität in der Ostsee. *Kieler Meeresforschungen* **3**, 460—496, 1940.