

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.

Atmungsmessungen an Geweben und Gewebehomogenaten der Miesmuschel (*Mytilus edulis* L.) aus Brack- und Meerwasser¹⁾

VON PETER ERMAN

Zusammenfassung: Das isolierte Kiemengewebe von *Mytilus edulis* (Ostsee-Exemplare) aus Brackwasser von 15‰ S hat einen um etwa 50% höheren Sauerstoffverbrauch als das gleiche Gewebe von Nordsee-Exemplaren aus Meerwasser von 30‰ S. Das isolierte Mantelrandgewebe der Ostsee-Exemplare hat einen um etwa 10% höheren Sauerstoffverbrauch. Die Pericardialdrüsen von Ostsee-Exemplaren haben den gleichen Sauerstoffverbrauch wie die von Nordsee-Exemplaren. — Nach Überführung von Ostsee-Exemplaren in normales Meerwasser nimmt der Sauerstoffverbrauch des Kiemengewebes ab. — Durch Zusatz von Glucose, Succinat, Pyruvat und Malat zum Atmungsmedium wird der Sauerstoffverbrauch des überlebenden Gewebes (Kiemen, Mantelrand) gesteigert. — Der respiratorische Quotient des isolierten Kiemengewebes beträgt in reinem Meerwasser 0,76 bis 0,78. Nach Zugabe von Glucose zum Medium beträgt er 0,90. — Das Kiemengewebe kleiner Muscheln hat einen höheren Sauerstoffverbrauch als das großer Individuen. Zusatz von Glucose erhöht die Gewebeatmung bei kleinen Muscheln stärker als bei größeren Individuen. — Das Homogenat des Kiemengewebes von Ostsee-Exemplaren hat, unabhängig von der osmotischen Konzentration des Atmungsmediums, einen höheren Sauerstoffverbrauch als das von Nordsee-Exemplaren. Nach Anpassung von Nordsee-Exemplaren an Brackwasser ist der Sauerstoffverbrauch ihres Kiemenhomogenates erhöht. Das Homogenat der Mitteldarmdrüsen von Nord- und Ostsee-Exemplaren hat den gleichen Sauerstoffverbrauch. — Die Dehydrogenasenaktivität des Kiemenhomogenates von Ostsee-Exemplaren ist um 60% größer als die von Nordsee-Exemplaren. Nach Anpassung der Nordsee-Exemplare an Brackwasser ist die Dehydrogenasenaktivität des Kiemenhomogenates erhöht.

Respiration of tissues and tissue homogenates of *Mytilus edulis* from brackish water and sea water: (Summary): The isolated gills of *Mytilus edulis* (Baltic specimens) from brackish water of 15‰ salinity consume about 50% more oxygen than the same tissue of North Sea specimens from normal sea water of 30‰ salinity. The isolated mantle margin of Baltic specimens needs about 10% more oxygen. The pericardial glands of Baltic specimens have the same oxygen consumption than those of North Sea specimens. After transferring Baltic specimens to normal sea water the respiration of the gill tissue decreases. — By adding glucose, succinate, pyruvate and malate to the medium the oxygen consumption of the surviving tissue (gills, mantle margin) is increased. — The respiratory quotient of the isolated gills amounts to 0,76—0,78. After addition of glucose it comes up to 0,90. — The gills of young mussels consume more oxygen than those of old individuals. The addition of glucose raises the tissue respiration of young mussels more than that of old ones. — The homogenate of gills of Baltic specimens has, without being influenced by the osmotic concentration of the medium, a higher oxygen consumption than that of North Sea specimens. After adapting North Sea specimens to brackish water the oxygen consumption is increased. The homogenate of the "liver" of North Sea and Baltic mussels have the same oxygen consumption. — The dehydrogenase activity of the gill homogenate of Baltic specimens is 60% higher than that of North Sea specimens. After adapting North Sea specimens to brackish water the activity of the gill homogenate is increased. —

A. Einleitung

Im Rahmen der in den letzten Jahren am Institut für Meereskunde der Universität Kiel (siehe SCHLIEPER 1958) durchgeführten vergleichenden Untersuchungen der Aktivität von Meerestieren in Brack- und Meerwasser, befaßt sich diese Arbeit mit der Atmung einzelner Gewebeverbände und Gewebehomogenate von *Mytilus edulis* L. aus der Nordsee (30—32‰ S) und aus der westlichen Ostsee (15‰ S).

Die Miesmuschel *Mytilus edulis* verhält sich im Brackwasser, d. h. in verdünntem Meerwasser, poikilosmotisch. Das Innenmedium hat auch bei Exemplaren, die an Brackwasser angepaßt sind, die gleiche osmotische Konzentration wie das Außenmedium (SCHLIEPER 1929).

¹⁾ Gekürzte Fassung der Dissertation des Verfassers (Kiel, Phil. Fak. 1961).

In früheren Versuchen an ganzen Exemplaren von *Mytilus edulis* var. *galloprovincialis* aus Meerwasser von etwa 33‰ S wurde gefunden, daß der Sauerstoffverbrauch ganzer Tiere nach Überführung in Meerwasser von höherem Salzgehalt abnimmt. Nach Anpassung an niedrigeren Salzgehalt (d. h. an 24--28‰ S) ist der Sauerstoffverbrauch geringfügig erhöht; bei weiterer Verdünnung des Meerwassers nimmt er jedoch wieder ab (BOUXIN 1931). — *Mytilus edulis* aus der Barentsee hat bei etwa 33‰ Salzgehalt den höchsten Sauerstoffverbrauch. Nach Überführung in Meerwasser von geringeren Salzgehalten nimmt der Sauerstoffverbrauch ab. Bei 10‰ Salzgehalt des Meerwassers ist er weniger als $\frac{1}{4}$ so groß wie ursprünglich. Umgekehrt nimmt aber auch der Sauerstoffverbrauch von Brackwasser-Exemplaren aus der östlichen Ostsee (6‰ S) nach Überführung in Meerwasser höheren Salzgehaltes ab (BELIAEV und Tschugunova 1952). Dagegen steigt der Sauerstoffverbrauch des isolierten Kiemengewebes von Exemplaren aus normalem Meerwasser (30‰ S) nach Überführung derselben in Brackwasser (15‰ S) beträchtlich und zwar in dem gleichen Maße, wie er nach Überführung von Brackwassermuscheln in normales Meerwasser abnimmt (SCHLIEPER 1955).

Die vorliegende Arbeit soll den Mechanismus der intensiveren Atmung des Kiemengewebes von Brackwasserexemplaren im einzelnen analysieren. Insbesondere soll untersucht werden, ob der größere Sauerstoffverbrauch des Kiemengewebes in Brackwasser auf einer erhöhten Konzentration oder Aktivität der bei der Atmung beteiligten Enzyme beruht.

Die Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Dr. C. SCHLIEPER im Institut für Meereskunde der Universität Kiel durchgeführt.

B. Material und Methoden

1. Material

Die für die Versuche benötigten Nordsee-Miesmuscheln lieferte die Biologische Anstalt Helgoland in List auf Sylt; die Ostsee-Miesmuscheln stammten aus der Kieler Förde.

Die Länge der Tiere betrug 5—8 cm. Es wurde ferner noch die Atmung kleiner ca. 3 cm langer Miesmuscheln aus der Ostsee untersucht.

Die Muscheln waren bis zu den Versuchen in mit Sandfiltern versehenen, belüfteten Seewasseraquarien. Die Temperatur in den Aquarien lag im Winter und Herbst um 10° C und im Sommer um 15° C. Entsprechend den mittleren Salzgehalten der Nordsee und der Ostsee betragen die Salzgehalte in den Aquarien für Nordseetiere 30‰ und für Ostseetiere 15‰.

Die Einstellung des Ostseewassers auf einen Salzgehalt von 15‰ erfolgte durch Verdünnen des Wassers aus der Kieler Förde mit Leitungswasser bzw. durch Aufsalzen mit den entsprechenden Salzen. Seewasser von 30‰ Salzgehalt wurde durch Auflösen der fehlenden Salze in Ostseewasser hergestellt.

2. Methoden

Das Gewebe wurde erst unmittelbar vor den Messungen aus den Muscheln herauspräpariert. Es kam nur Gewebe von Tieren, die „normal“ reagierten zur Verwendung, d. h. von Miesmuscheln, deren Fuß und Mantelrand sich bei Berührung kontrahierten. Die Atmungsmessungen am ganzen Gewebe wurden mit Warburgs direkter Methode an Kiemenstücken, klein geschnittenem Mantelrand und Pericardialdrüsen durchgeführt. Die Menge Meerwasser in den Gefäßen betrug 2 ml; das Kiemen- bzw. das Mantelrandgewebe für jeden Versuch entsprach ca. 100 mg Frischgewicht. Der pH-Wert des Seewassers betrug ca. 7,8. Die Manometer wurden bis zum Temperatenausgleich geschüttelt (ca. 15 Minuten). Bei Atmungsmessungen mit Sauerstoff als Gasphase erfolgte

vor den Versuchen, während die Manometer an die Temperatur des Wasserbades angepaßt wurden, das Durchspülen der beschickten Manometer mit Sauerstoff. Durch jedes Warburggefäß wurden ca. 1,5 l Sauerstoff geleitet.

Die Messung der Atmung des isolierten Gewebes erstreckte sich über 2 Stunden bei halbstündlicher Ablesung. Wegen der anfänglich hohen und später schnell abfallenden Atmung der Gewebematen erfolgte bei diesen Versuchen die erste Ablesung bereits nach 5 Minuten bei einer Untersuchungsdauer von einer halben Stunde.

Der Sauerstoffverbrauch der isolierten Gewebe wurde auf das Trockengewicht bezogen. Die Trocknung erfolgte bei 102° C zwei Stunden lang bis zur Gewichtskonstanz.

Bei den Versuchen mit Gewebs-Homogenaten beziehen sich sowohl die mit der Warburg- als auch die mit der Thunberg-Methode gefundenen Stoffwechselwerte auf den Eiweißgehalt.

Die Eiweißbestimmungen erfolgten nach Kjeldahl (SCHLIEPER, Zoophysiol. Praktikum, 1955, S. 17). Es wurden bei jedem Versuch 2 Proben von 1,5 ml Homogenat (ca. 30 mg Eiweiß) genommen.

Der Proteingehalt wurde berechnet durch Multiplikation des für Stickstoff gefundenen Wertes mit 6,25.

Geeicht wurde die Methode mit Ammoniumchlorid (p. A.). Die Genauigkeit der Stickstoffbestimmung beträgt $\pm 2\%$. Um Stoffwechsellmessungen an den Kiemen und am Homogenat der Kiemen miteinander vergleichen zu können, wurde der Eiweißgehalt von in aqua dest. abgespülten und bei 102° C getrockneten Kiemen bestimmt.

Für Nordseetiere ergibt der Mittelwert aus 8 Bestimmungen für 100 mg Trockengewicht $74,1 \pm 1,3$ mg Eiweiß. Der Mittelwert aus 10 Bestimmungen am Kiemengewebe der Ostseetiere ergibt für 100 mg Trockengewicht $74,0 \pm 0,7$ mg Eiweiß. Weil statisch kein Unterschied zwischen den beiden Werten vorliegt, wurde der Mittelwert genommen. Er beträgt für 100 mg Trockengewicht der Kiemen $74,1 \pm 0,6$ mg Eiweiß.

Im Kiemengewebe sind Stützlamellen aus Gerüsteiweiß eingebaut. Bei homogenisierten Kiemen bleiben diese als Rückstand übrig. Die Menge der Gerüstsubstanz beträgt $7,2 \pm 1,3$ mg von 100 mg des Trockengewichtes der Kiemen. 94% der trockenen Gerüstsubstanz bestehen aus Eiweiß. 67,4 mg Eiweiß des Homogenats entsprechen also 100 mg Trockengewicht der Kiemen, bzw. 100 mg Eiweiß des Homogenats entsprechen 148,5 mg Trockengewicht der Kiemen.

Homogenate wurden aus isolierten Kiemen und isolierten Mitteldarmdrüsen bei Eiskühlung mit einem Glashomogenisator nach Potter hergestellt. Verdünnungsmedien für die Homogenatherstellungen waren eine Lösung mit KCl + KHCO_3 und eine Lösung, deren quantitative Zusammensetzung der Kationenrelation (Na, K, Mg, Ca) im Schalenschließmuskel von *Mytilus edulis* aus der Nord- und Ostsee entspricht. Bei den zuletzt genannten Lösungen lagen die Salze als Chloride und als Bikarbonat vor (vgl. auch S. 11).

Zum Homogenisieren wurden gleiche Mengen Gewebe mit gleichen Lösungsmengen vermischt. Für die Atmungsmessungen wurden 2,5 ml Homogenat mit der Lösung auf das doppelte Volumen verdünnt. Bei stärkerer Verdünnung der Homogenate liegen die für den Stoffwechsel notwendigen Fermente in einer zu geringen Konzentration vor, die nicht mehr reicht, um die Atmung des Homogenates zu gewährleisten.

3. Auswertung der Versuchsergebnisse

Die zu den Mittelwerten gehörigen mittleren Fehler wurden nach der Methode der kleinsten Quadrate von Gauss berechnet. Der mittlere Fehler des Respiratorischen Quotienten wurde als Fehler eines zusammengesetzten Ergebnisses (aus dem O_2 -Verbrauch und der CO_2 -Abgabe) berechnet (WESTPHAL 1948). Die Sicherung der Differenz

der Respiratorischen Quotienten geschah nach der üblichen Methode (SCHLIEPER, Zoophysiol. Praktikum, 1955). Bei den übrigen Mittelwerten der miteinander verglichenen Versuchsreihen wurde die Methode der t-Verteilung nach K. PÄTAU (1943) angewandt. In den Tabellen wird P angegeben. $1 - P$ ist ein Maß für die statistische Sicherung der Differenz ($\bar{x} - \bar{X}$) zweier Versuchsreihen.

Es gilt:

- P > 0,05: Die Differenz ist ein reines Zufallsergebnis.
 P 0,05 — 0,01: Zweifel an der Nullhypothese sind begründet.
 P 0,01 — 0,0027: Die Differenz ist schwach gesichert.
 P < 0,0027: Die Differenz ist gut gesichert.

C. Die Atmung isolierter Gewebe

1. Vergleich der Atmung isolierter Gewebe verschiedener Organe

Untersucht wurde die Atmung der Kiemen, des Mantelrandes und der Pericardialdrüsen (bei 15° C). Bei den Kiemen und beim Mantelrand wurde der Sauerstoffverbrauch mit Luft und mit Sauerstoff als Gasphase, bei den Pericardialdrüsen nur mit Sauerstoff als Gasphase gemessen. Die mit Luft als Gasphase am Kiemengewebe gemachten Messungen sind eine Wiederholung früherer Versuche (s. SCHLIEPER 1953, 1955). Beim Kiemengewebe ist die Intensität der Atmung in der zweiten Stunde annähernd gleich der Intensität in der ersten Stunde.

Die Atmung des isolierten Mantelrandes ist auch nach zwei Stunden noch nicht vermindert. Mantelrand, der in belüftetem Seewasser überlebte, zeigte noch zwei Tage nach der Präparation den gleichen Sauerstoffverbrauch. Dies wurde am Mantelrand von Tieren aus List (Nordsee) festgestellt. Die Gasphase bei den Versuchen war O₂.

Einen Überblick über die Atmungsintensität der Gewebe der Nord- und Ostseetiere geben Abbildung 1 und Tabelle 1.

Tabelle 1

Vergleich der Atmung (mm³ O₂/h · 100 mg Trg.) isolierter Gewebe verschiedener Organe von *Mytilus edulis* in Seewasser bei 15° C

Herkunft, Salzgehalt	Gasphase	mm ³ O ₂	Zahl der Versuche (der Tiere)	P
a) Kiemen				
Nordsee 30‰	Luft	96 ± 2	61 (50)	< 0,0002
Ostsee 15‰	Luft	142 ± 2	65 (50)	
Nordsee 30‰	O ₂	113 ± 2	42 (31)	< 0,0002
Ostsee 15‰	O ₂	152 ± 3	72 (82)	
b) Mantelrand				
Nordsee 30‰	Luft	50 ± 1	46 (23)	< 0,0002
Ostsee 15‰	Luft	56 ± 1	72 (48)	
Nordsee 30‰	O ₂	49 ± 1	68 (40)	< 0,0002
Ostsee 15‰	O ₂	61 ± 1	100 (86)	
c) Pericardialdrüsen				
Nordsee 30‰	O ₂	126 ± 5	6 (17)	
Ostsee 15‰	O ₂	126 ± 3	8 (40)	

Isoliertes Kiemengewebe von *Mytilus edulis* aus der Ostsee (Kiel) hat in Brackwasser von 15‰ S einen höheren Sauerstoffverbrauch als das von *Mytilus edulis* aus der Nordsee (List) in Seewasser von 30‰. Bei 15° C liegt die Atmung der Kiemen der Ostseetierr bei den Versuchen mit Luft als Gasphase 48% und bei den Versuchen mit Sauerstoff als Gasphase 35% höher als die Atmung der Kiemen der Nordseetierr. In beiden Fällen ist die Atmungssteigerung signifikant (s. auch SCHLIEPER 1955).

Beim Mantelrand findet man die höhere Atmung ebenfalls bei den Ostseetierr. Die Atmung des Mantelrandes der Ostseetierr ist bei 15° C mit Luft als Gasphase 12%, mit Sauerstoff als Gasphase 22% größer als die der Nordseetierr.

Der Stoffwechsel der isolierten Pericardialdrüsen hat bei Nord- und Ostseetierr die gleiche Intensität.

2. Der Einfluß verschiedener Salzgehalte auf die Gewebeatmung

In einer weiteren Versuchsserie wurde der Gaswechsel der Kiemen bei Nord- und Ostseetierr in Abhängigkeit vom Salzgehalt bei 15° C untersucht. Die Messungen bei 30‰ wurden mit Nordseetierr, die bei 10, 15, 20 und 25‰ Salzgehalt mit Ostseetierr durchgeführt. Vor den Versuchen lebten die Ostseetierr für die Messungen bei Salzgehalten von 10, 20 und 25‰ in Aquarien mit jeweils gleichem Salzgehalt 1 bis 2 Wochen zur Anpassung.

Eine Übersicht der Ergebnisse gibt die Tabelle Nr. 2. Die Befunde bei 15 und 30‰ Salzgehalt sind aus Tabelle Nr. 1 übernommen.

Tabelle 2

Einfluß des Salzgehaltes auf die Atmung ($\text{mm}^3 \text{O}_2/\text{h} \cdot 100 \text{mg Trgw.}$) des Kiemengewebes von *Mytilus edulis* bei 15° C (Gasphase Luft)

Herkunft	Salzgehalt	$\text{mm}^3 \text{O}_2$	Zahl der Versuche (der Tiere)
Ostsee	10‰	136 ± 5	7 (6)
Ostsee	15‰	142 ± 2	65 (50)
Ostsee	20‰	133 ± 6	14 (9)
Ostsee	25‰	116 ± 2	14 (9)
Nordsee	30‰	96 ± 2	61 (50)

Vergleicht man die Ergebnisse der Tabelle 2 untereinander, so sieht man zwischen den Salzgehalten von 15‰ bis 30‰ eine stetige Abnahme der von gleichen Mengen Kiemengewebe verbrauchten Menge Sauerstoff. Der Sauerstoffverbrauch der Ostseetierr in Seewasser von 15‰ Salzgehalt ist um 47% gegenüber dem Sauerstoffverbrauch der Kiemen der Nordseetierr aus Seewasser von 30‰ gesteigert. Dieser Unterschied ist signifikant. Auch die geringeren Unterschiede zwischen dem Sauerstoffverbrauch der Kiemen bei 20, 25 und 30‰ Salzgehalt sind signifikant.

Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 1)

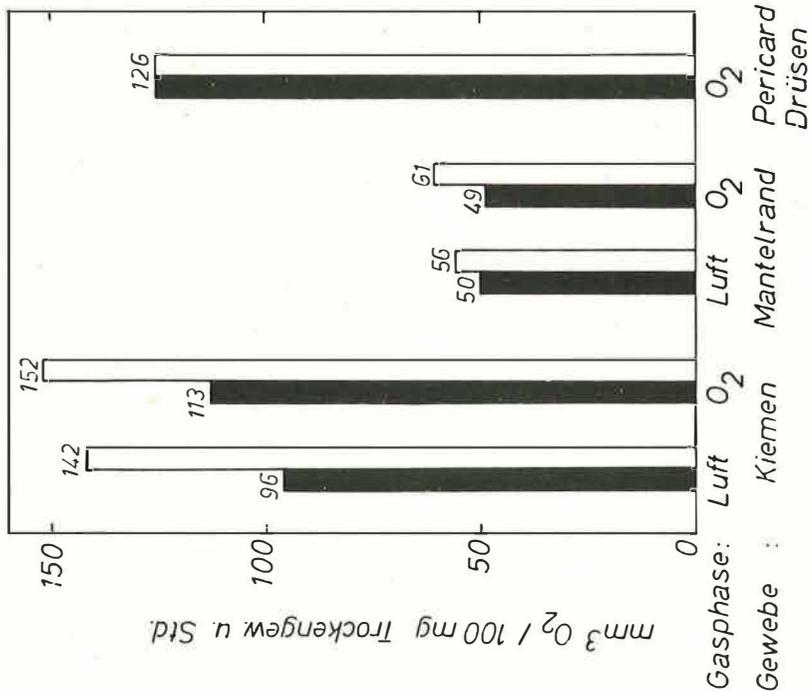
Abb. 1: Vergleich der Atmung isolierter überlebender Gewebe von *Mytilus edulis* aus der Nordsee und der Ostsee, in Meervasser von 30‰ S bzw. in Brackwasser von 15‰ S.

Abb. 2: Der Sauerstoffverbrauch des Kiemenhomogenates von *Mytilus edulis* in Abhängigkeit von der Salzkonzentration des Herkunftsmediums bzw. des Adaptationsmediums (Warburgmessungen in reiner Kaliumsalzlösung).

Abb. 1

Atmung isolierter Gewebe von *Mytilus edulis*

■ Nordsee-Mytilus in 30‰ S } bei 15°C
 □ Ostsee-Mytilus in 15‰ S }



Tafel 1 (zu P. Erman)

Abb. 2

O₂-Verbrauch des Kiemenhomogenates von *Mytilus edulis* bei 15°C
 (Medium: 4.693g KCl + 50mg KHCO₃/l)

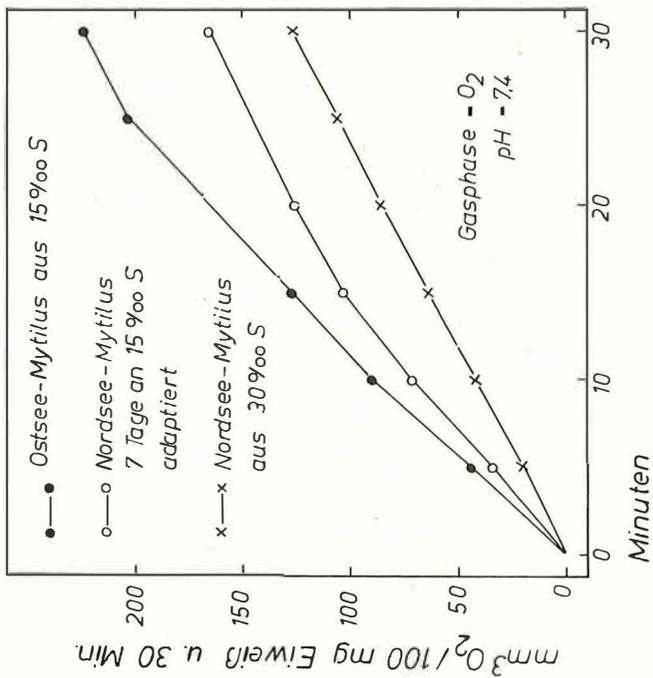


Abb. 3

O₂-Verbrauch des Kiemenhomogenates
von *Mytilus edulis* bei 0° und 15° C

(Medium: 4.12g KCl+1.17g KHCO₃/l)
1 Teil Gewebe + 3 Teile Medium

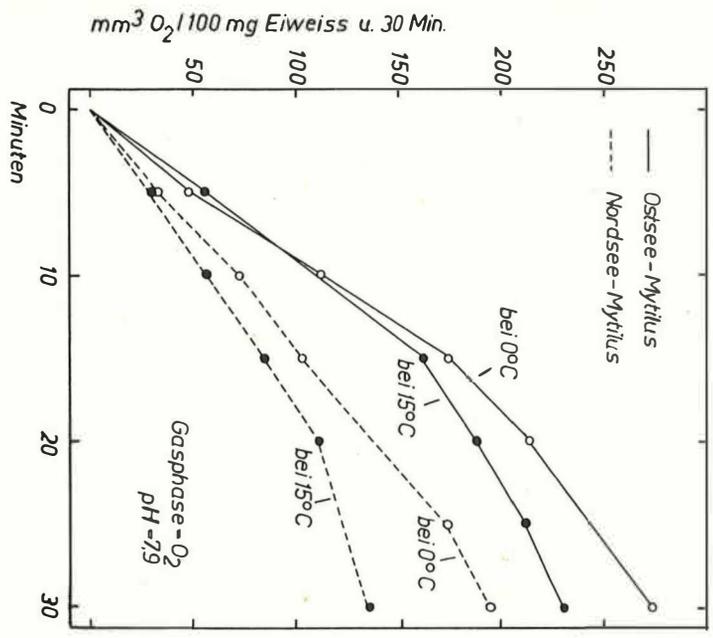
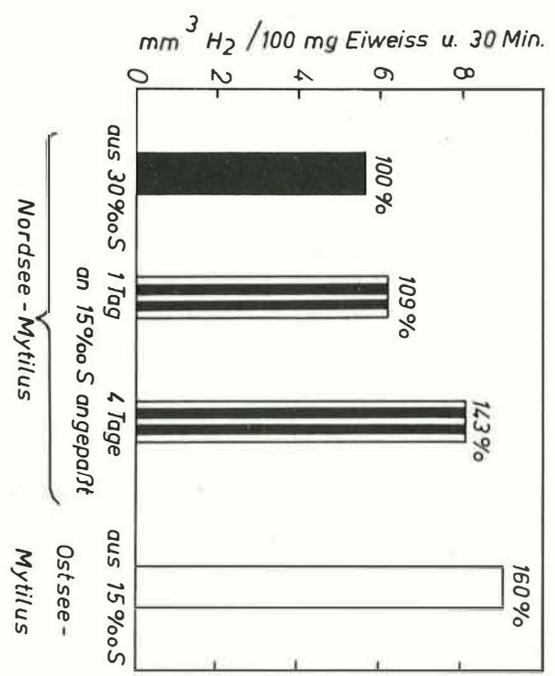


Abb. 4
Dehydrogenasen-Aktivität
des Kiemenhomogenates von *Mytilus edulis*
bei 15° C



Tafel 2 (zu P. Erman)

3. Vergleich der Wirkung einfacher Kohlehydrate auf die Atmung isolierter Gewebe

Parallel zu den oben beschriebenen Versuchen bei verschiedenem Salzgehalt wurde die Wirkung von Glucose (Konzentration 200 mg/l Seewasser) bei 15° C auf die Atmung des Kiemengewebes von Nord- und Ostseemuscheln bei Salzgehalten von 30‰ und 15‰ untersucht (s. Tabelle 3). Der Sauerstoffverbrauch wird durch Glucose bei dieser Temperatur bei den Kiemen der Nordseetiere um 14%, und bei den Kiemen der Ostseetiere um 8% gesteigert. Sowohl bei den Kiemen der Nordsee- als auch bei denen der Ostseetiere ist die durch Glucose erreichte Atmungssteigerung signifikant. Bei 10° C bringt Glucose (Konzentration 200 mg/l Seewasser) beim Kiemengewebe der Ostseetiere in Seewasser von 15‰ Salzgehalt keine Erhöhung der Atmung. Der Grund ist wohl darin zu sehen, daß bei 10° C der Stoffwechsel des Kiemengewebes in diesen Versuchen um 46% niedriger ist als bei 15° C. Die Konzentration der im Gewebe vorhandenen Zellnährstoffe könnte bei 10° C fast optimal für den bei dieser Temperatur vorhandenen Stoffwechsel sein. Zusätzlich von außen zugefügte Glucose würde dann bei der niedrigeren Temperatur keine Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs bringen.

In weiteren Versuchen wurde die Wirkung von Glucose, Na-Pyruvat, d,l-Na-Malat und Na-Succinat auf die Atmung der isolierten Kiemen von *Mytilus edulis* untersucht (s. Tabelle 4).

Tabelle 3

a) Wirkung von Glucose auf den Sauerstoffverbrauch ($\text{mm}^3 \text{O}_2/\text{h} \cdot 100 \text{ mg Trgw.}$) des Kiemengewebes von Nordseemuscheln in Seewasser von 30‰ und des von Ostseemuscheln in Seewasser von 15‰ Salzgehalt bei 15° C (Gasphase Luft).

Herkunft	200 mg/l Glucose (ca. 1 mMol)	$\text{mm}^3 \text{O}_2$	Zahl der Versuche (der Tiere)	P
Nordsee 30‰	—	96 ± 2	61 (50)	< 0,0002
	+	109 ± 3	12 (11)	
Ostsee 15‰	—	142 ± 2	65 (50)	= 0,0014
	+	153 ± 3	29 (24)	

b) Sauerstoffverbrauch des Kiemengewebes von *Mytilus edulis* aus der Ostsee (Kiel) in Seewasser von 15‰ bei 10° C.

Ostsee 15‰	—	94 ± 4	10 (18)	= 0,74
	+	96 ± 3	15 (10)	

Bei Versuchen *in vitro* kann die Sauerstoffaufnahme eines isolierten Gewebes durch ein zum Medium zugegebenes Substrat als Wasserstoffdonator vergrößert werden. Voraussetzung für eine so zu erreichende Steigerung des Gewebestoffwechsels ist das Vorkommen des für den Abbau dieses Substrates spezifischen Enzyms im Gewebe.

Legende zu den nebenstehenden Abbildungen (Tafel 2)

Abb. 3: Vergleich des Sauerstoffverbrauches des Kiemenhomogenates von *Mytilus edulis* bei 0° C und 15° C (Warburgmessungen in reinen Kaliumsalzlösungen).

Abb. 4: Vergleich der unter anaeroben Bedingungen gemessenen Dehydrogenasenaktivität des Kiemenhomogenates von *Mytilus edulis* aus der Nordsee und der Ostsee (Thunbergversuche).

JODREY und WILBUR (1955) zeigten, daß Brenztraubensäure und Stoffe des Citronensäurecyklus den Stoffwechsel des isolierten Mantels der Auster erhöhen. Die Messungen wurden mit der Warburg-Apparatur bei 25° C durchgeführt. Alle Substrate wurden in Seewasser gelöst. Vor Versuchsbeginn wurde Sauerstoff durch die Warburggefäße geleitet. So wurde erreicht, daß der gemessene Sauerstoffverbrauch den Maximalwert darstellt, der bei Zugabe eines Substrates erzielt werden kann.

Die meisten Versuche wurden mit Ostseetieren durchgeführt. Nur bei den Versuchen mit Na-Succinat als Substrat wurde Kiemengewebe von Nordsee- und Ostseetieren untersucht.

Anschließend an die Untersuchung einfacher Kohlehydrate auf die Atmung der Kiemen wurden gleiche Versuche mit isolierten Mantelrandstücken durchgeführt. Zur Verwendung kamen hierbei Glucose, d,l-Na-Malat und Na-Succinat. Die Durchführung der Versuche ist die gleiche wie bei den Messungen am Kiemengewebe. Es wurde die Atmung des isolierten zerkleinerten Mantelrandes bei 15° C untersucht.

Tabelle 4

Vergleich der Wirkung von Glucose, Na-Pyruvat, d,l-Na-Malat und Na-Succinat auf die Atmung ($\text{mm}^3 \text{O}_2/\text{h} \cdot 100 \text{ mg Trgw.}$) des Kiemengewebes von *Mytilus edulis* bei 15° C (Gasphase O_2).

mMol/l Substrat	$\text{mm}^3 \text{O}_2$	Zahl der Versuche (der Tiere)	Steigerung der Atmung in %	P
a) Nordsee-Wasser 30‰				
—	111 ± 4	9 (4)		
5 mMol Succinat	152 ± 6	9	37	< 0,0002
—	107 ± 4	8 (4)		
50 mMol Succinat	164 ± 6	9	53	< 0,0002
b) Ostsee-Wasser 15‰				
—	152 ± 3	72 (82)		
50 mMol Glucose	166 ± 4	14 (15)	9	= 0,04
—	158 ± 5	17 (18)		
50 mMol Pyruvat	197 ± 9	17	25	= 0,0009
—	148 ± 14	6 (11)		
10 mMol Malat	172 ± 13	5	16	= 0,25
—	159 ± 7	6 (7)		
50 mMol Malat	200 ± 8	6	26	= 0,0024
—	134 ± 5	6 (6)		
5 mMol Succinat	162 ± 8	7	21	= 0,02
—	125 ± 6	6 (6)		
50 mMol Succinat	183 ± 13	6	46	= 0,003

Vorversuche mit Glucose (1 m Mol/l Seewasser) und Luft als Gasphase brachten bei 15° C keine Wirkung auf die Atmung des Mantelrandes der Ostsee- und Nordseetiere.

Diese Versuche wurden abgewandelt wiederholt, jetzt mit Sauerstoff als Gasphase und mit Glucose in einer Konzentration von 50 m Mol/l Seewasser (Tab. 5). Auch bei diesen Versuchen war keine Steigerung des Sauerstoffverbrauches des Mantelrandes zu beobachten.

Na-Succinat und d,l-Na-Malat bewirken beim isolierten Mantelrand der Nordsee- und Ostseetiere jeweils eine Steigerung der Atmung.

Tabelle 5

Vergleich der Wirkung von Glucose, Na-d,l-Malat und Na-Succinat auf die Atmung ($\text{mm}^3 \text{O}_2/\text{h} \cdot 100 \text{mg Trgw.}$) des isolierten Mantelrandes von *Mytilus edulis* aus der Nord- und Ostsee bei 15°C , Gasphase O_2 .

m Mol/l Substrat	$\text{mm}^3 \text{O}_2$	Zahl der Versuche (der Tiere)	Steigerung der Atmung in %	P
a) Nordsee 30‰				
—	49 ± 1	68 (40)		
50 mMol Glucose	49 ± 3	15 (9)		
—	53 ± 2	4 (4)		
5 mMol Malat	58 ± 3	4	9	= 0,24
—	53 ± 2	4 (4)		
50 mMol Malat	61 ± 5	4	15	= 0,2
—	56 ± 1	6 (3)		
0,5 mMol Succinat	66 ± 2	6	18	= 0,0035
—	53 ± 2	10 (6)		
5 mMol Succinat	73 ± 6	10	38	= 0,004
—	50 ± 4	8 (6)		
50 mMol Succinat	76 ± 6	10	52	= 0,0027
b) Ostsee 15‰				
—	61 ± 1	100 (86)		
50 mMol Glucose	60 ± 3	13 (12)		
—	63 ± 5	4 (7)		
10 mMol Malat	70 ± 5	4	11	= 0,36
—	66 ± 2	10 (16)		
50 mMol Malat	77 ± 2	11	17	= 0,0015
—	58 ± 2	6 (3)		
0,5 mMol Succinat	68 ± 5	6	17	= 0,11
—	57 ± 2	13 (6)		
5 mMol Succinat	79 ± 2	14	39	< 0,0002
—	57 ± 3	6 (3)		
50 mMol Succinat	89 ± 4	6	56	< 0,0002

4. Der respiratorische Quotient der Atmung des Kiemengewebes

Der respiratorische Quotient wird berechnet aus dem Verhältnis der freigesetzten Menge Kohlendioxyd zur verbrauchten Menge Sauerstoff ($RQ = \text{CO}_2/\text{O}_2$). Die Menge des ausgeschiedenen Kohlendioxyds wurde indirekt mit Warburgmanometern bestimmt.

Gleichzeitig wurden neben den Messungen des QO_2 (hier sind im Ansatz des Warburggefäßes 0,2 ml 15%ige KOH auf Filterpapier zur Bindung des entstehenden Kohlendioxyds) mit Gewebe derselben Tiere Messungen ohne KOH im Ansatzgefäß durchgeführt. Bei den letzteren Versuchen setzt sich die zu beobachtende Drucksenkung aus

dem Sauerstoffverbrauch und der entstehenden Menge CO_2 zusammen ($\text{CO}_2 - \text{O}_2$). Durch Addition der verbrauchten Menge O_2 erhält man die entstandene Menge CO_2 (s. Tabelle 6).

Der so bestimmte respiratorische Quotient bei 15°C für das Kiemengewebe der Nordseetiere ist $0,78 \pm 0,04$ und für die Kiemen der Ostseetiere ist er $0,76 \pm 0,02$.

Am Kiemengewebe der Ostseetiere wurde ferner der respiratorische Quotient bei 15°C bei Gegenwart von Glucose (Konzentration 200 mg/l Seewasser) gemessen.

Der erhaltene R.Q. = $0,90 \pm 0,02$ unterscheidet sich deutlich von dem Wert, der ohne Glucose erhalten wird. Dies zeigt genau wie die Erhöhung der Atmung nach Zusatz von Glucose, daß der zugegebene Nährstoff von der Zelle aufgenommen und verarbeitet wird, da eine zusätzliche Veratmung von Kohlehydrat sich in der Steigerung des respiratorischen Quotienten bemerkbar macht.

Tabelle 6

Respiratorischer Quotient (RQ) der Atmung ($\text{mm}^3 \text{O}_2/\text{h}$ 100 mg Trgw.) des Kiemengewebes von *Mytilus edulis* bei 15°C (Gasphase Luft).

200 mg Glucose/l (ca. 1 mMol)	$\text{mm}^3 \text{O}_2$	$\text{mm}^3 (\text{CO}_2 - \text{O}_2)$	Zahl der Versuche (der Tiere)	RQ
Nordsee 30‰ —	89 ± 5	20 ± 2	je 12 (11)	$0,78 \pm 0,4$
Ostsee 15‰ —	144 ± 5	35 ± 2	je 12 (11)	$0,76 \pm 0,2$
+	157 ± 6	16 ± 2	je 11 (11)	$0,90 \pm 0,2$

5. Die Atmung des Kiemengewebes von kleinen Ostseemuscheln

Anschließend an die Messung der Atmung von isolierten Kiemen großer Miesmuscheln (Länge 5—8 cm) wurde die Atmung der Kiemen kleiner Ostseemuscheln (Länge ca. 3 cm) untersucht (s. Tab. 8).

Unter gleichen Versuchsbedingungen ist die Atmung der Kiemen kleiner Ostseemuscheln deutlich höher als die Atmung der Kiemen großer Individuen vom selben Fangplatz.

Glucose (Konzentration 1 mMol/l Seewasser) bringt beim Kiemengewebe kleiner Ostseemuscheln eine Erhöhung der Atmung von 28%. Die Sauerstoffaufnahme des Kiemengewebes großer Ostseemuscheln wird durch die gleiche Glucose-Konzentration nur um 8% gesteigert.

Auf Grund des größeren Glucoseumsatzes der isolierten Kiemen bei den kleineren Ostseemuscheln ist anzunehmen, daß die Menge der Hexokinase in dem noch wachsenden Gewebe der kleinen Tiere (Länge ca. 3 cm) größer ist als in dem Kiemengewebe großer Ostseemuscheln (Länge 5—8 cm).

Tabelle 7

Atmung ($\text{mm}^3 \text{O}_2/\text{h}$ 100 mg Trgw.) des Kiemengewebes von kleinen Ostseemuscheln in Seewasser von 15‰ bei 10° und 15°C , Gasphase Luft.

200 mg Glucose/l (ca. 1 mMol)	$t^\circ \text{C}$	$\text{mm}^3 \text{O}_2$	Zahl der Versuche (der Tiere)	P
—	10	150 ± 8	6 (9)	= 0,026
—	15	169 ± 4	13 (28)	< 0,0002
+	15	209 ± 6	8 (18)	

D. Atmungsmessung von Gewebehomogenaten

1. Sauerstoffverbrauch der Homogenate isolierter Gewebe von *Mytilus edulis*

Der zweite Teil der Arbeit bringt Atmungsmessungen an Homogenaten der Kiemen und der Mitteldarmdrüsen von Nordsee- und Ostseetieren.

Homogenisiert wurde mit einem Glashomogenisator nach POTTER.

Der Sauerstoffverbrauch der Homogenate war unabhängig davon, welchen pH-Wert und welche Zusammensetzung die verwandte Suspensionslösung hatte.

Sowohl beim Homogenat aus Kiemen, als auch bei dem aus Mitteldarmdrüsen ist der Sauerstoffverbrauch größer als der des isolierten unzerstörten Gewebeverbandes. Nach ca. $\frac{1}{2}$ Stunde fällt der Sauerstoffverbrauch des Homogenates mit fortschreitender Versuchsdauer stark ab. Aus diesem Grund wurde die Atmung nur während der ersten 30 Minuten nach dem Beginn des Versuches gemessen. Der höhere Stoffwechsel eines Homogenates kann dadurch bedingt sein, daß die freigesetzten Enzyme und Substrate schneller reagieren als im Zellverband. In der Struktur des Gewebeverbandes sind diese Stoffe so geordnet, daß die Reaktionen nur so schnell ablaufen, wie es zur Aufrechterhaltung des lebensnotwendigen Stoffwechsels erforderlich ist. Die Intensität des Stoffwechsels des Zellverbandes ist abhängig von der Versuchstemperatur. Beim isolierten Gewebe ist der Sauerstoffverbrauch abhängig vom Energiebedarf des Zellverbandes, beim Homogenat wird der Verbrauch wahrscheinlich begrenzt sein von der Menge der Enzyme und Substrate, die zur gleichen Zeit miteinander reagieren können. Die Abnahme des Sauerstoffverbrauches der Homogenate mit fortschreitender Zeit ist durch autolytische Reaktionen und Inaktivierung von Fermenten zu erklären. Für diese Erklärung spricht, daß die Atmung eines Kiemenhomogenates bei den niedrigen Temperaturen 0° und 5° C mit fortschreitender Zeit weniger abnimmt als bei 15° C.

Auffällig ist, daß die während 30 Minuten Versuchsdauer verbrauchte Menge Sauerstoff bei 0° C größer ist als bei 15° C. Als Erklärung kann man annehmen, daß hier zwei temperaturabhängige Vorgänge vorliegen. Es wird bei 0° C der autolytische Zerfall von Fermenten geringer sein als bei 15° C. Eine erhöhte Reaktionsgeschwindigkeit pro unzerstörte Fermentmenge kann dann keinen erhöhten Sauerstoffverbrauch der Homogenatsuspension bewirken, wenn weniger Fermente am Umsatz beteiligt sind.

Der Sauerstoffverbrauch in 30 Minuten für 100 mg Trockengewicht beträgt für Kiemen von *Mytilus edulis* aus der Nordsee (List) $56,5 \text{ mm}^3 \text{ O}_2$ und für das Homogenat der Kiemen dieser Tiere $209 \text{ mm}^3 \text{ O}_2$; für Kiemen von *Mytilus edulis* aus der Ostsee (Kiel) beträgt er $76 \text{ mm}^3 \text{ O}_2$ und für das Homogenat der Kiemen dieser Tiere $325 \text{ mm}^3 \text{ O}_2$.

Unabhängig von diesen Versuchen wurde bei einzelnen Messungen bei 15° C die Wirkung einfacher Kohlehydrate auf die Atmung des Homogenates der Kiemen untersucht. Weder Glucose (conz. 10 m Mol/l) noch Na-Succinat (conz. 50 m Mol/l) hatten eine Wirkung auf die Atmung des Kiemenhomogenates von Ostseetieren, während die Atmung isolierter ganzer Kiemen dieser Tiere durch Na-Succinat signifikant gesteigert wurde.

Parallel zu Versuchen von C. SCHLIEPER 1955 (hier wurde die Atmung isolierter Kiemenstücke von Nordseemuscheln untersucht, die an Brackwasser angepaßt waren) wurde auch der Sauerstoffverbrauch des Kiemenhomogenates von an Brackwasser angepaßten Nordseemuscheln bestimmt (s. Tab. 8).

Die Anpassung erfolgte im Aquarium 7 Tage, und bei späteren Versuchen in einem Drahtkäfig in der Förde 7, 14 und 20 Tage lang. Die Anpassung in der Förde gewährleistet eine ausreichende Ernährung der Muscheln vor dem Versuch.

Kiemenhomogenat von diesen an Brackwasser adaptierten Nordseemuscln hat einen deutlich höheren Sauerstoffverbrauch als Kiemenhomogenat von Nordseemuscln, die in Seewasser von 30‰ gehalten wurden. Bei beiden durchgeföhrten Versuchsreihen ist die Atmungssteigerung nach Anpassung an Brackwasser signifikant.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von C. SCHLIEPER (1955) reicht die Anpassung von 20 Tagen nicht, um die Atmung des Kiemenhomogenates angepaßter Nordseemuscln auf die gleiche Höhe, wie die des Kiemenhomogenates von Ostseemuscln zu bringen.

Kiemenhomogenat von Nordseemuscln aus Seewasser von 30‰ S hat sowohl in einer Lösung die der Ionenzusammensetzung im Schließmuskel dieser Tiere als auch der im Schließmuskel von Ostseetieren entspricht und auch in einer dritten ungefähr 5%igen KCl, KHCO₃ Lösung einen unverändert gleichbleibenden Sauerstoffverbrauch. Das Milieu dieser drei Suspensionslösungen ist ohne Einfluß auf den Sauerstoffverbrauch des Homogenates.

Erst nach Anpassung des lebenden Organismus an Brackwasser wird ein erhöhter Sauerstoffverbrauch des Kiemenhomogenates beobachtet.

Der nach der Adaptation an Brackwasser an Kiemenhomogenat von Nordseemuscln zu beobachtende erhöhte Sauerstoffverbrauch ist nur durch eine während der Anpassung im Gewebe zunehmende Konzentration der Fermente zu erklären. Es ist anzunehmen, daß die Fermentkonzentration im Gewebe erst nach 4—6 Wochen Anpassung von *Mytilus edulis* aus der Nordsee an Brackwasser die Höhe erreicht hat, die man auch im Gewebe von Ostseetieren findet.

Tabelle 8

Sauerstoffverbrauch (mm³ O₂/30 Min. u. 100 mg Eiweiß) der Kiemenhomogenate von *Mytilus edulis* aus der Nordsee (List) und aus der Ostsee (Kiel) bei 15° C, Gasphase O₂, pH 7,4
Medium: a) 4,963 g KCl + 50 mg KHCO₃

		A)	B)
Na ⁺	(NaCl)	209 m Mol/l	109,5 m Mol/l
K ⁺	(KCl + 50 mg KHCO ₃)	137 „	82,4 „
Mg ⁺⁺	(MgCl ₂)	32 „	19,35 „
Ca ⁺⁺	(CaCl ₂)	6,17 „	3,85 „

Herkunft	Medium	mm ³ O ₂	Zahl der Versuche (der Tiere)	P
Nordsee	a)	127 ± 3	8 (19)	< 0,0002
Nordsee, 7 Tage an Brackwasser angepaßt	a)	165 ± 5	6 (19)	< 0,0002
Ostsee	a)	224 ± 8	9 (60)	
Nordsee	A)	141 ± 4	16 (36)	= 0,0002
Nordsee, 7 bis 20 Tage an Brackwasser angepaßt	B)	169 ± 5	15 (56)	< 0,0002
Ostsee	B)	219 ± 4	22 (67)	

2. Sauerstoffverbrauch der Homogenate der Mitteldarmdrüsen

Außer den Kiemen lassen sich die Mitteldarmdrüsen von *Mytilus edulis* gut homogenisieren. Gleiche Volumina isolierter Mitteldarmdrüsen und Suspensionsflüssigkeit wurden

homogenisiert. Es wurde eine Lösung mit 4,12 g KCl und 1,177 mg KHCO_3 /l mit einem pH-Wert von 7,9 genommen.

Die Atmung der Homogenate aus Mitteldarmdrüsen von Nordseetieren und von Ostseetieren zeigt bei 15° C mit Sauerstoff als Gasphase fast die gleiche Höhe. Nordseetiere 157 ± 3 , Ostseetiere 159 ± 2 $\text{mm}^3 \text{O}_2$ pro 30 Minuten und 100 mg Eiweiß. Die am Homogenat der Mitteldarmdrüsen von Ostseetieren mit Luft als Gasphase gemessene Atmung hat einen Wert von 86 ± 1 pro 30 Minuten und 100 mg Eiweiß.

E. Die Dehydrierungsintensität der Kiemenhomogenate

Als Ergänzung zu den Atmungsmessungen am Homogenat der Kiemen ist die Acceptor-methode nach THUNBERG mit Methylenblau als Wasserstoffacceptor angewandt worden.

Es wurde unter anaeroben Bedingungen gearbeitet. Die mit der Wasserstrahlpumpe evakuierten THUNBERGrohre wurden zweimal mit sauerstoffreiem Stickstoff durchgespült und jeweils anschließend erneut evakuiert. Der Stickstoff aus der Bombe wurde vorher durch Natriumdithionitlösung ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$), die den Sauerstoff absorbiert, geleitet. So wurden auch noch Spuren von Sauerstoff entfernt. In jedem THUNBERGrohr waren 5 ml Suspensionslösung mit Homogenat enthalten. Die Menge Homogenat entsprach etwa 20 mg Eiweiß. $\frac{\text{m}}{50}$ Na — K-Phosphatpuffer pH 7,4 gewährleistete einen gleichbleibenden pH-Wert.

Als Suspensionslösung wurde die bereits oben bei den Atmungsmessungen am Kiemenhomogenat erwähnte Lösung mit Na, K, Mg und Ca nach den Analysen nach SECK genommen. Die benutzten THUNBERGgefäße waren mit einem Ansatzgefäß für die Zugabe des Farbstoffes zu einem bestimmten Zeitpunkt versehen. Die Gefäße waren so befestigt, daß überall gleichzeitig die Methylenblaulösung zur Homogenatsuspension zugegeben werden konnte. Es wurde die Zeit bis zur $\frac{9}{10}$ Entfärbung durch Farbvergleich mit einem offenen Reagenzglas gleichen Durchmessers mit kurz erhitzter Homogenatsuspension und $\frac{9}{10}$ der Farbstoffmenge gemessen. Der Farbwert dieser Suspension in dem offenen Reagenzglas blieb gleich.

Die Zeit bis zu $\frac{1}{10}$ Entfärbung dauerte je nach Versuchsansatz zwischen 20 und 30 Minuten. In Tabelle 9 ist die auf das Methylenblau übertragene Menge Wasserstoff für 30 Minuten und 100 mg Eiweiß angegeben. Die dem Wasserstoff äquivalente Menge Sauerstoff ist halb so groß.

Genau wie die Atmungswerte unterscheiden sich die anaeroben Enzymaktivitäten der Kiemenhomogenate von Nord- und Ostseetieren deutlich voneinander. Der Unterschied ist gesichert. Das Kiemenhomogenat der Ostseetiere hat eine um 60% größere anaerobe Enzymaktivität als das der Nordseetiere (Tabelle 9).

Weitere Thunbergversuche wurden mit Kiemenhomogenat von Nordseetieren, die in der Kieler Förde in einem Drahtkäfig an Brackwasser angepaßt waren, durchgeführt. Bereits nach 1-tägiger Anpassung war eine geringe Steigerung der Dehydrierungsintensität zu beobachten. Nach 4-tägiger Anpassung war die Dehydrierungsintensität um 43% gegenüber der des Kiemenhomogenates nicht angepaßter Nordseetiere gesteigert. Dieser Unterschied ist signifikant.

Tabelle 9

Enzymaktivitäten der Kiemenhomogenate von *Mytilus edulis*, gemessen bei 15° C mit der Acceptor-Methode

Versuchslösung	für Nordseetiere	für Ostseetiere und Nordseetiere, die an Brackwasser angepaßt sind
Na+ (NaCl)	209 m Mol/l	109,5 m Mol/l
K+ (KCl + 50 mg KHCO ₃)	137 m Mol/l	82,4 m Mol/l
Mg++ (MgCl ₂)	32 m Mol/l	19,35 m Mol/l
Ca++ (CaCl ₂)	6,17 m Mol/l	3,85 m Mol/l

1 ml Homogenat (Gewebe: Suspensionsflüssigkeit = 1 : 1)

0,5 ml $\frac{m}{5}$ Na, K-Phosphatpuffer pH 7,4

1 ml Methylenblaulösung 1 : 50000 in H₂O dest.

Angabe der Dehydrierung in $\frac{\text{mm}^3 \text{H}_2}{30' \cdot 100 \text{ mg Eiweiß}}$

0,32 mg Methylenblau (1 μ Mol) entsprechen 11,2 mm³ O₂ bzw. 22,4 mm³ H₂.

Herkunft	mm ³ H ₂	Anzahl		P
		der Versuche	der Tiere	
Nordsee	5,62 ± 0,11	5	21	< 0,0002
Ostsee	9,00 ± 0,26	5	22	
Nordsee	5,62 ± 0,11	5	21	= 0,021
Nordsee 1 Tag an Brackwasser angepaßt	6,15 ± 0,11	4	32	= 0,00025
Nordsee 4 Tage an Brackwasser angepaßt.	8,06 ± 0,13	3	10	< 0,0002

Literaturverzeichnis

- BALDWIN, E. (1957): Biochemie, Einführung in ihre Dynamik, S. 27—40, Weinheim. — BARMANN, E., MYRBÄCK, F. (1941): Die Methoden der Fermentforschung, Leipzig. a) Bd. 1 DICKENS, F.: Die manometrische Methode, S. 985—1022. b) Bd. 3 HOLMBERG, C. G.: Die Dehydrasen — Allgemeines über Wirkungsbestimmungen — Akzeptormethode, S. 2279—2294. — BELIAEV, G. M. und Tschugunova, M. N. (1952): Die physiologischen Unterschiede zwischen den Mytili (*Mytilus*) der Barentssee und der Ostsee, Votr. d. Akad. d. Wiss. d. UDSSR, Ökologie 85, No. 1, 233—236, (Russ.) — BOUXIN, H. (1931): Influence des variations rapides de salinité sur la consommation d'oxygène chez *Mytilus edulis* var. galloprovincialis (LMK.) Bull. de l'Inst. Océanographique No. 569, 1—11. — HOPPE-SEYLER—THIERFELDER (1955): Allgemeine Untersuchungsmethoden, zweiter Teil, Berlin. a) FRANKE, W.: Thunberg-Methodik und verwandte Acceptor-Methoden, 311 bis 345. b) LANG, K. und SIEBERT, G.: Aufarbeitung von Geweben und Zellen, 537—594. — JODREY, L. H. und WILBUR, K. M. (1955): Studies on shell formation. IV The respiratory metabolism of the oyster mantle. Biological Bulletin 108, 346—358. — LAGERSPETZ, K. und SIRKKA, A. (1958): Versuche über den Sauerstoffverbrauch von *Mytilus edulis* aus dem Brackwasser der finnischen Küste. Kieler Meeresf. 15, 89—96. — LEUTHARDT, F. (1959): Lehrbuch der Physiol.-Chemie, Berlin. — MAHLO, J. (1958): Untersuchungen zum Abbau von Kohlehydraten, Aminosäuren und Fettsäuren in der Mitteldarmdrüse von *Eriocheir sinensis*, H. Milne-Edwards, Kiel 1958. Diss. Phil. Fakul. Univ. Kiel. — NETTER, H. (1959): Theoretische Biochemie, S. 223, 329, Berlin. — PÄTAU, K. (1943): Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen (Eine neue $\pm t$ -Tafel), Biologisches Zentralblatt 63, 152—168. — POTTS, T. W. (1954): The Energetics of Osmotic Regulation in Brackish- and fresh-water animals, Jour. Exp. Biol. 31, 618—630. — POTTER, R. (1948): The

Homogenate Technique: Methods in Medical Research 1, 317—336. — PIEH, S. (1936): Über die Beziehung zwischen Atmung, Osmoregulation und Hydration der Gewebe bei euryhalinen Meeresevertebraten. Zoologische Jahrbücher 56, 129—160. — SECK, CH. (1957): Untersuchungen zur Frage der Ionenregulation bei in Brackwasser lebenden Evertebraten. Kieler Meeresf. 13, 220 bis 243. — SCHLIEPER, C. (1929): Über die Einwirkung niederer Salzkonzentrationen auf marine Organismen, Zschr. Vergl. Physiologie 9, 478—514. — SCHLIEPER, C. (1953): Zur Frage der Beziehung zwischen osmotischer Resistenz und Grundumsatz bei euryhalinen Meeresevertebraten. Die Naturwissenschaften, 40, 538—539. — SCHLIEPER, C. (1955): Über die physiologischen Wirkungen des Brackwassers. Kieler Meeresf. 11, 22—23, Kiel. — SCHLIEPER, C. (1955): Praktikum der Zoophysiologie, 2. Aufl., Stuttgart. — SCHLIEPER, C. (1958): In REMANE—SCHLIEPER, Die Biologie des Brackwassers. Die Binnengewässer, Bd. XXII, Stuttgart. — UMBRETT, W. W., BURRIS, R. H. und STAUFFER, J. P. (1951): Manometric Technique and Tissue Metabolism, Chapter IX, „Thunberg Techniques“ for Estimation of Dehydrogenase XI, The homogenate Technique, 136—147.