HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Über die Wasseraufnahme der Lachseier : II. Der Einfluss der Ionen
Author(s)	AOKI, Kiyoshi
Citation	北海道帝國大學理學部紀要, 7(2), 87-94
Issue Date	1940-05
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/27024
Type	bulletin (article)
File Information	7(2)_P87-94.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Über die Wasseraufnahme der Lachseier
II. Der Einfluss der Ionen[1)]

Von

Kiyoshi Aoki

Zoologisches Institut, Naturwissenschaftliche Fakultät,
Kaiserliche Universität zu Sapporo

I

Der Grad der Wasseraufnahme des Lachseies wird von der Konzentration der Elektrolytenlösung (physiologisch äquilibrierte Salzlösung) stark beeinflusst, dagegen nicht von der der Nichtelektrolytlösungen (Saccharose, Glucose und Mannit), trotzdem die Elektrolyte und die Nichtelektrolyte beide durch die Eimembran in den Perivitellinraum ungehindert permeiern (Aoki '39). In dem folgenden Experiment wurde der Effekt der verschiedenen Ionen, insbesondere ihrer Wertigkeit, auf die Wasseraufnahme der unbefruchteten Eier vom Lachs, *Oncorhynchus keta*, studiert.

Die untersuchten Eier waren immer direkt dem Ovidukt frischer Fische entnommen. Der Grad der Wasseraufnahme wird durch die prozentige Gewichtszunahme, bezogen auf das intitiale Eigewicht, bestimmt. Die Methode wurde ausführlich in der ersten Mitteilung beschrieben ('39).

II

Bei der Bestimmung der Wasseraufnahme des Eies in verschiedenen Salzlösungen, muss zu vorderst der Einfluss des Unterschiedes des osmotischen Drucks der Lösungen vermieden werden. Zu diesem Zwecke wurden folgende miteinander isotonisch konzentrierten Salzlösungen, 1/50 M Lösungen von NaCl, KCL, LiCl, $NaNo_3$, NaJ und NaBr, und 1/75 M Lösungen von $CaCL_2$, $MgCl_2$, $BaCl_2$ und Na_2SO_4, verwendet. pH aller Salzlösungen wurde durch Hinzufügung einiger Mengen von 0.1 M $NaHCO_3$ um 7.0 reguliert.

1) Contribution No. 142 from the Zoological Institute, Faculty of Science, Hokkaido Imperial University, Sapporo.

Nur bei der $AlCl_3$-Lösung wurden wegen ihrer spezifischen Eigenschaft dünner als 1/100 M konzentrierte Lösungen gewählt und dabei ihr pH nicht reguliert. In diesen Lösungen liessen wir die Eier bis zur Erreichung der Äquilibrierung Wasser aufnehmen.

Tabelle 1

Einfluss der Kationen auf die Wasseraufnahme.
Die Temperatur des Thermostates wurde auf 10°C±0.5 gehalten.

Mittel		Zeitdauer in Min.	Grad d. Wasseraufnahme in % mit wahrscheinlichem Fehler
Salze	Konz. in M.		
NaCl	1/50	180	14.7 ± 0.09
KCl	,,	,,	14.9 ± 0.69
LiCl	,,	,,	15.2 ± 0.15
$MgCl_2$	1/75	,,	10.6 ± 0.12
$CaCl_3$	,,	,,	8.8 ± 0.13
$BaCl_3$	,,	,,	6.4 ± 0.25

In den NaCl-, KCl-, und LiCl-Lösungen ist der Grad der Wasseraufnahme etwas höher als in der Kontrolle und in allen diesen Fällen beinahe gleich gross. Dagegen wird in zweiwertige Kationen enthaltenden Lösungen die Wasseraufnahme herabgesetzt. Ihre Wirksamkeit ist aber nicht gleich, sondern sinkt deutlich in der Reihenfolge $Ba^{\cdot\cdot} > Ca^{\cdot\cdot} > Mg^{\cdot\cdot}$ herab. In Tabelle 1 sind die Ergebnisse eines Experiments mit einer Reihe von Eiern als ein Beispiel zusammengestellt. Die Wirkung der $AlCl_3$-Lösung ist besonders auffallend. Wie man in Tabelle 2 bemerkt, ist noch bei 1/400 M die Wasseraufnahme gering, und sie wird erst deutlich bei 1/800 M und erst dann wird der Perivitellinraum scharf erkennbar. Die Konzentration, 1/200 M, ist sehr hypotonisch für das Ei-innere, jedoch findet gar keine Gewichtsänderung statt. Die Gewichtszunahme bei 1/100 M muss abnormal sein, da solche Eier sich beim Eintauchen ins Wasser plötzlich trüben. Wie oben erwähnt, wird die Aufnahme des Wassers viel stärker in der $AlCl_3$-Lösung als in den anderen Chloridlösungen herabgesetzt, aber diese Erscheinung braucht nicht einzig der Wirkung von $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ zuzuschreiben sein, denn wegen der Hydrolyse

Tabelle 2

Der Grad der Wasseraufnahme in $AlCl_3$-Lösungen.
Die Temperatur des Thermostates wurde auf 10.5°C ± 0.5 gehalten.

Konz. in M.	pH	Zeitdauer	Grad d. Wasseraufnahme in % mit wahrscheinlichem Fehler
1/100	ca. 3.8	180	1.2 ± 0.05
1/200	,, 3.9	,,	0.0 ± 0.08
1/400	,, 4.0	,,	1.7 ± 0.14
1/800	,, 4.1	,,	5.0 ± 0.13
1/1600	,, 4.2	,,	10.3 ± 0.23
1/3200	,, 4.3	,,	18.1 ± 0.39

von $AlCl_3$ wird die Lösung sehr sauer, und auch $H^{\cdot}$ wirkt auf die Wasseraufnahme hemmend. Aber der höhere Grad*) der Wasseraufnahme in den Pufferlösungen von demselben pH erläutert deutlich, dass der auffallend niedrige Wasseraufnehmungsgrad in $AlCl_3$-Lösungen hauptsächlich auf die Wirkung von $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ zurückführen ist.

Ausser der Herabsetzung der Wasseraufnahme in den $AlCl_3$-lösungen, werden Änderungen an dem Ei hervorgerufen: In den stärker als 1/400 M konzentrierten Lösungen von $AlCl_3$ wird das Ei sehr durchsichtig und an einigen Stellen sinkt die Oberfläche des Eies ein. Diese Stellen verschwinden während des Behaltens in den Lösungen nicht. Trotz dieses Schrumpfens wird eine Gewichtsabnahme nicht deutlich, eher zeigt bei 1/100 M deutlich das Eigewicht die Neigung zu Zunahme, und mit dieser Erscheinung mag eine Zustandsänderung der Eimembran verbunden sein. Und weiter scheint die Eimembran solcher durchsichtig gewordenen Eier ihre Elastizität zu verlieren.

Wurden die Eier, die vorher 3 Stunden lang in $AlCl_3$-Lösungen verschiedener Konzentration stehen geblieben waren, nach der Gewichtsbestimmung in Leitungswasser hinein getan, so trübten sich die Eier, welche in stärker als 1/800 M konzentrierten Lösungen eingetaucht worden waren, wie in Tabelle 3 gezeigt. Diese Tatsache

* Der Grad der Wasseraufnahme in den Pufferlösungen von HCl und Na_2HPO_4 ist folgender; pH 3.8····10.0% ± 0.49; pH 4.2····14.1% ± 0.48: Der Stamm der Eier ist verschieden von dem in Tabelle 2.

Tabelle 3

Trübung der Eier in Leitungswasser, die vorher 3 Stunden lang in $AlCl_3$-Lösungen eingetaucht waren.

Konz. d. $AlCl_3$ in M.	Trübung in Leitungswasser	
	nach 1 St.	nach 16 St.
1/100	100 %	100 %
1/200	50 ,,	100 ,,
1/400	60 ,,	100 ,,
1/800	30 ,,	70 ,,
1/1600	0 ,,	0 ,,
1/3200	0 ,,	0 ,,

zeigt, dass die plasmatische Membran solcher Eier schon in $AlCl_3$-Lösungen gestört worden ist, oder dass sie durch mechanischen Stoss bei der Abtrocknung gestört wurde, da wir glauben, dass sie in den $AlCl_3$-Lösungen in unbeständigem Zustande ist. Aber bei 1/100 M Lösung, wenn die Zeitdauer in der Lösung nicht zu lang ist (innerhalb 1 Stunde), tritt solche Schädigung an der plasmatischen Membran nicht auf.

Wie oben erwähnt, ist in den miteinander isotonischen Lösungen verschiedener Chloridsalze der Grad der Wasseraufnahme in den

Tabelle 4

Einfluss der Anionen über die Wasseraufnahme.
Die Temperatur des Thermostates wurde auf 10.5°C±0.5 gehalten.

Mittel		Zeitdauer in Min.	Grad d. Wasseraufnahme in % mit wahrscheinlichem Fehler
Salze	Kon. in M.		
NaCl	1/50	180	14.7 ± 0.09
$NaNO_3$	,,	,,	15.7 ± 0.15
NaJ	,,	,,	15.0 ± 0.14
NaBr	,,	,,	15.6 ± 0.12
Na_2SO_4	1/75	,,	14.1 ± 0.15

zweiwertige Kationen enthaltenden Fällen deutlich niedriger als der in den einwertige Kationen enthaltenden Fällen, und weiter hemmen besonders dreiwertige Kationen die Wasseraufnahme. Also ist es klar, dass die die Wasseraufnahme hemmende Kationenwirkung mit der Wertigkeit der Ionen zunimmt.

Im Gegensatz zu der wesentlichen Wirkung der Kationen, üben die Anionen kaum einen besonderen Einfluss aus. Die Eier in der 1/75 M Na_2SO_4-Lösung, in Tabelle 4, zeigten einen etwas niedrigeren Grad der Wasseraufnahme, aber in anderen Reihen war kein solcher Unterschied bemerkbar.

III

Liessen wir die Eier die im obigen Experiment in verschiedenen Salzlösungen, isotonisch mit 1/50 M NaCl-Lösung, schon äquilibriert waren, weiter in hypotonischer p.ä.S. Wasser völlig aufnehmen, so geschah die Wasseraufnahme nicht in gleichem Grad, sondern der Grad der Wasseraufnahme war deutlich von der Wertigkeit der Kationen in den früheren Salzlösungen beeinflusst. Diese spezifische Wirkung von Kationen wurde durch die Ergebnisse des folgenden Experiments noch klarer bewiesen.

Als Behandlungslösungen wurden die für Ei-inneres isotonischen Salzlösungen, d.h. 1/8 p.ä.S., 1/8 M NaCl, 1/12 M $CaCl_2$ und 1/100 M. $AlCl_3$*) verwendet. Nach Messung des initialen Eigewichts, waren die Eier in diesen Salzlösungen ein Stunde lang eingetaucht, und nachdem liess man sie eine bestimmte Zeit lang in 1/512 p.ä.S. Wasser aufnehmen.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 zusammengefasst, in welcher Spalte A und B die Nummer des Mutterfisches bezeichnet. Der Effekt der Behandlung ist sehr deutlich d.h. der Grad der Wasseraufnahme der mit $AlCl_3$ behandelten Eier ist am niedrigsten und am höchsten bei den mit NaCl behandelten Eiern. Also ist der Unterschied dieses Grades der Wasseraufnahme der Wirkung der

*) Natürlich ist die 1/100 M $AlCl_3$-Lösung hpyotonisch für das Ei-innere, und wie Tabelle 2 zeigt, vermehrt sich nach 3 Stunden in dieser Lösung etwas das Eigewicht, aber diese Gewichtsvermehrung muss abnormal sein. In dieser Konzentration kann die Giftigkeit von Al''' nicht ganz ausgeschaltet werden, jedoch ist es möglich, sie ziemlich zu vermindern, wenn die Zeitdauer in der $AlCl_3$-Lösung kurz genug ist und dabei kaum Gewichtsänderung stattfindet.

Tabelle 5

Behandlungseffekt mit Kationen über die Wasseraufnahme.
Die Temperatur des Thermostates wurde auf 10.5°C ± 0.5 gehalten.
Die Eier unter A und B waren von verschiedenen Mutterfischen geliefert.

	Behandlungslösung	Behandlungsdauer in Min.	Grad d. Wasseraufnahme in 1/512 p.ä.S. mit wahrscheinlichem Fehler		
			nach 60 Min.	nach 180 Min.	nach 1320 Min.
A	M/8 p.ä.S.	60	18.4 ± 0.14		
	M/8 NaCl	,,	19.6 ± 0.16		
	M/12 $CaCl_2$	,,	14.2 ± 0.11		
	M/100 $AlCl_3$	,,	4.7 ± 0.05		
B	M/8 NaCl	60		21.8 ± 0.26	20.5 ± 0.14
	M/12 $CaCl_2$	,,		18.6 ± 0.19	18.5 ± 0.1
	M/100 $AlCl_3$	,,		5.2 ± 0.09	

Kationen in den Behandlungslösungen zuzuschreiben, und zwar hat diese Kationenwirkung ganz die gleiche Tendenz wie in dem obigen Experiment. Überdies ist dieser Behandlungseinfluss nicht vorübergehend, sondern bleibt für längere Zeitdauer an den Eiern zurück. Die Resultat in Tabelle 5 beweist klar diese Tatsache.

IV

Die Resultate der obigen Experimente beweisen, dass die Wasseraufnahme nur Kationen stark beeinflussen und ihre Wirkung sowohl mit der Wertigkeit in der Reihenfolge $N^{\cdot}$, $K^{\cdot}$, $Li^{\cdot} < Mg^{\cdot\cdot} < Ga^{\cdot\cdot} < Ba^{\cdot\cdot} \ll Al^{\cdot\cdot\cdot}$, zunimmt, dass $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ also den grössten Effekt hat, und demgegenüber die Anionen kaum einen Einfluss ausüben.

Nun ist die Eimembran des Lachseies eine poröse Membran und elektronegativ geladen. Daher ist es möglich, dass in den Salzlösungen die negative Ladung der Eimembran durch die Adsorption der Kationen erniedrigt wird, und zwar so, dass wie in allgemeinen die negativ geladenen Diaphragmen, die Kationen entladend bzw. bei gröserer Konzentration, insbesondere in Anwesenheit von dreiwertigen Kationen, umladend auf die ursprünglich negativ geladene Eimembran wirken. Tatsächlich haben die Ergebnisse der Färbungs-

experimente nach Yamamoto an der Eimembran von dem *Oryzias*-Ei bewiesen, dass in stärkeren Lösungen von $AlCl_3$ als 1/128 M die negative Ladung der Eimembran umgeladen wird ('36). Und zwar stimmt an Lachseiern die Ordnung dieser entladenden Wirkung der Kationen auf die Eimembran gut mit dem die Wasseraufnahme hemmenden Effekt überein. Nur wegen dieser Tatsache scheint eine Abhängigkeit zwischen der Wasseraufnahme und der negativen Ladung der Eimembran vorhanden zu sein.

Andrerseits haben auf die Eier, die Wasser schon aufgenommenen haben, die Kationen nur eine geringe Wirkung, und der Unterschied der Wirksamkeit der Kationen, der auf ihrer Wertigkeit beruht, ist nicht so deutlich. Und weiter hält sich der Behandlungseffekt stark für längere Zeitdauer in der hypotonischen p.ä.S. an den mit Wasser in Berührung noch nicht gekommenen Eiern, dagegen an den das Wasser schon aufgenommenen Eiern ist dieser Effekt

Tabelle 6

Behandlungseffekt über das Gewicht der Eier, die in 1/256 p.ä.S. schon äquilibriert waren. Die Temperatur des Thermostates wurde auf 10.5°C ± 0.5 gehalten.

Behandlungslösungen	Behandlungsdauer in Min.	Grad d. Verminderung d. Eigewichts in 1/256 p.ä.S. in %	
		nach 180 Min.	nach 1440 Min.
M/8 p.ä.S.	60	0.5 ± 0.07	0.4 ± 0.04
M/8 NaCl	,,	0.1 ± 0.05	0.5 ± 0.04
M/12 $CaCl_2$	,,	2.5 ± 0.02	1.4 ± 0.05
M/100 $AlCl_3$	,,	5.3 ± 0.02	4.7 ± 0.03

weniger deutlich und neigt, noch dazu allmählich zu verschwinden (Tabelle 6). Infolgedessen geht aus diesen Versuchen nicht hervor, inwieweit die negative Ladung der Eimembran auf die Wasseraufnahme wirkt, aber es lässt sich vermuten, dass, obgleich sie an der Wasseraufnahme beteiligt ist, die Beziehung keine direkte ist.

Neulich ist Yamamoto zu dem Schluss gekommen, dass die Erscheinung der Aufnhebung der Eimembran an *Oryzias*-Eiern nach

der Befruchtung oder nach der Aktivierung auf einen kolloidosmotischen Druck zurückzuführen ist ('39). Auch im Falle der Lachseier ist es denkbar, dass ein kolloidosmotischer Druck für die Wasseraufnahme eine wesentliche Rolle spielt, aber in dieser Mitteilung berühre ich diese Frage nicht, da die Daten sehr einseitig und noch unzureichend sind.

Zusammenfassung

Von den Kationen wird die Wasseraufnahme der Lachseier stark beeinflusst, aber nicht von den Anionen. Die einwertigen Kationen zeigen keinen besonders starken Effekt, jedoch wirken die zwei- und die dreiwertigen scharf hemmend. Und ihre Wirksamkeit nimmt mit ihrer Wertigkeit in der Reihenfolge $Na^{\cdot}$, $K^{\cdot}$, $Li^{\cdot} < Mg^{\cdot\cdot} < Ca^{\cdot\cdot} < Ba^{\cdot\cdot} \ll Al^{\cdot\cdot\cdot}$ zu und vor allem ist der Effekt von $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ sehr beträchtlich.

Taucht man die mit Wasser noch nicht in Berührung gekommenen Eier in die Salzlösungen, die für das Ei-innere isotonisch sind, und lässt sie dann in der hypotonischen p.ä.S. Wasser bis zur Äquilibrierung aufnehmen, so wird der Grad der Wasseraufnahme von den Kationen in den Salzlösungen deutlich bestimmt.

Am Schluss wurde die Abhängigkeit der Wasseraufnahme von der elektrischen Ladung der Eimembran etwas diskutiert.

Literatur

AOKI, K. 1939 Über die Wasseraufnahme. I. J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. Ser. VI (Zool.), vol. 7, p. 27.

YAMAMOTO, T. 1936 Shrinkage and permeability of the chorion of *Oryzias* egg, with special referrence to the reversal of selective permeability. J. Fac. Sci. Tokyo Imp. Univ. Sec. IV (Zool.), vol. 4, p. 249.

——— 1939 Mechanism of membrane elevation in the egg of *Oryzias latipes* at the time of fertilization. Proc. Imp. Acad. Tokyo, vol. 15, p. 272.