



Title	Über die Wasseraufnahme der Lachseier : III. Die Wasseraufnahme in der Kolloidlösung (Mit 2 Abbildungen und 9 Tabellen)
Author(s)	AOKI, Kiyosi
Citation	北海道帝國大學理學部紀要, 8(2), 55-73
Issue Date	1942-10
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/27042
Type	departmental bulletin paper
File Information	8(2)_P55-73.pdf



Über die Wasseraufnahme der Lachseier

III. Die Wasseraufnahme in der Kolloidlösung¹⁾

Von

Kiyosi Aoki

Zoologisches Institut, Naturwissenschaftliche Fakultät,
Kaiserliche Universität zu Sapporo

(Mit 2 Abbildungen und 9 Tabellen)

I

Über die Abhebung der Eimembran an den Eiern vom Knochenfisch, *Oryzias latipes*, hat Yamamoto (1939 a & b) interessante Arbeiten veröffentlicht. Nach seinen Arbeiten zerfallen die im Eicortex eingebetteten Alveoli gleich nach der Befruchtung oder den künstlichen Aktivierungen, und begleitend mit dem Zerfallen der cortischen Alveoli saugt das Ei von aussen kolloidosmotisch Wasser auf, wodurch die Abhebung des Chorions (Eimembran) erfolgt.

Das Gewicht des reifen unbefruchteten Lachseies, das schon Wasser aufgenommen hat, nimmt in hypertonischen Salzlösungen nur in geringerem Grade ab (Aoki 1939). Dagegen in dem Hühnereiwass kommt ein deutliches Einfallen an der Eimembran vor und es erfolgt ein deutlicher Abfall des Eigewichts. Nun ist die Eimembran für Krystalloide und Wasser sehr permeabel, aber nicht für Protein. Daraus ist es denkbar, dass ein kolloidosmotischer Druck auch für die Wasserabsorption des Lachseies eine wesentliche Rolle spielt. Um diese Auffassung festzustellen, und weiter irgendein neues Licht auf den Zustand der an der Wasserabsorption teilnehmenden Kolloide zu werfen, sind die folgenden Experimente gemacht worden, worüber hier berichtet werden soll.

II

Die folgenden Experimente sind zum grösseren Teil an frischen, reifen, unbefruchteten Eiern vom Lachs, *Oncorhynchus keta* (Wal-

1) Contribution No. 163 from the Zoological Institute, Faculty of Science, Hokkaidô Imperial University, Sapporo.

baum), angestellt worden, welche direkt vom Oviduct gesammelt wurden, wobei auf das Sorgfältigste vermieden wurde, dass sie mit Wasser in Berührung kamen. Nach Bedürfnis wurden die Eier nach der gewöhnlichen Trocken-Methode und nach der isotonischen Methode (Yamamoto 1939 c) künstlich befruchtet und dann dem Experiment zugeführt.

Der Grad der Wasserabsorption wurde durch die Veränderung des Gewichts an jedem Ei gemessen und durch die prozentige Gewichtszunahme, bezogen auf das initiale Eigewicht, ausgedrückt. Gesehen von der Permeabilität der Eimembran, dringt nicht nur Wasser, sondern es dringen auch Krystalloide des Mediums durch die Eimembran in den Perivitellinraum ein. Aber aus dem Grund, dass die Gewichtsänderung, die durch den Unterschied der Dichte der aufgenommenen Lösungen verursacht wird, innerhalb der Grenzen des Abschätzungsfehlers liegt, betrachtete der Verfasser die Zu- oder Abnahme des Eigewichts als einfach nur von der Wasser-auf oder -abnahme verursacht. Weitere Bemerkungen über die Behandlung der Eier sind ausführlich in der ersten Mitteilung beschrieben worden (1939).

III

In dem Experiment wurden arabische Gummi- und Stärkelösungen²⁾ als Kolloidlösungen verwendet. Der Grad der Wasserabsorption wird, wie in Abb. 1 gezeigt ist, völlig von der Konzentration des Kolloides im Medium beherrscht. In beiden Kolloidlösungen steigt der Wasserabsorptionsgrad mit abnehmender Konzentration deutlich, aber allmählich, und kein Sprung des Grades der Wasserabsorption wird bemerkt. In diesem Punkte unterscheidet sich die Wasserabsorption in Kolloidlösungen von der in Salzlösungen, worin bei 1/12 M eine plötzliche Steigerung des Grades der Wasserabsorption stattfindet. Kein Wasser wird in 10% arabischer Gummi- und in 5% Stärke-Lösungen in das Ei aufgenommen, noch vom Ei weggenommen. Wenn die hemmende Wirkung der Kolloidlösung auf die Wasserabsorption nur darauf beruht, dass die Kolloidmizellen durch die Eimembran nicht passieren können, muss Wasser in konzentrier-

2) Die Kolloidlösungen wurden aus Gummi Arabicum (Kahlbaum) und Stärke löslich (Kahlbaum) mit redestilliertem Wasser hergestellt, wobei pH der Lösungen nicht reguliert wurde.

ten Kolloidlösungen von der Perivitellinflüssigkeit entnommen werden, und dieser Prozess muss reversibel sein.

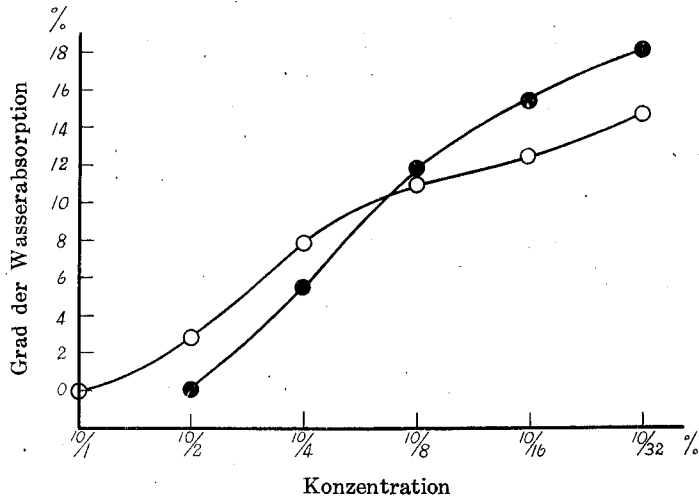


Abb. 1 Wasserabsorption der Eier in Kolloidlösungen. Die Wasserabsorption wird durch die prozentige Gewichtszunahme, bezogen auf das initiale Eigewicht, dargestellt. ○ in arabischer Gummi-Lösung; ● in Stärke-Lösung.

Wird das Ei, das schon genug Wasser aufgenommen hat, in die 10% arabische Gummi-Lösung³⁾ eingetaucht, tritt nach kurzer Zeit das deutliche Einfallen an einem Teil der Eimembran in Begleitung von einer deutlichen Abnahme des Eigewichts⁴⁾ auf, und schliesslich wird der Perivitellinraum unsichtbar. Wenn das entwässerte Ei in eine kolloidfreie Lösung zurückgebracht wird, verschwindet das Ein-

- 3) In diesem Falle wurden die Eier gebraucht, welche vorher schon in Leitungswasser bis zur Sättigung Wasser absorbiert hatten. Daher wurde die 10% arabische Gummi-Lösung auch mit Leitungswasser hergestellt.
- 4) Um eine Stelle des Einfallens der Eimembran beim Abtrocknen der dem geschrumpften Ei anhaftenden Flüssigkeit an Ort und Stelle zu behalten, muss besondere Rücksicht genommen werden, da infolge dieser Wanderung die plasmatische Membran leicht beschädigt wird. Trotz äusserster Vorsicht trübten sich tatsächlich einige der Eier während der Experimente in jeder Serie. In allen Serien wurden die Data der Eier, die sich im Verlauf des Experiments trübten, ausgelassen.

fallen der Eimembran allmählich, und das Eigewicht nimmt wieder zu, nämlich der Prozess der Wasserabsorption des Lachseies ist reversibel. In Abb. 2 wird ein Beispiel graphisch dargestellt. 100 Minuten nach dem Eintauchen in die arabische Gummi-Lösung wird das Eigewicht unveränderlich, wobei dieses stetige Gewicht dem Eigewicht, welches dasselbe Ei vor der Wasserabsorption zeigte, fast gleich ist. Daher ergibt sich, dass zum weitaus grössten Teil das Wasser, das in den Perivitellinraum aufgesaugt worden ist, in die

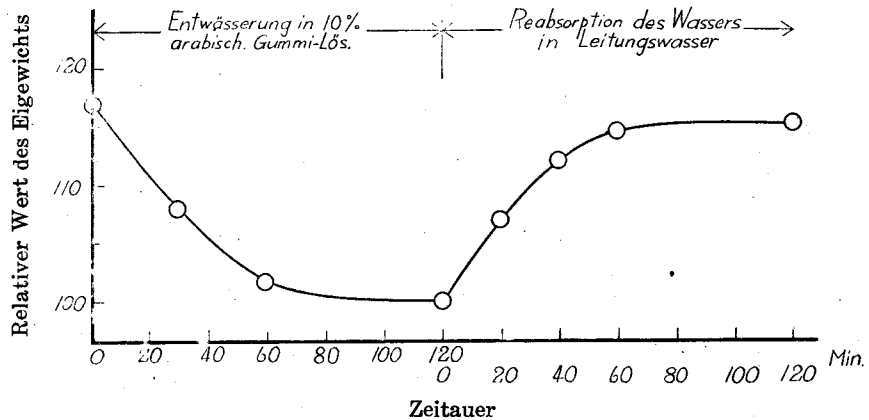


Abb. 2 Entwässerung und Reabsorption des Wassers. Die Ordinate ist der relative Wert des Eigewichts gegen das initiale Eigewicht, das als 100 bezeichnet ist.

konzentrierten Kolloidlösungen entzogen wird. Wird das so entwässerte Ei in Leitungswasser wieder zurückgebracht, beginnt es Wasser gleich aufzunehmen, und der Perivitellinraum tritt allmählich hervor, dann kommt in ungefähr 60–70 Minuten das Eigewicht ins Gleichgewicht. Aber das Gewicht in Äquilibrium ist immer etwas niedriger als das, welches vor der Entwässerung dasselbe Ei gezeigt hat. Jedoch ist jetzt die Ursache für das Phänomen unklar. Wie oben erwähnt ist, wird fast keine Veränderung an dem Gewicht des frischen Eies in der 10% arabischen Gummi-Lösung beobachtet. Diese Tatsache zeigt geradezu, dass das Ei selbst noch in konzentrierten Kolloidlösungen nicht entwässert wird. Und andererseits erreicht der Prozess der Reabsorption des Wassers das Gleichgewicht schneller als der der Entwässerung. Der Unterschied zwischen beiden Prozessen scheint in der Erhaltung der Eimembran nach Be-

rührung mit Wasser seinen Grund zu haben. Wenn die Eimembran für die oben genannten Kolloidmizellen gar keine Durchlässigkeit hat und die Perivitellinflüssigkeit auch Kolloide enthält, ist die Erklärung für die oben beschriebene Tatsache leicht möglich. Die Wasserabsorption oder Entwässerung des Eies wird nur davon ganz bestimmt, dass der Wert des kolloidosmotischen Druckes der Perivitellinflüssigkeit grösser oder kleiner als der des Mediums ist.

IV

In den kolloidfreien Lösungen absorbieren die Eier wieder Wasser, welche vorher zur Äquilibration Wasser aufgenommen haben und danach in der arabischen Gummi-Lösung stark entwässert worden sind. Die Reabsorption der entwässerten Eier unterscheidet sich jedoch von der der frischen Eier in vielen Punkten. In der Tabelle 1 ist ein Beispiel zur Wirkung der Konzentration der *p. ä. S.*⁵⁾ auf die Reabsorption zusammengefasst. Die Experimentaldurchführung war folgende. Zuerst wurden die Eier, welche vorher in Leitungswasser schon 2 Stunden lang Wasser aufgenommen hatten,

Tabelle 1

Reabsorption des Wassers der entwässerten Eier in *p. ä. S.*
(Temp. $10.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5$).

Konz. in M.	Relative Werte d. Grades d. Wasserreabsorption ^{*)}
1/1	95.5 \pm 0.16
1/2	95.5 \pm 0.11
1/4	95.8 \pm 0.11
1/8	95.7 \pm 0.07
1/16	95.7 \pm 0.1
1/64	95.0 \pm 0.11
1/256	96.0 \pm 0.09

*) Grad der Reabsorption des Wassers ist durch den relativen Wert gegen das Eigewicht, welches dasselbe Ei vor der Entwässerung besessen hat, gegeben. In Tabelle 2, 3 und 6 sind die relativen Werte gleichsinnig gebraucht.

5) *p. ä. S.* Die physiologisch äquilibrierte Salzlösung. s. J. Fac. Sci. Hokkaidô Imp. Univ. Ser. VI. (Zool.), vol. 7, p. 381.

in welcher Zeit die Wasserabsorption das Gleichgewicht erreichen kann, in der 10% arabische Gummi-Lösung zum Maximum entwässert. Danach liess man die so entwässerten Eier 3 Stunden lang in verschiedenen Konzentrationen von *p. ä. S.* Wasser aufnehmen. In der Tabelle 1 ist der Wert der Reabsorption des Wassers durch den entsprechenden relativen Wert gegen das Eigewicht, das dasselbe Ei vor der Entwässerung besessen hat, gegeben. Wie das Resultat klar zeigt, hat die *p. ä. S.* keinen Einfluss auf den Grad der Reabsorption des Wassers. Bei der Reabsorption des Wassers nimmt das Ei noch in 1/8 M *p. ä. S.*, die für das Eiinnere isotonisch ist, Wasser in demselben Grade auf. Es ist noch bemerkenswert, dass das entwässerte Ei die hypertonische *p. ä. S.* in demselben Grade aufsaugt. Das Resultat hebt sich scharf gegen die Wasserabsorption der frischen Eier ab. An den frischen Eiern findet keine Wasserabsorption in der isotonischen *p. ä. S.* statt, und der Grad der Wasserabsorption zeigt in 1/12–1/14 M *p. ä. S.* einen deutlichen Sprung und steigt bei schwächerer Konzentration mit ihrer Abnahme allmählich.

Weiter üben die Kationen auch fast keine Wirkung auf die Reabsorption des Wassers aus. Das Experiment wurde wie im oberen Falle durchgeführt und das Resultat ist in Tabelle 2 gezeigt. Die Konzentrationen der gebrauchten Salzlösungen sind alle praktisch isotonisch mit der 1/50 M NaCl-Lösung. Der Grad der Wasserabsorption der entwässerten Eier hat die Neigung, sich mit zunehmender Wertigkeit der Kationen etwas zu erniedrigen, aber ver-

Tabelle 2

Reabsorption des Wassers der entwässerten Eier in hypotonischen Salzlösungen (Einfluss der Kationen. Temp. $10.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5$).

Salze	Konz. in M.	Relative Werte d. Grades d. Wasserreabsorption
NaCl	1/50	97.5 ± 0.11
KCl	1/50	97.1 ± 0.05
LiCl	1/50	96.9 ± 0.1
CaCl ₂	1/75	96.0 ± 0.18
MgCl ₂	1/75	96.5 ± 0.11
BaCl ₂	1/75	95.7 ± 0.19
SrCl ₂	1/75	95.9 ± 0.17
AlCl ₃	1/100	94.2 ± 0.23

Tabelle 3

Reabsorption des Wassers der entwässerten Eier in hypertonischen Salzlösungen (Einfluss der Kationen. Temp. $10.5^{\circ}\text{C}\pm 0.5$).

Salze	Konz. in M.	Relative Werte d. Grades d. Wasserreabsorption
NaCl	1/5	95.0 \pm 0.07
KCl	1/5	95.4 \pm 0.13
LiCl	1/5	95.8 \pm 0.09
CaCl ₂	1/7.5	95.0 \pm 0.11
MgCl ₂	1/7.5	94.7 \pm 0.21
BaCl ₂	1/7.5	95.6 \pm 0.11
SrCl ₂	1/7.5	95.4 \pm 0.11
AlCl ₃	1/10	93.4 \pm 0.11

glichen mit der Wirkung der Kationen auf die Wasserabsorption der frischen Eier (Aoki 1940), ist der Unterschied zwischen den Wirkungen different-wertiger Kationen sehr schwach. Und dieser Unterschied wird nicht grösser bei der 10 fachen Konzentration der Salzlösungen (Tabelle 3). Andererseits, wenn die Eier, welche genug Wasser absorbiert haben, in dieselben Salzlösungen eingetaucht werden, wird dieselbe, auf der Wertigkeit beruhende Differenz der Kationenwirkung auch bemerkt (Tabelle 4). Daraus wird geschlossen, dass die Erniedrigung des Eigewichts mit zunehmender Wertigkeit der Kationen viel eher auf einer Zusammenziehung der Eimembran beruht.

Tabelle 4

Gewichtsänderung der Eier, welche 2 Stunden lang im Leitungswasser völlig Wasser absorbiert haben, in Salzlösungen (Einfluss der Kationen. Temp. $10.5^{\circ}\text{C}\pm 0.5$).

Salze	Konz. in M.	Init. Eigewicht	Relative Werte gegen d. init. Eigew. nach 3 Stunden
NaCl	1/50	100.0	97.8 \pm 0.11
KCl	1/50	100.0	97.8 \pm 0.09
LiCl	1/50	100.0	98.0 \pm 0.07
CaCl ₂	1/75	100.0	96.0 \pm 0.08
MgCl ₂	1/75	100.0	96.3 \pm 0.09
BaCl ₂	1/75	100.0	96.2 \pm 0.09
SrCl ₂	1/75	100.0	96.5 \pm 0.03
AlCl ₃	1/100	100.0	92.7 \pm 0.06

Eigentlich ist der Einfluss der Anionen auf die Wasserabsorption der frischen Eier nicht so stark.⁶⁾ Die Tendenz, dass der Grad der Wasserabsorption mit zunehmender Wertigkeit der Anionen abnimmt, wird immer beobachtet, doch ist die Wirkung, verglichen mit der der Kationen, sehr schwach (Tabelle 5). Bei der Reabsorption des Wassers zeigt sich die Neigung dazu, dass der Grad der Wasserabsorption in zweiwertige Anionen enthaltenden Lösungen im Gegen-

Tabelle 5

Wasserabsorption der frischen Eier in hypotonischen Salzlösungen
(Einfluss der Anionen. Temp. $10.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5$).

Salze	Konz. in M.	Grad. d. Wasserabsorption in % gegen init. Eigew.
NaCl	1/50	16.5 \pm 0.14
NaBr	1/50	16.2 \pm 0.13
NaNO ₃	1/50	16.1 \pm 0.14
NaJ	1/50	16.7 \pm 0.13
NaSCN	1/50	17.5 \pm 0.14
Na-Acet.	1/50	15.6 \pm 0.16
Na ₂ SO ₄	1/75	14.5 \pm 0.09
Na ₂ -Oxal.	1/75	15.7 \pm 0.27
Na ₂ -Tart.	1/75	14.8 \pm 0.15
Na ₃ -Cit.	1/100	11.9 \pm 0.5

teil etwas grösser als der in einwertige Anionen enthaltenden Lösungen ist (Tabelle 6). Die Ursache für diese Tatsache ist bis jetzt noch nicht erklärt.

Derart sind in bezug auf die Reaktion gegen die äusseren Bedingungen die Wasserabsorption der frischen und die der entwässerten Eier miteinander gründlich verschieden. Daher liegt die Vermutung nahe, dass, wenn das Ei einmal Wasser absorbiert, ein Teil des Eies einer scheinbar irreversiblen Veränderung ausgesetzt wird.

6) In der vorigen Arbeit (1940) wurde nur SO₄ als zweiwertiges Anion benutzt, dabei war die SO₄-Wirkung nicht schwächer als die der einwertigen Anionen.

Tabelle 6

Reabsorption des Wassers der entwässerten Eier in hypotonischen Salzlösungen (Einfluss der Anionen. Temp. $10.5^{\circ}\text{C}\pm 0.5$).

Salze	Konz. in M.	Relative Werte d. Grades d. Wassereabsorption
NaCl	1/50	95.0 \pm 0.09
NaBr	1/50	95.6 \pm 0.14
NaNO ₃	1/50	95.4 \pm 0.11
NaJ	1/50	96.2 \pm 0.08
NaSCN	1/50	96.4 \pm 0.09
Na-Acet.	1/50	97.3 \pm 0.07
Na ₂ SO ₄	1/75	96.1 \pm 0.09
Na ₂ -Oxal.	1/75	97.0 \pm 0.05
Na ₂ -Tart.	1/75	96.8 \pm 0.07
Na ₃ -Cit.	1/100	96.9 \pm 0.11

V

Wie aus dem letzten Paragraphen klar ersichtlich ist, können die Eier, die einmal Wasser aufgenommen haben, auch wenn sie stark entwässert werden, nicht wieder in den früheren Zustand zurückversetzt werden. In anderen Worten nach Berührung mit Wasser scheint eine irreversible Veränderung an irgendeinem Teil des Mechanismus der Wasserabsorption aufzutreten. Wenn das der Fall ist, findet dann eine Veränderung nach der Berührung mit Wasser plötzlich oder langsam statt? Bei der Reabsorption können die Eier auch in isotonischer *p. ä. S.* Wasser absorbieren. Dann, wenn die Bedingungen im Ei, welche die Wasseraufnahme veranlassen würden, bis zu einem gewissen Grade erfüllt werden, muss das Ei auch in isotonischer (1/8 M) *p. ä. S.* Wasser aufnehmen können. Um diese Voraussicht festzustellen, wurden die folgenden Experimente gemacht. Zuerst wurden die frischen Eier verschieden lange in redestilliertem Wasser, dessen pH zuvor durch Hinzufügung von 0.1 M NaHCO₃-Lösung um 7.0 reguliert worden war, eingetaucht, danach blieben sie sich in 1/8 M *p. ä. S.* 3 Stunden lang überlassen. Danach wurde der entsprechende Grad der Wasserabsorption bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengefasst. An den Eiern, welche 30 Sekunden lang mit redestilliertem Wasser in

Berührung gewesen waren, wurde der enge aber deutliche Perivitellinraum nach 3 Stunden in $1/8$ M *p. ä. S.* klar beobachtet, und das Eigewicht vermehrte sich. An den eine Minute lang behandelten Eiern steigerte sich der Grad der Wasserabsorption plötzlich, und bei einer Behandlung, die mehr als eine Minute dauerte, erhöhte sich der Grad allmählich entsprechend der Länge der Behandlungsdauer. Dasselbe Verhalten wurde auch bei der Behandlung mit der hypotonischen ($1/256$ M) *p. ä. S.* gleich bemerkt, wobei der absolute Wert des Grades der Wasserabsorption entsprechend doch etwas niedriger als der bei der Redestilliertwasser-Behandlung war (Tabelle 7).

Tabelle 7

Wasserabsorption der behandelten Eier in $1/8$ M *p. ä. S.*
(Temp. $10.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5$).

Behandl. Dauer in Min.	Grad d. Wasserabsorption in % in $1/8$ M <i>p. ä. S.</i>	
	Behandl. Lös. Redest. Wasser	Behandl. Lös. $1/256$ M <i>p. ä. S.</i>
0.5	4.6 ± 0.25	3.0 ± 0.57
1.0	10.0 ± 0.17	8.4 ± 0.41
2.0	10.6 ± 0.17	9.9 ± 0.22
3.0	11.0 ± 0.32	9.7 ± 0.22
5.0	11.7 ± 0.25	9.8 ± 0.19

Daraus ergibt sich, dass nur durch die kurze Berührung mit Wasser eine Veränderung an einem Teil des Eies hervortritt. Und weiter wird angenommen, dass eine Veränderung plötzlich auftritt und fast in einer Minute die für die Wasserabsorption nötigen Bedingungen im Ei ziemlich erfüllt werden. Diese Veränderung im Ei wird durch die Salzkonzentration stark beeinflusst, d.h. in schwächeren als $1/32$ M konzentrierten *p. ä. S.* kann eine solche Veränderung im Ei erst hervorgerufen werden. Vom Ergebniss in Tabelle 8 ergibt sich deutlich dieses Verhalten, d.h. je hypotonischer die Behandlungslösung ist, desto grösser wird der Veränderungsgrad im Ei. Der Grad der Wasserabsorption nimmt von 1% ($1/16$ M) zu 9.4% ($1/32$ M) plötzlich zu und dann vergrößert er sich allmählich in schwächerer Konzentration. Diese Verhältnisse verändern sich etwas dadurch, dass bei der Wasserabsorption der frischen Eier ein plötzlicher Sprung des Grades der Wasserabsorption zwischen $1/8$ M und $1/16$ M *p. ä. S.*

Tabelle 8

Einfluss der Konzentration der Behandlungslösung (*p. ä. S.*)
auf die Wasserabsorption in 1/8 M. *p. ä. S.*
(Temp. $10.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5$).

Behandl. Lös.	Konz. in M	Behandl. Dauer in Min.	Grad der Wasserabsorption in % in 1/8 M <i>p. ä. S.</i>
<i>p. ä. S.</i>	1/12	5	0.4 ± 0.03
"	1/16	5	1.0 ± 0.04
"	1/32	5	9.4 ± 0.3
"	1/64	5	11.1 ± 0.24
"	1/128	5	11.9 ± 0.31

auftritt. Die Ursache für die Verschiebung würde darin liegen, dass in 1/16 M *p. ä. S.* die Veränderung sehr langsam fortschreitet, und die Zeitdauer von 5 Minuten zu kurz ist, um die Veränderung einen gewissen Grad erreichen zu lassen.

VI

Unabhängig von Befruchtung absorbieren die Lachseier Wasser nur in hypotonischen Medien. Und zwar in bezug auf das Verhalten zwischen dem Grade der Wasserabsorption und der Salzkonzentration des Mediums wird kein Unterschied zwischen den befruchteten und unbefruchteten Eiern bemerkt. Wie die unbefruchteten, absorbieren die befruchteten Eier auch kein Wasser in der isotonischen *p. ä. S.* ($0.5 \pm 0.07\%$), aber in der hypotonischen *p. ä. S.* (1/64 M) findet eine deutliche Wasserabsorption ($15.1 \pm 0.09\%$) statt. Und an den von demselben Mutterfisch stammenden Eiern, ist der Grad der Wasserabsorption der künstlich befruchteten Eier in Leitungswasser $16.8 \pm 0.15\%$ und der der unbefruchteten $17.1 \pm 0.17\%$. Nämlich die befruchteten Eier können auch nur erst im hypotonischen Medium Wasser aufnehmen.

An den Eiern von *Oryzias latipes* hat Yamamoto (1939 a & 1940) die eingehenden Arbeiten über die Veränderung, die nach der Befruchtung oder den künstlichen Aktivierungen am Eicortex hervortritt, veröffentlicht. Nach seinen Beobachtungen beginnen die im Eicortex eingebetteten Alveoli gleich nach der Befruchtung zu zerfallen, und das Zerfallen der Alveoli schreitet in Wellen vom animalen

zum vegetativen Pol fort. Begleitend mit dem Zerfallen der cortischen Alveoli, hebt sich die Eimembran von der Eioberfläche ab. In anderen Worten hebt sich die Eimembran, die mit der Eioberfläche dem Kontakt ausgesetzt gewesen ist, durch die Befruchtung erst ab, und die Abhebung der Eimembran findet an den befruchteten Eiern noch in der isotonischen Ringerlösung statt. Diesbezüglich zeigt die Membranabhebungserscheinung der Lachseier einen auffallenden Kontrast gegen die bei den *Oryzias*-Eiern. Ob diese Veränderung nach Befruchtung im Eicortex des Lachseies auch auftritt oder nicht, wurde leider nicht festgestellt, da die Eimembran ziemlich undurchsichtig ist.

Andrerseits scheinen die Eier der Knochenfische im allgemeinen verhältnismässig leicht aktiviert zu werden. Die unbefruchteten Eier von *Acerina cernua* werden nur durch Eintauchen im Süßwasser aktiviert und danach beginnt ein Teil von diesen Eiern sich zu furchen (Trifonowa 1936). Die Experimente an den Eiern von *Esox lucius* (Kasansky 1934) zeigten auch die Möglichkeit der leicht künstlichen Aktivierung. Yamamoto (1939) ist es gelungen durch mechanischen Reiz und Wärme die *Oryzias*-Eier künstlich zu aktivieren. Wenn die Eier mit einer Nadel gestochen oder mit isotonischer, warmer, Ringerscher Lösung (45°C) 1 Minute lang behandelt werden und dann in die isotonische Ringersche Lösung bei Zimmertemperatur untergebracht werden, werden die Eier aktiviert und an dem Cortex tritt der Zerfall der Alveoli auf, und begleitet von dieser Veränderung hebt sich die Eimembran ab. Ausserdem kann auch durch 1% Lösungen von Taurocholsaurem, Glycocholsaurem und Ölsaurem Natrium und durch 0.1% Saponin-Lösung die Aktivierung hervorgerufen werden (Yamamoto 1941). Daher können wir an den Eiern von *Oryzias* schliessen, dass das Zerfallen der cortischen Alveoli ein notwendiger Vorgang für die Abhebung der Eimembran sein muss. Dagegen nahmen die Lachseier in der isotonischen *p. ä. S.* gar kein Wasser auf, auch wenn sie vorher durch hypertonsche *p. ä. S.* (1 M) oder warme isotonische *p. ä. S.* (40°C) oder mechanische Reize behandelt worden waren.

Jedenfalls lässt sich hierbei an die Möglichkeit denken, dass nach Befruchtung auch im Cortex des Lachseies eine Veränderung stattfindet. Daher, wenn die Veränderung des Cortex beim Lachsei in demselben Sinne wie bei dem *Oryzias*-Ei für die Wasserabsorption nötig ist, muss das Lachsei nach Befruchtung sogar in der isotoni-

schen Salzlösung Wasser absorbieren. In der Tat nimmt, entgegen dieser Voraussicht, das befruchtete Ei in der isotonischen *p. ä. S.* gar kein Wasser auf, und in hypotonischen Lösungen erst tritt die Wasserabsorption, wie bei den unbefruchteten Eiern, in Erscheinung. Infolgedessen muss angenommen werden, dass an den Lachseiern wenigstens keine direkte Beziehung zwischen der Wasserabsorption und der Veränderung des Eicortex vorhanden ist. Andererseits ist es wohl kaum anzunehmen, dass an dem Cortex des unreifen Eies im Oviduct eine Veränderung hervortreten kann, weil es die Möglichkeit, befruchtet zu werden, natürlich nicht hat. Nun können die unreifen Eier Wasser auch nur in hypotonischen Lösungen absorbieren. Diese Tatsache muss weiter einen Beweis liefern, der die Unabhängigkeit zwischen der Wasserabsorption und der Veränderung zeigt, die an dem Eicortex nach Befruchtung oder nach Aktivierung erst auftritt. Aber unter dem jetzigen Stand, wo die Eicortex-Veränderung des Lachseies in greifbarer Gestalt nicht festgestellt worden ist, kann Aufschluss nicht gegeben werden, und diese Frage muss noch der weiteren Untersuchung überlassen bleiben.

VII

Die Wasserabsorption des Lachseies in Kolloidlösungen steht durchaus unter der Herrschaft der Konzentration, nämlich der Grad der Wasserabsorption wird immer grösser mit abnehmender Konzentration. Und in stärker konzentrierten Kolloidlösungen wird das totale Wasser, das vorher in den Perivitellinraum aufgesaugt worden ist, dem Ei fast ganz weggenommen. Dieses Phänomenon ist leicht verständlich unter der Voraussetzung, dass die Eimembran für Kolloide undurchlässig ist. Und das entwässerte Ei absorbiert wieder Wasser in kolloidfreien Lösungen. Aber die Eimembran ist doch sehr permeabel für Krystalloide. Daher kann man sich wohl vorstellen, dass auch in der Perivitellinflüssigkeit Kolloid enthalten ist, das nicht imstande ist, durch die Eimembran zu diffundieren, und Wasser von der auf diese Kolloide zurückgeführten osmotischen Kraft aus der äusseren Umgebung aufgesaugt wird, und das den Turgeszenzzustand der Eimembran zur Folge hat.

Wie aus Paragraph IV ersichtlich ist, sind klare Unterschiede zwischen der Wasserabsorption des frischen Eies und der Reabsorption des Wassers des entwässerten Eies in vielen Punkten bemerkbar.

Nämlich die Faktoren, i.e. Salzkonzentration und Kationen, die auf die Wasserabsorption des frischen Eies einen starken Einfluss ausüben, haben keine Wirkungen mehr auf die Reabsorption des Wassers des entwässerten Eies. In der mit dem Eiinneren isotonischen *p. ä. S.* ($1/8\text{ M}$) nimmt das frische Ei gar kein Wasser auf, dagegen absorbiert das Ei stark Wasser, das vorher Wasser schon aufgesaugt hat und dann in Kolloidlösung völlig entwässert ist, und dabei liegt der Grad der Wasserabsorption bei beinahe demselben Grade wie in dem hypotonischem Medium. Dazu noch ist es bemerkenswert, dass das so entwässerte Ei noch in hypertonischen Salzlösungen Wasser deutlich aufnimmt. Solchermassen unterscheidet sich das entwässerte Ei deutlich von dem frischen Ei in bezug auf die Wasserabsorption in den Salzlösungen. Es liegt also nahe, anzunehmen, dass der oben genannte Unterschied von einer Veränderung in einem Ort des Eies herrührt. Diese Veränderung scheint ziemlich plötzlich nach Berührung mit Wasser in Erscheinung zu treten. Bei Behandlung mit redestilliertem Wasser oder mit der $1/256\text{ M p. ä. S.}$ beginnt sie schon in 30 Sekunden aufzutreten und wird nach einer Minute fast beendet. Die Wasserabsorption des entwässerten Lachseies in der isotonischen Salzlösung hat eine auffallende Ähnlichkeit mit der der befruchteten Eier von Seeigel und *Oryzias*, bei denen die Wasserabsorption in entsprechend isotonischen Salzlösungen hervortritt und die Membranabhebung zur Folge hat. In anderen Worten, saugen die Eier der oben genannten Tiere in jedem Falle isotonische Salzlösung von aussen auf.

Was ist die Veränderung, die nach Berührung mit Wasser im Ei hervorgerufen wird? An den Lachseiern sind die bis jetzt bekannten Data zu ungenügend und zu fragmentarisch, um das Wesen der Veränderung hinlänglich aufzuklären. Wenn das Seeigelei befruchtet oder durch geeignete Behandlungen aktiviert wird, verschwinden die in der Oberschicht des Eies eingebetteten Granulen (cortical layer granules in *Arbacia* egg, Moser 1939 a & b; Janus green granules in *Strongylocentrotus* egg, Motomura 1941), und bei dem Ei vom Knochenfisch, *Oryzias latipes*, hat Yamamoto das Zerfallen der cortischen Alveoli nach Befruchtung oder Aktivierung bemerkt (1939). In oberen beiden Fällen folgt die Abhebung der das Ei umhüllenden Membran auf die Veränderung in dem Eicortex. Nämlich die Veränderung im Eicortex tritt immer vor der Abhebung der Membran auf, infolgedessen ergibt sich, dass die Veränderung im

Eicortex für die Abhebung der Membran ein notwendiger Prozess ist. Zieht man weiter die Tatsache in Betracht, dass die Eier von Knochenfischen im allgemeinen der künstlichen Aktivierung leicht unterworfen werden können, so ist es denkbar, dass das unbefruchtete Ei vom Lachs durch die plötzliche Veränderung des osmotischen Druckes des Mediums aktiviert wird und die Wasserabsorption nach sich zieht, wenn die frischen Eier aus dem isotonischen Medium in sehr hypotonische Lösung plötzlich übertragen werden. Aber wie in Paragraph VI erwähnt worden ist, kann sich die Wasserabsorption in Salzlösungen von der des unbefruchteten in keiner Weise unterscheiden, auch wenn das Ei befruchtet wird. Daher liegt die Vermutung nahe, dass bei dem Lachsei keine direkte Beziehung zwischen der Wasserabsorption und der Veränderung besteht, die im Eicortex nach Befruchtung sich vollziehen würde—ihre Beschaffenheit ist jetzt noch unbekannt.

Das *Hynobius*-Ei ist mit einer weichen, elastischen, doppelschichtigen Membran—Eikapsel—umhüllt. Wird ein solches Ei in Wasser eingetaucht, so nimmt es auch allmählich Wasser auf, und das hat die Dehnung und Turgeszenz der Kapsel zur Folge. Hierbei verwandelt sich das absorbierte Wasser in Kapselflüssigkeit, die den Raum zwischen dem Ei selbst und der Kapsel erfüllt. Am *Hynobius*-Ei ist durch die direkte Bestimmung des kolloidosmotischen Druckes der Kapselflüssigkeit klar bewiesen, dass Wasser von der kolloidosmotischen Kraft der Kapselflüssigkeit aus der äusseren Umgebung aufgesaugt wird (Aoki 1941). Und weiter hängt die Wasserabsorption des frischen *Hynobius*-Eies auch von der Salzkonzentration im Medium klar ab, aber die Salzkonzentration übt keine Wirkung auf die Reabsorption des Wassers des entwässerten Eies aus. Indessen bleibt der Wert des kolloidosmotischen Druckes der durch Entwässerung kondensierten Kapselflüssigkeit fast unabhängig von der Salzkonzentration des Mediums konstant. Diese Tatsache stellt einen schroffen Gegensatz dagegen dar, dass der kolloidosmotische Druck der frischen Kapselflüssigkeit von der Salzkonzentration des Mediums völlig beeinflusst wird. Daher muss der oben erwähnte Unterschied zwischen der Wasserabsorption des frischen Eies und der des entwässerten Eies auf die Zustandsänderung der Kolloide in der Kapselflüssigkeit zurückzuführen sein (Aoki 1942). Die Erscheinung der Wasserabsorption beim Lachsei hat in vielen Punkten auffallende Ähnlichkeiten mit der des *Hynobius*-Eies, insbesondere in Beziehung

zwischen der Wasserabsorption der frischen und der entwässerten Eier in den Salzlösungen.

Danach wird bei den Lachseiern auch angenommen, dass die Verschiedenheit der Wirkung der äusseren Faktoren auf die Wasserabsorption des frischen Eies und auf die des entwässerten in Unterschieden der Zustände der Kolloide in dem Perivitellinraum ihre Ursache hat. Zieht man weiter die Resultate von den *Hynobius*-Eiern in Betracht, so ist bei den Lachseiern leicht verständlich, dass die Kolloide anfangs vor der Berührung mit Wasser vielleicht im Gallertszustande zwischen der Eimembran und der Eioberfläche vorhanden sein müssen. Darum würde der Prozess der Wasserabsorption der Lachseiern, wie im folgenden, zu erklären sein. Zuerst kommt das Ei mit Wasser in Berührung, quillt die Eimembran, die poröse Membran ist. Gleichzeitig mit der Quellung der Eimembran dringt Wasser durch die Poren der Membran nach innen, weil die in dem Perivitellinraum liegende Gallerte eine starke Wassersaugkraft hat. Und diese Gallerte hat die starke Tendenz zu dispergieren. Dabei wird die Dispergierung der Gallerte durch die Salzkonzentration und durch die Kationen stark beeinflusst, aber nicht durch Saccharose, Mannit, Urea und Glycerin. Jede Mizelle, die durch Dispergierung entsteht, ist mit einem Wasserfilm dicht umhüllt, da die Kolloide in der Perivitellinflüssigkeit zweifellos hydrophil sind. Daher ist es unmöglich, dass das adsorbierte Wasser der Oberfläche der Mizellen entzogen wird, auch wenn das Ei, das Wasser aufgenommen hat, in der arabischen Gummi-Lösung entwässert wird, weil die Entwässerungskraft der in den Experimenten benutzten Salz- und arabischen Gummi-Lösungen für diesen Zweck zu schwach ist. Infolgedessen können die Wirkungen der Salzkonzentration und der Kationen bei der Reabsorption des Wassers nicht in Erscheinung treten. Vorgestellt derartig, sind die oben beschriebenen Tatsachen wohl zu erklären. Die Gallerte ist natürlich Protein, aber ihre Beschaffenheit bis jetzt unklar.

Der Prozess der Membranabhebung des *Oryzias*-Eies würde auch nach dieser Auffassung folgenderweise zu erklären zu sein. Das Kolloid, welches vor der Wasserabsorption vielleicht im dichten Gallertszustande an der Eioberfläche anhftet, ist doch unmöglich nur durch Berührung mit Wasser zu dispergieren, sondern kann sich unter der Mitwirkung einer Substanz, welche bei dem Zerfallen der cortischen Alveoli vom Ei selbst frei gesetzt wird, erst verteilen,

und dann geht die Wasserabsorption kolloidosmotisch vor sich. Über die Abhebung der äusseren Schale des Seeigeleies hat Kamada (1941) vorgeschlagen, dass wenn bei Aktivierung das Ei eine Substanz in Molekülgrösse sezerniert, welche den Suspensionsgrad des an der Plasmamembran anhaftenden Kolloidaggregates sehr erhöhen kann, das Ei nach Aktivierung von aussen Wasser kolloidosmotisch aufsaugt und folglich Anschwellung der äusseren Membran auftritt.

Frische Lachseier absorbieren nicht Wasser in der isotonischen *p. ä. S.* (1/8 M) und auch in der 10% arabischen Gummi-Lösung. In beiden Fällen sind die Mechanismen jedoch ganz andere. Das könnte folgendermassen erklärt werden. Nämlich die Dispergierung selbst der Gallerte wird in 1/8 M *p. ä. S.* durch die konzentrierten Salze völlig gehemmt. Dagegen verteilt sich schon ein Teil der Gallerte in arabischer Gummi-Lösung, aber es wird kaum Wasser von aussen aufgesaugt, weil der kolloidosmotische Druck des äusseren Mediums höher als der des inneren ist. Die folgende Tatsache, die in Tabelle 9 dargestellt ist, wird für diese Auffassung einen Beweis liefern.

Tabelle 9

Effekt der Behandlung mit der Salz enthaltenden arabischen Gummi-Lösung auf die Wasser-absorption
(Temp. $10.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5$).

Behandl. Lös.	Behandl. Dauer in Min.	Grad d. Wasserabsorption in % in 1/8 M <i>p. ä. S.</i> nach 2 St.
10% arab. Gum. Lös., die mit redest. Wass. hergestellt wurde	30	5.2 ± 0.14
10% arab. Gum. Lös., die mit 1/16 M <i>p. ä. S.</i> hergestellt wurde	30	0.4 ± 0.03

Im wesentlichen werden wir aussagen können, dass bei den Lachseiern die zwischen der Eimembran und der Eioberfläche vorhandene Gallerte des frischen Eies sich gleich nach der Berührung mit Wasser verteilt und kolloidosmotisch aktiv wird, infolgedessen Wasser vom kolloidosmotischen Druck auf rein osmotischem Wege von aussen aufgesaugt wird.

Am Schluss möchte ich Herrn Prof. T. Inukai meinen besten Dank für viele freundliche Anregungen ausdrücken.

Die Untersuchung wurde von dem wissenschaftlichen Fonds des Unterrichtsministeriums und der Nippon-Gakujutu-Sinkôkai finanziell unterstützt, dafür möchte ich hier meinen besten Dank aussprechen.

Zusammenfassung

Die Wasserabsorption des Lachseies in Kolloidlösungen wird ganz durch ihre Konzentration beherrscht, und ob das Ei Wasser absorbiert oder nicht, wird dadurch bestimmt, dass der kolloidosmotische Druck der Perivitellinflüssigkeit grösser oder kleiner als der des Mediums ist. Wird das Ei, das Wasser schon absorbiert hat, in konzentrierte Kolloidlösung eingetaucht, so wird das Wasser nur der Perivitellinflüssigkeit, gar nicht dem Ei selbst, entzogen. In kolloidfreier Lösung absorbiert das so entwässerte Ei Wasser wieder, wobei keine wesentlichen Wirkungen der Salzkonzentration und der Kationen des Mediums bemerkt werden. Erheblich unterscheidet sich diese Tatsache davon, dass die Wasserabsorption des frischen Eies durch konzentrierte Salzlösung und zwei- oder dreiwertige Kationen deutlich gehemmt wird.

Diese Verschiedenheit zwischen dem frischen und dem entwässerten Ei in bezug auf die Wasserabsorption in Salzlösungen scheint hauptsächlich ihren Grund in der Änderung der Kolloide in dem Perivitellinraum zu haben. Und diese Änderung kommt kurze Zeit nach der Berührung mit Wasser zu Stande. Dann wird angenommen, dass im frischen Ei Kolloid als Gallerte in dem Perivitellinraum vorhanden ist, und in hypotonischen Lösungen die Gallerte dispergiert, dann Wasser ganz kolloidosmotisch von aussen aufgesaugt wird, und dass die Dispergierung der Gallerte in den stärker konzentrierten als $1/8$ M (isotonisch für Eiinneres) Salzlösungen nicht stattfindet und weiter durch zwei- und dreiwertige Kationen deutlich gehemmt wird. Die Kolloide in dem Perivitellinraum sind ohne Zweifel hydrophil, weshalb es nahe liegt, anzunehmen, dass die Wassermoleküle an den dispergierten Mizellen dicht adsorbiert werden, also durch die Wasserschicht die Salzwirkung gehindert wird. Darin würde eine Erklärung für die Unwirksamkeit der Salze bei der Wasserabsorption des entwässerten Eies gefunden.

Es konnte nicht festgestellt werden, ob sich die Änderung im Eicortex nach Befruchtung, wie bei den Eiern von Seeigel und

Oryzias vollzieht. Aber, auch wenn diese Änderung auch im Lachsei hervortritt, scheint keine direkte Beziehung zwischen der Wasserabsorption und der Änderung zu bestehen.

Literatur

- AOKI, K. 1939. Über die Wasseraufnahme der Lachseier I. J. Fac. Sci. Hokkaidô Imp. Univ. Ser. VI (Zool.), vol. 7, p. 27.
- . 1940. Über die Wasseraufnahme der Lachseier II. Der Einfluss der Ionen. Ebenda vol. 7, p. 87.
- . 1941. Über die Wasserabsorption des Salamandereies. Ebenda vol. 7, p. 381.
- . 1942. Entwässerung und Reabsorption des Wassers im *Hynobius*-Ei. Ebenda vol. 8, p. 45.
- KAMADA, T. 1941. Membrane elevation of sea-urchin egg by intracellular injection. Proc. Imp. Acad. Tokyo, vol. 17, p. 142.
- KASANSKY, W. J. 1934. Die parthenogenetische Entwicklung der Hechteier (*Esox lucius* L.). Zool. Anz., Bd. 106, S. 161.
- MOSER, F. 1939 a. Studies on a cortical layer response to stimulating agents in *Arbacia* egg. I. Response to insemination. J. exp. Zool., vol. 80, p. 423.
- . 1939 b. Studies on a cortical layer response to stimulating agents in *Arbacia* egg. II. Response to chemical and physical agents. Ebenda vol. 80, p. 447.
- MOTOMURA, I. 1941. Materials of the fertilization membrane in the eggs of Echinoderms. Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ. Ser. IV (Biol.), vol. 16, p. 345.
- TRIFONOWA, A. 1936. Zur Frage der Parthenogenese und Hybridisation der Fische. Zool. Anz., Bd. 96, S. 193.
- YAMAMOTO, T. 1939 a. Changes of the cortical layer of the egg of *Oryzias latipes* at the time of fertilization. Proc. Imp. Acad. Tokyo, vol. 15, p. 269.
- . 1939 b. Mechanism of membrane elevation in the egg of *Oryzias latipes* at the time of fertilization. Proc. Imp. Acad. Tokyo, vol. 15, p. 272.
- . 1939 c. Problems on the physiology of fertilization in the egg of fish. (in Japanisch). Kagaku, vol. 9, p. 450.
- . 1941. Changes of the cortical layer of the egg of fish by fertilization and activation. (in Japanisch). Zool. Mag. (Tokyo), vol. 53, p. 543.
-

Über die Wasseraufnahme der Lachseier

III. Die Wasseraufnahme in der Kolloidlösung¹⁾

Von

Kiyosi Aoki

Zoologisches Institut, Naturwissenschaftliche Fakultät,
Kaiserliche Universität zu Sapporo

(Mit 2 Abbildungen und 9 Tabellen)

I

Über die Abhebung der Eimembran an den Eiern vom Knochenfisch, *Oryzias latipes*, hat Yamamoto (1939 a & b) interessante Arbeiten veröffentlicht. Nach seinen Arbeiten zerfallen die im Eicortex eingebetteten Alveoli gleich nach der Befruchtung oder den künstlichen Aktivierungen, und begleitend mit dem Zerfallen der cortischen Alveoli saugt das Ei von aussen kolloidosmotisch Wasser auf, wodurch die Abhebung des Chorions (Eimembran) erfolgt.

Das Gewicht des reifen unbefruchteten Lachseies, das schon Wasser aufgenommen hat, nimmt in hypertonischen Salzlösungen nur in geringerem Grade ab (Aoki 1939). Dagegen in dem Hühnereiwass kommt ein deutliches Einfallen an der Eimembran vor und es erfolgt ein deutlicher Abfall des Eigewichts. Nun ist die Eimembran für Krystalloide und Wasser sehr permeabel, aber nicht für Protein. Daraus ist es denkbar, dass ein kolloidosmotischer Druck auch für die Wasserabsorption des Lachseies eine wesentliche Rolle spielt. Um diese Auffassung festzustellen, und weiter irgendein neues Licht auf den Zustand der an der Wasserabsorption teilnehmenden Kolloide zu werfen, sind die folgenden Experimente gemacht worden, worüber hier berichtet werden soll.

II

Die folgenden Experimente sind zum grösseren Teil an frischen, reifen, unbefruchteten Eiern vom Lachs, *Oncorhynchus keta* (Wal-

1) Contribution No. 163 from the Zoological Institute, Faculty of Science, Hokkaidô Imperial University, Sapporo.

baum), angestellt worden, welche direkt vom Oviduct gesammelt wurden, wobei auf das Sorgfältigste vermieden wurde, dass sie mit Wasser in Berührung kamen. Nach Bedürfnis wurden die Eier nach der gewöhnlichen Trocken-Methode und nach der isotonischen Methode (Yamamoto 1939 c) künstlich befruchtet und dann dem Experiment zugeführt.

Der Grad der Wasserabsorption wurde durch die Veränderung des Gewichts an jedem Ei gemessen und durch die prozentige Gewichtszunahme, bezogen auf das initiale Eigewicht, ausgedrückt. Gesehen von der Permeabilität der Eimembran, dringt nicht nur Wasser, sondern es dringen auch Krystalloide des Mediums durch die Eimembran in den Perivitellinraum ein. Aber aus dem Grund, dass die Gewichtsänderung, die durch den Unterschied der Dichte der aufgenommenen Lösungen verursacht wird, innerhalb der Grenzen des Abschätzungsfehlers liegt, betrachtete der Verfasser die Zu- oder Abnahme des Eigewichts als einfach nur von der Wasser-auf oder -abnahme verursacht. Weitere Bemerkungen über die Behandlung der Eier sind ausführlich in der ersten Mitteilung beschrieben worden (1939).

III

In dem Experiment wurden arabische Gummi- und Stärkelösungen²⁾ als Kolloidlösungen verwendet. Der Grad der Wasserabsorption wird, wie in Abb. 1 gezeigt ist, völlig von der Konzentration des Kolloides im Medium beherrscht. In beiden Kolloidlösungen steigt der Wasserabsorptionsgrad mit abnehmender Konzentration deutlich, aber allmählich, und kein Sprung des Grades der Wasserabsorption wird bemerkt. In diesem Punkte unterscheidet sich die Wasserabsorption in Kolloidlösungen von der in Salzlösungen, worin bei 1/12 M eine plötzliche Steigerung des Grades der Wasserabsorption stattfindet. Kein Wasser wird in 10% arabischer Gummi- und in 5% Stärke-Lösungen in das Ei aufgenommen, noch vom Ei weggenommen. Wenn die hemmende Wirkung der Kolloidlösung auf die Wasserabsorption nur darauf beruht, dass die Kolloidmizellen durch die Eimembran nicht passieren können, muss Wasser in konzentrier-

2) Die Kolloidlösungen wurden aus Gummi Arabicum (Kahlbaum) und Stärke löslich (Kahlbaum) mit redestilliertem Wasser hergestellt, wobei pH der Lösungen nicht reguliert wurde.

ten Kolloidlösungen von der Perivitellinflüssigkeit entnommen werden, und dieser Prozess muss reversibel sein.

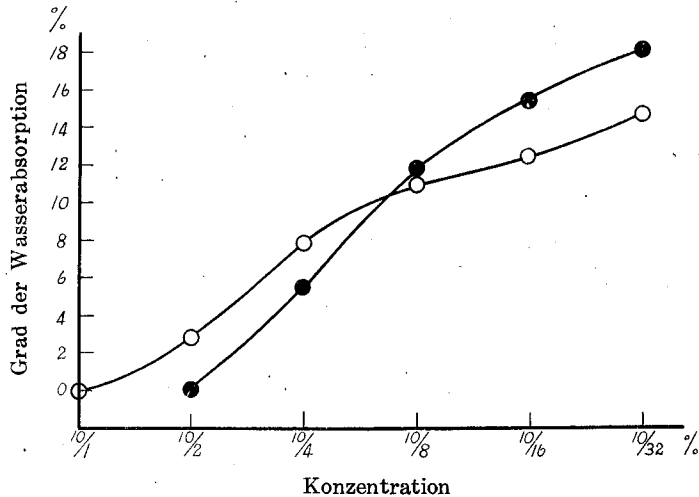


Abb. 1 Wasserabsorption der Eier in Kolloidlösungen. Die Wasserabsorption wird durch die prozentige Gewichtszunahme, bezogen auf das initiale Eigewicht, dargestellt. ○ in arabischer Gummi-Lösung; ● in Stärke-Lösung.

Wird das Ei, das schon genug Wasser aufgenommen hat, in die 10% arabische Gummi-Lösung³⁾ eingetaucht, tritt nach kurzer Zeit das deutliche Einfallen an einem Teil der Eimembran in Begleitung von einer deutlichen Abnahme des Eigewichts⁴⁾ auf, und schliesslich wird der Perivitellinraum unsichtbar. Wenn das entwässerte Ei in eine kolloidfreie Lösung zurückgebracht wird, verschwindet das Ein-

- 3) In diesem Falle wurden die Eier gebraucht, welche vorher schon in Leitungswasser bis zur Sättigung Wasser absorbiert hatten. Daher wurde die 10% arabische Gummi-Lösung auch mit Leitungswasser hergestellt.
- 4) Um eine Stelle des Einfallens der Eimembran beim Abtrocknen der dem geschrumpften Ei anhaftenden Flüssigkeit an Ort und Stelle zu behalten, muss besondere Rücksicht genommen werden, da infolge dieser Wanderung die plasmatische Membran leicht beschädigt wird. Trotz äusserster Vorsicht trübten sich tatsächlich einige der Eier während der Experimente in jeder Serie. In allen Serien wurden die Data der Eier, die sich im Verlauf des Experiments trübten, ausgelassen.

fallen der Eimembran allmählich, und das Eigewicht nimmt wieder zu, nämlich der Prozess der Wasserabsorption des Lachseies ist reversibel. In Abb. 2 wird ein Beispiel graphisch dargestellt. 100 Minuten nach dem Eintauchen in die arabische Gummi-Lösung wird das Eigewicht unveränderlich, wobei dieses stetige Gewicht dem Eigewicht, welches dasselbe Ei vor der Wasserabsorption zeigte, fast gleich ist. Daher ergibt sich, dass zum weitaus grössten Teil das Wasser, das in den Perivitellinraum aufgesaugt worden ist, in die

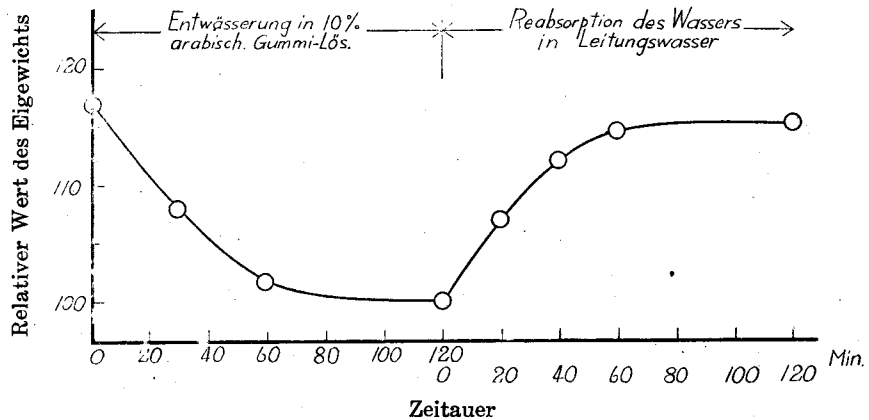


Abb. 2 Entwässerung und Reabsorption des Wassers. Die Ordinate ist der relative Wert des Eigewichts gegen das initiale Eigewicht, das als 100 bezeichnet ist.

konzentrierten Kolloidlösungen entzogen wird. Wird das so entwässerte Ei in Leitungswasser wieder zurückgebracht, beginnt es Wasser gleich aufzunehmen, und der Perivitellinraum tritt allmählich hervor, dann kommt in ungefähr 60–70 Minuten das Eigewicht ins Gleichgewicht. Aber das Gewicht in Äquilibrium ist immer etwas niedriger als das, welches vor der Entwässerung dasselbe Ei gezeigt hat. Jedoch ist jetzt die Ursache für das Phänomen unklar. Wie oben erwähnt ist, wird fast keine Veränderung an dem Gewicht des frischen Eies in der 10% arabischen Gummi-Lösung beobachtet. Diese Tatsache zeigt geradezu, dass das Ei selbst noch in konzentrierten Kolloidlösungen nicht entwässert wird. Und andererseits erreicht der Prozess der Reabsorption des Wassers das Gleichgewicht schneller als der der Entwässerung. Der Unterschied zwischen beiden Prozessen scheint in der Erhaltung der Eimembran nach Be-

rührung mit Wasser seinen Grund zu haben. Wenn die Eimembran für die oben genannten Kolloidmizellen gar keine Durchlässigkeit hat und die Perivitellinflüssigkeit auch Kolloide enthält, ist die Erklärung für die oben beschriebene Tatsache leicht möglich. Die Wasserabsorption oder Entwässerung des Eies wird nur davon ganz bestimmt, dass der Wert des kolloidosmotischen Druckes der Perivitellinflüssigkeit grösser oder kleiner als der des Mediums ist.

IV

In den kolloidfreien Lösungen absorbieren die Eier wieder Wasser, welche vorher zur Äquilibration Wasser aufgenommen haben und danach in der arabischen Gummi-Lösung stark entwässert worden sind. Die Reabsorption der entwässerten Eier unterscheidet sich jedoch von der der frischen Eier in vielen Punkten. In der Tabelle 1 ist ein Beispiel zur Wirkung der Konzentration der *p. ä. S.*⁵⁾ auf die Reabsorption zusammengefasst. Die Experimentaldurchführung war folgende. Zuerst wurden die Eier, welche vorher in Leitungswasser schon 2 Stunden lang Wasser aufgenommen hatten,

Tabelle 1

Reabsorption des Wassers der entwässerten Eier in *p. ä. S.*
(Temp. $10.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5$).

Konz. in M.	Relative Werte d. Grades d. Wasserreabsorption ^{*)}
1/1	95.5 \pm 0.16
1/2	95.5 \pm 0.11
1/4	95.8 \pm 0.11
1/8	95.7 \pm 0.07
1/16	95.7 \pm 0.1
1/64	95.0 \pm 0.11
1/256	96.0 \pm 0.09

*) Grad der Reabsorption des Wassers ist durch den relativen Wert gegen das Eigewicht, welches dasselbe Ei vor der Entwässerung besessen hat, gegeben. In Tabelle 2, 3 und 6 sind die relativen Werte gleichsinnig gebraucht.

5) *p. ä. S.* Die physiologisch äquilibrierte Salzlösung. s. J. Fac. Sci. Hokkaidô Imp. Univ. Ser. VI. (Zool.), vol. 7, p. 381.

in welcher Zeit die Wasserabsorption das Gleichgewicht erreichen kann, in der 10% arabische Gummi-Lösung zum Maximum entwässert. Danach liess man die so entwässerten Eier 3 Stunden lang in verschiedenen Konzentrationen von *p. ä. S.* Wasser aufnehmen. In der Tabelle 1 ist der Wert der Reabsorption des Wassers durch den entsprechenden relativen Wert gegen das Eigewicht, das dasselbe Ei vor der Entwässerung besessen hat, gegeben. Wie das Resultat klar zeigt, hat die *p. ä. S.* keinen Einfluss auf den Grad der Reabsorption des Wassers. Bei der Reabsorption des Wassers nimmt das Ei noch in 1/8 M *p. ä. S.*, die für das Eiinnere isotonisch ist, Wasser in demselben Grade auf. Es ist noch bemerkenswert, dass das entwässerte Ei die hypertonische *p. ä. S.* in demselben Grade aufsaugt. Das Resultat hebt sich scharf gegen die Wasserabsorption der frischen Eier ab. An den frischen Eiern findet keine Wasserabsorption in der isotonischen *p. ä. S.* statt, und der Grad der Wasserabsorption zeigt in 1/12–1/14 M *p. ä. S.* einen deutlichen Sprung und steigt bei schwächerer Konzentration mit ihrer Abnahme allmählich.

Weiter üben die Kationen auch fast keine Wirkung auf die Reabsorption des Wassers aus. Das Experiment wurde wie im oberen Falle durchgeführt und das Resultat ist in Tabelle 2 gezeigt. Die Konzentrationen der gebrauchten Salzlösungen sind alle praktisch isotonisch mit der 1/50 M NaCl-Lösung. Der Grad der Wasserabsorption der entwässerten Eier hat die Neigung, sich mit zunehmender Wertigkeit der Kationen etwas zu erniedrigen, aber ver-

Tabelle 2

Reabsorption des Wassers der entwässerten Eier in hypotonischen Salzlösungen (Einfluss der Kationen. Temp. $10.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5$).

Salze	Konz. in M.	Relative Werte d. Grades d. Wasserreabsorption
NaCl	1/50	97.5 ± 0.11
KCl	1/50	97.1 ± 0.05
LiCl	1/50	96.9 ± 0.1
CaCl ₂	1/75	96.0 ± 0.18
MgCl ₂	1/75	96.5 ± 0.11
BaCl ₂	1/75	95.7 ± 0.19
SrCl ₂	1/75	95.9 ± 0.17
AlCl ₃	1/100	94.2 ± 0.23

Tabelle 3

Reabsorption des Wassers der entwässerten Eier in hypertonischen Salzlösungen (Einfluss der Kationen. Temp. $10.5^{\circ}\text{C}\pm 0.5$).

Salze	Konz. in M.	Relative Werte d. Grades d. Wasserreabsorption
NaCl	1/5	95.0 \pm 0.07
KCl	1/5	95.4 \pm 0.13
LiCl	1/5	95.8 \pm 0.09
CaCl ₂	1/7.5	95.0 \pm 0.11
MgCl ₂	1/7.5	94.7 \pm 0.21
BaCl ₂	1/7.5	95.6 \pm 0.11
SrCl ₂	1/7.5	95.4 \pm 0.11
AlCl ₃	1/10	93.4 \pm 0.11

glichen mit der Wirkung der Kationen auf die Wasserabsorption der frischen Eier (Aoki 1940), ist der Unterschied zwischen den Wirkungen different-wertiger Kationen sehr schwach. Und dieser Unterschied wird nicht grösser bei der 10 fachen Konzentration der Salzlösungen (Tabelle 3). Andererseits, wenn die Eier, welche genug Wasser absorbiert haben, in dieselben Salzlösungen eingetaucht werden, wird dieselbe, auf der Wertigkeit beruhende Differenz der Kationenwirkung auch bemerkt (Tabelle 4). Daraus wird geschlossen, dass die Erniedrigung des Eigewichts mit zunehmender Wertigkeit der Kationen viel eher auf einer Zusammenziehung der Eimembran beruht.

Tabelle 4

Gewichtsänderung der Eier, welche 2 Stunden lang im Leitungswasser völlig Wasser absorbiert haben, in Salzlösungen (Einfluss der Kationen. Temp. $10.5^{\circ}\text{C}\pm 0.5$).

Salze	Konz. in M.	Init. Eigewicht	Relative Werte gegen d. init. Eigew. nach 3 Stunden
NaCl	1/50	100.0	97.8 \pm 0.11
KCl	1/50	100.0	97.8 \pm 0.09
LiCl	1/50	100.0	98.0 \pm 0.07
CaCl ₂	1/75	100.0	96.0 \pm 0.08
MgCl ₂	1/75	100.0	96.3 \pm 0.09
BaCl ₂	1/75	100.0	96.2 \pm 0.09
SrCl ₂	1/75	100.0	96.5 \pm 0.03
AlCl ₃	1/100	100.0	92.7 \pm 0.06

Eigentlich ist der Einfluss der Anionen auf die Wasserabsorption der frischen Eier nicht so stark.⁶⁾ Die Tendenz, dass der Grad der Wasserabsorption mit zunehmender Wertigkeit der Anionen abnimmt, wird immer beobachtet, doch ist die Wirkung, verglichen mit der der Kationen, sehr schwach (Tabelle 5). Bei der Reabsorption des Wassers zeigt sich die Neigung dazu, dass der Grad der Wasserabsorption in zweiwertige Anionen enthaltenden Lösungen im Gegen-

Tabelle 5

Wasserabsorption der frischen Eier in hypotonischen Salzlösungen
(Einfluss der Anionen. Temp. $10.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5$).

Salze	Konz. in M.	Grad. d. Wasserabsorption in % gegen init. Eigew.
NaCl	1/50	16.5 \pm 0.14
NaBr	1/50	16.2 \pm 0.13
NaNO ₃	1/50	16.1 \pm 0.14
NaJ	1/50	16.7 \pm 0.13
NaSCN	1/50	17.5 \pm 0.14
Na-Acet.	1/50	15.6 \pm 0.16
Na ₂ SO ₄	1/75	14.5 \pm 0.09
Na ₂ -Oxal.	1/75	15.7 \pm 0.27
Na ₂ -Tart.	1/75	14.8 \pm 0.15
Na ₃ -Cit.	1/100	11.9 \pm 0.5

teil etwas grösser als der in einwertige Anionen enthaltenden Lösungen ist (Tabelle 6). Die Ursache für diese Tatsache ist bis jetzt noch nicht erklärt.

Derart sind in bezug auf die Reaktion gegen die äusseren Bedingungen die Wasserabsorption der frischen und die der entwässerten Eier miteinander gründlich verschieden. Daher liegt die Vermutung nahe, dass, wenn das Ei einmal Wasser absorbiert, ein Teil des Eies einer scheinbar irreversiblen Veränderung ausgesetzt wird.

6) In der vorigen Arbeit (1940) wurde nur SO₄ als zweiwertiges Anion benutzt, dabei war die SO₄-Wirkung nicht schwächer als die der einwertigen Anionen.

Tabelle 6

Reabsorption des Wassers der entwässerten Eier in hypotonischen Salzlösungen (Einfluss der Anionen. Temp. $10.5^{\circ}\text{C}\pm 0.5$).

Salze	Konz. in M.	Relative Werte d. Grades d. Wassereabsorption
NaCl	1/50	95.0 \pm 0.09
NaBr	1/50	95.6 \pm 0.14
NaNO ₃	1/50	95.4 \pm 0.11
NaJ	1/50	96.2 \pm 0.08
NaSCN	1/50	96.4 \pm 0.09
Na-Acet.	1/50	97.3 \pm 0.07
Na ₂ SO ₄	1/75	96.1 \pm 0.09
Na ₂ -Oxal.	1/75	97.0 \pm 0.05
Na ₂ -Tart.	1/75	96.8 \pm 0.07
Na ₃ -Cit.	1/100	96.9 \pm 0.11

V

Wie aus dem letzten Paragraphen klar ersichtlich ist, können die Eier, die einmal Wasser aufgenommen haben, auch wenn sie stark entwässert werden, nicht wieder in den früheren Zustand zurückversetzt werden. In anderen Worten nach Berührung mit Wasser scheint eine irreversible Veränderung an irgendeinem Teil des Mechanismus der Wasserabsorption aufzutreten. Wenn das der Fall ist, findet dann eine Veränderung nach der Berührung mit Wasser plötzlich oder langsam statt? Bei der Reabsorption können die Eier auch in isotonischer *p. ä. S.* Wasser absorbieren. Dann, wenn die Bedingungen im Ei, welche die Wasseraufnahme veranlassen würden, bis zu einem gewissen Grade erfüllt werden, muss das Ei auch in isotonischer (1/8 M) *p. ä. S.* Wasser aufnehmen können. Um diese Voraussicht festzustellen, wurden die folgenden Experimente gemacht. Zuerst wurden die frischen Eier verschieden lange in redestilliertem Wasser, dessen pH zuvor durch Hinzufügung von 0.1 M NaHCO₃-Lösung um 7.0 reguliert worden war, eingetaucht, danach blieben sie sich in 1/8 M *p. ä. S.* 3 Stunden lang überlassen. Danach wurde der entsprechende Grad der Wasserabsorption bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengefasst. An den Eiern, welche 30 Sekunden lang mit redestilliertem Wasser in

Berührung gewesen waren, wurde der enge aber deutliche Perivitellinraum nach 3 Stunden in $1/8$ M *p. ä. S.* klar beobachtet, und das Eigewicht vermehrte sich. An den eine Minute lang behandelten Eiern steigerte sich der Grad der Wasserabsorption plötzlich, und bei einer Behandlung, die mehr als eine Minute dauerte, erhöhte sich der Grad allmählich entsprechend der Länge der Behandlungsdauer. Dasselbe Verhalten wurde auch bei der Behandlung mit der hypotonischen ($1/256$ M) *p. ä. S.* gleich bemerkt, wobei der absolute Wert des Grades der Wasserabsorption entsprechend doch etwas niedriger als der bei der Redestilliertwasser-Behandlung war (Tabelle 7).

Tabelle 7

Wasserabsorption der behandelten Eier in $1/8$ M *p. ä. S.*
(Temp. $10.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5$).

Behandl. Dauer in Min.	Grad d. Wasserabsorption in % in $1/8$ M <i>p. ä. S.</i>	
	Behandl. Lös. Redest. Wasser	Behandl. Lös. $1/256$ M <i>p. ä. S.</i>
0.5	4.6 ± 0.25	3.0 ± 0.57
1.0	10.0 ± 0.17	8.4 ± 0.41
2.0	10.6 ± 0.17	9.9 ± 0.22
3.0	11.0 ± 0.32	9.7 ± 0.22
5.0	11.7 ± 0.25	9.8 ± 0.19

Daraus ergibt sich, dass nur durch die kurze Berührung mit Wasser eine Veränderung an einem Teil des Eies hervortritt. Und weiter wird angenommen, dass eine Veränderung plötzlich auftritt und fast in einer Minute die für die Wasserabsorption nötigen Bedingungen im Ei ziemlich erfüllt werden. Diese Veränderung im Ei wird durch die Salzkonzentration stark beeinflusst, d.h. in schwächeren als $1/32$ M konzentrierten *p. ä. S.* kann eine solche Veränderung im Ei erst hervorgerufen werden. Vom Ergebniss in Tabelle 8 ergibt sich deutlich dieses Verhalten, d.h. je hypotonischer die Behandlungslösung ist, desto grösser wird der Veränderungsgrad im Ei. Der Grad der Wasserabsorption nimmt von 1% ($1/16$ M) zu 9.4% ($1/32$ M) plötzlich zu und dann vergrößert er sich allmählich in schwächerer Konzentration. Diese Verhältnisse verändern sich etwas dadurch, dass bei der Wasserabsorption der frischen Eier ein plötzlicher Sprung des Grades der Wasserabsorption zwischen $1/8$ M und $1/16$ M *p. ä. S.*

Tabelle 8

Einfluss der Konzentration der Behandlungslösung (*p. ä. S.*)
auf die Wasserabsorption in 1/8 M. *p. ä. S.*
(Temp. 10.5°C ± 0.5).

Behandl. Lös.	Konz. in M	Behandl. Dauer in Min.	Grad der Wasserabsorption in % in 1/8 M <i>p. ä. S.</i>
<i>p. ä. S.</i>	1/12	5	0.4 ± 0.03
"	1/16	5	1.0 ± 0.04
"	1/32	5	9.4 ± 0.3
"	1/64	5	11.1 ± 0.24
"	1/128	5	11.9 ± 0.31

auftritt. Die Ursache für die Verschiebung würde darin liegen, dass in 1/16 M *p. ä. S.* die Veränderung sehr langsam fortschreitet, und die Zeitdauer von 5 Minuten zu kurz ist, um die Veränderung einen gewissen Grad erreichen zu lassen.

VI

Unabhängig von Befruchtung absorbieren die Lachseier Wasser nur in hypotonischen Medien. Und zwar in bezug auf das Verhalten zwischen dem Grade der Wasserabsorption und der Salzkonzentration des Mediums wird kein Unterschied zwischen den befruchteten und unbefruchteten Eiern bemerkt. Wie die unbefruchteten, absorbieren die befruchteten Eier auch kein Wasser in der isotonischen *p. ä. S.* (0.5 ± 0.07%), aber in der hypotonischen *p. ä. S.* (1/64 M) findet eine deutliche Wasserabsorption (15.1 ± 0.09%) statt. Und an den von demselben Mutterfisch stammenden Eiern, ist der Grad der Wasserabsorption der künstlich befruchteten Eier in Leitungswasser 16.8 ± 0.15% und der der unbefruchteten 17.1 ± 0.17%. Nämlich die befruchteten Eier können auch nur erst im hypotonischen Medium Wasser aufnehmen.

An den Eiern von *Oryzias latipes* hat Yamamoto (1939 a & 1940) die eingehenden Arbeiten über die Veränderung, die nach der Befruchtung oder den künstlichen Aktivierungen am Eicortex hervortritt, veröffentlicht. Nach seinen Beobachtungen beginnen die im Eicortex eingebetteten Alveoli gleich nach der Befruchtung zu zerfallen, und das Zerfallen der Alveoli schreitet in Wellen vom animalen

zum vegetativen Pol fort. Begleitend mit dem Zerfallen der cortischen Alveoli, hebt sich die Eimembran von der Eioberfläche ab. In anderen Worten hebt sich die Eimembran, die mit der Eioberfläche dem Kontakt ausgesetzt gewesen ist, durch die Befruchtung erst ab, und die Abhebung der Eimembran findet an den befruchteten Eiern noch in der isotonischen Ringerlösung statt. Diesbezüglich zeigt die Membranabhebungserscheinung der Lachseier einen auffallenden Kontrast gegen die bei den *Oryzias*-Eiern. Ob diese Veränderung nach Befruchtung im Eicortex des Lachseies auch auftritt oder nicht, wurde leider nicht festgestellt, da die Eimembran ziemlich undurchsichtig ist.

Andrerseits scheinen die Eier der Knochenfische im allgemeinen verhältnismässig leicht aktiviert zu werden. Die unbefruchteten Eier von *Acerina cernua* werden nur durch Eintauchen im Süßwasser aktiviert und danach beginnt ein Teil von diesen Eiern sich zu furchen (Trifonowa 1936). Die Experimente an den Eiern von *Esox lucius* (Kasansky 1934) zeigten auch die Möglichkeit der leicht künstlichen Aktivierung. Yamamoto (1939) ist es gelungen durch mechanischen Reiz und Wärme die *Oryzias*-Eier künstlich zu aktivieren. Wenn die Eier mit einer Nadel gestochen oder mit isotonischer, warmer, Ringerscher Lösung (45°C) 1 Minute lang behandelt werden und dann in die isotonische Ringersche Lösung bei Zimmertemperatur untergebracht werden, werden die Eier aktiviert und an dem Cortex tritt der Zerfall der Alveoli auf, und begleitet von dieser Veränderung hebt sich die Eimembran ab. Ausserdem kann auch durch 1% Lösungen von Taurocholsaurem, Glycocholsaurem und Ölsaurem Natrium und durch 0.1% Saponin-Lösung die Aktivierung hervorgerufen werden (Yamamoto 1941). Daher können wir an den Eiern von *Oryzias* schliessen, dass das Zerfallen der cortischen Alveoli ein notwendiger Vorgang für die Abhebung der Eimembran sein muss. Dagegen nahmen die Lachseier in der isotonischen *p. ä. S.* gar kein Wasser auf, auch wenn sie vorher durch hypertonische *p. ä. S.* (1 M) oder warme isotonische *p. ä. S.* (40°C) oder mechanische Reize behandelt worden waren.

Jedenfalls lässt sich hierbei an die Möglichkeit denken, dass nach Befruchtung auch im Cortex des Lachseies eine Veränderung stattfindet. Daher, wenn die Veränderung des Cortex beim Lachsei in demselben Sinne wie bei dem *Oryzias*-Ei für die Wasserabsorption nötig ist, muss das Lachsei nach Befruchtung sogar in der isotoni-

schen Salzlösung Wasser absorbieren. In der Tat nimmt, entgegen dieser Voraussicht, das befruchtete Ei in der isotonischen *p. ä. S.* gar kein Wasser auf, und in hypotonischen Lösungen erst tritt die Wasserabsorption, wie bei den unbefruchteten Eiern, in Erscheinung. Infolgedessen muss angenommen werden, dass an den Lachseiern wenigstens keine direkte Beziehung zwischen der Wasserabsorption und der Veränderung des Eicortex vorhanden ist. Andererseits ist es wohl kaum anzunehmen, dass an dem Cortex des unreifen Eies im Oviduct eine Veränderung hervortreten kann, weil es die Möglichkeit, befruchtet zu werden, natürlich nicht hat. Nun können die unreifen Eier Wasser auch nur in hypotonischen Lösungen absorbieren. Diese Tatsache muss weiter einen Beweis liefern, der die Unabhängigkeit zwischen der Wasserabsorption und der Veränderung zeigt, die an dem Eicortex nach Befruchtung oder nach Aktivierung erst auftritt. Aber unter dem jetzigen Stand, wo die Eicortex-Veränderung des Lachseies in greifbarer Gestalt nicht festgestellt worden ist, kann Aufschluss nicht gegeben werden, und diese Frage muss noch der weiteren Untersuchung überlassen bleiben.

VII

Die Wasserabsorption des Lachseies in Kolloidlösungen steht durchaus unter der Herrschaft der Konzentration, nämlich der Grad der Wasserabsorption wird immer grösser mit abnehmender Konzentration. Und in stärker konzentrierten Kolloidlösungen wird das totale Wasser, das vorher in den Perivitellinraum aufgesaugt worden ist, dem Ei fast ganz weggenommen. Dieses Phänomenon ist leicht verständlich unter der Voraussetzung, dass die Eimembran für Kolloide undurchlässig ist. Und das entwässerte Ei absorbiert wieder Wasser in kolloidfreien Lösungen. Aber die Eimembran ist doch sehr permeabel für Krystalloide. Daher kann man sich wohl vorstellen, dass auch in der Perivitellinflüssigkeit Kolloid enthalten ist, das nicht imstande ist, durch die Eimembran zu diffundieren, und Wasser von der auf diese Kolloide zurückgeführten osmotischen Kraft aus der äusseren Umgebung aufgesaugt wird, und das den Turgeszenzzustand der Eimembran zur Folge hat.

Wie aus Paragraph IV ersichtlich ist, sind klare Unterschiede zwischen der Wasserabsorption des frischen Eies und der Reabsorption des Wassers des entwässerten Eies in vielen Punkten bemerkbar.

Nämlich die Faktoren, i.e. Salzkonzentration und Kationen, die auf die Wasserabsorption des frischen Eies einen starken Einfluss ausüben, haben keine Wirkungen mehr auf die Reabsorption des Wassers des entwässerten Eies. In der mit dem Eiinneren isotonischen *p. ä. S.* ($1/8\text{ M}$) nimmt das frische Ei gar kein Wasser auf, dagegen absorbiert das Ei stark Wasser, das vorher Wasser schon aufgesaugt hat und dann in Kolloidlösung völlig entwässert ist, und dabei liegt der Grad der Wasserabsorption bei beinahe demselben Grade wie in dem hypotonischem Medium. Dazu noch ist es bemerkenswert, dass das so entwässerte Ei noch in hypertonischen Salzlösungen Wasser deutlich aufnimmt. Solchermassen unterscheidet sich das entwässerte Ei deutlich von dem frischen Ei in bezug auf die Wasserabsorption in den Salzlösungen. Es liegt also nahe, anzunehmen, dass der oben genannte Unterschied von einer Veränderung in einem Ort des Eies herrührt. Diese Veränderung scheint ziemlich plötzlich nach Berührung mit Wasser in Erscheinung zu treten. Bei Behandlung mit redestilliertem Wasser oder mit der $1/256\text{ M p. ä. S.}$ beginnt sie schon in 30 Sekunden aufzutreten und wird nach einer Minute fast beendet. Die Wasserabsorption des entwässerten Lachseies in der isotonischen Salzlösung hat eine auffallende Ähnlichkeit mit der der befruchteten Eier von Seeigel und *Oryzias*, bei denen die Wasserabsorption in entsprechend isotonischen Salzlösungen hervortritt und die Membranabhebung zur Folge hat. In anderen Worten, saugen die Eier der oben genannten Tiere in jedem Falle isotonische Salzlösung von aussen auf.

Was ist die Veränderung, die nach Berührung mit Wasser im Ei hervorgerufen wird? An den Lachseiern sind die bis jetzt bekannten Data zu ungenügend und zu fragmentarisch, um das Wesen der Veränderung hinlänglich aufzuklären. Wenn das Seeigelei befruchtet oder durch geeignete Behandlungen aktiviert wird, verschwinden die in der Oberschicht des Eies eingebetteten Granulen (cortical layer granules in *Arbacia* egg, Moser 1939 a & b; Janus green granules in *Strongylocentrotus* egg, Motomura 1941), und bei dem Ei vom Knochenfisch, *Oryzias latipes*, hat Yamamoto das Zerfallen der cortischen Alveoli nach Befruchtung oder Aktivierung bemerkt (1939). In oberen beiden Fällen folgt die Abhebung der das Ei umhüllenden Membran auf die Veränderung in dem Eicortex. Nämlich die Veränderung im Eicortex tritt immer vor der Abhebung der Membran auf, infolgedessen ergibt sich, dass die Veränderung im

Eicortex für die Abhebung der Membran ein notwendiger Prozess ist. Zieht man weiter die Tatsache in Betracht, dass die Eier von Knochenfischen im allgemeinen der künstlichen Aktivierung leicht unterworfen werden können, so ist es denkbar, dass das unbefruchtete Ei vom Lachs durch die plötzliche Veränderung des osmotischen Druckes des Mediums aktiviert wird und die Wasserabsorption nach sich zieht, wenn die frischen Eier aus dem isotonischen Medium in sehr hypotonische Lösung plötzlich übertragen werden. Aber wie in Paragraph VI erwähnt worden ist, kann sich die Wasserabsorption in Salzlösungen von der des unbefruchteten in keiner Weise unterscheiden, auch wenn das Ei befruchtet wird. Daher liegt die Vermutung nahe, dass bei dem Lachsei keine direkte Beziehung zwischen der Wasserabsorption und der Veränderung besteht, die im Eicortex nach Befruchtung sich vollziehen würde—ihre Beschaffenheit ist jetzt noch unbekannt.

Das *Hynobius*-Ei ist mit einer weichen, elastischen, doppelschichtigen Membran—Eikapsel—umhüllt. Wird ein solches Ei in Wasser eingetaucht, so nimmt es auch allmählich Wasser auf, und das hat die Dehnung und Turgeszenz der Kapsel zur Folge. Hierbei verwandelt sich das absorbierte Wasser in Kapselflüssigkeit, die den Raum zwischen dem Ei selbst und der Kapsel erfüllt. Am *Hynobius*-Ei ist durch die direkte Bestimmung des kolloidosmotischen Druckes der Kapselflüssigkeit klar bewiesen, dass Wasser von der kolloidosmotischen Kraft der Kapselflüssigkeit aus der äusseren Umgebung aufgesaugt wird (Aoki 1941). Und weiter hängt die Wasserabsorption des frischen *Hynobius*-Eies auch von der Salzkonzentration im Medium klar ab, aber die Salzkonzentration übt keine Wirkung auf die Reabsorption des Wassers des entwässerten Eies aus. Indessen bleibt der Wert des kolloidosmotischen Druckes der durch Entwässerung kondensierten Kapselflüssigkeit fast unabhängig von der Salzkonzentration des Mediums konstant. Diese Tatsache stellt einen schroffen Gegensatz dagegen dar, dass der kolloidosmotische Druck der frischen Kapselflüssigkeit von der Salzkonzentration des Mediums völlig beeinflusst wird. Daher muss der oben erwähnte Unterschied zwischen der Wasserabsorption des frischen Eies und der des entwässerten Eies auf die Zustandsänderung der Kolloide in der Kapselflüssigkeit zurückzuführen sein (Aoki 1942). Die Erscheinung der Wasserabsorption beim Lachsei hat in vielen Punkten auffallende Ähnlichkeiten mit der des *Hynobius*-Eies, insbesondere in Beziehung

zwischen der Wasserabsorption der frischen und der entwässerten Eier in den Salzlösungen.

Danach wird bei den Lachseiern auch angenommen, dass die Verschiedenheit der Wirkung der äusseren Faktoren auf die Wasserabsorption des frischen Eies und auf die des entwässerten in Unterschieden der Zustände der Kolloide in dem Perivitellinraum ihre Ursache hat. Zieht man weiter die Resultate von den *Hynobius*-Eiern in Betracht, so ist bei den Lachseiern leicht verständlich, dass die Kolloide anfangs vor der Berührung mit Wasser vielleicht im Gallertszustande zwischen der Eimembran und der Eioberfläche vorhanden sein müssen. Darum würde der Prozess der Wasserabsorption der Lachseier, wie im folgenden, zu erklären sein. Zuerst kommt das Ei mit Wasser in Berührung, quillt die Eimembran, die poröse Membran ist. Gleichzeitig mit der Quellung der Eimembran dringt Wasser durch die Poren der Membran nach innen, weil die in dem Perivitellinraum liegende Gallerte eine starke Wassersaugkraft hat. Und diese Gallerte hat die starke Tendenz zu dispergieren. Dabei wird die Dispergierung der Gallerte durch die Salzkonzentration und durch die Kationen stark beeinflusst, aber nicht durch Saccharose, Mannit, Urea und Glycerin. Jede Mizelle, die durch Dispergierung entsteht, ist mit einem Wasserfilm dicht umhüllt, da die Kolloide in der Perivitellinflüssigkeit zweifellos hydrophil sind. Daher ist es unmöglich, dass das adsorbierte Wasser der Oberfläche der Mizellen entzogen wird, auch wenn das Ei, das Wasser aufgenommen hat, in der arabischen Gummi-Lösung entwässert wird, weil die Entwässerungskraft der in den Experimenten benutzten Salz- und arabischen Gummi-Lösungen für diesen Zweck zu schwach ist. Infolgedessen können die Wirkungen der Salzkonzentration und der Kationen bei der Reabsorption des Wassers nicht in Erscheinung treten. Vorgestellt derartig, sind die oben beschriebenen Tatsachen wohl zu erklären. Die Gallerte ist natürlich Protein, aber ihre Beschaffenheit bis jetzt unklar.

Der Prozess der Membranabhebung des *Oryzias*-Eies würde auch nach dieser Auffassung folgenderweise zu erklären zu sein. Das Kolloid, welches vor der Wasserabsorption vielleicht im dichten Gallertszustande an der Eioberfläche anhftet, ist doch unmöglich nur durch Berührung mit Wasser zu dispergieren, sondern kann sich unter der Mitwirkung einer Substanz, welche bei dem Zerfallen der cortischen Alveoli vom Ei selbst frei gesetzt wird, erst verteilen,

und dann geht die Wasserabsorption kolloidosmotisch vor sich. Über die Abhebung der äusseren Schale des Seeigeleies hat Kamada (1941) vorgeschlagen, dass wenn bei Aktivierung das Ei eine Substanz in Molekülgrösse sezerniert, welche den Suspensionsgrad des an der Plasmamembran anhaftenden Kolloidaggregates sehr erhöhen kann, das Ei nach Aktivierung von aussen Wasser kolloidosmotisch aufsaugt und folglich Anschwellung der äusseren Membran auftritt.

Frische Lachseier absorbieren nicht Wasser in der isotonischen *p. ä. S.* (1/8 M) und auch in der 10% arabischen Gummi-Lösung. In beiden Fällen sind die Mechanismen jedoch ganz andere. Das könnte folgendermassen erklärt werden. Nämlich die Dispergierung selbst der Gallerte wird in 1/8 M *p. ä. S.* durch die konzentrierten Salze völlig gehemmt. Dagegen verteilt sich schon ein Teil der Gallerte in arabischer Gummi-Lösung, aber es wird kaum Wasser von aussen aufgesaugt, weil der kolloidosmotische Druck des äusseren Mediums höher als der des inneren ist. Die folgende Tatsache, die in Tabelle 9 dargestellt ist, wird für diese Auffassung einen Beweis liefern.

Tabelle 9

Effekt der Behandlung mit der Salz enthaltenden arabischen Gummi-Lösung auf die Wasser-absorption
(Temp. 10.5°C ± 0.5).

Behandl. Lös.	Behandl. Dauer in Min.	Grad d. Wasserabsorption in % in 1/8 M <i>p. ä. S.</i> nach 2 St.
10% arab. Gum. Lös., die mit redest. Wass. hergestellt wurde	30	5.2 ± 0.14
10% arab. Gum. Lös., die mit 1/16 M <i>p. ä. S.</i> hergestellt wurde	30	0.4 ± 0.03

Im wesentlichen werden wir aussagen können, dass bei den Lachseiern die zwischen der Eimembran und der Eioberfläche vorhandene Gallerte des frischen Eies sich gleich nach der Berührung mit Wasser verteilt und kolloidosmotisch aktiv wird, infolgedessen Wasser vom kolloidosmotischen Druck auf rein osmotischem Wege von aussen aufgesaugt wird.

Am Schluss möchte ich Herrn Prof. T. Inukai meinen besten Dank für viele freundliche Anregungen ausdrücken.

Die Untersuchung wurde von dem wissenschaftlichen Fonds des Unterrichtsministeriums und der Nippon-Gakujutu-Sinkôkai finanziell unterstützt, dafür möchte ich hier meinen besten Dank aussprechen.

Zusammenfassung

Die Wasserabsorption des Lachseies in Kolloidlösungen wird ganz durch ihre Konzentration beherrscht, und ob das Ei Wasser absorbiert oder nicht, wird dadurch bestimmt, dass der kolloidosmotische Druck der Perivitellinflüssigkeit grösser oder kleiner als der des Mediums ist. Wird das Ei, das Wasser schon absorbiert hat, in konzentrierte Kolloidlösung eingetaucht, so wird das Wasser nur der Perivitellinflüssigkeit, gar nicht dem Ei selbst, entzogen. In kolloidfreier Lösung absorbiert das so entwässerte Ei Wasser wieder, wobei keine wesentlichen Wirkungen der Salzkonzentration und der Kationen des Mediums bemerkt werden. Erheblich unterscheidet sich diese Tatsache davon, dass die Wasserabsorption des frischen Eies durch konzentrierte Salzlösung und zwei- oder dreiwertige Kationen deutlich gehemmt wird.

Diese Verschiedenheit zwischen dem frischen und dem entwässerten Ei in bezug auf die Wasserabsorption in Salzlösungen scheint hauptsächlich ihren Grund in der Änderung der Kolloide in dem Perivitellinraum zu haben. Und diese Änderung kommt kurze Zeit nach der Berührung mit Wasser zu Stande. Dann wird angenommen, dass im frischen Ei Kolloid als Gallerte in dem Perivitellinraum vorhanden ist, und in hypotonischen Lösungen die Gallerte dispergiert, dann Wasser ganz kolloidosmotisch von aussen aufgesaugt wird, und dass die Dispergierung der Gallerte in den stärker konzentrierten als $1/8$ M (isotonisch für Eiinneres) Salzlösungen nicht stattfindet und weiter durch zwei- und dreiwertige Kationen deutlich gehemmt wird. Die Kolloide in dem Perivitellinraum sind ohne Zweifel hydrophil, weshalb es nahe liegt, anzunehmen, dass die Wassermoleküle an den dispergierten Mizellen dicht adsorbiert werden, also durch die Wasserschicht die Salzwirkung gehindert wird. Darin würde eine Erklärung für die Unwirksamkeit der Salze bei der Wasserabsorption des entwässerten Eies gefunden.

Es konnte nicht festgestellt werden, ob sich die Änderung im Eicortex nach Befruchtung, wie bei den Eiern von Seeigel und

Oryzias vollzieht. Aber, auch wenn diese Änderung auch im Lachsei hervortritt, scheint keine direkte Beziehung zwischen der Wasserabsorption und der Änderung zu bestehen.

Literatur

- AOKI, K. 1939. Über die Wasseraufnahme der Lachseier I. J. Fac. Sci. Hokkaidô Imp. Univ. Ser. VI (Zool.), vol. 7, p. 27.
- . 1940. Über die Wasseraufnahme der Lachseier II. Der Einfluss der Ionen. Ebenda vol. 7, p. 87.
- . 1941. Über die Wasserabsorption des Salamandereies. Ebenda vol. 7, p. 381.
- . 1942. Entwässerung und Reabsorption des Wassers im *Hynobius*-Ei. Ebenda vol. 8, p. 45.
- KAMADA, T. 1941. Membrane elevation of sea-urchin egg by intracellular injection. Proc. Imp. Acad. Tokyo, vol. 17, p. 142.
- KASANSKY, W. J. 1934. Die parthenogenetische Entwicklung der Hechteier (*Esox lucius* L.). Zool. Anz., Bd. 106, S. 161.
- MOSER, F. 1939 a. Studies on a cortical layer response to stimulating agents in *Arbacia* egg. I. Response to insemination. J. exp. Zool., vol. 80, p. 423.
- . 1939 b. Studies on a cortical layer response to stimulating agents in *Arbacia* egg. II. Response to chemical and physical agents. Ebenda vol. 80, p. 447.
- MOTOMURA, I. 1941. Materials of the fertilization membrane in the eggs of Echinoderms. Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ. Ser. IV (Biol.), vol. 16, p. 345.
- TRIFONOWA, A. 1936. Zur Frage der Parthenogenese und Hybridisation der Fische. Zool. Anz., Bd. 96, S. 193.
- YAMAMOTO, T. 1939 a. Changes of the cortical layer of the egg of *Oryzias latipes* at the time of fertilization. Proc. Imp. Acad. Tokyo, vol. 15, p. 269.
- . 1939 b. Mechanism of membrane elevation in the egg of *Oryzias latipes* at the time of fertilization. Proc. Imp. Acad. Tokyo, vol. 15, p. 272.
- . 1939 c. Problems on the physiology of fertilization in the egg of fish. (in Japanisch). Kagaku, vol. 9, p. 450.
- . 1941. Changes of the cortical layer of the egg of fish by fertilization and activation. (in Japanisch). Zool. Mag. (Tokyo), vol. 53, p. 543.
-