HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Ueber Wasseraufnahme und Aktivierung der Lachseier : II. Die Wirkung der hypertonischen Salzlosung (Mit 2 Textabbildungen)
Author(s)	KANOH, Yasuhiko
Citation	北海道大學理學部紀要, 10(3-4), 260-265
Issue Date	1951-12
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/27097
Type	departmental bulletin paper
File Information	10(3_4)_P260-265.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Ueber Wasseraufnahme und Aktivierung der Lachseier

II. Die Wirkung der hypertonischen Salzlösung[1]

Von

Yasuhiko Kanoh

(Zoologisches Institut, Naturwissenschaftliche Fakultät, Hokkaido Universität)

(*Mit 2 Textabbildungen*)

Wie aus der vorhergehenden Mitteilung hervorgeht, wird bei Eiern von *Oncorhynchus keta* geschlossen, daß, bevor der Perivitellinraum zur Erscheinung kommt, auf alle Fälle die Ei-Aktivierung vorgeht, welche von Veränderung im Eikortex (dem Zerfallen der Kortikalalveoli) begleitet ist, und daß das Erscheinen des Perivitellinraums darauf beruht, daß einiges Wasser infolge des mit der Ei-Aktivierung eintretenden Zerfallens der Kortikalalveoli durch kolloidosmotischen Druck auf rein osmotishem Wege von außen aufgesaugt wird, wodurch die Abhebung der Eimembran (des Chorions) erfolgt. Also, hat diese Erscheinung eine Volumen- und Gewichtszunahme im Gefolge.

In isotonischer Salzlösung (M/8 p.ä.S.[2]) nimmt das Ei kein Wasser auf, aber in dünnerer Lösung als M/8 p.ä.S. kommt die Wasseraufnahme vor, nämlich in der ersteren wird der Perivitellinraum nicht wahrgenommen, dagegen in der letzteren wird er bemerkbar (Aoki. '39) ; und dies ist darauf gegründet, daß die isotonische Salzlösung (M/8 p.ä.S.) die Ei-Aktivierung hemmt, aber die dünnere Lösung als M/8 p.ä.S. parthenogenetisch dieselbe hervorruft. Hierbei können wir die Ei-Aktivierung nach dem Verschwinden der Maschenkonstruktion der plasmatischen Schicht, die den Eikortex bildet, beurteilen, da diese Maschenkonstruktion ein Vorhandensein der Kortikalalveoli zeigt (Kanoh. '50).

Anderseits, bei Untersuchung über den Mechanismus für die Erniederung der Befruchtungsfähigkeit der mit Wasser in Berührung gekommenen Lachseier, hat K. Yamamoto ('47) berichtet, daß sowohl die hypotonische als auch die hypertonische Salzlösung die Eier zur Aktivierung führe (natürlich parthenogenetisch), da die Scheidewand in beiden Lösungen in Erscheinung trete, welche sich

1) Contribution No. 256 from the Zoological Institute, Faculty of Science, Hokkaido University, Sapporo.

2) p. ä. S. = Die physiologisch äquilibrierte Salzlösung. s. Iste Mitteilung.

unter der Keimscheibe erst bei Schnittbetrachtung erkennen lasse. Bezüglich der hypotonischen Salzlösung ist Yamamoto's Ansicht, obgleich er die Veränderung im Eikortex noch nicht bemerkt hat, mit der des Verfassers zufällig übereinstimmend, aber methodish aus folgendem Grund noch zweifelhaft :

Wenn das Ei durch hypertonische Salzlösung (M/4 p.ä.S.), wie Yamamoto berichtet hat, parthenogenetisch aktiviert würde, müssten die Kortikalalveoli, nach des Verfassers Ansicht damit zerfallen und die Wasseraufnahme in dieser Lösung kolloidosmotisch zustande kommen, da die Eimembran für Krystalloide permeabel ist. In der Tat ist dies aber nicht der Fall. Nämlich in M/4 p.ä.S. zeigt das Ei vielmehr eine geringe Tendenz zur Gewichtsabnahme (Aoki. '39).

Also möchte der Verfasser über die Wirkung der hypertonischen Salzlösungen, besonders die der M/4 p.ä.S. auf das unbefruchtete *Oncorhynchus*-Ei in der vorliegenden Arbeit untersuchen und etwas diskutieren.[1)]

Die Arbeit wurde unter finanzieller Unterstützung von dem wissenschaftlichen Fond des Unterrichtsministeriums ausgeführt, wofür an diesen Stelle der Verfasser seinen Dank sagt.

I

Werden die *Oncorhynchus*-Eier in hypertonischere Lösung als M/4 p.ä.S. eingetaucht, so werden sie, wie schon Aoki gezeigt hat, über eine Weile durchsichtig, und wird das Protoplasma um den Oeltropfen klumpig, wobei sie starke Turgeszenz zeigen. Natürlich ist diese Veränderung abnormal, irreversibel und deutet die Disintegration der Eier, d. h. den Tod derselbe an. Aber bei M/4 p.ä.S. verhält es sich ganz anders.

Wenn man die Eier in M/4 p.ä.S. eintauchte, so ging eine Zeit lang keine Veränderung bei diesen Eiern vor sich, sondern es trat danach ein Raum wie der normale Perivitellinraum, zwischen der Eimembran und der eigentlichen Eizelle, in die Erscheinung. Wenn auch Yamamoto dies nicht anerkannt hat, scheint dieses Phänomenon, wie mit seiner Ansicht übereinstimmend, auch zu zeigen, daß die Eier normal parthenogenetisch aktiviert worden sind. Aber, wenn die Eier wirklich durch die M/4 p.ä.S. normal parthenogenetisch aktiviert werden, so müssen ihre Kortikalalveoli, wie schon gesagt, zugleich zerfallen, infolgedessen muß auch die Wasseraufnahme vor sich gehen.

Was das Zerfallen der Kortikalalveoli und die Wasseraufnahme der Eier anlangt, so können wir jenes an dem Zustand der Maschenkonstruktion der plasmatischen Schicht vom Eikortex erkennen und diese an der Gewichtsänderung. Um

1) Die Nicht-elekrolytenlösungen, d.h. Saccharose-, Glucose- und Mannitlösungen rufen Ei-Aktivierung in beliebiger Konzentration hervor, nämlich sie haben, abweichend von den Elektrolytenlösungen, keine Hemmungswirkung auf die Ei-Aktivierung. Hier wollen wir uns daher nur auf die Salzlösungen beschränken.

die Probleme festzustellen, sind daher die folgenden Behandlungen gemacht worden :

Alle in dieser Arbeit behandelten Eier von *Oncorhynchus keta* wurden direkt nach der in Ister Mitteilung beschriebenen Weise vom frischen Fisch gesammelt. Zur Beobachtung der plasmatischen Schicht des Eikortex wurde dieselbe Methode wie die in Ister Mitteilung verwendet. Die Gewichtsbestimmung wurde nach Aokis Methode ('39) gemacht, und die Gewichtsänderung wurde durch die prozentige Zu- oder Abnahme des Gewichtes, bezogen auf das der intakten Eier, ausgedrückt.

II

Das Eigewicht der intakten Eier bleibt noch in 50 Stunden konstant, und die Maschenkonstruktion der plasmatischen Schicht bei solchen Eiern ist nicht verschwunden. In M/8 p.ä.S. gilt dies auch gänzlich, demgemäß tritt natürlich in dieser Lösung kein Perivitelliuraum am Ei hervor. Im Leitungswasser vermehrt dagegen das Eigewicht sich im Laufe der Zeit, und der Perivitellinraum beginnt sich zu zeigen, wird allmählich deutlicher, und nach 2 Stunden zeigen die Eier $10.25 \pm 0.17\%$ Gewichtszunahme, nämlich die Wasseraufnahme findet hierbei statt. Was die Maschenkonstruktion der plasmatischen Schicht solcher Eier betrifft, so ist diese schon völlig verschwunden. In M/4 p.ä.S. sind diese Verhältnisse aber davon verschieden. Nämlich an den Eiern in dieser Lösung ist kaum eine Veränderung, wenigstens in 3 Stunden, zu bemerken. Werden aber diese Eier noch länger in dieser Lösung bleiben gelassen, so wird an mancher unter ihnen ein Raum, wie der normal, parthenogenetisch entstehende Perivitellinraum, zwischen der Eimembran und der eigentlichen Eizelle, wie schon erwähnt, mit blossem Auge etwa nach 15 stündigem Eintauchen bemerkbar, und nach 20 Stunden ist dies bei allen Eiern der Fall (Temp. $11^\circ \pm 1.0$ C). Was die Gewichtsänderung solcher Eier anlangt, so ist hier bemerkenswürdig, daß das Gewicht der so in M/4 p.ä.S. 20 Stunden lang eingetauchten Eier mit dem der intakten oder der in M/8 p.ä.S. eingetauchten Eier beinahe gleich ist, d. h. eine Gewichtsänderung in diesem Falle kaum stattfindet. Mit anderen Worten gesagt, geht, wider Erwartung, die Wasseraufnahme in M/4 p.ä.S., trotz des Erscheinens des dem normalen Perivitellinraum ähnlichen Raumes, noch in 20 Stunden nicht vor sich. Den Eikortex betreffend, ist es hier partikulär : Die plasmatische Schicht im Kortex solcher Eier nach Fixierung ist so leicht zerbrechlich, daß es schwer ist, sie in großen Stücken zu isolieren. Aber bei Betrachtung eines Teiles derselbe, ist die Maschenkonstruktion unzweifelhaft noch vorhanden bezw. nicht verschwunden, obgleich die Grenze dieser Maschen im Vergleich mit der der intakten Eier undeutlicher und etwas dicker, noch dazu stärker gefärbt ist. Mit anderen Worten ist das Zerfallen der Kortikalalveoli in M/4 p.ä.S. noch nicht eingetreten. Es liegt aus diesen zwei Tatsache also nahe, gegen Yamamoto's Ansicht anzunehmen, daß die M/4 p.ä.S. keine parthenogenetische Ei-Aktivierung hervorruft ; und mit der Schnitt-Methode wird dies außerdem noch festgestellt : trotz einer Sammlung des Plasmas am animalen Pol sind die

Kortikalalveoli wie die den Schnitt eines in M/4 p.ä.S. 20 Stunden lang verbliebenen Eies darstellende photographische Abbildung (Abb. I. u. II.) zeigt, noch nicht verschwunden, und an der Peripherie ist die Metaphase-Spindel sichtbar, welche von der des intakten Eies nicht abweicht. Diese Auffassung aber setzt voraus, daß die Wasseraufnahme in M/4 p.ä.S. noch nach der Ei-Aktivierung (Zerfallen der Kortikalalveoli) vorkommen kann. Die Ei-Aktivierung kann nur durch kurze Berührung mit redistilliertem Wasser hervorgerufen werden (s. Iste Miteilung). Deshalb wurde das folgende Experiment angestellt, um noch einen Beweis für die obige Auffassung zu liefern.

Abb. 1. Schnitt durch den animalen Pol des in M/4 p.ä.S. 20 Stunden lang verbliebenen Eies. 70×. Abb. 2. Metaphase-Spindel (M in Abb. 1.) im Kortex desselben Eies. 700×.

Zuerst wurden die Eier 1.5 Minute lang in pH um 7.0 reguliertes, redistilliertes Wasser eingetaucht, dann wurde das an den Eiern haftende Wasser mittels Fließpapiers möglichst abgetrocknet, und danach blieben sie sich in M/4 p.ä.S. 2 Stunden lang überlassen. Das Ergebnis war folgendes: Während nur 1.5 Minuten läßt sich kein Perivitellinraum in redistilliertem Wasser erkennen, aber nach 2 stündigem Eintauchen in M/4 p.ä.S. wird er klar beobachtet, und das Eigewicht vermehrt sich ($9.01 \pm 0.31\%$). Diese Tatsache zeigt geradezu, daß Wasseraufnahme noch in M/4 p.ä.S. nach der Ei-Aktivierung vorkommen kann, und dies wird daraus erklärt, daß die Eier wegen des durch die kurze Berührung mit redistilliertem Wasser vorläufig verursachten Zerfallens der Kortikalalveoli kolloidosmotisch in M/4 p.ä.S. Wasser aufsaugen.

Also aus oberen Data wird mit Sicherheit geschlossen, daß, wenn auch ein Raum, wie der normal, parthenogenetisch entstehende Perivitellinraum, an Eiern in M/4 p.ä.S. auftritt,[1] keine Ei-Aktivierung in dieser Lösung stattfindet, demgemäß keine Wasseraufnahme dabei vorkommt.

1) Diese erwähnte Veränderung der Eier in M/4 p.ä.S. ist bis zu einem gewissen Grad reversible, d.h. wenn solch veränderte Eier in Leitungswasser gebracht werden, so beginnen sie Wasser aufzunehmen, und das Eigewicht nimmt zu, anders gesagt, die Ei-Aktivierung kommt erst in diesem Falle in demselben Sinne wie bei den frischen Eiern vor.

Hierauf kommt es in Frage, warum ein Raum zwischen der Eimembran und der eigentlichen Eizelle in M/4 p.ä.S. in Erscheinung tritt.

Des Verfassers Meinung nach scheint es sich hierbei um die Permeabilität der Plasmaoberfläche des Eies zu handeln.

III

Was die Permeabilität der Plasmaoberfläche der Fischeier betrifft, so hat Gray ('20, '32) beim Salmei berichtet, daß die Plasmaoberfläche für Elektrolyten und auch für Wasser impermeabel sei. Und er hat sich dabei mit dem Gedanken getragen, daß eine Herabsetzung des osmotischen Druckes (eine Abnahme der Gefrierpunkterniedrigung) oder Wasserabsorption der Eier nach Ablage auf den Eintritt des äußeren Milieus in den Perivitellnraum zurückzuführen sei, der erst nach der Ablage im Wasser in Erscheinung tritt. Auf der anderen Seite haben Krogh and Ussing ('37) mit Verwendung des schweren Wassers (D_2O) am Salmei suggeriert, daß die Plasmaoberfläche für das Wasser einige Stunden lang nach Ablage permeabel sei.[1] Zudem hat T. Yamamoto ('41) aus den Beobachtungsresultaten der Formveränderungen am sich entwickelnden *Oryzias*-Ei in Lösungen verschiedener Konzentration geschlossen, daß das Wasser durch die betreffende Oberfläche sehr langsam permeiere.

Auf den ersten Blick gibt es zwei gegeneinander stehende Ansichten, wie oben gesagt, über die Permeabilität der Plasmaoberfläche der Fischeier; aber Verfassers Meinung nach kann man, im Gegensatz zu Gray, die niedrige Permeabilität für Wasser, wie sie Yamamoto berichtet hat, nicht verneinen. Der Verfasser möchte deshalb auch zu der Meinung neigen, daß die Plasmaoberfläche am frischen *Oncorhynchus*-Ei für Wasser gering permeabel sei, und möchte daraufhin die Erklärung der oben beschriebenen Frage, folgendermassen vermuten: In hypertonischer Lösung wie M/4 p.ä.S. scheidet sich das Wasser sehr langsam vom Ei-Inneren aus, demgemäß schrumpft die eigentliche Eizelle, wodurch nach etwa 20 Stunden ein Raum zwischen der Eimembran und der eigentlichen Eizelle bemerkbar wird. So zeigt das Ei in M/4 p.ä.S. bisweilen eine geringe Tendenz zur Gewichtsabnahme, wie Aoki berichtet hat. Also in hypertonischer Salzlösung ist wenigstens keine direkt Beziehung zwischen der Entstehung des dem normalen Perivitellinraum ähnlichen Raumes und der Ei-Aktivierung vorhanden.

Natürlich ist es bei dem jetzigen Stand der Erfahrung noch ein Problem, ob die Plasmaoberfläche des Lachseies für Wasser tatsächlich permeabel sei oder nicht, und muß noch der weiteren Untersuchung überlassen bleiben, die bei nächster Gelegenheit ausgeführt werden wird.

---

1) Beim unaktivierten Ei hat Kusa dies nachgeprüft und ist auch zu demselben Gedanken gelangt. (Bericht in der III. jährlichen Versammlung der Hokkaido Abteilung der zoologischen Gesellschaft von Japan, in Sapporo, am 16. September 1950).

Zusammenfassung

Die Wirkung der hypertonischen Lösungen, besonders die der M/4 p.ä.S. (physiologisch äquilibrierte Salzlösung) auf das unbefruchtete Ei vom Lachs, (*Oncorhynchus keta*) ist untersucht worden.

In hypertonischerer Lösung als M/4 p.ä.S. zeigt das Ei über eine Weile Disintegration, aber in M/4 p.ä.S. verhält es sich ganz anders. Nämlich, nach etwa 20 stündigem Eintauchen tritt ein Raum zwischen der Eimembran und der eigentlichen Eizelle in Erscheinung. Das Eigewicht nimmt dabei nicht zu, sondern es zeigt vielmehr eine geringe Tendenz zur Abnahme.

Die M/4 p.ä.S. ruft keine Ei-Aktivierung hervor und daher besteht in hypertonischer Salzlösung wenigstens keine direkte Beziehung zwischen der Entstehung des dem normalen Perivitellinraum ähnlichen Raumes und der Ei-Aktivierung.

Nach einiger Diskussion über die Permeabilität der Plasmaoberfläche der Fischeier wird die Veränderung des Eies in M/4 p.ä.S. wie folgt vermutet. Die Plasmaoberfläche des frischen *Oncorhynchus*-Eies ist für Wasser gering permeabel, infolgedessen scheidet sich in M/4 p.ä.S. das Wasser sehr langsam vom Ei-Inneren aus, und schrumpft die eigentliche Eizelle, wodurch nach etwa 20 Stunden ein Raum zwischen der Eimembran und der eigentlichen Eizelle bemerkbar. wird.

Literaturverzeichnis

Aoki, K. 1939. Über die Wasseraufnahme der Lachseier 1. J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. VI. (Zool), 7. p. 27.

Gray, J. 1920. The relation of the animal cell to electrolytes. 1. A physiological study of the egg of the trout. J. Physiol., 35. p. 308.

——— 1932. The osmotic properties of the eggs of the trout (*Salmo fario*). J. Exp. Biol., 9. p. 277.

Kanoh, Y. 1950. Über Wasseraufnahme und Aktivierung der Lachseier. 1. Anno. Zool. Jap., 24. p. 13.

Krogh, A. and H. H. Ussing. 1937. A note on the permeability of trout egg to D_2O and H_2O. J. Exp. Biol., 14. p. 35.

Yamamoto, K. 1947. Über den Mechanismus für die Erniederung der Befruchtungsfähigkeit der mit Wasser in Berührung gekommenen Lachseier (auf japanisch). Ber. Hokkaido. Fischzucht., 2. p. 1.

Yamamoto, T. 1941. The osmotic properties of the egg of fresh-water fish, *Oryzias latipes*. J. Fac. Sci. Tokyo. Imp. Univ. Sec. IV (Zool), 5. p. 461.