

Physiologische Untersuchungsmethoden zur Bestimmung des Schädlichkeitsgrades von Abwassergiften in Süß-, Brack- und Salzwasser

EGON HALSBAND

*Bundesforschungsanstalt für Fischerei, Institut für Küsten- und Binnenfischerei,
Hamburg 50*

ABSTRACT: Methods of physiological research for assessing the degree of injury of waste water poisons in fresh, brackish and salt water. Changes in the physiological behaviour of animals exposed to a polluted medium are a good criterium for the grade of the water. The following categories can be distinguished: (a) the limit of lethality, (b) the disturbance limit, (c) the tolerance limit. The disturbance limit is especially important for critical examination, as it separates the biologically normal responses from the pathological ones. The following methods can be used in order to find out to which category the fish belongs: studies of metabolism, responses to stimuli, investigations of the blood status, determinations of potassium and sodium contents in serum and in the total organism, measurement of electrical resistance of fishes and of their gut temperature, and histological examinations. Research has been carried out by these methods with regard to the amount of damages caused by the mixed waste water of a chemical factory. The waste water was tested in fresh, brackish and sea-water. The results showed how much poisonous water could be added to the pure water without injury to the animals living in it.

EINLEITUNG

Im Rahmen der Untersuchungen über die Verschmutzung der Küstengewässer durch Industrieabwässer wurde das Mischabwasser einer chemischen Fabrik auf seinen Schädlichkeitsgrad für die im Wasser lebenden Fische und Fischnährtiere untersucht. Es wurden dabei Methoden verwendet, die sich bereits früher zur Untersuchung der Schädlichkeit von Abwässern in Binnengewässern bewährt hatten. Diese Methoden wurden für die Anwendung in Brack- und Seewasser erweitert und umgearbeitet.

Der schädigende Einfluß von Abwässern ist am genauesten durch die Untersuchung der physiologischen Vorgänge im Lebewesen zu erfassen. Das stoffwechsel- und reizphysiologische Verhalten der Wassertiere unterliegt je nach den im Außenmedium herrschenden Bedingungen großen Schwankungen und kann daher als Kriterium für den Grad der Verunreinigung eines Gewässers dienen. Es lassen sich dabei folgende Phasen unterscheiden:

(a) Die Letalitätsgrenze, bei der das Tier nicht lebensfähig ist und nach kurzer Zeit eingeht.

(b) Die Störungsschwelle, in der stärkere physiologische Schwankungen eintreten, die jedoch äußerlich zunächst nicht erkennbar sind und auch nicht unmittelbar zum Tode führen. Das Tier ist noch längere Zeit lebensfähig und flieht, wenn es kann, aus dem verunreinigten Gewässerbezirk, da es sich durch die veränderte Beschaffenheit des Gewässers gestört fühlt. Kann es nicht in biologisch gesündere Zonen abwandern,

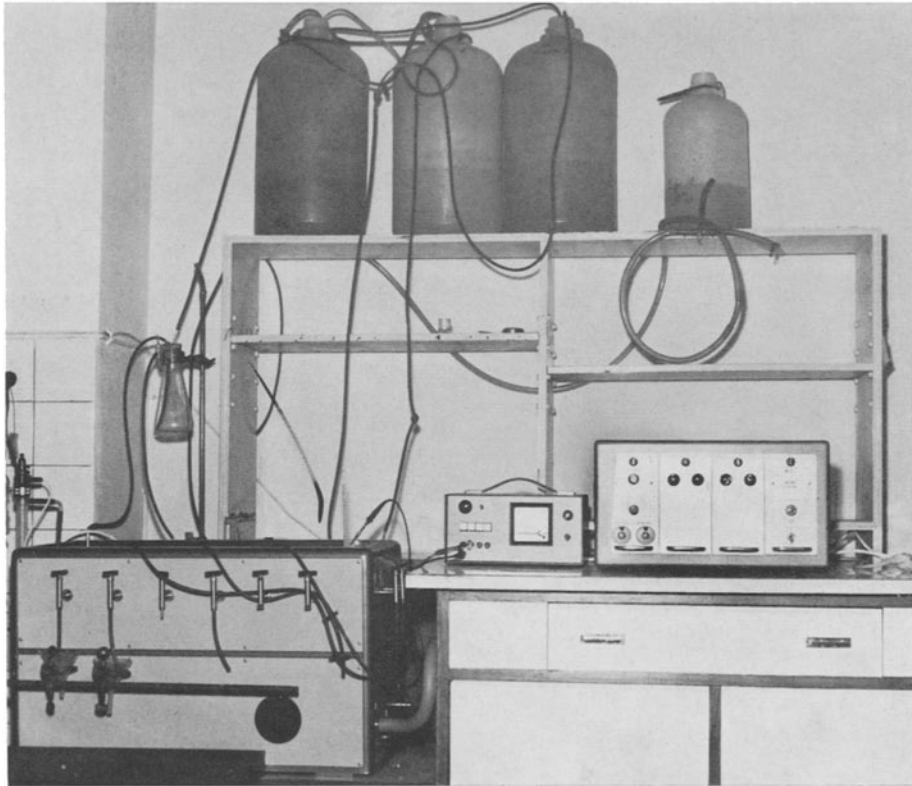


Abb. 1: Stoffwechselapparatur zur Untersuchung von Fischen und Fischnährtieren (Ansicht)

so führen die physiologischen Veränderungen auf die Dauer gesehen zum Tode. Die Störungsschwelle ist bei der Beurteilung besonders wichtig, da sie den biologisch-normalen vom pathologischen Bereich trennt. Die Konzentration eines Abwassers, die als Belastung des Vorfluters noch zulässig ist, muß also in jedem Falle unterhalb der Konzentration liegen, die als Störungsschwelle festgestellt wurde.

(c) Die Erträglichkeitsgrenze, bei der sich die auftretenden nur noch geringen Schwankungen kompensieren lassen.

Nach diesem Prinzip wurden nun Untersuchungen an Süß- und Seewassertieren mit dem oben genannten Abwasser durchgeführt. Folgende Methoden wurden im einzelnen verwendet:

Jedem physiologischen Versuch geht ein sogenannter Vortest voraus. Dazu wird

von dem Abwasser zunächst eine Probe von 25 l entnommen und im Aquarienversuch festgestellt, ob die Fische innerhalb von 3 bis 4 Stunden in diesem Wasser äußerlich erkennbare Schäden (z. B. heftige Kiemendeckelbewegungen, Unruhe, Taumeln, Schräglage usw.) zeigen oder ob die Fische sogar eingehen. Treten derartige Schädigungserscheinungen auf, so muß man die Abwasserprobe mit normalem Wasser so weit verdünnen, bis sich keine Schäden mehr zeigen. Mit dieser Abwasserverdünnung wird dann der eigentliche physiologische Versuch begonnen.

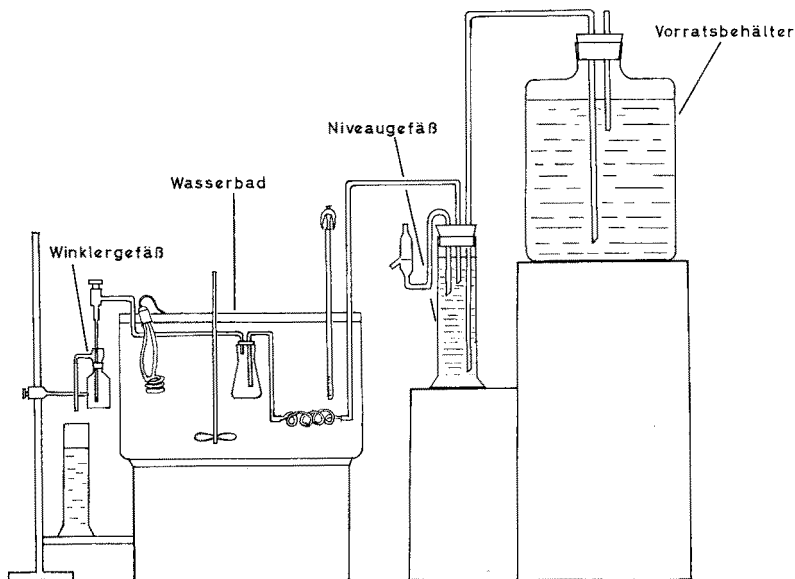


Abb. 2: Vorrichtung zur Bestimmung des O_2 -Verbrauchs zur Untersuchung der Fischnährtiere (siehe Text)

STOFFWECHSELPHYSIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG

Der Stoffwechsel der Fische und Fischnährtiere wird durch eine speziell zu diesem Zweck konstruierte Stoffwechselapparatur gemessen (Abb. 1, 2). Es gelangt dabei eine chemische Methode (Bestimmung des O_2 -Verbrauches) und eine physikalische (Messung der Atemfrequenz) zur Anwendung. Bei der Fischnährtieruntersuchung kann nur die letztere verwendet werden.

Die Atemfrequenz wird nach einer elektrischen Methode (HALSBAND 1953) bestimmt. Das Prinzip der Methode beruht auf der Messung eines geringen Strompotentials, das zwischen 2 Elektroden, einer bewegten und einer unbewegten entsteht. Die unbewegte Elektrode befindet sich dabei außerhalb der Röhre, in die der Fisch eingesetzt wird; die bewegte liegt über den Kiemen des Fisches und wird bei jedem Wasserausstrom aus den Kiemen aus ihrer konstanten Lage gebracht. Die Anzahl der Atembewegungen

kann über ein Verstärkersystem durch ein Zählgerät automatisch registriert werden (Abb. 3).

Bei der Messung des O₂-Verbrauchs gelangt die Methode von WINKLER zur Anwendung. Bei Anwesenheit bestimmter Ionen oder stark oxydierbarer Substanzen wird allerdings die WINKLERSche Bestimmungsmethode nach dem von ALSTERBERG (1926) beschriebenen Modus abgeändert, oder es wird die komplexometrische Bestimmung nach MALIK (1964) verwendet. In der Versuchsapparatur herrschen konstante Bedingungen bezüglich der Temperatur, der Durchstromgeschwindigkeit, des O₂-Angebotes und der

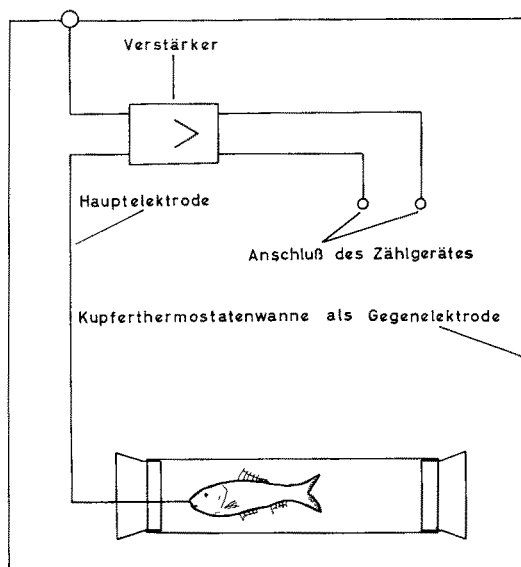


Abb. 3: Methodik der Atemfrequenzmessung (siehe Text)

Lichtverhältnisse. Die Versuchstiere werden mindestens 24 Stunden vorher an die Versuchsbedingungen angepaßt. Nach dem gleichen Prinzip werden die Fischnährtiere untersucht (BLÄSING 1953); allerdings wurden hierzu besondere Versuchsbehälter und Spezial-WINKLER-Flaschen konstruiert, um in einer Art Mikromethode den relativ geringen Sauerstoffverbrauch pro Zeiteinheit noch registrieren zu können. In jede Atemkammer wird hier durchschnittlich 500 bis 1000 mg Tiermaterial eingebracht. Die Versuchstiere werden zunächst in normalem Wasser untersucht, um den 100 %o-Wert zu erhalten, anschließend wird auf das entsprechende Abwasser umgeschaltet und die prozentuale Abweichung von der Norm festgestellt.

Zusätzlich kann auch noch die Darmtemperatur der Fische nach einer thermoelektrischen Methode bestimmt werden (Abb. 4). Das Thermoelement wird dabei in den Darm des Fisches eingeschoben und ein Gegenelement in ein Medium konstanter Temperatur gebracht. Nach der Differenzmethode kann man dann über ein Galvanometer, das wiederum einen Ausschlag auf einer Skala ergibt, feststellen, um wieviel die Darmtemperatur von der Wassertemperatur abweicht. Die Darmtemperatur, die immer um

einen geringen Wert über der Wassertemperatur liegt, ändert sich ebenfalls prozentual nach der Anpassung der Fische in verschiedenen Medien (HALSBAND 1953).

Schließlich kann die Atmung des Gewebes nach der Methode von WARBURG gemessen werden. Mit der WARBURG-Apparatur können auch Plankton und andere

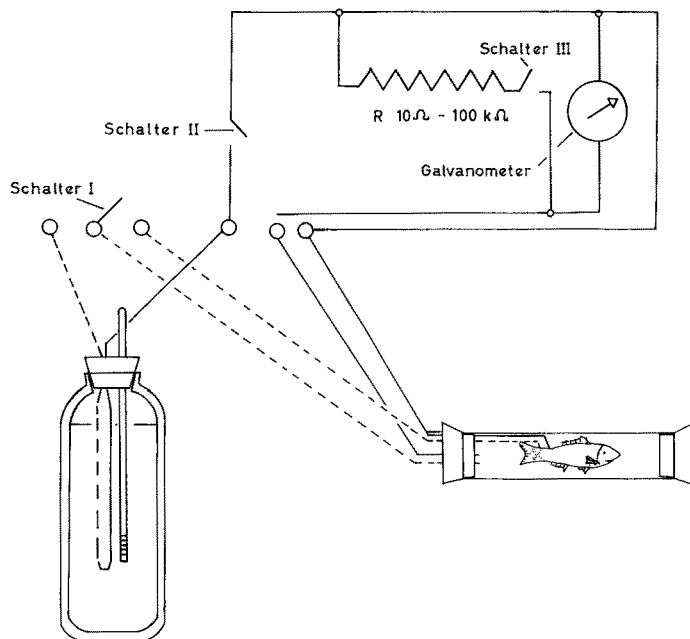
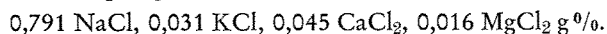


Abb. 4: Versuchsanordnung zur thermoelektrischen Messung der Darmtemperatur

Kleinstlebewesen untersucht werden. Die Gewebsdicke darf dabei ein bestimmtes Maß nicht überschreiten (WARBURG 1926). Als Bezugseinheit für die Gewebemenge wird das Trockengewicht herangezogen. Die Atmungsintensität wird nach dem Vorschlag von WARBURG in cmm Sauerstoffverbrauch je mg Trockengewicht in der Zeiteinheit als QO_2 angegeben = $\frac{Q \text{ mm}^3 O_2}{\text{mg Std.}}$. In das Versuchsgefäß wird eine für das Fischgewebe äquili-

brierte isotonische Lösung folgender Zusammensetzung eingefüllt:



Zur automatischen Registrierung der Atmung des Gewebes wird der Longator (Hersteller: Braun/Melsungen) eingesetzt. Dieser elektronisch gesteuerte Longator verrichtet die zeitraubende manuelle Arbeit an den Manometern exakt und kontinuierlich. Druckänderungen in den Reaktionsgefäßen werden vollautomatisch auf Schreibschlitzen übertragen und in Form von Stoffwechselkurven aufgezeichnet. Der Longator verfügt über sieben unabhängig voneinander arbeitende Meßstellen, wovon eine als Thermobarometer dient. Temperaturänderungen sowie Luftdruckschwankungen werden durch dieses Thermobarometer automatisch an diesen Meßkurven kompensiert und

somit unwirksam. Da kein Manometer mehr abgelesen wird, entfallen diesbezügliche Ungenauigkeiten wie auch fehlerhafte Thermobarometerkorrekturen.

UNTERSUCHUNG DES BLUTBILDES

Zur Feststellung, inwieweit das Blutbild der Fische durch Abwassergifte verändert wird, werden Anzahl und Oberfläche der roten Blutkörperchen sowie die Hämatokritwerte untersucht (HALSBAND 1963). Die Oberfläche wird unter dem Mikroskop bei 800-facher Vergrößerung gemessen und anschließend nach $(\frac{\pi}{4} \cdot A \cdot a) \cdot 2$ ($A =$ Länge, $a =$ Breite) errechnet. Die Zählung der roten Blutkörperchen erfolgt mit Hilfe einer Zählkammer von THOMA. Es werden bei jedem Fisch mindestens 200 Blutkörperchen gezählt.

Der Hämatokritwert wird nach der Methode von HEDIN-GÄRTNER bestimmt. Das prozentuale Volumen von Blutkörperchen und Plasma wird aus der Höhe der sedimentierten Säule der festen Bestandteile im Vergleich zum Blutserum errechnet. Es wird zunächst Blut von Fischen, die in normalem Wasser angepaßt waren, untersucht. Sodann werden Versuchsfische in verschiedene Abwasserverdünnungen eingesetzt und die prozentualen Abweichungen von den Werten der Normalfische festgestellt (HALSBAND 1963.)

MESSUNG DES KALIUM- UND NATRIUMGEHALTES IM SERUM DES FISCHES UND IM GANZTIER

Die Kalium- und Natriumbestimmungen werden mit Hilfe eines Flammenphotometers (Hersteller: Dr. LANGE, Berlin) durchgeführt. Zur Messung des Serums wird das Blut zentrifugiert und das gewonnene Serum entsprechend verdünnt. Die Lösungen werden dann im Flammenphotometer zerstäubt und gemessen. Die Errechnung des quantitativen Wertes erfolgt mit Hilfe einer vorher aufgestellten Eichkurve auf Grund des an der Photometerskala erfolgten Ausschlages. Zur Untersuchung des Ganztieres wird mit Hilfe einer elektrischen Maschine ein Fischbrei hergestellt. Dieser Fischbrei wird mit Salpeter- und Schwefelsäure versetzt, aufgelöst und dann entsprechend verdünnt (vgl. HINSBERG & LANG 1957). Die Lösungen werden genau wie das Serum im Photometer zerstäubt und gemessen.

REIZPHYSIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG

Um die durch die verschiedenen Abwässer hervorgerufenen reizphysiologischen Veränderungen der Fische zu registrieren, werden die Reaktionen der Fische im elektrischen Feld in einer Testapparatur untersucht. Über zwei Elektroden wird stufenweise Gleichstrom in ein Versuchsbecken geleitet, der einer 24-Volt-Batterie entnommen wird.

Zunächst werden an normales Wasser angepaßte Fische in der Apparatur untersucht, um Vergleichswerte zu haben. Anschließend werden die abwasserangepaßten

Fische in die Testapparatur gebracht. Durch Einstellung verschiedener Spannungswerte von 0,5 Volt an aufwärts wird jeweils das Verhalten der Fische beobachtet und registriert. Man bedient sich dabei des schon von SCHEMINZKY (1941) aufgestellten und auch schon bei früheren Versuchen des Verfassers zugrunde gelegten Schemas: (1) Reaktion, die in einem Zucken des Fischkörpers besteht, (2) Reaktion, bei der der Fisch zur Anode schwimmt (Galvanotaxis) und (3) Reaktion oder Galvanonarkose, bei der eine Betäubung des Fisches ausgelöst wird. Die Schwellenwerte zur Auslösung dieser 3 typischen Reaktionen werden jeweils registriert.

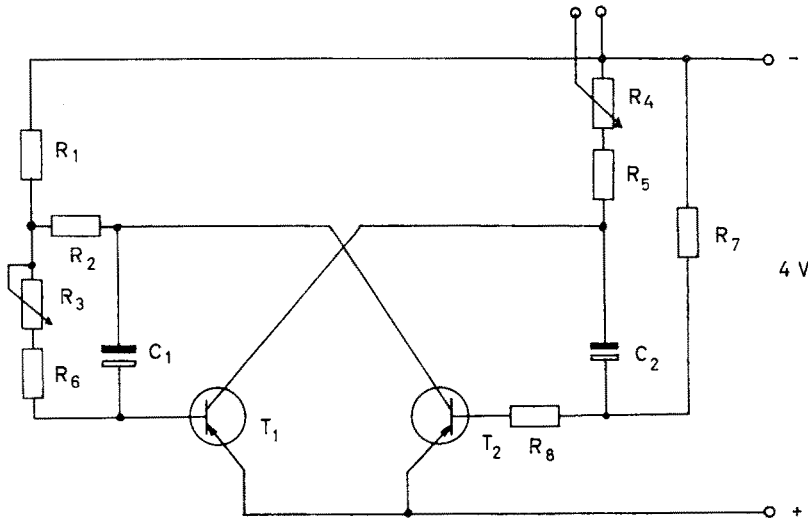


Abb. 5: Transistor-Impulsgeber zur Reizung der isolierten Nerven. R₃: Einstellung der Impulsfrequenz, R₄: Einstellung der Reizspannung

In der Testapparatur befindet sich für alle Versuche Normalwasser, um immer die gleichen Leitfähigkeitsvoraussetzungen für den Versuch zu haben.

Je nach dem Grad der Schädigung durch den Abwassereinfluß sind dann die Schwellenwerte, die zur Erzielung der einzelnen Reaktionen im elektrischen Feld erforderlich sind, bei den Abwasserfischen mehr oder weniger gegenüber den Normalfischen verändert. Es werden jeweils die prozentualen Abweichungen gegenüber der Norm errechnet (HALSBAND & MEYER-WAARDEN 1960).

Zur Messung der Beantwortung eines elektrischen Reizes durch den Nerven direkt wird der Nervus lateralis des Fisches vorsichtig freipräpariert. Als Reizelektroden werden eine indifferente und eine differente Elektrode benutzt, die beide aus Platin bestehen. Diese beiden Elektroden werden auf den unpräparierten Teil des Fisches in der Region des Nervus lateralis aufgesetzt. Die indifferente Elektrode (positiv) ist den Ableitungselektroden zugekehrt. Die Ableitungselektroden, die aus chloriertem Silberdraht oder auch aus Platindraht bestehen können, werden unter den freigelegten und etwas angehobenen Nerven gelegt.

Der Fisch wird in einer feuchten Kammer untersucht. Die zugeführte Reizspannung

wird aus einer Batterie entnommen und auf 1 mV heruntergeregelt. Im Abstand von jeweils 5 Sekunden wird ein Impuls gesetzt. Die Impulsgebung muß mit einem elektronischen, nicht mit einem mechanischen Schalter erfolgen. Das Prinzipschaltbild des verwendeten Transistor-Reizgerätes ist in der Abbildung 5 dargestellt. Mit Hilfe von Potentiometern können sowohl Spannung als auch Impulsfrequenz variiert werden. Vor jedem Versuch ist eine Kontrolle der Spannungshöhe auf dem Oszillographen erforderlich. Alle Leitungen, sowohl die der Reizelektroden als auch die der Ableitungselektroden, müssen abgeschirmt sein. Sowohl die Reizung als auch die Ableitung wird über einen 2-Strahl-Oszillographen der AEG mit dem höchsten Empfindlichkeitsbereich von 0,05 mV/cm gemessen. Es werden mit dieser Methode normalangepaßte und abwasserbeeinflusste Fische untersucht und die jeweiligen Veränderungen bezüglich der Höhe des auf den Reiz erfolgten Aktionsstrompotentials gemessen.

MESSUNG DES FISCHWIDERSTANDES

Der Widerstand bzw. die Leitfähigkeit des Fischkörpers ist bekanntlich abhängig von der Konsistenz des Fischinneren und der Beschaffenheit der Fischeoberfläche. Die Konsistenz des Fischkörpers kann wiederum durch die Zusammensetzung des Außen-

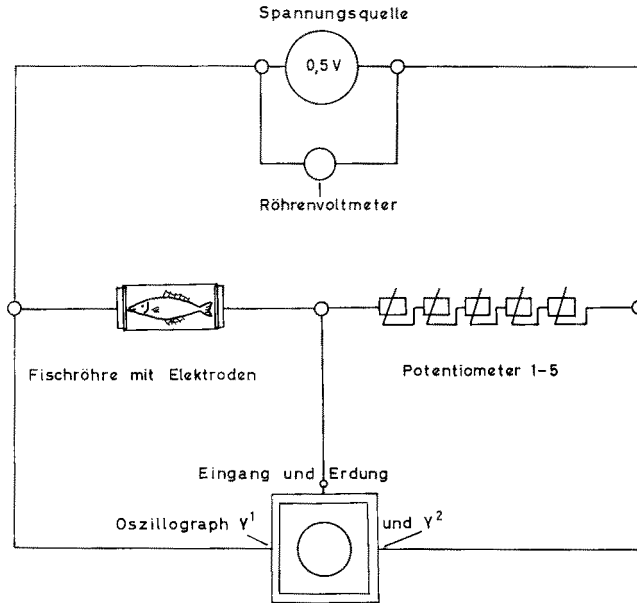


Abb. 6: Methodik zur Untersuchung der Leitfähigkeit des Fisches

mediums beeinflußt werden. Durch Veränderung des Fischwiderstandes wird auch seine Reaktion auf Reize des Außenmediums je nach der Art des einwirkenden Stoffes mehr oder weniger erhöht oder herabgesetzt.

Die Widerstandsmessungen können am Ganztier oder an der Fischmuskulatur mit oder ohne Haut durchgeführt werden. Die Messungen am Ganztier erfolgen auf folgende Weise: Der Fisch wird zur Messung in eine Glasröhre mit Leitungswasser gesetzt, deren Höhe der mittleren Fischdicke entspricht. Die Elektroden werden aus runden Kupferblechen angefertigt und haben den gleichen Durchmesser wie die Röhre. Sie sind so angeordnet, daß ihr Abstand auf die jeweilige Fischlänge eingestellt werden kann, so daß sich der Fisch mit Kopf- und Schwanzende direkt zwischen den Elektroden befindet.

Der Widerstand wird oszillographisch nach dem Prinzip des Spannungsabfalls gemessen. Als Oszillograph wird am besten ein Zweistrahloszillograph benutzt. Es wird mit einer Wechselstromspannung von 0,5 Volt gearbeitet. Die Versuchsanordnung geht aus der Abbildung 6 hervor. Die gesamte Meßeinrichtung befindet sich in einem Faraday-Käfig. Alle in den Faraday-Käfig geleiteten spannungsführenden Kabel werden über zwei Trenntransformatoren von dem Netz der Schalttafel getrennt. Die Widerstandsmessung beruht also auf einem Meßvorgang mit vergleichendem Spannungsabfall, d. h. der zwischen den beiden Elektroden liegende Widerstand bedingt einen Abfall der angelegten Spannung (0,5 V), der anschließend mit dem durch das Potentiometer erzeugten Spannungsabfall in Übereinstimmung gebracht wird. Der dann an den Potentiometern liegende Widerstand ist identisch mit dem zwischen den beiden Elektroden liegenden Widerstand. Als Frequenz des angelegten Wechselstromes wird 50 Hz benutzt. Es wird zunächst der zwischen den beiden Elektroden liegende Widerstand von Wasser und Fisch gemessen. Gleichzeitig wird, ebenfalls oszillographisch, der zwischen den Elektroden fließende Strom bei einer konstanten Spannung von 0,5 Volt ermittelt, um festzustellen, um wieviel höher die Stromaufnahme im Versuchsgefäß mit Fisch gegenüber der Stromaufnahme im Versuchsgefäß ohne Fisch ist. Die gleichen Messungen des Widerstandes und des Stromes werden auch in der Versuchsröhre ohne Fisch (nur mit Wasser gefüllt) vorgenommen. Der Widerstand des Fisches wird nach dem Kirchhoffschen Gesetz der Stromverzweigung errechnet, wobei Länge, Breite und Dicke des Fisches miteinbezogen werden.

Zur Messung der Fischmuskulatur werden 0,5 cm dicke Stücke aus der Rückenmuskulatur entnommen. Die Länge der entnommenen Muskelstreifen beträgt 7 cm. Um zu verhindern, daß die schmalen Streifen sich auseinanderwölben und sie während des Meßvorganges austrocknen, werden die Muskelstreifen in vorher gefertigte Paraffinformen gebracht. An die äußeren Flächen der Muskelstreifen werden jeweils die Platinelektroden, die eine Größe von 0,5 cm² haben, angelegt und der Widerstand nach dem gleichen Prinzip, wie oben beschrieben, gemessen.

Es werden Muskelstreifen mit und ohne Haut gemessen. Aus der Differenz des Wertes mit Haut und des Wertes ohne Haut läßt sich der Hautwiderstand errechnen. Eine Messung anderer Körperteile ist nach dieser Methode nicht möglich, da in der Bauchregion wegen der Hohlräume und der bei der Abtötung des Tieres ausgetretenen Gewebs- und Blutflüssigkeit keine exakte Messung durchgeführt werden kann (HALSBAND & HALSBAND 1965).

HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

Durch die histologischen Untersuchungen kann man nur indirekt auf eine physiologische Veränderung im Fisch schließen. Eine Veränderung der einzelnen Organe und Gewebsstrukturen führt jedoch im allgemeinen zu einer Funktionsveränderung des betreffenden Organs. Die histologischen Präparate werden je nach der Art des Objektes nach einer geeigneten Methode fixiert, geschnitten und gefärbt (vgl. ROMEIS 1948).

BEISPIELE EINER PRAKTISCHEN ANWENDUNG

Es wurde nun das Mischabwasser einer chemischen Fabrik, das eine größere Menge Eisensalz und Schwefelsäure enthielt, auf seinen Schädlichkeitsgrad nach den oben genannten Methoden untersucht. Das Abwasser wurde zunächst in Süßwasser getestet und neben der Letalitätsgrenze und Störungsschwelle der Verdünnungsgrad festgestellt, bei

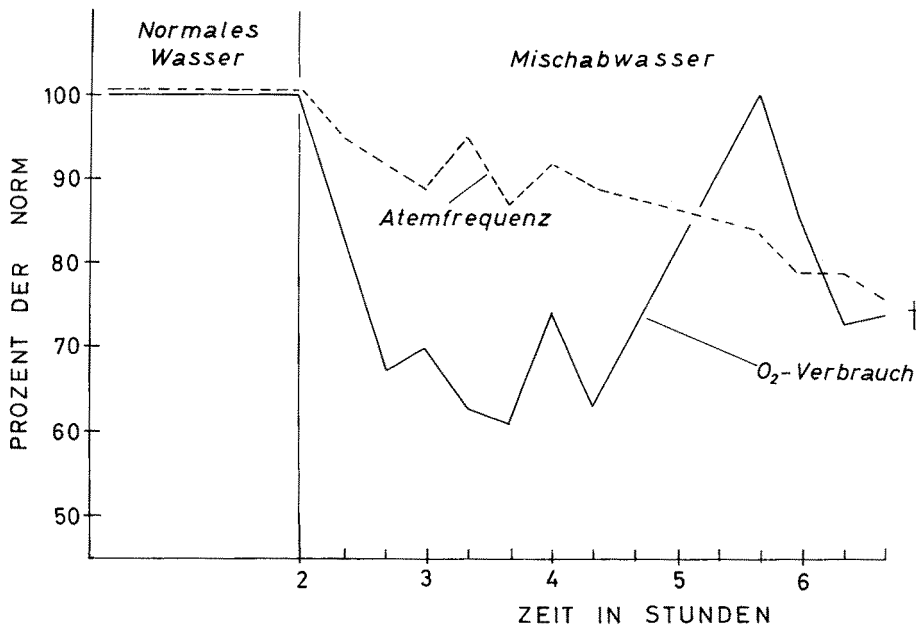


Abb. 7: Bestimmung der Letalitätsgrenze, Mischabwasser einer chemischen Fabrik. Versuchstier: *Salmo gairdnerii*

dem die Fische und Fischnährtiere ohne größere physiologische Veränderungen lebensfähig waren. Sodann wurde Wasser auf einen Salzgehalt von 12 ‰, 16 ‰ und 20 ‰ gebracht, um auch die Brackwasserverhältnisse für die Versuche herzustellen. Schließlich wurden auch Abwasserverdünnungen in 30 ‰ Seewasser untersucht. Als Versuchstiere wurden sowohl Süßwasser- als auch Seewassertiere verwendet.

Für die Süßwasserversuche wurde als Fischart die Forelle *Salmo gairdnerii* gewählt, da sie wegen ihres guten Reaktionsvermögens ein sehr geeignetes Testobjekt darstellt und somit den Erträglichkeitsbereich angibt, der auch noch für sehr empfindliche Fische des Süßwassers gilt. Als Süßwasserfischnährtiere wurden *Gammarus pulex* und *Tubifex* getestet. In Brack- und Seewasser wurden folgende Tierarten untersucht: *Gasterosteus aculeatus*, *Pleuronectes platessa*, *Zoarces viviparus*, *Agonus cataphractus*, *Callionymus lyra*, *Acerina cernua*, *Crangon vulgaris*, *Gammarus tigrinus*, *Gammarus duebeni*.

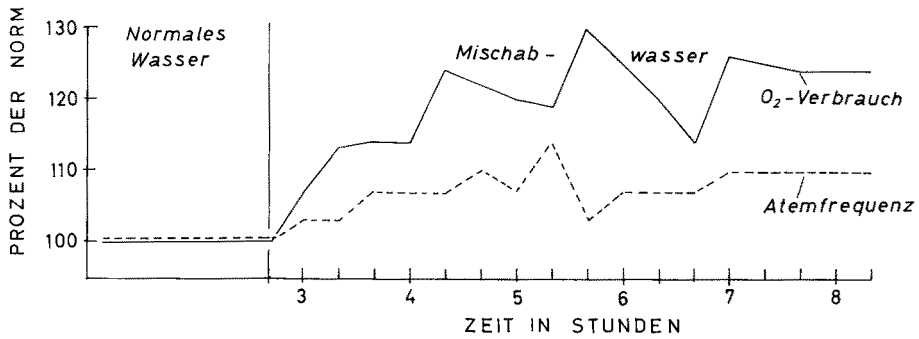


Abb. 8: Bestimmung der Störungsschwelle, Mischabwasser einer chemischen Fabrik. Versuchstier: *Salmo gairdnerii*

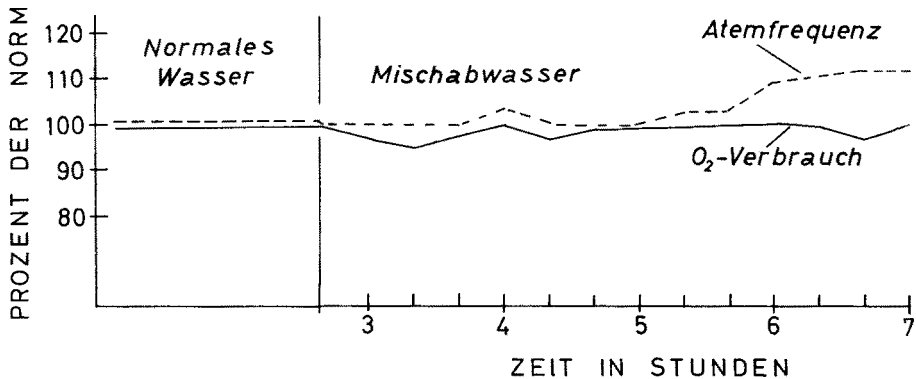


Abb. 9: Bestimmung der Erträglichkeitgrenze, Mischabwasser einer chemischen Fabrik. Versuchstier: *Salmo gairdnerii*

Die Stoffwechselversuche zeigten die prozentualen Abweichungen der Stoffwechselintensität der Abwassertiere von der gesunder Fische und Fischnährtiere, wobei sowohl Sauerstoffverbrauch als auch Atemfrequenz und Darmtemperatur der Versuchstiere im Abwasser gegenüber der Norm verändert waren. Ein typisches Versuchsbeispiel zeigen die Abbildungen 7, 8 und 9.

Bei der Verdünnung 1:10 ist deutlich zu erkennen, daß sowohl der Sauerstoffverbrauch als auch die Atemfrequenz der Fische großen Schwankungen unterworfen sind. Der Sauerstoffverbrauch sinkt bis auf maximal 61% gegenüber der Norm (100%),

Tabelle 1

Messung der Oberfläche der Erythrozyten von *Salmo gairdnerii*. Anpassungsmedium: normales Wasser, Anpassungszeit: 48 Std.

Lfd. Nr.	A	× 1,5	a	× 1,5	Fin μ^2	Lfd. Nr.	A	× 1,5	a	× 1,5	Fin μ^2
1	9,9	14,8	5,8	8,7	202	51	10,0	15,0	5,7	8,6	203
2	10,0	15,0	5,9	8,8	207	52	10,0	15,0	5,7	8,6	203
3	9,7	14,5	5,9	8,9	203	53	10,3	15,4	5,6	8,4	203
4	10,0	15,0	5,7	8,6	203	54	9,9	14,8	5,8	8,7	202
5	9,6	14,4	6,0	9,0	203	55	10,1	15,2	5,6	8,4	200
6	10,0	15,0	5,7	8,6	203	56	10,1	15,2	5,6	8,4	200
7	10,1	15,2	5,6	8,4	200	57	9,9	14,8	5,8	8,7	202
8	10,3	15,4	5,6	8,4	203	58	10,0	15,0	5,8	8,7	204
9	9,9	14,8	5,8	8,7	202	59	10,1	15,2	5,8	8,7	207
10	10,1	15,2	5,6	8,4	200	60	10,3	15,4	5,6	8,4	203
11	10,0	15,0	5,8	8,7	204	61	9,9	14,8	5,8	8,7	202
12	10,1	15,2	5,8	8,7	207	62	10,0	15,0	5,7	8,6	203
13	10,0	15,0	5,7	8,6	203	63	9,7	14,0	5,9	8,8	203
14	10,1	15,2	5,6	8,4	200	64	9,4	14,1	6,1	9,2	204
15	9,6	14,4	6,0	9,0	203	65	10,1	15,2	5,7	8,6	205
16	10,0	15,0	5,7	8,6	203	66	10,3	15,4	5,6	8,4	203
17	10,0	15,0	5,8	8,7	204	67	9,9	14,8	5,8	8,7	202
18	9,6	14,4	6,0	9,0	203	68	9,4	14,1	6,1	9,2	203
19	10,0	15,0	5,7	8,6	203	69	9,9	14,8	5,8	8,7	202
20	10,3	15,4	5,6	8,4	203	70	9,9	14,8	5,8	8,7	202
21	10,0	15,0	5,7	8,6	203	71	10,1	15,2	5,7	8,6	205
22	10,3	15,4	5,6	8,4	203	72	10,0	15,0	5,7	8,6	203
23	9,6	14,4	6,0	9,0	203	73	10,1	15,2	5,6	8,4	200
24	9,9	14,8	5,8	8,7	202	74	10,1	15,2	5,7	8,6	205
25	9,6	14,4	6,0	9,0	203	75	9,9	14,8	5,8	8,7	202
26	10,0	15,0	5,7	8,6	203	76	10,0	15,0	5,8	8,7	204
27	10,3	15,4	5,7	8,6	206	77	10,0	15,0	5,7	8,6	203
28	9,5	14,2	6,1	9,2	203	78	10,3	15,4	5,6	8,4	203
29	10,0	15,0	5,7	8,6	203	79	9,5	14,2	6,1	9,2	204
30	10,0	15,0	5,7	8,6	203	80	9,4	14,1	6,0	9,0	199
31	10,3	15,4	5,6	8,4	203	81	9,8	14,7	5,9	8,8	202
32	10,0	15,0	5,8	8,7	204	82	10,0	15,0	5,7	8,6	203
33	9,6	14,4	6,0	9,0	203	83	10,3	15,4	5,6	8,4	203
34	9,7	14,5	5,9	8,8	203	84	10,1	15,2	5,7	8,6	205
35	10,0	15,0	5,7	8,6	203	85	10,0	15,0	5,7	8,6	203
36	10,0	15,0	5,7	8,6	203	86	9,9	14,8	5,8	8,7	202
37	9,9	14,8	5,7	8,6	200	87	10,0	15,0	5,7	8,6	203
38	10,0	15,0	5,7	8,6	203	88	10,1	15,2	5,7	8,6	205
39	9,6	14,4	6,0	9,0	203	89	9,6	14,4	6,0	9,0	203
40	9,9	14,8	5,8	8,7	202	90	10,0	15,0	9,7	8,6	203
41	10,3	15,4	5,6	8,4	203	91	10,0	15,0	5,8	8,7	204
42	10,0	15,0	5,7	8,6	203	92	10,0	15,0	5,7	8,6	203
43	10,3	15,4	5,6	8,4	203	93	10,1	15,2	5,7	8,6	205
44	9,9	14,8	5,8	8,7	202	94	10,1	15,2	5,7	8,6	205
45	9,7	14,5	5,9	8,8	203	95	10,0	15,0	5,7	8,6	203
46	10,0	15,0	5,7	8,6	203	96	10,1	15,2	5,7	8,6	205
47	9,4	14,1	6,1	9,2	204	97	9,6	14,4	6,0	9,0	203
48	10,0	15,0	5,7	8,6	203	98	10,0	15,0	5,7	8,6	203
49	10,3	15,4	5,6	8,4	203	99	10,0	15,0	5,7	8,6	203
50	9,7	14,5	5,9	8,8	203	100	10,1	15,2	5,7	8,6	205

Mittelwert: 203,00 / m: $\pm 1,28$ / M: $\pm 0,128$

Tabelle 2

Messung der Oberfläche der Erythrozyten von *Salmo gairdnerii*. Anpassungsmedium: Mischabwasser einer chemischen Fabrik, Anpassungszeit: 48 Std.

Lfd. Nr.	A	× 1,5	a	× 1,5	Fin μ^2	Lfd. Nr.	A	× 1,5	a	× 1,5	Fin μ^2
1	11,5	17,2	6,0	9,0	242	51	11,0	16,5	6,4	9,6	249
2	11,2	16,8	6,3	9,4	247	52	12,0	18,0	5,6	8,4	237
3	11,0	16,5	6,5	9,7	251	53	11,5	17,2	6,0	9,0	242
4	11,2	16,8	6,5	9,7	247	54	11,0	16,5	6,4	9,6	249
5	11,5	17,2	6,0	9,0	242	55	11,2	16,8	6,5	9,7	247
6	11,5	17,2	6,0	9,0	242	56	11,0	16,5	6,5	9,7	251
7	11,2	16,8	6,5	9,7	247	57	11,5	17,2	6,0	9,0	242
8	11,0	16,5	6,4	9,6	249	58	11,5	17,2	6,0	9,0	242
9	11,5	17,2	6,1	9,1	245	59	11,0	16,5	6,4	9,6	249
10	11,5	17,2	6,0	9,0	242	60	11,5	17,2	6,0	9,0	242
11	11,5	17,2	6,0	9,0	242	61	11,5	17,2	6,0	9,0	242
12	11,8	17,7	5,8	8,7	242	62	11,5	17,2	6,0	9,0	242
13	11,5	17,2	6,0	9,0	242	63	11,0	16,5	6,4	9,6	249
14	11,5	17,2	6,1	9,1	245	64	11,5	17,2	6,0	9,0	242
15	11,2	16,8	6,5	9,7	247	65	11,0	16,5	6,5	9,7	251
16	11,0	16,5	6,4	9,6	249	66	11,5	17,2	6,0	9,0	242
17	11,5	17,2	6,0	9,0	242	67	11,2	16,8	6,5	9,7	247
18	11,0	16,5	6,4	9,6	249	68	11,0	16,5	6,4	9,6	249
19	11,5	17,2	6,0	9,0	242	69	11,5	17,2	6,0	9,0	242
20	11,0	16,5	6,4	9,6	249	70	11,2	16,8	6,5	9,7	247
21	11,5	17,2	6,0	9,0	242	71	11,0	16,5	6,5	9,7	251
22	11,5	17,2	6,0	9,0	242	72	11,5	17,2	6,0	9,0	242
23	11,5	17,2	6,0	9,0	242	73	11,2	16,8	6,5	9,7	247
24	11,2	16,8	6,5	9,7	247	74	11,0	16,5	6,5	9,7	251
25	11,5	17,2	6,1	9,1	245	75	11,2	16,8	6,5	9,7	247
26	11,2	16,8	6,5	9,7	247	76	11,5	17,2	6,0	9,0	242
27	11,5	17,2	6,0	9,0	242	77	11,5	17,2	6,0	9,0	242
28	11,5	17,2	6,0	9,0	242	78	11,5	17,2	6,0	9,0	242
29	11,0	16,5	6,4	9,6	249	79	11,5	17,2	6,0	9,0	242
30	11,2	16,8	6,5	9,7	247	80	11,0	16,5	6,5	9,7	251
31	11,5	17,2	6,0	9,0	242	81	11,2	16,8	6,5	9,7	247
32	11,2	16,8	6,5	9,7	247	82	11,0	16,5	6,4	9,6	249
33	11,0	16,5	6,5	9,7	251	83	11,0	16,5	6,4	9,6	249
34	11,0	16,5	6,5	9,7	252	84	11,2	16,8	6,2	9,3	245
35	11,5	17,2	6,0	9,0	242	85	11,8	17,7	5,8	8,7	242
36	11,8	17,7	5,8	8,7	242	86	11,2	16,8	6,5	9,7	247
37	11,5	17,2	6,0	9,0	242	87	11,5	17,2	6,0	9,0	242
38	11,2	16,8	6,5	9,7	247	88	11,2	16,8	6,5	9,7	247
39	11,0	16,5	6,5	9,7	251	89	11,0	16,5	6,5	9,7	251
40	11,2	16,8	6,5	9,7	247	90	11,5	17,2	6,0	9,0	242
41	11,2	16,8	6,5	9,7	247	91	11,5	17,2	6,0	9,0	242
42	11,5	17,2	6,0	9,0	242	92	11,2	16,8	6,4	9,6	252
43	11,5	17,2	5,9	8,9	241	93	11,0	16,5	6,4	9,6	249
44	11,5	17,2	6,0	9,0	242	94	11,5	17,2	6,0	9,0	242
45	11,8	17,7	5,8	8,7	242	95	11,2	16,8	6,5	9,7	247
46	11,0	16,5	6,4	9,6	249	96	11,0	16,5	6,4	9,6	249
47	11,5	17,2	6,0	9,0	242	97	11,5	17,2	6,0	9,0	242
48	11,2	16,8	6,5	9,7	247	98	11,5	17,2	6,0	9,0	242
49	11,0	16,5	6,4	9,6	249	99	11,0	16,5	6,4	9,6	249
50	11,0	16,5	6,5	9,7	251	100	11,5	17,2	6,0	9,0	242

Mittelwert: 245 / m: $\pm 3,56$ / M: $\pm 0,356$

und die Atemfrequenz ist um maximal 24% erniedrigt. Die Fische gehen am Ende des Versuches ein. Diese Verdünnung gehört also noch in den Letalitätsbereich.

Bei der Verdünnung 1:20 wurden ebenfalls noch stärkere Stoffwechselschwankungen registriert. Atemfrequenz und Sauerstoffverbrauch waren in diesem Falle erhöht. Die Tiere gingen jedoch nach Versuchsende nicht ein. Diese Verdünnung kennzeichnet daher den Bereich der Störungsschwelle.

Erst bei der Verdünnung 1:40 waren sowohl Sauerstoffverbrauch als auch Atemfrequenz keinen größeren Schwankungen mehr unterworfen. Die nur noch in geringem Maße auftretenden Abweichungen von der Norm konnten von den Fischen kompensiert werden. Diese Konzentration stellt also die Erträglichkeitsgrenze dar.

In ähnlicher Weise wurden nun auch die anderen physiologischen Tests durchgeführt und dabei sowohl Letalitätsgrenze, Störungsschwelle und Erträglichkeitsgrenze festgestellt. Insgesamt kann gesagt werden, daß sich prozentuale Abweichungen zwischen 5 bis 10% noch vom Lebewesen kompensieren lassen. Schädigungen bis zu maximal 35% gehören in den Bereich der Störungsschwelle; alle darüber hinausgehenden Veränderungen fallen bereits in den Letalitätsbereich.

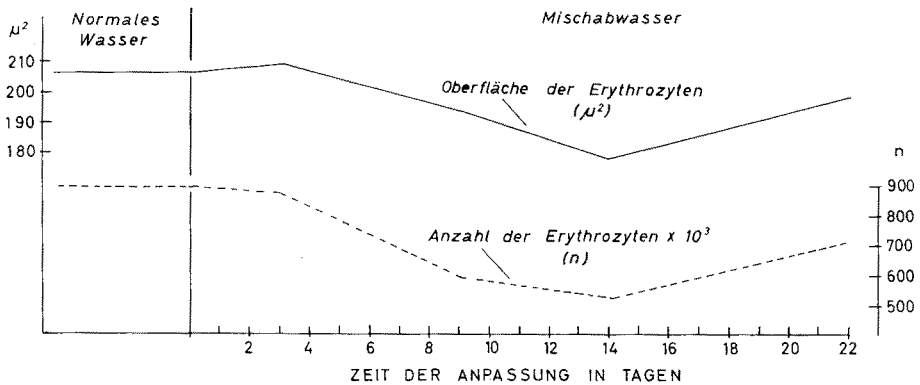


Abb. 10: Veränderungen des Blutbildes der Forelle *S. gairdnerii* unter Einfluß des Mischabwassers einer chemischen Fabrik

Die nachfolgenden Tabellen und Abbildungen zeigen Beispiele der übrigen Versuchsreihen. Das Blutbild von abwasserangepaßten Tieren wies sowohl Veränderungen in der Anzahl und Oberfläche der Erythrozyten als auch im Hämatokritwert auf (Tabelle 1 und 2, Abbildung 10).

Durch den Einfluß des Abwassers wurden ebenfalls die Gewebeatmung sowie der Kalium- und Natriumgehalt des Ganztieres verändert (Abb. 11 und 12). Im Bereich des reizphysiologischen Verhaltens wurden bei abwassergeschädigten Fischen andere Schwellenwerte registriert, um die im elektrischen Feld auftretenden typischen Reaktionen der Fische – Elektrotaxis und Elektronarkose – hervorzurufen als bei den Normalfischen (Tabelle 3, 4 und 5).

Die Untersuchungen am Nerven ließen erkennen, daß die Stärke der Beantwortung eines gesetzten elektrischen Reizes durch den Nerven bei den in Abwasser gehaltenen

Tabelle 3

Reizphysiologischer Test mit Mischabwasser einer chemischen Fabrik zur Bestimmung der Erträglichkeitsgrenze. (Nach HALSBAND 1960)

Medium	1. Reaktion		2. Reaktion		3. Reaktion	
	Volt	Volt ‰	Volt	Volt ‰	Volt	Volt ‰
normales Wasser	1,0	100	4,0	100	12,5	100
Abwasser	1,0	100	4,0	100	12,5	100
normales Wasser	1,0	100	3,9	100	12,5	100
Abwasser	1,0	100	4,0	110	12,5	100
normales Wasser	1,0	100	4,0	100	12,5	100
Abwasser	1,0	100	4,0	100	12,5	100
normales Wasser	1,0	100	4,1	100	12,5	100
Abwasser	1,0	100	4,0	98	12,5	100
normales Wasser	1,0	100	4,1	100	12,5	100
Abwasser	1,0	100	4,2	110	12,5	100
normales Wasser	1,0	100	4,0	100	12,2	100
Abwasser	1,0	100	4,1	110	12,0	98
normales Wasser	1,0	100	4,0	100	12,5	100
Abwasser	1,0	100	4,0	100	12,2	96
normales Wasser	1,0	100	4,0	100	12,5	100
Abwasser	1,0	100	4,1	105	12,5	100
Durchschnittswert in ‰ (Abweichung der Abwasserwerte)	100		103		100	

Tabelle 4

Reizphysiologischer Test mit Mischabwasser einer chemischen Fabrik zur Bestimmung der Störungsschwelle. (Nach HALSBAND 1960)

Medium	1. Reaktion		2. Reaktion		3. Reaktion	
	Volt	Volt ‰	Volt	Volt ‰	Volt	Volt ‰
normales Wasser	1,0	100	3,8	100	12,0	100
Abwasser	1,2	120	4,8	127	11,4	95
normales Wasser	1,0	100	3,8	100	12,5	100
Abwasser	1,2	120	4,9	128	11,8	94
normales Wasser	1,0	100	3,9	100	12,5	100
Abwasser	1,2	120	5,0	128	11,9	95
normales Wasser	1,0	100	4,0	100	12,0	100
Abwasser	1,2	120	5,0	125	11,1	93
normales Wasser	1,0	100	4,0	100	12,0	100
Abwasser	1,2	120	5,1	128	11,0	92
normales Wasser	1,0	100	3,6	100	12,0	100
Abwasser	1,2	120	4,5	126	11,0	92
normales Wasser	1,0	100	4,0	100	12,0	100
Abwasser	1,2	120	5,1	128	11,5	96
normales Wasser	1,0	100	4,0	100	12,0	100
Abwasser	1,2	120	5,1	128	11,0	92
Durchschnittswert in ‰ (Abweichung der Abwasserwerte)	120		127		94	

nen Fischen je nach dem Verdünnungsgrad des Abwassers mehr oder weniger stark verändert wurde (Abb. 13, 14 und 15). Auch der Fischwiderstand zeigte nach Anpassung der Versuchstiere an das Abwasser Abweichungen von der Norm.

Tabelle 5

Reizphysiologischer Test mit Mischabwasser einer chemischen Fabrik zur Bestimmung der Letalitätsgrenze. (Nach HALSBAND 1960)

Medium	1. Reaktion		2. Reaktion		3. Reaktion	
	Volt	Volt ‰	Volt	Volt ‰	Volt	Volt ‰
normales Wasser	1,0	100	3,5	100	12,5	100
Abwasser	1,4	140	5,3	152	10,8	86
normales Wasser	1,0	100	3,2	100	11,5	100
Abwasser	1,4	140	4,9	153	9,6	84
normales Wasser	1,0	100	4,0	100	12,5	100
Abwasser	1,2	120	3,8	—	10,8	86
normales Wasser	1,0	100	3,4	100	12,2	100
Abwasser	1,4	140	5,1	150	10,6	87
normales Wasser	1,0	100	3,9	100	12,5	100
Abwasser	1,4	140	5,9	152	10,5	84
normales Wasser	1,0	100	3,4	100	12,0	100
Abwasser	1,4	140	5,1	150	10,4	87
normales Wasser	1,0	100	3,6	100	12,0	100
Abwasser	1,4	140	5,5	153	10,1	87
normales Wasser	1,0	100	3,2	100	12,5	100
Abwasser	1,4	140	4,9	153	10,8	86
Durchschnittswert in ‰ (Abweichung der Abwasserwerte)		140		152		86

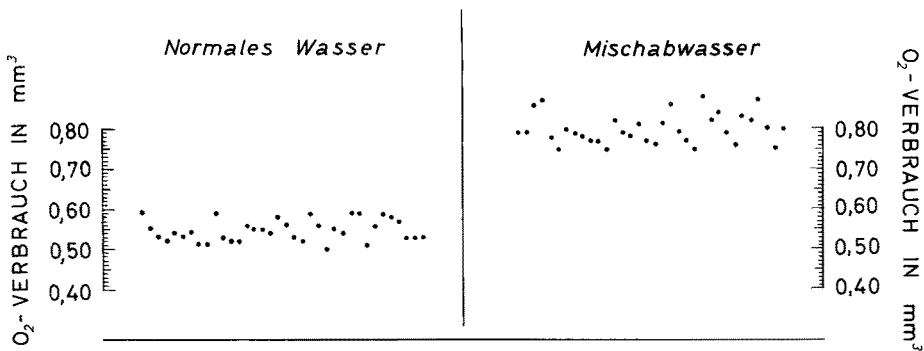


Abb. 11: Veränderungen des O₂-Verbrauchs von Kiemengewebe der Forelle *S. gairdnerii* unter Abwassereinfluß (bezogen auf mm³/mg Trockengewicht/Stunde)

Durch die histologischen Untersuchungen wurde festgestellt, daß das genannte Abwasser deutliche Ablagerungen von Eisenhydroxyd auf den Kiemen bildet, welche die normale Funktion der Kiemen beeinträchtigen (Abb. 16 und 17).

Wenn man die Ergebnisse aller durchgeführten Versuchsreihen zusammenfaßt, so kann man sagen, daß für das untersuchte Abwasser die Erträglichkeitsgrenze bei 1:40, die Störungsschwelle bei 1:20 und die Letalitätsgrenze bei 1:10 liegt.

Diese Konzentrationen stellen die untersten Erträglichkeitsgrenzen dar, die auch noch für sehr empfindliche Versuchstiere gelten. Selbstverständlich finden sich innerhalb der einzelnen Versuchstierarten gewisse Abweichungen. Als zulässige Verdünnung muß

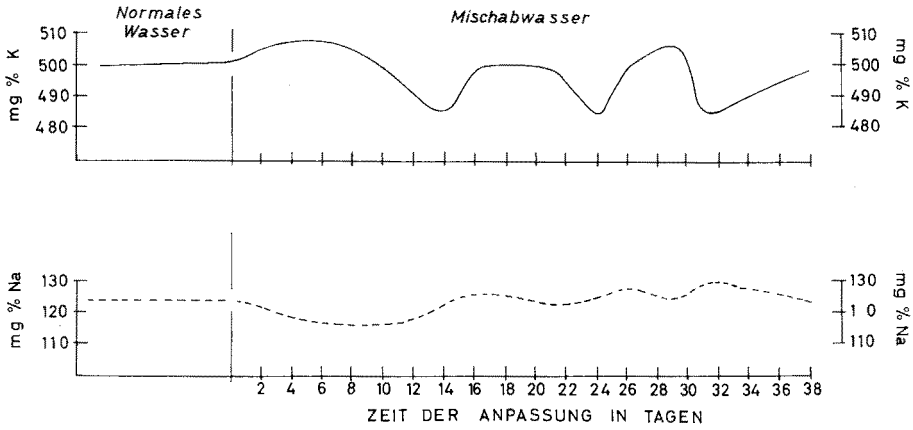


Abb. 12: Schwankungen des K- und Na-Gehaltes der Forelle *S. gairdnerii* unter Einfluß des Abwassers einer chemischen Fabrik. (Verdünnung 1:40)

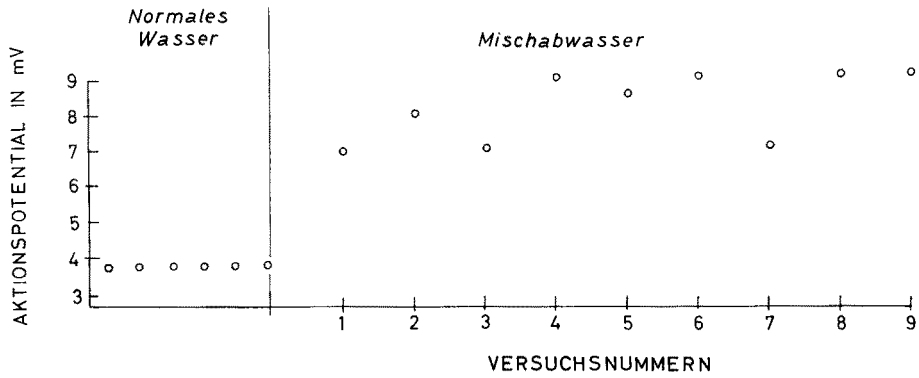


Abb. 13: Höhe des Aktionspotential des Nervus lateralis der Forelle in mV unter Einfluß von Abwasser

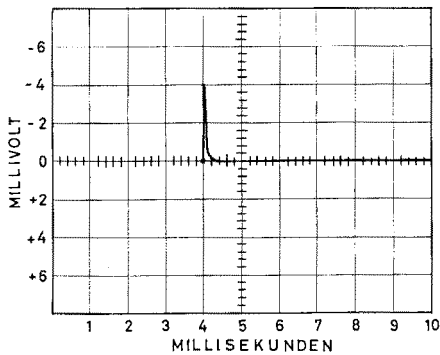


Abb. 14: Beantwortung eines elektrischen Reizes durch den Nervus lateralis einer in normalem Wasser angepaßten Forelle

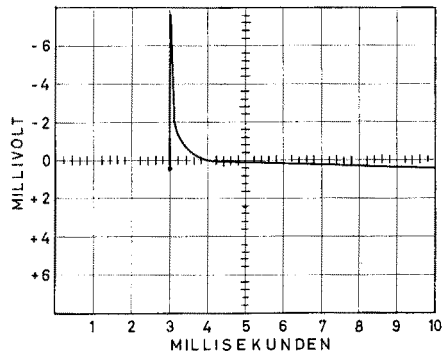


Abb. 15: Beantwortung eines elektrischen Reizes durch den Nervus lateralis einer im Abwasser einer chemischen Fabrik angepaßten Forelle

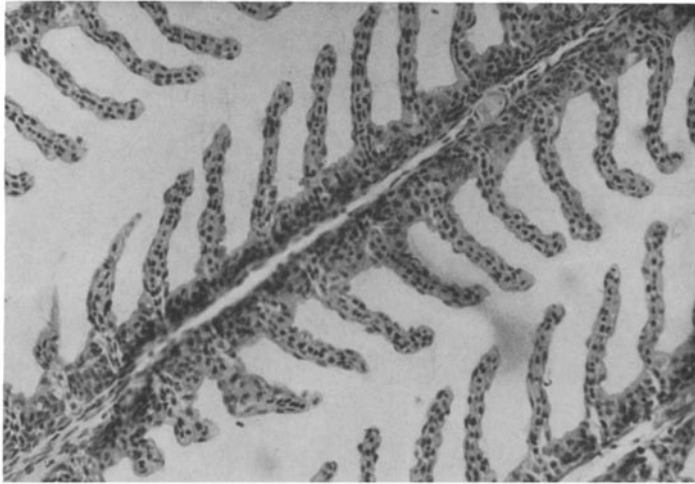


Abb. 16: Sagittalschnitt durch die Kiemen von Forellen, die in normalem Wasser gehalten wurden. (130:1)

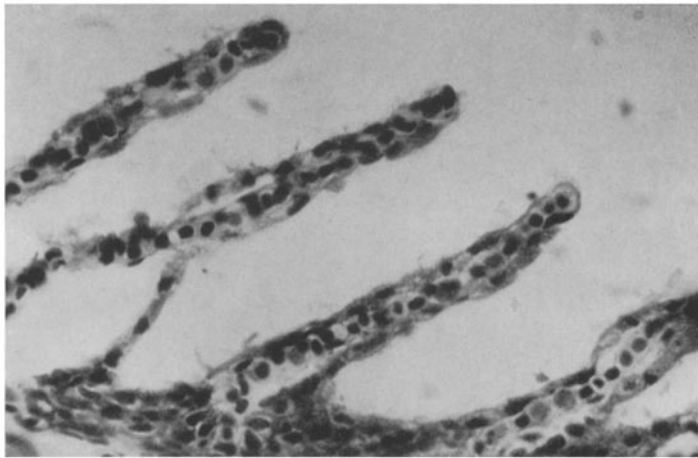


Abb. 17: Sagittalschnitt durch die Kiemen von Forellen, die 7 Tage im Mischabwasser einer chemischen Fabrik gehalten wurden. Auf den Kiemenblättchen sind deutliche Ablagerungen von Eisenhydroxyd zu erkennen. (320:1)

jedoch stets die Menge angegeben werden, die auch als Erträglichkeitsgrenze für die wenig resistenten Lebewesen maßgebend ist, da es für die Reinhaltung der Gewässer wichtig ist, daß das gesamte biologische Gleichgewicht eines Gewässers aufrechterhalten wird.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Es werden verschiedene physiologische Methoden beschrieben, um den Schädlichkeitsgrad von Abwässern in Süß- und Salzwasser zu untersuchen. Die Veränderung des physiologischen Verhaltens eines Lebewesens in einem abwassergeschädigten Milieu ist ein gutes Kriterium für den Grad der Verunreinigung eines Gewässers. Es lassen sich dabei folgende Phasen unterscheiden: (a) Die Letalitätsgrenze, bei der ein Tier nicht lebensfähig ist. (b) Die Störungsschwelle, in der stärkere physiologische Schwankungen eintreten, die nicht unmittelbar, aber auf die Dauer gesehen, zum Tode führen. (c) Die Erträglichkeitsgrenze, bei der sich geringe Schwankungen noch kompensieren lassen. Die Störungsschwelle ist bei der Beurteilung besonders wichtig, da sie den biologisch-normalen vom pathologischen Bereich trennt. Die Konzentration eines Abwassers, die als Belastung des Vorfluters noch zulässig ist, muß also in jedem Falle unterhalb der Konzentration liegen, die als Störungsschwelle festgestellt wurde.
2. Folgende Methoden können verwendet werden, um diese drei typischen Bereiche zu erfassen: (a) Der Stoffwechselltest. Hierbei werden Sauerstoffverbrauch, Atemfrequenz und Darmtemperatur der Versuchstiere untersucht. Der O₂-Verbrauch wird chemisch, die Atemfrequenz und Darmtemperatur werden nach einer elektrischen Methode untersucht. Außerdem wird der Gewebestoffwechsel in der WARBURG-Apparatur gemessen. (b) Die reizphysiologische Untersuchung. Reizphysiologische Veränderungen werden einmal durch Untersuchung der Reaktion der Versuchstiere im elektrischen Feld registriert. Zum anderen werden die Reizantwortungen eines freipräparierten Nerven mit Hilfe eines Kathodenstrahloszillographen gemessen. Die Höhe der abgegebenen Potentiale ist dann ebenfalls ein Maß für die erfolgte Beeinflussung der nervenphysiologischen Funktionen. (c) Die Untersuchung des Blutbildes. Es werden Anzahl und Oberfläche der roten Blutkörperchen sowie die Hämatokritwerte untersucht. (d) Die Untersuchung des Kalium- und Natriumgehaltes im Serum und Ganztier. Die Bestimmungen werden mit Hilfe eines Flammenphotometers vorgenommen. (e) Die Messung des Fischwiderstandes. Diese Untersuchung erfolgt nach dem Prinzip des Spannungsabfalls mit Hilfe eines Zweistrahloszillographen. (f) Die histologische Untersuchung, die nur indirekt auf eine funktionelle Veränderung bestimmter Organe schließen läßt.
3. Mit diesen Methoden wurde das Mischabwasser einer chemischen Fabrik auf seinen Schädlichkeitsgrad hin untersucht. Das Abwasser wurde in Süß-, Brack- und Salzwasser getestet. Die Ergebnisse zeigten, in welcher Verdünnung das Abwasser eingeleitet werden kann, um eine Schädigung der im Wasser lebenden Tiere weitgehend zu verhindern.

Die Untersuchungen wurden im Rahmen eines Forschungsauftrages der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

ZITIERTE LITERATUR

- ALSTERBERG, G., 1926. Die Winklersche Bestimmungsmethode für in Wasser gelösten, elementaren Sauerstoff sowie ihre Anwendung bei Anwesenheit oxydierbarer Substanzen. *Biochem. Z.* **170**, 30–75.
- BLÄSING, I., 1953. Experimentelle Untersuchungen über den Umfang der ökologischen und physiologischen Toleranz von *Planaria alpina* DANA und *Planaria gonocephala* DUGÈS. *Zool. Jb. (Abt. allg. Zool. Physiol. Tiere)* **64**, 97–266.
- CHARMANDERJAN, M. O. & PERWUSCHIN, B. J., 1930. Entstehung des elektrischen Stromes bei Bewegung einer der Elektroden im Elektrolyten. *Z. Elektrochem. angew. phys. Chem.* **36**, 248–252.
- HALSBAND, E., 1953. Untersuchungen über das Verhalten von Forelle (*Trutta iridea* W. GIBB.) und Döbel (*Squalius cephalus* HECK) bei Einwirkung verschiedener Außenfaktoren. *Z. Fisch. (N. F.)* **2**, 228–270.
- 1963. Veränderungen des Blutbildes von Fischen infolge toxischer Schäden. *Arch. FischWiss.* **14**, 68–85.
- & HALSBAND, I., 1954. Untersuchungen über die Störungsschwellen im Stoffwechsel der Fische und Fischnährtiere nach Einwirkung verschiedener Abwassergifte. *Arch. FischWiss.* **5**, 120–132.
- & HALSBAND I., 1965. Untersuchungen über die elektrische Leitfähigkeit des Fischkörpers. *Arch. FischWiss.* **16**, 21–32.
- & MEYER-WAARDEN, P. F., 1960. Entwicklung eines elektrobiologischen Testes zur Bestimmung der Abwasserlast von Flüssen. *Arch. FischWiss.* **11**, 48–60.
- HINSBERG, K. & LANG, K., 1957. Medizinische Chemie für den klinischen und theoretischen Gebrauch. 3. Aufl. Urban & Schwarzenberg, München, 1149 pp.
- MALIK, A. U., 1964. Über die komplexometrische Bestimmung des in Wasser gelösten Sauerstoffs. *Vom Wass.* **31**, 301–304.
- ROMEIS, B., 1948. Mikroskopische Technik. 15. Aufl. Oldenbourg, München, 695 pp.
- SCHEMINZKY, FE., SCHEMINZKY, FR. & BUKATSCH, F., 1941. Elektrobiologie. Junk, Den Haag, 198 pp. (Aus: Tabulae biologicae. Vol. 19.)
- WARBURG, O., 1926. Über den Stoffwechsel der Tumoren. Springer, Berlin, 263 pp.

Diskussion im Anschluß an den Vortrag HALSBAND

KINNE: Herr HALSBAND, Sie haben eine Reihe physiologischer Untersuchungsmethoden zur Beurteilung der Schädlichkeit von Abwasserinhaltsstoffen für Wassertiere beschrieben. Als Kriterien dienten Ihnen dabei recht heterogene aber durchaus brauchbare – weil einfach und rasch zu messende – Reaktionen der Versuchstiere (Sauerstoffverbrauch, Atemfrequenz, Darmtemperatur, Blutbild, Kalium- und Natriumgehalt des Serums, Messung des „Fischwiderstandes“, Reaktionen der Versuchstiere im elektrischen Feld etc.). Um Ihren interessanten Beitrag voll zu würdigen, muß man ihn meiner Ansicht nach von zwei verschiedenen Standpunkten her beleuchten: (1) aus physiologischer und methodenkritischer Sicht, (2) aus der Sicht des Ökologen.

Ad (1) Ihr Beitrag fußt auf bewährten Methoden und weist neue, interessante Wege. Hierzu einige Anmerkungen: (a) Es ist bekannt, daß der Sauerstoffverbrauch und die Atemfrequenz in starkem Maße von der Aktivitätslage (insbesondere der Lokomotionsaktivität; bei komplexeren Lebensformen wie Fischen und Krebsen auch vom verhaltensphysiologischen Lebenslagewert) abhängen. Hinreichend verlässliche Sauerstoffverbrauchsmessungen sind daher im allgemeinen nur im Zusammenhang mit Messungen über die Lokomotionsaktivität zu gewinnen. Ferner sind Vergleichsuntersuchungen unter wenigstens annähernd normalen Lebensbedingungen (nicht nur in einer Atemröhre, sondern auch in größeren Behältern; nicht nur in „Einzelhaft“, sondern auch in Versuchstiergruppen) und unter verschiedenen Belastungen (Routineschwimgeschwindigkeiten, „cruising speeds“) erwünscht. (b) Es bleibt die Frage zu klären, was denn

eigentlich eine Veränderung des Sauerstoffverbrauchs im Hinblick auf die biologischen Konsequenzen des Testmediums bedeutet. Sicher kann man ein Abweichen vom Kontrollwert nicht von vornherein im Sinne einer erhöhten Giftigkeit des Testmediums werten. Es gibt ja eine ganze Reihe von Umweltbedingungen, welche eine Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs verursachen, ohne daß eine Giftwirkung vorläge; auf der anderen Seite gibt es Gifte, welche die Aktivität oder den Sauerstoffverbrauch herabsetzen. Entsprechendes gilt auch für einige andere der von Ihnen herangezogenen Kriterien; mit zumeist bewährten Methoden werden in diesen Fällen Abweichungen bestimmter Lebensäußerungen vom Normwert ermittelt, ohne daß die Bedeutung dieser Abweichungen im Sinne einer verminderten oder erhöhten Lebensfähigkeit im einzelnen immer bekannt ist. (c) Einige Ihrer Untersuchungen – zum Beispiel die über das Blutbild – sind erfreulicherweise langfristig durchgeführt worden; sie lassen Anpassungserscheinungen erkennen. Sicher wäre es wünschenswert, neben Simultanreaktionen auch das Ausmaß einer möglichen nichtgenetischen Adaptation zu ermitteln. (d) Am Schluß Ihres Vortrags nennen Sie die Verdünnungsstufen des „Mischwassers einer chemischen Fabrik“, welche die „Letalitätsgrenze“, „Störungsschwelle“ und „Erträglichkeitsgrenze“ charakterisieren. Sie machen jedoch weder quantitative Angaben über die chemische Zusammensetzung des Mischwassers noch über die zugrunde gelegte Ausgangskonzentration; die angegebenen kritischen Prozentwerte sind daher wertlos.

Ad (2) Aus der Sicht des Ökologen interessieren besonders Ihre Schlußfolgerungen hinsichtlich der in situ zu erwartenden biologischen Konsequenzen. Am Ende Ihres Vortrags ziehen Sie die Bilanz aus den hier präsentierten Informationen und einigen Ihrer früheren Arbeiten: „Die Ergebnisse zeigten, in welcher Verdünnung das Abwasser eingeleitet werden kann, um eine Schädigung der im Wasser lebenden Tiere weitgehend zu verhindern.“ Dieser „Sprung“ von Ihren physiologischen Untersuchungsmethoden in die natürliche Lebensgemeinschaft ist unstatthaft. In welcher Verdünnung Abwasser in ein Gewässer eingeleitet werden kann, ohne die dort lebenden Organismen zu schädigen, hängt nämlich von völlig anderen Kriterien ab, als Sie sie benutzt haben. Im natürlichen Lebensraum geht es nicht um Einzelindividuen, sondern um Populationen, ja um aus zahlreichen Populationen verschiedenster Lebensformen bestehenden Lebensgemeinschaften; es geht nicht um Minuten, Stunden oder Tage, sondern um Jahre, Jahrzehnte oder gar Jahrhunderte. Hier entspricht Ihre „Letalitätsgrenze“ der Einstellung der Fortpflanzungstätigkeit, Ihre „Störungsschwelle“ der kritischen Verringerung der Fortpflanzungsrate, des Wachstums, der Konkurrenzfähigkeit etc., und Ihre „Erträglichkeitsgrenze“ würde in etwa Veränderungen in der Zusammensetzung des Artgefüges charakterisieren können. Aus der Sicht des Ökologen müssen also andere Kriterien – und vermutlich auch andere Verdünnungsstufen – zugrunde gelegt werden. Bei der Beurteilung etwaiger Schädigungen im natürlichen Lebensraum müssen ferner die besonderen örtlichen Verhältnisse berücksichtigt werden. Wassertiefe, Strömungsverhältnisse, Bodenbeschaffenheit, Art und Ausmaß einer möglicherweise bereits vorher bestehenden Abwasserbelastung und andere Komponenten könnten die Situation entscheidend modifizieren. Selbstverständlich sind wir an rasch, einfach und verlässlich arbeitenden physiologischen Tests zur Beurteilung der Schädlichkeit von Abwasserinhaltsstoffen außerordentlich interessiert. Diese Tests müssen aber – wenn auch noch so grobe – Vorhersagen bezüglich der in der natürlichen Lebensgemeinschaft zu erwartenden Veränderungen ermöglichen. Leider sind die meisten unserer bisherigen Testmethoden davon noch weit entfernt. Hier werden vermutlich vor allem Züchtungsversuche und langfristige experimentell-ökologische Leistungsanalysen – beispielsweise über Veränderungen der Wachstums-, Nahrungsausnutzungs- und Fortpflanzungsraten – sowie Untersuchungen in vereinfachten künstlichen Ökosystemen weiterhelfen. Die sinnvollsten „Schnelltests“ zur Groborientierung scheinen immer noch Mortalitätsstudien an empfindlichen Repräsentanten des in Frage stehenden Ökosystems zu sein.

HALSBAND: Ich bin ganz Ihrer Ansicht. Es ist natürlich schwer, Voraussagen zu machen, inwieweit nun ein von uns zur Zeit festgelegter Schädigungsgrad sich später in der freien Natur auswirken wird. Das kann man auf Anhieb auch nicht sagen. So werden vielleicht erst Jahre vergehen, um annähernd die Ergebnisse zu haben. Aber ich glaube, daß sich mit diesen physiologischen Untersuchungsmethoden doch ein Weg aufzeichnet, wie man nach kurzer Einwirkungs-

dauer eines Abwassers das Wohlbefinden der Fische und Fischnährtiere testet. Wir konnten nur das für uns Mögliche durchführen, nämlich Methoden entwickeln und Untersuchungen beginnen, mit denen man möglichst exakt auftretende Schäden nachweisen kann. Dabei hat sich die physiologische Untersuchungsmethode immer noch am besten bewährt, da sie auch die Konzentrationen anzeigt, bei denen durch auftretende starke physiologische Veränderungen Spätschäden zu erwarten sind. Bei der Messung des Sauerstoffverbrauchs kam es nicht auf die absolute Höhe der erhaltenen Meßwerte an, sondern vielmehr auf die durch das Abwasser hervorgerufenen prozentualen Schwankungen gegenüber der Norm. Selbstverständlich wirken bei einer Veränderung des O_2 -Verbrauchs immer mehrere Faktoren zusammen. Die eventuelle Veränderung der Lokomotionsaktivität spielt bei den durchgeführten Untersuchungen nur indirekt eine Rolle. Sollte ein erhöhter O_2 -Verbrauch dadurch bedingt sein, so zeigt auch diese Tatsache an, daß sich das Lebewesen in einem derartigen Medium nicht wohl fühlt, da in der von uns verwendeten Apparatur in einem Normalmedium immer nach einer gewissen Wartezeit der sogenannte Ruhestoffwechsel eintritt. Das Wesentliche unserer Untersuchung war jedoch letztlich die Feststellung der Erträglichkeitsgrenze, in der der Sauerstoffverbrauch über längere Zeit gemessen keine oder nur die natürlich bedingten, leichten, kompensierbaren Schwankungen zeigt, wodurch angezeigt wurde, daß große physiologische Veränderungen kaum zu erwarten sind. Die Atmungsmessung als Kriterium für den physiologischen Zustand wird ja nicht nur von uns praktiziert, sondern hat sich seit Jahrzehnten bewährt. Um die Untersuchung jedoch nicht einseitig durchzuführen, haben wir dann außerdem noch die anderen in der Arbeit genannten Tests ausgeführt.

HEYDEMANN: Ist es bei Ihrer O_2 -Verbrauchs-Meßmethode möglich, jede kleine lokomotorische Aktivität zu verhindern, wenn Abwassergifte dem Atemwasser zugegeben werden? Sicherlich ist bei Normalwasser eine solche Aktivität vermeidbar; gibt es nicht aber unter Umständen unvermeidbare Abwehraktivitäten in bezug auf die Lokomotion bei vergiftetem Milieu, die dann die Meßwerte verfälschen könnten, da wir ja den O_2 -Verbrauch bei vermehrter Lokomotions-Aktivität in diesem Zusammenhang nicht messen wollen?

HALSBAND: Ich darf vielleicht speziell zu den Untersuchungen etwas sagen. Sprechen wir vom Restabwasser. Wir haben bis zu 72-Stunden-Versuche gemacht und dabei praktisch in drei Schichten am Tage gearbeitet, vor allen Dingen bei den Verdünnungen von 1:40. Die Fische waren wenigstens für 24 Stunden an das betreffende Wasser angepaßt. Dann wurden sie in Röhren gesetzt, solange bis sie sich beruhigt hatten. Mit Hilfe der Atemfrequenz kann man sehr gut beobachten, wie der Wert schwankt oder wieder den Normalstand erreicht. Ich glaube, daß man auch durch diese O_2 -Messung gute und exakte Werte bekommt, denn sie werden schon seit Jahrzehnten auf diese Weise praktiziert. Lokomotionsveränderungen entstehen nur in den ersten Minuten nach dem Einsetzen in die Fischröhre; sie gleichen sich aber nachher völlig durch die Ruhigstellung des Fisches aus.

GERLACH: Herr HALSBAND, ich habe zwei Fragen. Haben bei Ihren Versuchen gute Sauerstoffbedingungen geherrscht? Ich denke an die Letalitätsversuche; war das Wasser also durchlüftet? Konnte man mit leidlichen Sauerstoffverhältnissen rechnen? Die zweite Frage: Erklärt sich vielleicht der Unterschied zwischen Ihren Resultaten und denen, die von Herrn SCHUMANN heute morgen vorgetragen wurden, darin, daß bei Herrn SCHUMANN die Sauerstoffverhältnisse nicht so gut waren, weil ganz frisches, noch reagierendes Abwasser verwendet wurde?

HALSBAND: Das ist ja das, was ich heute morgen schon anschnitt. Ich fragte, warum die Versuchsschalen nicht belüftet wurden. Wenn Sie die Fische in Schalen anpassen – ob das Seewasser nun filtriert oder nicht filtriert ist, spielt vielleicht überhaupt keine Rolle – und Sie tun dann die betreffende Menge von Dünnsäure hinzu, dann erfolgt eine derart heftige Reaktion, daß die Tiere praktisch ersticken müssen. Wenn Sie das Wasser aber vorher ordentlich durchlüften, und es so machen, wie es im Freiland auch ist, daß eine genügende Sauerstoffmischung entsteht, dann können Sie bei einer bestimmten Abwasserkonzentration, selbst wenn Sie die Fische nach 3 Stunden einsetzen, diese tage- und monatelang lebensfähig halten.

KINNE: Zunächst ein Wort zum Sauerstoff. Ich habe bereits heute morgen die Vermutung ausgesprochen, daß dem CO_2 -Partialdruck größere Bedeutung zukommt als dem O_2 -Partialdruck.

Zu Erstickungen ist es unmittelbar nach Versuchsbeginn offenbar in keinem Fall gekommen. Aus den von Herrn SCHUMANN gezeigten Dias ist ersichtlich, daß die überwiegende Mehrzahl der Versuchsfische erst mehrere Stunden nach Versuchsbeginn, vielfach sogar erst nach wiederholtem Umsetzen in frischgesetzte Testmedien starb. Noch ein Wort zu den Unterschieden zwischen den durch Herrn SCHUMANN und Herrn HALSBAND vorgetragenen Resultaten. Diese Resultate sind nicht vergleichbar, und zwar aus folgenden Gründen: Bei den von Herrn HALSBAND benutzten Abwässern (Mischwasser) ist weder die chemische Zusammensetzung noch die absolute Verdünnung bekannt; Herr HALSBAND hat zudem andere Tiere mit anderen Methoden untersucht.

FONTAINE: Dr. HALSBAND, in your histological research, what endocrine glands did you investigate?

HALSBAND: Wir haben bisher nur im Rahmen des zeitlich Möglichen die Kiemen der Fische untersucht. – Im übrigen möchte ich zu den Bemerkungen von Herrn Professor KINNE noch sagen, daß wir uns seinerzeit auf Wunsch des Titanwerkes geeinigt haben, keine genauen Analysen anzugeben. Wir haben das Abwasser daher mit dem Decknamen „Mischabwasser“ bezeichnet. Die Analysenwerte liegen selbstverständlich vor, außerdem ist in den Originalprotokollen stets der untersuchte Verdünnungsgrad angegeben.

SCHUMANN: Wir müssen damit rechnen, daß Larven und Jungfische empfindlicher reagieren als adulte Tiere. Da die Larven meist im freien Wasser und oft dicht an der Oberfläche vorkommen, sind sie darüber hinaus von der Einleitung der hier in Frage stehenden Abwässer unmittelbar betroffen als etwa bodenlebende Formen. Dazu werden sie im Verklappungsgebiet dem frischen, besonders giftigen Abwasser ausgesetzt. So ist es bei einem Bodenfisch, wie z. B. *Agonus cataphractus*, zunächst wichtig, einmal die Abwasserempfindlichkeit seiner Larven zu ermitteln.

HALSBAND: Im vorigen Jahr haben wir auch an Jungfischen gearbeitet, allerdings nur im Bereich des Restabwassers, und zwar an ganz jungen Forellen. Wir haben sie selbst zum Ausschlüpfen gebracht. Dabei haben wir auch die Konzentration 1:40 ausprobiert. Natürlich sind diese Fische empfindlicher. Wir haben jedoch nicht festgestellt, daß bei dieser Konzentration bei den Fischen, die vielleicht ein Jahr alt waren, Unterschiede bestanden. Ich bin aber ganz Ihrer Meinung, daß natürlich bei Larven die Konzentration wesentlich niedriger sein kann; das weiß ich jetzt nicht. Man kann natürlich mit den empfindlichsten Fischnährtieren oder überhaupt Fischlarven arbeiten und deren Werte nachher als Maß angeben.

KINNE: Zur unterschiedlichen Empfindlichkeit im Verlauf der Ontogenie: Herr ROSENTHAL und ich haben unsere Untersuchungen am Hering (*Clupea harengus*) fortgesetzt und dabei festgestellt, daß frisches Sperma empfindlicher reagieren kann als befruchtete Eier, Embryonen oder Larven. Falls sich dieser Sachverhalt bei den geplanten weiteren Untersuchungen bestätigen und auch für andere Meerestiere Geltung besitzen sollte, wäre es wichtig, der Abwasserresistenz frei ins Wasser entlassener Keimzellen besondere Aufmerksamkeit zu schenken. Wenn der Testorganismus bei einer bestimmten Abwasserbelastung an sich noch fortpflanzungsfähig ist, seine ins Wasser entlassenen Spermien aber kritisch geschädigt werden, läge hier bereits ein Todesurteil für die betroffene Population vor.

SCHUMANN: Sicher sollte man gerade von den empfindlichsten Lebensstadien ausgehen. Außerdem sollten wir uns möglichst auf Tiere konzentrieren, die nicht wie *Gammarus pulex*, *G. duebeni*, *Tubifex*, *Gasterosteus* etc. recht umweltresistent sind. Unsere Untersuchungsmethoden sind nämlich bei aller Gewissenhaftigkeit noch sehr grob und lassen im allgemeinen nur relativ schwerwiegende Schädigungen erkennen. Wir müssen damit rechnen, daß das in kurzfristigen Versuchen feststellbare Ausmaß der Schädigung geringer als das tatsächliche verursachte Ausmaß ist, und daß dementsprechend erst zu einem späteren Zeitpunkt Folgeschäden sichtbar werden können. Untersuchungen an den schwerer zu beschaffenden und schwieriger haltbaren empfindlichen Formen – wie marine Zoo- und Phytoplankter oder Eier und Larven stenoplastischer mariner Fische – sollte daher größeres Gewicht beigemessen werden.