Beiträge zur Toxikologie der Fische

II.

Experimentelle Untersuchungen über die Ammoniak- und Blausäurevergiftung¹⁾

Von K. WUHRMANN' und H. WOKER²⁾

INHALT

	Seite
A. Einleitung.	211
B. Messung der Wirksamkeit von Fischgiften.	213
1. Abgrenzung der Begriffe «akute» und «chronische» Fischvergiftung	213
2. Experimentelle Grundlagen	214
3. Begriffsbestimmungen	216
C. Versuchstechnik	218
1. Apparatives	218
2. Durchführung der Versuche	220
3. Versuchsfische	220
4. Streuung der Versuchsergebnisse	221
D. Orientierende Experimente über das Verhalten der Versuchsfische in alkali- schen Lösungen	222
1. Versuchsanordnung	223
2. Ergebnisse	224
E. Ammoniak als Fischgift	224
1. Chemische Grundlagen	225
2. Versuchsergebnisse	227
3. Vergiftungserscheinungen	230
F. Die Zyanid- bzw. Blausäurevergiftung	231
1. Chemische Grundlagen	231
2. Versuchsergebnisse	232
3. Über die relative Giftigkeit von Blausäure und Zyanidionen	233
4. Vergiftungserscheinungen	234

¹⁾ I. Mitteilung siehe Vjschr. naturf. Ges. Zürich 92, 198 (1947).

²⁾ Mitteilungen aus der Eidg. Anstalt für Wasserversorgung, Abwasserreinigung und Gewässerschutz an der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

Untersuchungen über Ammoniak- und Blausäurevergiftung	211
G. Gleichzeitige Einwirkung von Ammoniak und Blausäure auf Fische	Seite 235
1. Versuchsergebnisse	236
2. Vergiftungserscheinungen	237
H. Diskussion der Ergebnisse	238
1. Zur Frage der Empfindlichkeit verschiedener Fischarten	238
2. Zum Mechanismus der Giftwirkung von Ammoniak und Blausäure.	239
I. Zusammenfassung	242
Summary	243
Literaturverzeichnis	243

A. EINLEITUNG

Die Kenntnis der Einflüsse des Gewässerchemismus auf die Fische besitzt grundlegende Bedeutung für die Fischökologie und -soziologie sowie auch für fischereiwirtschaftliche Fragen. Von ELLIS¹⁾ ist für amerikanische Gewässer durch umfangreiche Untersuchungen und statistische Auswertungen bereits ein bedeutsamer Ansatz zur Erfassung der chemischen Eigenschaften des Biotops in seinen Zusammenhängen mit dessen Besiedlung durch Fische, wenigstens für die amerikanischen Verhältnisse, versucht worden (ELLIS, 1940). Unser Interesse gilt zunächst vor allem den Erscheinungen, die durch künstlichen Eingriff die chemischen Eigenschaften der Gewässer verändern und dadurch zu vorübergehenden oder dauernden Verschiebungen der soziologischen Verhältnisse in der Fischfauna führen.

Zunächst ist wohl grundsätzlich jegliche Einleitung von Schmutzstoffen in ein Fischgewässer als solcher künstlicher Eingriff in die Eigenschaften eines Biotops zu werten. In sehr vielen Fällen sind aber damit keine nennenswerten Auswirkungen auf den Fischbestand verbunden. Sofern die Verunreinigungen jedoch eigentliche Organismengifte darstellen, ist die genaue Kenntnis ihrer Wirkungsweise und ihrer Konzentrations-Wirkungsfunktion für ihre ökologische Beurteilung unerlässlich.

Als allgegenwärtige Komponente der Gewässer haben wir zuerst das Ammonium bzw. das Ammoniak als Fischgift näher untersucht. Aus gewissen praktischen Gründen wurden daneben auch die Blausäurewirkung sowie der kombinierte Einfluß von Blausäure und Ammoniak einer experimentellen Prüfung unterzogen. Die letzten beiden Versuchsreihen sind allerdings noch nicht so weitgehend ausgebaut, wie dies für die Ammoniak-

¹⁾ Vgl. die zahlreichen Arbeiten in den Bulletins sowie in den Special Scientific Reports des U.S. Bureau of Fisheries in den Jahren seit 1930.

studien zutrifft. Im Interesse einer Gesamtbeurteilung des Problems der Fischvergiftungen werden ihre Ergebnisse aber ebenfalls dargestellt. Beiläufig erwähnen wir, daß die Fischgifte Ammoniak und Blausäure zu häufigen Ursachen von Fischsterben gehören.

Als Hauptziel unserer Experimente versuchen wir, die *Zusammenhänge zwischen Giftwirkung und Giftkonzentration* an einem hinsichtlich Art, Alter, Gewicht, Herkunft usw. einheitlichen Fischmaterial nachzuweisen, wobei auch äußere Faktoren (Temperatur, Sauerstoffgehalt des Wassers usw.), welche die Giftigkeit einer Substanz beeinflussen können, berücksichtigt werden. Daraus sollen sich dann diejenigen Giftkonzentrationen ergeben, die noch zur Erzielung sog. *akuter* Vergiftungen bei bestimmten Milieubedingungen genügen. Die Untersuchung eventueller «chronischer» Wirkungen subakuter Konzentrationen bleibt späteren Untersuchungen vorbehalten.

Die direkte Veranlassung zu unseren Versuchen gab die Feststellung, daß die bisherigen zahlreichen Experimente auf diesem Gebiete zum großen Teil mit unzulänglichen Mitteln und unter Vernachlässigung grundlegender chemischer Voraussetzungen durchgeführt wurden, und ihre Ergebnisse heute nur noch in qualitativer Hinsicht von Wert sind. Wir weisen deshalb nur kurz auf die wichtigsten Veröffentlichungen hin, welche die Arbeiten früherer Autoren zusammenfassen:

Die ersten Experimente, welche sich speziell mit Vergiftungsversuchen an Fischen beschäftigen, wurden unseres Wissens von EMMERT (1805) und NUNNELEY (1847) veröffentlicht. Eine 1885 erschienene Arbeit von WEIGELT (zusammen mit SAARE und SCHWAB) gilt als erste umfassende Arbeit auf dem Gebiete der Fischtoxikologie. Später erschienen neben zahlreichen kleineren Schriften und Einzelbeobachtungen die größeren Arbeiten von KÖNIG (1887) und LÉGER (1911/12). Die von STEINMANN (1927) publizierte Toxikologie der Fische verarbeitete den größten Teil der damaligen europäischen Literatur. Die folgenden Jahre brachten weitere Publikationen über einzelne Giftstoffe und Giftwirkungen bei Fischen, welche von HELFER (1937) besprochen wurden. Ferner seien die mehr allgemein gehaltenen kritischen Arbeiten von WUNDSCH (1926, 1935) erwähnt. In neuerer Zeit hat SCHÄPERCLAUS (1941) den Fischvergiftungen ein ausführliches Kapitel in seinem Werk über Fischkrankheiten gewidmet.

Die amerikanische und englische Literatur wurde von ELLIS (1937, 1940) zusammengestellt. Auf die Untersuchungen dieses Autors werden wir an anderer Stelle noch mehrfach zurückkommen.

Besonderes methodisches Interesse bei fischtoxikologischen Untersuchungen könnten später die Arbeiten von NAUMANN (1933/34) über *Daphnia magna* als geeignetes Testobjekt für die Prüfung der Giftigkeit eines Wassers beanspruchen. Seine Untersuchungen haben bereits zu weiteren Arbeiten angeregt (ANDERSON, 1944). Vorläufig ist jedoch eine Übertragung von Vergiftungsversuchen an *Daphnia* auf Fische mangels eines geeigneten Vergleichsmaßstabes nicht möglich.

Spezielle Arbeiten über die Giftigkeit von Ammoniak stammen von CLARK und ADAMS (1913), SHELFORD (1917), BELDING (1928) sowie von ELLIS und CHIPMAN (1935). Zyanide wurden im besonderen auch von SOUTHGATE, PENTELOW und BASSINDALE (1933) und ALEXANDER, SOUTHGATE und BASSINDALE (1935) untersucht. Diese Arbeiten sind zum Teil mit Fischen durchgeführt worden, die nicht bei uns beheimatet sind, weshalb sich die Resultate nicht auf unsere Verhältnisse übertragen lassen.

B. MESSUNG DER WIRKSAMKEIT VON FISCHGIFTEN

1. Abgrenzung der Begriffe «akute» und «chronische» Fischvergiftung

Die in der Fischtoxikologie verwendete unbestimmte Umschreibung dieser beiden Begriffe bedarf einer Präzisierung, denn die Folgen der Vergiftung am Fischbestande eines Gewässers sind in soziologischer (und damit auch wirtschaftlicher) Hinsicht verschieden, je nachdem die Schädigung chronischen oder akuten Charakter aufweist.

STARKENSTEIN (1929) definiert die *akuten* Vergiftungen als «Funktionsstörungen, die durch exogene oder endogene, chemisch oder physikalisch-chemisch wirkende Stoffe hervorgerufen werden, die hinsichtlich Qualität, Menge oder Konzentration körperfremd oder organfremd sind.»

Die *chronische Vergiftung* wird von der akuten dadurch abgegrenzt, daß ihr teilweise ein wesentlich anderer Wirkungsmechanismus zugeschrieben wird. STARKENSTEIN beschreibt, daß

«I. von einem Stoff eine kleine unterschwellige Menge durch längere Zeit in den Organismus gelangen kann, ohne daß stets eine vollständige Ausscheidung dieses Stoffes erfolgt. Es kommt dann infolge Retention zur Anreicherung, so daß in einem bestimmten Augenblicke im Körper jene Mengen auftreten, die zur akuten Vergiftung führen können (Kumulation).

2. Es kann durch längere Zeit hindurch eine kleine Dosis eines Giftes in den Körper gelangen, die zwar keine akuten Erscheinungen auslöst, die aber immerhin hinreicht, einem bestimmten Organ zu schaden. Die Schädigung tritt dann auch erst allmählich in Erscheinung; die Vergiftung tritt hier unter ganz anderem Bilde auf als bei der akuten Vergiftung mit demselben Stoffe. Chronische Vergiftungen dieser zweiten Art stellen so eine Art Summation von Reizen dar.»

Im Interesse eindeutiger Definitionen möchten wir für unsere Untersuchungen die chronische Vergiftung mittels Kumulation ebenfalls zu den *akuten* Vergiftungen rechnen, weil dies zu einer einheitlichen Beurteilung von Konzentrationsreihen eines Pharmakons unumgänglich notwendig ist. Wir sprechen deshalb immer dann von *akuter* Vergiftung, *wenn die Vergiftungserscheinungen ein einheitliches, eindeutig dem angewendeten Gift zugeordnetes Schädigungsbild zeigen, unabhängig davon, nach welchem Zeitpunkt diese typischen Vergiftungserscheinungen eintreten.*

Viele Beobachtungen in Fischgewässern lassen es als fraglich erscheinen, ob die *chronische Vergiftung* bei Fischen überhaupt eine wesentliche Bedeutung besitzt. Ökologisch dauernd ungünstige Umstände vertreiben die Fische aus einem Gewässer. Trotzdem ist es denkbar, daß bei ständiger, wenn auch geringfügiger Einleitung giftiger Stoffe in ein *abgeschlossenes* Gewässersystem Vergiftungserscheinungen chronischer Art vorkommen können. Das *epidemische Auftreten gewisser Fischkrankheiten* ist vielleicht oft in einer allgemeinen *Resistenzverminderung* aller oder einzelner Arten infolge solcher unerkannter, chronischer Vergiftungen begründet. Diese Fragen sind experimentell schwer zu überprüfen und müssen späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Ihre Bearbeitung wäre jedoch zweifellos für die Aufdeckung der allgemeinen Zusammenhänge zwischen der Zusammensetzung und dem Gesundheitszustand einer Fischpopulation einerseits und des Gewässerchemismus andererseits von Interesse.

2. Experimentelle Grundlagen

Sollen die Vergiftungsversuche an Fischen allgemeine, für physiologische und soziologische Untersuchungen anwendbare Grundlagen liefern, so müssen ihre Ergebnisse *stetige Funktionen darstellen, welche die Abhängigkeit der Giftwirkung von der angewendeten Giftkonzentration ausdrücken.* Einzelne Punkte einer solchen Funktion (unsere heutigen Kenntnisse über die Wirkung der Fischgifte stellen solche Einzelpunkte dar) können keinerlei Aussage darüber abgeben, bei welchen Konzentrationen die Giftigkeitsgrenzen

einer Substanz liegen oder welche Minimalwirkungszeiten einer gegebenen Giftkonzentration zukommen. Über die allgemeinen Beziehungen zwischen Wirkung und Konzentration eines Pharmakons auf einzelne Organe oder ganze Tiere gibt die Arbeit von CLARK (1937) erschöpfende Auskunft, so daß wir uns lediglich auf einige Hinweise beschränken. Ferner zeigt MIESCHER (1940/41) eingehend die verschiedenen Möglichkeiten quantitativer Beziehungen zwischen der Konzentration und verschiedenen Stufen der Reizantwort von seiten der lebenden Zellen oder Organismen.

Für erste grundsätzliche Untersuchungen treten zunächst folgende Variablen in den Fischversuchen auf: Reaktionszeit t (bis Tod oder anderem charakteristischem Vergiftungsstadium); Giftkonzentration c ; Art der Fische; Größe der Fische (Gewicht oder Alter oder Dimension); Temperatur und Sauerstoffgehalt der Versuchslösung.

Da wir die Abhängigkeit der Reaktionszeit von der Giftkonzentration bestimmen wollen, wobei die übrigen Variablen den Verlauf der gefundenen Funktion bei verschiedenen äußeren Umständen bestimmen, so muß das Ergebnis der Versuche in einer Kurvenschar bestehen, in welcher irgendeine dieser übrigen Veränderlichen als Parameter auftritt. Untersuchen wir beispielsweise eine bestimmte Fischart bei einer konstanten Temperatur, so können wir die Funktion $c = f(t)$ für verschiedene Gewichtsklassen der Fische aufsuchen, wobei jeder Gewichtsklasse vermutlich eine besondere Kurve zugeordnet ist. Im allgemeinen wird ein gleichartiger Verlauf aller Kurven einer solchen Schar zu erwarten sein.

Es ist einleuchtend, daß nur solche Vergiftungskurven uns über eventuelle Gesetzmäßigkeiten und den Mechanismus einer Giftwirkung Auskunft erteilen können. Ihre Festlegung erfordert ein großes, einheitliches Fischmaterial, da jeder Kurvenpunkt den Mittelwert aus Messungen an einer Reihe von Tieren darstellen muß, um eine für Tierversuche genügende Genauigkeit zu besitzen. Die Untersuchungen von KRAUSS (1936) sowie von ELLIS und CHIPMAN (1935) erfolgten erstmals unter konsequenter Anwendung dieses Prinzips, das im folgenden noch näher dargestellt werden wird.

Wir haben uns bei unseren Experimenten vorerst auf die Prüfung von zwei praktisch wichtigen Fischgiften festgelegt. Wir hegen die Hoffnung, die dabei gefundenen Zusammenhänge später mit speziell ausgewählten Experimenten auf eine allgemeinere Basis stellen zu können.

Die wichtigste Voraussetzung zur Bestimmung der Giftwirkung einer Substanz besteht in der *Definition meßbarer Größen für die Vergiftungserscheinungen*. Hier bestehen bei Fischen besondere Schwierigkeiten, da sich

die Tiere in einem großen Wasservolumen frei bewegen und deshalb irgendwelche physiologischen Messungen (z.B. am Kreislauf usw.) ausgeschlossen sind. Wie bereits WEIGELT (1885), so mußten auch wir auf äußerlich leicht sichtbare charakteristische Reaktionen abstellen und die Zeit bis zu deren Auftreten als Maßstab wählen. Um eine einwandfreie Grundlage zu gewinnen, wurden mehrere neue Begriffe eingeführt und definiert.

3. Begriffsbestimmungen

Da wir zur Zeit fließende Gewässer besser zu beurteilen vermögen als ruhende, berücksichtigen unsere Versuche und Definitionen zunächst nur die Verhältnisse in Bächen und Flüssen. Die weitere Erfahrung muß die Übertragungsmöglichkeiten der Resultate auf ruhende Gewässer aufzeigen.

Grundsätzlich läßt sich der Ablauf einer Fischvergiftung in zwei *Zeiträume* einteilen:

a) Die *Latenzphase*, d. h. den gesamten Zeitabschnitt, innerhalb dessen für den Fisch nach Zurückversetzen aus der vergifteten Lösung in frisches Wasser die Erholungsmöglichkeit besteht.

b) Die *Letalphase*, die den Zeitraum umfaßt, in welchem das Tier wohl noch lebend ist, aber keine Möglichkeiten zu seiner Rettung mehr bestehen.

Innerhalb der gesamten *Vergiftungszeit*, welche aus Latenzphase und Letalphase zusammengesetzt ist, kann man bestimmte Zeitpunkte herausheben, die durch ein charakteristisches Verhalten des vergifteten Tieres gekennzeichnet sind. In Abb. 1 sind diese Zeitpunkte auf einer Zeitachse schematisch aufgetragen.

Abb. 1

c) *Eintrittszeit*: Nach Berührung der Versuchstiere mit dem Gift verstreicht zunächst eine gewisse Zeit bis zum ersten Sichtbarwerden irgendwelcher Gifteinflüsse. Dieser Moment wird als *Eintrittszeit* im Sinne MIESCHERS (1940/41) definiert: Sie ist diejenige Einwirkungszeit eines Gift-

stoffes gegebener Konzentration, welche notwendig ist, um bei den Fischen ein vom Normalzustand irgendwie abweichendes Verhalten zu erzielen.

d) *Manifestationszeit*: Sie entspricht ungefähr der von WEIGELT (1885) definierten *Widerstandsdauer* und ergibt sich aus dem speziellen Verhalten der Fische in einem fließenden Gewässer. Normalerweise halten sich die Fische durch aktive Schwimmbewegungen innerhalb eines bestimmten Territoriums im Flusse fest, so daß derselbe gewissermaßen über sie hinwegfließt. Es ist anzunehmen, daß auch bei Fluchtreaktionen die Fische sich zunächst nicht sehr weit über die Grenzen ihres Territoriums entfernen. Die *Manifestationszeit* ist nun *diejenige Einwirkungszeit eines Giftstoffes gegebener Konzentration, welche notwendig ist, um die Fische soweit zu schädigen, daß sie durch Gleichgewichts- oder Bewegungsverlust außerstande sind, sich weiterhin an ihrem Standort im Gewässer zu halten.*

Nach Eintritt der Manifestationszeit werden die Tiere deshalb in einem fließenden Gewässer fortgetragen und bleiben innerhalb der für sie giftigen Lösung gefangen. Das Gift wirkt dann so lange auf die Fische ein, bis es durch Verdünnung oder andere Umstände, z. B. chemische Umsetzungen usw., seine wirksame Konzentration verloren hat. Die Manifestationszeit ist unseres Erachtens für die Praxis die wichtigste Grundlage, um die Wirkung eines Fischgiftes in einem Gewässer zu beurteilen.

e) *Letalzeit*: Nach dem Vorstehenden ergibt sich hier die Definition automatisch: *Sie ist diejenige Einwirkungszeit eines Giftstoffes gegebener Konzentration, welche notwendig ist, um einen Fisch so weit zu schädigen, daß er sich nach Zurückversetzen in frisches Wasser nicht mehr erholen kann.*

Die Erfahrung zeigt, daß speziell bei gewissen Giftstoffen die Fische nach Eintritt der Manifestationszeit noch sehr lange in der Giftlösung verbleiben können, bis sie so weit geschädigt sind, daß der Tod unfehlbar eintritt. Für Vergiftungen in natürlichen Gewässern ist dies unter Umständen von großer Bedeutung, da bei einem Fischsterben die Anzahl der von der Vergiftung betroffenen, aber sich wieder erholenden Tiere einen sehr hohen Prozentsatz ausmachen kann, wenn aus irgendwelchen Gründen die Fische noch vor Eintritt der Letalzeit wieder in frisches Wasser gelangen. Experimentell läßt sich leider dieser Zeitpunkt schwierig bestimmen. Es steht uns bis heute hierfür noch keine brauchbare Methode zur Verfügung.

Nach Ablauf der Letalzeit ist die physiologische Schädigung der Fische so weit fortgeschritten, daß sie auch nach Zurückversetzen in frisches Wasser unbedingt eingehen.

f) *Todeszeit*: *Sie ist diejenige Zeit, welche vom Beginn der Giftwirkung bis zum Tode des Tieres, bei dessen Verbleiben in der giftigen Lösung, verstreicht.*

Dieser Zeitpunkt dient in der Pharmakologie allgemein zur Messung der Giftigkeit von Substanzen und wurde auch von WEIGELT (1885), ELLIS (1935) und andern bei ihren Untersuchungen an Fischen benützt. Die Erfahrung zeigt leider, daß die Bestimmung der Todeszeit experimentell ebenfalls mit großen Schwierigkeiten verbunden ist. Die in unseren Versuchen gemessenen Todeszeiten sind deshalb im allgemeinen recht ungenau im Vergleich mit den Bestimmungen der Manifestationszeit (vgl. auch Tab. 1).

ELLIS¹⁾ verwendet grundsätzlich die Todeszeit als maßgebendes Kriterium bei seinen Versuchen. Da er jedoch nach rein statistischen Methoden vorgeht, indem für jedes Experiment 100 Versuchsfische (Goldfische) eingesetzt werden, handelt es sich um ein anderes, mit dem unsrigen nicht vergleichbares Versuchsprinzip. Im übrigen haften auch seinen Experimenten die erwähnten Unsicherheiten an, die sich bei der Bestimmung der Todeszeit ergeben. Sie fallen jedoch bei der großen Anzahl von Versuchstieren weniger ins Gewicht als bei unserer Meßmethode.

g) *Schwellenwert*: Der Schwellenwert entspricht derjenigen Giftkonzentration im Wasser, welche bei einem Fisch gerade noch eine akute Vergiftung herbeizuführen vermag.

Die Höhe des Schwellenwertes eines Giftes ist selbstverständlich von allen jenen Umständen abhängig, welche die Giftwirkung einer Substanz zu beeinflussen vermögen und die wir bereits aufgezählt haben. Angaben von Konzentrationsschwellen erfordern deshalb die *gleichzeitige genaue Definition der Bedingungen*, bei welchen sie gefunden wurden. Die bisherige Beschreibung der Giftigkeit einer Substanz für Fische vermittels der sog. «Letalkonzentration» muß deshalb fallen gelassen werden.

C. VERSUCHSTECHNIK

1. Apparatives

Sämtliche Untersuchungen werden in großen, einseitig verglasten Aquarien von 250 l Inhalt ausgeführt. Prinzipiell wird Leitungswasser verwendet, wobei die Versuchstiere in analogen Behältern in demselben Wasser vor Versuchsbeginn während mehrerer Tage angewöhnt und auf ihren Gesundheitszustand geprüft werden.

Der Chemismus des Versuchswassers wird während der ganzen Dauer der Experimente durch Probenahmen in kurzen Zeitabständen überwacht,

¹⁾ Mündliche Mitteilung.

wobei speziell für die p_H -Messung ein automatisch registrierendes, empfindliches Potentiometer (mit Glaselektrode) verwendet wird¹⁾. Jeder Versuchsserie liegt damit ein genaues Zustandsdiagramm über die physikalischen und chemischen Verhältnisse im Versuchsbassin zugrunde, so daß der eventuelle Einfluß unerwünschter Faktoren jederzeit ermittelt werden kann. In Abb. 2 geben wir ein Beispiel eines derartigen graphischen Protokolls bei einem Vergiftungsversuch wieder.

Abb. 2. Beispiel eines graphischen Protokolls bei Vergiftungsversuchen. Abszisse: Zeit; Ordinaten: vgl. Abb. E Einsatz der Fische, m Manifestation, t Tod.

Die Aufrechterhaltung eines hohen Sättigungswertes für Sauerstoff wird durch Umpumpen des Bassininhaltes und Zurückführen desselben mittels freiem Strahl erreicht. Der Sauerstoffgehalt des Versuchswassers beträgt bei dieser Methode stets um 90% des Sättigungswertes.

Mittels einer eingebauten Kühleinrichtung, elektrischer Heizung und Kontaktthermometer wird eine Temperaturkonstanz des Bades von $\pm 0,1^{\circ}C$ erreicht.

Die Festsetzung der Manifestationszeit verlangt eine genaue Beobachtung desjenigen Zeitpunktes, in welchem die Versuchstiere den Wasserbewegungen gegenüber passiv werden.

¹⁾ Ein geeignetes Gerät mit hoher Nullpunktskonstanz wurde uns von der Firma Polymetron AG, Zürich und später von Herrn Dr. KUBLI, Anorganisch-Chemisches Institut der ETH., zur Verfügung gestellt. Wir möchten den betreffenden Herren an dieser Stelle für ihr Entgegenkommen unseren besten Dank aussprechen.

Der Strahl des umgepumpten Wassers erzeugt im Versuchsbassin gerade eine solche Strömung, daß ausgewachsene Fische sich nicht ohne ständige Schwimmbewegungen an ihrem Standort halten können. Der Eintritt der Manifestationszeit kann deshalb auch bei schleichend wirkenden Giften (z.B. Blausäure) sehr genau gemessen werden. Für die Untersuchung kleiner Fische wird die Strömungsgeschwindigkeit im Versuchsbassin entsprechend herabgesetzt, um die Tiere nicht übermäßig zu beanspruchen.

2. Durchführung der Versuche

Einige Stunden vor Beginn der Versuche wird das Experimentierbassin gefüllt, der gewünschte p_H -Wert eingestellt, das zu untersuchende Gift zugesetzt und die Umwälzpumpe eingeschaltet. Sodann wird das Bad so lange sich selbst überlassen, bis sich die chemischen Gleichgewichte eingestellt haben und Kontrollanalysen sowie die p_H -Messung einen stationären Zustand der Lösung anzeigen. Nach dieser Zeit werden alle Versuchsfische gleichzeitig aus dem Hälterungsbassin in die Giftlösung eingesetzt. Da Hälterungswasser und Versuchswasser bezüglich Temperatur, Härte, Sauerstoffgehalt usw. identisch sind (mit Ausnahme der zugesetzten Chemikalien), können keine sekundären Beeinflussungen der Fische durch das Umsetzen eintreten. (Die unumgängliche momentane Erregung der Versuchstiere durch das Übertragen von einem Bassin ins andere stellt einen gewissen Nachteil dar; wir konnten jedoch bis jetzt keine Beeinträchtigung unserer Versuchsergebnisse, die hierauf zurückzuführen gewesen wäre, feststellen.) Wenige Minuten nach dem Einsatz der Tiere in die Versuchslösung tritt jeweils vollständige Beruhigung ein, bis sich dann der Einfluß des zugesetzten Giftes geltend macht.

3. Versuchsfische

Als Versuchstiere dienten zur Hauptsache 3-5jährige *Alet* (*Squalius cephalus*). Ferner wurde eine Versuchsreihe mit *Forellenbrut* (*Trutta iridea*) untersucht. Die Alet wurden jeweils in der unteren Glatt (Kt.Zürich) von Berufsfischern¹⁾ gefangen und vor ihrer Verwendung zu Experimenten mehrere Tage im Versuchsraum gehältert. Das Material entstammt somit einem *einheitlichen Biotop*. Wir schreiben diesem Umstand die verhältnismäßig geringe Streuung unserer Messungsergebnisse zu, die sich auch darin äußert, daß Versuche, die in Zwischenräumen von einigen Monaten

¹⁾ Den Fischern Herren Gebr. Waeckerling, Zweidlen, möchten wir für ihre stete Hilfsbereitschaft bei der Beschaffung des Fischmaterials bestens danken.

ausgeführt wurden, stets die erwarteten Resultate ergaben (vgl. auch die Streuung der Meßpunkte der Vergiftungskurven).

Von allen untersuchten Fischen wurde nach Versuchsabschluß Gewicht, Länge, Alter und Geschlecht bestimmt. Eine statistische Zusammenstellung der in den vorliegenden Experimenten verwendeten Versuchstiere erfolgt in Tab. 1. Da wir bisher keine Zusammenhänge zwischen Fischgewicht oder Alter bei diesem relativ gleichartigen Versuchsmaterial feststellen konnten, verzichteten wir darauf, die Kennzahlen für die Versuchsfische in der Besprechung der einzelnen Experimente wiederzugeben.

Tabelle 1

Statistik der Versuchsfische (*Squalius*)

Alter in Jahren	Zahl der verwendeten Tiere			Gewicht in Gramm			Länge in Millimeter		
	♀	♂	Total	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.	Mittel
2	4	9	13	78	124	100	189	219	207
3	38	14	52	82	187	130	199	250	227
4	46	25	71	116	222	161	224	276	243
5	44	12	56	150	312	194	242	292	260
6	17	2	19	202	344	254	256	313	278
7	11	—	11	210	370	283	267	308	286
8	9	—	9	250	358	318	262	308	292
Total. .	169	62	231						
Mittelwerte (geometrisch)									
4				178			248		

Das Material für die Untersuchungsserien mit *Forellenbrut* wurde im Laboratorium aufgezogen. Die in geäugtem Zustand käuflich erworbenen Eier von Regenbogenforellen wurden in üblicher Weise in einem Forellenbruttrog ausgebrütet. Bei ihrer Verwendung in den Versuchen besaßen die Fischchen ein Alter (vom Zeitpunkt des Hauptschlüpfages an gerechnet) von ca. 30 Tagen. In der Zeit vom Verschwinden des Dottersackes bis zu Beginn der Versuche wurden sie mit geschabter Milz gefüttert. Das gesamte Material zeigte völlig normale Entwicklung und bei Versuchsbeginn eine sehr gleichförmige Größe.

4. Streuung der Versuchsergebnisse

Es konnte festgestellt werden, daß die Abweichungen in den Meßwerten der einzelnen Reaktionszeiten bei den jeweils gleichzeitig untersuchten 4 bis 6 Fischen relativ gering waren. In Tab. 2 stellen wir Einzelwerte einiger

Versuche zusammen. Wie wir bereits schon vorher ausführten, sind genaue Resultate nur bei der Bestimmung der Manifestationszeit zu erwarten. Bei der Messung der Todeszeit entstehen teilweise recht bedeutende Streuungen, die allerdings vermutlich weniger auf Differenzen in der Reaktion der Tiere als auf die Schwierigkeiten der Beobachtung der Todeszeit zurückzuführen sind. Desgleichen ist die exakte Feststellung der Letalzeit nicht ohne weiteres möglich. Wir haben uns deshalb in unseren bisherigen Versuchen darauf beschränkt, lediglich qualitative Aussagen über die Letalzeiten im Verhältnis zur Todes- oder Manifestationszeit zu gewinnen, da es zur Beurteilung des Wirkungsmechanismus eines Giftes ausreichend ist.

Tabelle 2

Streuungen der Messungsergebnisse

Gift	Fische	Manifestationszeit		Todeszeit	
		Einzelwerte Minuten	Mittel*) Minuten	Einzelwerte Minuten	Mittel*) Minuten
<i>Ammoniak</i> 16,2 mg/l NH_3	4 Alet	23	25 ± 1	28	30 ± 1
		25		30	
		25		30	
		27		32	
1,97 mg/l NH_3	4 Alet	145	159 ± 9	180	200 ± 28
		157		240	
		161		?	
		172		180	
<i>Blausäure</i> 0,66 mg/l CN	4 Alet	63	72 ± 6	297	229 ± 67
		72		123	
		74		226	
		79		281	
0,5 mg/l CN	4 Alet	105	126 ± 14	325	266 ± 35
		126		234	
		131		259	
		144		246	

*) Streuungen berechnet nach der Methode der kleinsten Quadrate, auf ganze Zahlen gerundet

D. ORIENTIERENDE EXPERIMENTE ÜBER DAS VERHALTEN DER VERSUCHSFISCHE IN ALKALISCHEN LÖSUNGEN

Auf Grund der chemischen Bedingungen, die bei den Ammoniak- und Blausäureversuchen zu berücksichtigen sind, mußte vorerst der Einfluß erhöhter OH' -Ionenkonzentrationen in den Versuchslösungen auf die Fische

näher untersucht werden. Vor allem war die Beantwortung der Frage notwendig, ob alkalische Lösungen von p_H -Werten bis zu p_H 9,5 innerhalb langer Versuchszeiten irgendwelche Schädigungen an den Versuchstieren hervorbringen. Über den Einfluß verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen auf Fische liegen Untersuchungen von STEINMANN (1928) für den sauren Bereich und von BANDT (1936) über alkalische Lösungen vor. Ferner untersuchte MACHOTIN (1925) verschiedene Weißfischarten in alkalischen und sauren Medien. Endlich konnten BROWN und JEWELL (1926) und WIEBE (1931) nachweisen, daß bei vielen Fischen ein plötzliches Versetzen aus einem alkalischen in ein saures Milieu und umgekehrt, innerhalb eines p_H -Bereiches von p_H 4,4–8,7 bzw. 6,1–9,5, keinen Schaden verursacht.

1. Versuchsanordnung

Die Einstellung der p_H -Werte erfolgte durch Zugabe reiner 1N Natronlauge zum Versuchswasser (Leitungswasser, die Ausfällung von CaCO_3 wurde durch Zusatz von 2 mg/l Calgon [Hexametaphosphat] verhindert). Die Untersuchungen wurden in dem bereits beschriebenen Versuchsaquarium vorgenommen.

Wegen des hohen Pufferungsvermögens des zürcherischen Leitungswassers waren für höhere p_H -Werte Laugenmengen bis zu 250 cm³ notwendig. Es entspricht dies einer Laugenkonzentration von 1/1000 N in der durchmischten Versuchsflüssigkeit. Diese Konzentration kann noch nicht als unphysiologisch bezeichnet werden, und die Menge der zugesetzten Natriumionen hatte gemäß unseren Beobachtungen nie ein anomales Verhalten der Fische zur Folge.

Eine Berücksichtigung der Konzentration der Alkaliionen in den Versuchslösungen ist unbedingt notwendig, denn die Untersuchungen von WO. OSTWALD (1907) zeigten, daß bei höheren Alkaliionenkonzentrationen in der Aufenthaltslösung von Wassertieren (*Gammarus*) eine einseitige Anreicherung des Alkalis im Körper erfolgt (Verdrängungsadsorption), die denselben außerordentlich schädigt. Aus diesem Grunde müssen die Ergebnisse über die p_H -Empfindlichkeit von Fischen in sauren Lösungen von STEINMANN (1928) mit großen Vorbehalten betrachtet werden, denn dieser Autor verwendete Pufferlösungen als Versuchsflüssigkeiten, die eine Natriumazetatkonzentration von N/15 enthielten! Es ist deshalb sehr fraglich, ob die Reaktionen seiner Fische ausschließlich auf die Wasserstoffionenkonzentration dieser Lösungen zurückzuführen waren.

Bei unserem ersten Versuch wurde der p_H -Wert im Versuchsbassin bei eingesetzten Fischen stufenweise gesteigert, wobei jede p_H -Stufe während längerer Zeit auf die Tiere einwirken konnte. Die Unschädlichkeit der höchsten p_H -Stufe von 9,5–9,7 wurde in drei weiteren Versuchen nachgeprüft, indem die Fische bis zu 24 Stunden in der Versuchslösung belassen wurden.

2. Ergebnisse

Die Versuchsergebnisse sind in Tab. 3 zusammengestellt. Bei keinem der Experimente konnten irgendwelche speziellen Reizantworten der Fische registriert werden. Immerhin zeigte sich bei einem Versuchsfehler, daß in Lösungen von hohem p_H die Fische gegenüber niederen Sauerstoffsättigungswerten im Wasser sehr empfindlich werden. Diese Beobachtung soll in späteren Untersuchungen näher überprüft werden.

Tabelle 3

 p_H -Versuche

Untersuchte p_H -Stufe	Einwirkungs- dauer	Tempe- ratur in °C	O ₂ mg/l	Versuchstiere		Reaktion
				Art	Zahl	
7,1–7,6	17 h 35 m	11,8		Alet	8	keine Reaktion
7,8–8,0	2 h 45 m	11,9				keine Reaktion
8,5	3 h 20 m	12,2				keine Reaktion
8,9	15 h 30 m	12,2				keine Reaktion
9,0	98 h	13,0	9,0	Alet	5	keine Reaktion
9,5–9,7	15 h 35 m	12,3	9,7	Alet	5	keine Reaktion
9,5–9,7	24 h	12,5	9,4	Alet	6	keine Reaktion

Zusammenfassend stellen wir fest, daß für unsere weiteren Experimente *in Lösungen mit p_H -Werten bis zu 9,5 bei Versuchszeiten bis zu 4 Stunden keine Beeinflussung* der Resultate durch die Wasserstoffionenkonzentration *allein* zu erwarten ist.

E. AMMONIAK ALS FISCHGIFT

Auf Grund der früher zitierten Arbeiten wird heute in der hydrobiologischen Literatur allgemein eine Konzentration von 2 mg «Ammoniak» pro Liter für Fische als tödlich betrachtet. Abgesehen von der Unvollständigkeit dieser Angabe, ist von den bisherigen Autoren der Begriff «Ammoniak» in irreführender Weise verwendet worden, weil der Dissoziationsgrad der Ammoniumbase bei verschiedenen p_H -Werten der Lösung nicht

berücksichtigt wurde. Einzig ELLIS und CHIPMAN (1935) gehen näher auf die p_H -Abhängigkeit der Giftwirkung von Ammoniak ein. In unserer früheren Arbeit (WUHRMANN, ZEHENDER und WOKER, 1947) setzten wir uns mit dieser Frage eingehend auseinander. Wir kommen deshalb an dieser Stelle nur kurz darauf zurück.

1. Chemische Grundlagen¹⁾

In wäßriger Lösung dissoziieren Ammoniumsalze, gemäß der allgemeinen Gleichung

Mit zunehmender OH-Ionenkonzentrationen in der Lösung (bei steigendem p_H) verschiebt sich das Gleichgewicht auf die rechte Seite der Gleichung.

Abb. 3. Prozentuale Dissoziation von Blausäure und Ammoniumbase in Abhängigkeit vom p_H der Lösung. Temperatur 25°C . Abszisse: p_H ; Ordinate: % Dissoziation.

¹⁾ Die chemischen Arbeiten bei den Versuchen wurden zur Hauptsache unter der Leitung von Herrn Dr. ZEHENDER von der Chemischen Abteilung unseres Institutes durchgeführt, wofür wir ihm an dieser Stelle bestens danken möchten.

chung, d. h. zugunsten der Bildung von freiem Ammoniak, welches in der wäßrigen Lösung gelöst ist. Die gegenseitigen Mengenverhältnisse von Ammoniumionen und freiem Ammoniak in einer Ammoniumsalzlösung lassen sich gemäß dem Massenwirkungsgesetz und der bekannten Dissoziationskonstanten der Ammoniumbase berechnen. Wir haben den prozentualen Anteil des Ammoniaks in einer Ammoniumsalzlösung konstanten Stickstoffgehaltes als Funktion ihres p_H -Wertes (siehe Abb. 3) aufgetragen. Die Kurve gestattet die genaue Berechnung des Ammoniakgehaltes in einem Wasser, von welchem der p_H -Wert sowie der Ammoniumstickstoff mittels der bekannten Analysenverfahren (NESSLERS Ragens oder Destillation aus alkalischer Lösung) bestimmt worden ist. Da die Dissoziation der Ammoniumbase temperaturabhängig ist, muß die Berechnung der beschriebenen Dissoziationskurve für jede Versuchstemperatur gesondert vorgenommen werden. Wir kommen in einer späteren Arbeit hierauf im einzelnen zurück.

Die Versuche früherer Autoren sowie auch unsere eigenen Beobachtungen ergeben, daß NH_4 -Ionen für Fische in weiten Konzentrationsgrenzen «ungiftig» zu sein scheinen, so daß bei Ammoniakvergiftungen in freien Gewässern das NH_3 als wirksame Substanz betrachtet werden muß. Man kann deshalb auf Grund der Dissoziationsverhältnisse der Ammoniumsalze die für experimentelle Untersuchungen benötigten Lösungen gewünschten Ammoniakgehaltes auf zwei Wegen herstellen:

1. Durch Einwaage einer bestimmten Menge eines Ammoniumsalzes in die Versuchslösung und durch anschließende verschiedene Einstellung des p_H -Wertes, oder
2. durch Herstellung von Lösungen mit konstantem p_H -Wert, aber wechselnden Konzentrationen von Ammoniumsalz.

Da wir einerseits die p_H -Empfindlichkeit unserer Fische ermittelt hatten, andererseits jedoch über die Wirkung von Ammoniumionen keine ganz zuverlässigen Angaben vorhanden sind, wählten wir für unsere Versuche die erstere der beiden Methoden zur Herstellung unserer Vergiftungslösungen. Zur Ergänzung wurden jedoch die Versuche auch mit wechselnden Konzentrationen des verwendeten Ammoniumsalzes $[(NH_4)_2SO_4]$, p. A. Siegfried] ausgeführt.

Auf Grund dieser Anordnung kam es bei den Experimenten deshalb vor allem darauf an, für möglichste Konstanz der Wasserstoffionenkonzentration innerhalb eines Versuches zu sorgen, was durch die automatische p_H -Registrierung sehr erleichtert wurde, indem beim Auftreten systema-

tischer p_H -Änderungen (z. B. durch die Atmungskohlensäure der Fische) mittels geringer Laugen- oder Säurezugaben die notwendigen Korrekturen vorgenommen werden konnten (vgl. hierzu auch Abb. 2).

2. Versuchsergebnisse

Die Resultate der Messungen sind in Tab. 4a, 4b und Abb. 4a und b zusammengestellt. Die hauptsächlichsten Beobachtungen lassen sich kurz wie folgt zusammenfassen:

Abb. 4a. Giftigkeit von NH_3 für *Squalius cephalus*. Abszisse: mg/l NH_3 in der Versuchslösung. Ordinate: Manifestationszeit in Minuten. Jeder Punkt der Kurve entspricht dem Mittelwert eines Versuches mit vier Fischen (vgl. Tab. 4a). Temperatur $14^\circ C$.

Alle Experimente mit *Alet* als Versuchsfisch lassen sich, unbekümmert um die Konzentration der eingewogenen Menge Ammoniumsalzes, zum gesuchten funktionellen Zusammenhang zwischen der Konzentration des *Ammoniaks* und der Giftwirkung dieser Lösungskomponente zusammen-

stellen. Die Manifestationszeit erweist sich ausschließlich als eine Funktion der Konzentration des Ammoniaks.

Es ergibt sich hieraus, daß – in Übereinstimmung mit älteren Angaben – die Ammoniumionen in einem Gewässer bis zu hohen Konzentrationen keinen zur Zeit eindeutig feststellbaren Einfluß auf die Fische besitzen.

Abb. 4b. Giftigkeit von NH_3 für Brutfische von *Trutta iridea*. Zum Vergleich ist die Kurve für *Squalius* im gleichen Maßstab ebenfalls eingetragen. Temperatur 14° C.

Man kann für Ammoniak als Fischgift eindeutig einen *Schwellenwert* seiner giftig wirkenden Konzentration bei ungefähr 1,0–1,2 mg/l NH_3 für ausgewachsene Alet festlegen (bei Temperaturen von 14° C und einem entsprechenden Sauerstoffsättigungswert).

Forellenbrutfische erweisen sich als bedeutend empfindlicher als ausgewachsene Alet. Der *Schwellenwert* für Ammoniak liegt bei ihnen um 0,3–0,4 mg/l NH_3 (14° C und 9–10 mg/l O_2).

Der auf Grund unserer 25 Meßpunkte ziemlich gut gesicherte Verlauf der Konzentrations-Wirkungs-Kurve des NH_3 beim Alet läßt als besonders

Tabelle 4a

Ammoniakversuche mit Squalius cephalus

Salzkonzentration gemäß Analyse		mittleres pH	NH ₃ mg/l	Tempe- ratur in °C	O ₂ mg/l	Fische		<i>t_M</i> Minuten	10 000 <i>t_M</i>
(NH ₄) ₂ SO ₄ mg/l	N mg/l					Art	Zahl		
141,4	30,0	7,55	0,2	14	9,6	Alet	4	∞	0
35,8	7,6	8,30	0,5	14	9,6	Alet	4	∞	0
136,7	29,0	7,93	0,7	14	9,6	Alet	4	∞	0
613,0	130,0	7,58	1,2	14	9,2	Alet	4	193	57
35,5	7,45	8,75	1,2	14	8,7	Alet	5	162	60
141,0	29,9	8,16	1,3	14	9,5	Alet	4	332	30
36,9	7,82	8,88	1,5	14	9,6	Alet	4	174	60
145,2	30,8	8,47	2,8	14	9,7	Alet	4	156	105
37,0	7,85	9,35	3,5	14	9,4	Alet	4	63	155
144,2	30,6	8,73	4,7	14	9,8	Alet	4	69	160
141,4	30,0	8,95	7,1	14	9,6	Alet	4	35	280
687,5	145,7	8,43	12,2	14	9,5	Alet	4	22	468
143,8	30,5	9,30	12,8	14	9,9	Alet	4	25	402
855,0	181,45	8,45	15,43	14	10,1	Alet	4	25	410
893,0	189,5	8,43	15,43	14	9,9	Alet	4	28	356
875,0	185,45	8,48	16,9	14	9,7	Alet	4	28	365
916,0	194,4	8,48	17,72	14	9,6	Alet	4	26	431
957,0	203,1	8,54	20,98	14	9,7	Alet	4	12	657
1698,0	360,6	8,32	23,66	14	9,3	Alet	4	16	702
915,0	194,45	8,65	25,28	14	9,9	Alet	4	11	887
940,0	199,65	8,65	25,96	14	9,3	Alet	4	10	992
907,0	192,55	8,69	29,24	14	10,0	Alet	4	8	1338
2330,0	493,8	8,42	38,95	14	9,5	Alet	4	12	959
2298,3	445,5	8,63	51,4	14	9,6	Alet	4	4	2990

Tabelle 4b

Ammoniakversuche mit Trutta iridea

Salzkonzentration gemäß Analyse		mittleres pH	NH ₃ mg/l	Tempe- ratur in °C	O ₂ mg/l	Fische		<i>t_M</i> Minuten	10 000 <i>t_M</i>
(NH ₄) ₂ SO ₄ mg/l	N mg/l					Art	Zahl		
141,4	30,0	7,55	0,2	14	9,6	Rgb. for.	6	∞	0
139,7	29,6	7,55	0,2	14	10,0	"	6	360	28
136,7	29,0	7,93	0,7	14	9,6	"	6	390	26
141,0	29,9	8,16	1,3	14	9,5	"	5	81	123
130,1	27,8	8,14	1,4	14	9,5	"	4	54	185
145,2	30,8	8,47	2,8	14	9,7	"	6	17	590
144,2	30,6	8,73	4,7	14	9,8	"	6	20	500
141,4	30,0	8,95	7,1	14	9,8	"	6	8	1250
143,8	30,5	9,30	12,8	14	9,9	"	6	10	1000

auffallend die außerordentlich rasche Zunahme der Giftigkeit des NH_3 innerhalb des Konzentrationsbereiches von 1,0 bis ca. 6 mg/l erkennen, in welchem eine Abnahme der Manifestationszeit von ∞ bis zu 40 Minuten erfolgt. Nach einem scharfen Knickpunkt strebt die Kurve sodann innerhalb eines sehr weiten Konzentrationsgebietes asymptotisch einem Minimalwert der Manifestationszeit zu.

Die höhere Empfindlichkeit der Forellenbrutfische ergibt sich namentlich aus der Verlagerung des Knickpunktes gegen die niedrigeren NH_3 -Konzentrationen zu erkennen. Diese Kurve bedarf noch der Ergänzung mittels Experimenten in NH_3 -Lösungen mit einem Gehalt von über 10 mg/l. Mangels Fischmaterials konnten diese Versuche noch nicht durchgeführt werden.

3. Vergiftungserscheinungen

Der Ablauf der Ammoniakvergiftung erwies sich bei allen wirksamen Konzentrationen und untersuchten Fischarten als praktisch identisch und mit älteren Beobachtungen übereinstimmend. Anfänglich zeigen die Fische in der giftigen Lösung keine besonderen Erscheinungen; sie verfallen dann aber plötzlich aus einem scheinbar ziemlich normalen Zustande in sehr heftige Muskelkrämpfe, von denen sie im Wasser umhergeschwommen und sogar über die Wasseroberfläche emporgeworfen werden. Diese Zuckungen dauern nur einige Sekunden, worauf der Fisch plötzlich unbeweglich und steif in Rückenlage fällt. Dieses Stadium kann somit eindeutig als Manifestationszeit gemessen werden. Verbleiben die Fische weiterhin in der Lösung, so tritt bereits nach kurzer Zeit die letale Phase ein. Dies steht in Übereinstimmung mit den Beobachtungen früherer Autoren, welche allgemein gefunden hatten, daß eine Ammoniakvergiftung bei Fischen unbedingt tödlich verlaufe, sobald die Tiere so lange in den Lösungen verweilt hätten, bis die »typischen« Vergiftungserscheinungen (Ammoniakchock) auftraten. Gelegentlich findet allerdings auch ein allmählicher, oft nur von schwächeren Krampfstufen begleiteter Gleichgewichtsverlust der Tiere statt. Es bestehen Anhaltspunkte dafür, daß die zeitliche Aufeinanderfolge der verschiedenen, von Ammoniak ausgelösten pathologischen Zustände im Fischkörper mit diesen Reaktionsunterschieden der Versuchstiere zusammenhängt. Wir werden darauf in einer speziellen Arbeit zurückkommen.

Von einzelnen Autoren werden bei Ammoniakvergiftungen noch eine Reihe anderer Reaktionen der Versuchsfische geschildert, welche zum sogenannten »Vergiftungsbild« der Ammoniakvergiftung gehören sollen.

Nach unseren Beobachtungen handelt es sich aber um wenig typische Erscheinungen, welche auch bei anderen Giften beobachtet werden können, so daß wir darauf verzichten, eine weitergehende Schilderung des Verhaltens der Tiere in den giftigen Lösungen zu geben. Eine detaillierte Analyse des «Vergiftungsbildes» kann unseres Erachtens erst nach eingehenden physiologischen Untersuchungen über den Mechanismus der Ammoniakvergiftung vorgenommen werden. Als erste Orientierung über diese Frage können einige unserer Beobachtungen dienen, welche im Schlußabschnitt dieser Arbeit unter Berücksichtigung älterer Untersuchungen dargestellt werden.

F. DIE ZYANID-BLAUSÄURE-VERGIFTUNG

Die starke Giftigkeit der Blausäure beschäftigte seit jeher zahlreiche Forscher. Allgemein gilt auf Grund bisheriger Untersuchungen (l. c.) eine Konzentration von ungefähr 2 mg/l KCN als tödlich. Dies entspricht einer Konzentration von 0,8 mg/l CN-Radikal.

1. Chemische Grundlagen

In analoger Weise wie bei Ammoniumsalzen muß auch bei Zyaniden ihre Dissoziation in verdünnten, wäßrigen Lösungen berücksichtigt werden. In Zyanidlösungen entsteht *Blausäure*, deren Menge einerseits von der Konzentration des Zyanosalzes und andererseits von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig ist. Man muß deshalb bei Zyanidlösungen berücksichtigen, daß sie zwei, in ihrer Giftigkeit eventuell voneinander verschiedene Komponenten enthalten, nämlich *undissoziierte Blausäure* und *Zyanidionen*. Gemäß der Dissoziationsgleichung

kann man für jede Einwaage eines Zyanosalzes den prozentualen Gehalt der entstehenden Lösung an Blausäure als Funktion des p_{H} berechnen. Die entsprechende Kurve ist ebenfalls in Abb. 3 eingetragen. Die Dissoziation der Blausäure ist sehr gering, weshalb Zyanide erst in stark alkalischen Lösungen vollständig in Ionen zerfallen. Die Dissoziationskurve zeigt, daß beispielsweise bei einem p_{H} -Wert von 9,1 in Zyanidlösungen noch 50% des Zyanradikals als Blausäure gebunden sind (bei 25° C). Diese Tatsache läßt vermuten, daß bei den meisten älteren Untersuchungen über «Zyanid»-

vergiftungen bei Fischen eigentlich die Blausäure als giftige Substanz geprüft wurde, denn man kann annehmen, daß im allgemeinen mit Lösungen von p_H -Werten zwischen 7 und 8 gearbeitet wurde. In diesem Bereiche ist jedoch mehr als 90% des in den Lösungen enthaltenen Zyanradikals in Form undissoziierter Blausäure vorhanden.

Unter Berücksichtigung dieser Tatsache trachteten wir darnach, unsere Versuche bei niederen p_H -Werten durchzuführen, um zunächst möglichst geringe Konzentrationen von Zyanidionen in unseren Lösungen zu haben.

Es wurde stets NaCN (rein, Siegfried) als Gift in die Bäder eingewogen. Alle Experimente wurden mit gleicher Methodik wie die Ammoniakversuche durchgeführt. Da Blausäure aus wäßriger Lösung stets in geringen Mengen entweicht, wurde der analytischen Kontrolle des Versuchswassers besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Mit Ausnahme der Experimente mit sehr verdünnten Lösungen blieb jedoch ihre Konzentration an Zyanradikal innerhalb der Versuchszeiten praktisch konstant.

2. Versuchsergebnisse

Die Resultate der Messungen von Manifestations- und Todeszeit in Zyanidlösungen verschiedener Konzentration und gleichartigem p_H sind in Tab. 5 und Abb. 5 dargestellt. Die Messungsergebnisse lassen sich mit

Tabelle 5

Blausäure-Zyanid-Versuche

CN-Radikal mg/l	mittleres p_H	Giftkonzentration		Temperatur in °C	O ₂ mg/l	Fische		t_M Minuten	t_T Minuten
		HCN mg/l	CN' mg/l			Art	Zahl		
0,20	8,35	0,19	0,02	13,2	8,8	Alet	4	∞	∞
0,50	8,09	0,48	0,04	13,7	9,4	Alet	4	141	268
0,66	8,12	0,62	0,06	12,0	9,5	Alet	3	70	290
1,20	8,30	1,09	0,15	11,5	10,1	Alet	4	59	155
2,0	8,08	1,91	0,16	14,7	9,3	Alet	4	27	71
3,95	8,05	3,80	0,29	14,2	8,8	Alet	4	19	61
10,0	8,04	9,62	0,74	12,9	9,2	Alet	4	18	
16,0	8,14	15,10	1,47	14,5	9,1	Alet	4	17	73

guter Genauigkeit wiederum zu einer Kurve, welche die Abhängigkeit der Giftigkeit der Lösung von ihrer Konzentration darstellt, zusammenfassen.

Abb. 5 zeigt, daß Zyanidlösungen wesentlich giftiger sind, als dies bei Fischen bisher angenommen wurde, denn unsere Untersuchungen zeigen, daß der *Schwellenwert* bei unseren wenig empfindlichen Fischen bei ca.

0,2 mg/l Zyanradikal liegt (12–14° C). Ferner wird beispielsweise für eine Manifestationszeit von einer Stunde nur 0,33–0,35 mg/l CN benötigt, wobei eine solche Lösung für Alet noch innerhalb 2,5 Stunden tödlich wirkt. Auffallend ist wiederum der stark asymptotische Verlauf der Kurve bei höheren Zyankonzentrationen. Die Manifestationszeit kann offenbar unabhängig von den Giftkonzentrationen einen gewissen Minimalwert nicht

Abb. 5. Giftigkeit von Blausäure für *Squalius cephalus*. Abszisse: mg/l Zyanradikal in der Versuchslösung; Ordinate: $1000/t_M$. Temperatur 12–14° C.

unterschreiten. Es ist zu erwarten, daß diese Minimalzeit von der «Empfindlichkeit» der Fische abhängig ist und daher bei verschiedenen Arten eine andere Größe besitzen wird.

3. Über die relative Giftigkeit von Blausäure- und Zyanidionen

Gemäß der Dissoziationskurve ist in Zyanidlösungen bis zu p_H -Werten von ca. 8,0 die undissoziierte Blausäure in erster Linie als giftige Komponente zu betrachten. In einigen speziellen Experimenten wurde versucht, auch über die Giftigkeit der Zyanidionen Aufschluß zu erhalten. Es wurde dabei von einer Lösung konstanter Konzentration ausgegangen, deren Wirkung auf die Fische bei mehreren p_H -Stufen geprüft wurde, so daß also gemäß dem Dissoziationsgrad der Blausäure verschiedene Mischungsverhältnisse der beiden Lösungskomponenten auftraten. Die Ergebnisse dieser Versuche, die vorläufig mehr orientierenden Charakter besitzen, sind in Tab. 6 zusammengestellt.

Man erkennt sofort, daß die Manifestationszeiten in einer Zyanidlösung mit steigendem p_H größer werden oder, mit anderen Worten, daß mit zunehmender Dissoziation der Blausäure die Zyanidlösung weniger giftig wirkt. Obschon die Differenzen zwischen den Reaktionszeiten in den verschiedenen

Tabelle 6

Relative Giftigkeit von Blausäure- und Zyanidionen

p_H	CN mg/l	Komponenten		t_M Minuten
		HCN mg/l	CN' mg/l	
7,58	0,66	0,66	0,02	54
7,72	0,66	0,65	0,03	50
8,12	0,66	0,62	0,06	70
8,84	0,66	0,45	0,23	94
(9,5)	(0,66)	(0,21)	(0,46)	(73)

Lösungen nicht sehr groß sind, übersteigen sie doch die Streuungen der Einzelmessungen eindeutig, so daß die dargestellten Ergebnisse als reell betrachtet werden müssen.

Leider verbieten die Dissoziationsverhältnisse der Blausäure eine weitergehende getrennte Prüfung der Giftigkeit von Zyanidionen, da für den vollständigen Ionenzerfall der Blausäure in den Lösungen zu hohe p_H -Werte eingestellt werden müßten. Die gegenüber p_H 8,84 bei p_H 9,5 bereits wieder abnehmende Manifestationszeit (obschon die Blausäurekonzentration geringer ist) muß auf die Wirkung der alkalischen Lösung zurückgeführt werden. Ihr Einfluß kann offenbar bei gleichzeitiger Anwesenheit toxischer Zyankonzentrationen nicht mehr vernachlässigt werden. Trotz ihrem beschränkten Umfang geben die vorliegenden Beobachtungen einen interessanten Einblick in einen Teil der Vorgänge, welche die Zeit für das Auftreten von Vergiftungserscheinungen bei den Fischen bestimmen.

4. Vergiftungserscheinungen

Wir treten auf den Ablauf der Zyanidvergiftung nur so weit ein, als dies zur Darstellung der Unterschiede gegenüber der Ammoniakvergiftung notwendig ist; im übrigen verweisen wir auf die bereits zitierten Arbeiten.

Die Wirkung des Zyanradikals äußert sich auch bei geringen Konzentrationen unmittelbar nach Berührung der Fische mit der giftigen Lösung, indem Atemfrequenz und Atemtiefe verstärkt sind. Die Eintrittszeit ist also im Vergleich mit derjenigen bei Ammoniakvergiftungen stark verkürzt.

Der weitere Ablauf der Vergiftung ist dagegen schleichend. Je nach Konzentration verlieren die Fische nach kürzerer oder längerer Zeit allmählich das Gleichgewicht, erholen sich scheinbar wieder für einige Zeit usw. Die Steigerung der Giftwirkung zeigt sich vor allem in häufigem Luftschnappen und gelegentlichem raschem Umherschließen im Versuchsbassin, gefolgt von immer ausgedehnteren Perioden vollständigen Gleichgewichtsverlustes und Bewegungslosigkeit.

In Bestätigung der Beobachtungen früherer Autoren konnten wir feststellen, daß die letale Phase der Zyanidvergiftung im Verhältnis zur Latenzphase sehr kurz ist und sich vergiftete Fische bei Zurückversetzen in frisches Wasser verhältnismäßig rasch wieder vollständig erholen. Die Festsetzung der Todeszeit ist deshalb bei Zyanidvergiftungen besonders schwierig, und es mußte häufig die Erfahrung gemacht werden, daß Versuchstiere sich wieder zum Normalzustand erholten, obschon sie bereits als tot bezeichnet worden waren. Die Vergiftung kann deshalb beim Alet praktisch bis zum Moment des Todes als *reversibel* angesehen werden. Hierin liegt ein großer Unterschied zur Ammoniakvergiftung, bei welcher wir festgestellt haben, daß der Fischorganismus schon bald nach dem Auftreten der ersten deutlichen Vergiftungsanzeichen im allgemeinen bereits irreversibel geschädigt ist.

G. GLEICHZEITIGE EINWIRKUNG

VON AMMONIAK UND BLAUSÄURE AUF FISCHE

Die Wirkung von Gemischen der beiden Gifte besitzt vor allem praktische Bedeutung. Daneben sind von diesen Untersuchungen jedoch auch theoretisch interessante Beobachtungen über synergistische oder antagonistische Wirkungen der Gifte zu erwarten. Die vorliegenden Versuche sind nicht abgeschlossen, wir betrachten jedoch die Darstellung der bisherigen Resultate im Interesse der Vervollständigung unserer Ausführungen über Zyanid- und Ammoniakvergiftungen als notwendig.

Die Experimente erfolgten in gleicher Weise wie bisher. Die Mischlösungen der beiden Fischgifte wurden so zusammengestellt, daß bei einer *konstanten Ammoniakkonzentration* jeweils *verschiedene Blausäurebeimischungen* erfolgten. Es wurden zwei Versuchsreihen durchgeführt, in welchen jedesmal die Ammoniakkonzentration niedriger eingestellt wurde, als dem *Schwellenwert* für dieses Gift (bei alleiniger Einwirkung) entsprochen hätte.

1. Versuchsergebnisse

Der Chemismus der Mischlösungen sowie die resultierenden Manifestations- und Todeszeiten sind in Tab. 7 zusammengestellt. Zum besseren Vergleich sind in die Tabelle auch die Manifestations- und Todeszeiten für reine Ammoniaklösungen entsprechender Konzentration aufgenommen worden. Der Vergleich der Ergebnisse mit den Zyanversuchen erfolgt an

Tabelle 7 *Ammoniak-Blausäure-Versuche*

Gesamtkonzentration		Mittleres pH	Giftkonzentration			Temperaturen in °C	O ₂ mg/l	Fische		<i>t_M</i> Minuten	<i>t_T</i> Minuten	$\frac{100}{t_M}$
[CN] mg/l	N mg/l		NH ₃ mg/l	HCN mg/l	CN' mg/l			Art	Zahl			
0,1	6,95	8,52	0,70	0,08	0,02	14,2	~9,0*	Alet	4	78	156	1,3
0,5	6,7	8,44	0,57	0,44	0,08	13,8	~9,0*	Alet	4	37	< 80	2,7
2,3	6,7	8,50	0,65	1,96	0,41	13,6	9,3	Alet	4	11	< 24	9,1
15,25	7,0	8,40	0,55	13,42	2,29	14,2	9,1	Alet	4	5	30	20
0,14	6,7	8,2	0,35	0,13	0,01	14,6	9,2	Alet	4	225	300	0,44
2,34	6,6	8,13	0,28	2,22	0,20	14,0	9,4	Alet	4	27	70	3,8
7,6	6,7	8,10	0,28	7,26	0,60	14,5	9,1	Alet	4	14	46	7,15

*) Analysen ungenau.

Hand von Abb. 6, in welcher die Giftigkeit der Mischlösung als Funktion ihres Zyangehaltes aufgetragen ist, wobei ihr Ammoniakgehalt als Parameter eingeführt wurde.

Abb. 6. Giftigkeit von Mischlösungen von Ammoniak und Blausäure für *Squalius cephalus*. Abszisse: mg/l Zyanradikal in der Versuchslösung; Ordinate: $100/t_M$; Ammoniakkonzentration als Parameter. Temperatur 12–14° C.

Man erkennt, daß die beiden Gifte NH_3 und HCN (CN' sind nur in geringen Konzentrationen vorhanden) als ausgesprochene *Synergisten* bezeichnet werden müssen. Dies äußert sich eindeutig in den stark herabgesetzten Manifestationszeiten gegenüber den entsprechenden Wirkungen reiner Lösungen. Vor allem ist auffällig, daß *unterschwellige Konzentrationen beider Gifte bei ihrem Zusammenwirken noch tödlich sind*. In der Versuchsreihe mit dem niedrigeren Ammoniakgehalt kommt ferner deutlich zum Ausdruck, daß sich der Synergismus vor allem bei Zusätzen von über 0,5 mg/l NH_3 oder dann vor allem bei höheren Blausäurekonzentrationen der Bäder bemerkbar macht, indem die für die reine Blausäurevergiftung charakteristische Minimalreaktionszeit unterschritten wird und innerhalb des untersuchten Konzentrationsbereichs noch keiner konstanten Größe zustrebt. So kann beispielsweise die Manifestationszeit in einer Lösung von 16 mg/l CN , welche rund 17 Minuten beträgt, durch Zusatz der an sich ungiftigen Menge von 0,55 mg/l Ammoniak auf nur 5 Minuten reduziert werden.

Die vorstehenden Versuche lassen eindeutig erkennen, daß für die fischereiwirtschaftliche Praxis die Abgänge aus Stahlhärtereien, welche mit Zyaniden arbeiten, viel gefährlicher sind als die Abwässer von Betrieben, die entweder nur Ammonsallösungen oder nur Zyanidlösungen in die Vorfluter abgeben. Die Abfällösungen der Zyanidhärtereie enthalten nämlich neben Zyanradikal stets größere Mengen Ammoniumradikal, und gleichzeitig besitzen sie ein hohes p_{H} .

2. Vergiftungserscheinungen

Wie bei Zyanversuchen reagieren die Fische in den Ammoniak-Blausäure-Bädern sofort durch tieferes und schnelleres Atmen. Die Eintrittszeit der Giftwirkung entspricht ungefähr derjenigen reiner Blausäurelösungen. Die typische Reaktion der Tiere besteht jedoch in einem *Ammoniakschock*, wie er vorher beschrieben wurde. Im Gegensatz zu reinen Ammoniakvergiftungen bleiben die Tiere nach dem Ammoniakschock nun aber noch lange Zeit lebend und erholungsfähig, zeigen also ein Verhalten, welches für die reine Zyanvergiftung als charakteristisch gefunden wurde. Dem entsprechend ist dann auch die Letalphase nur verhältnismäßig kurz.

Die Vergiftungserscheinungen des Ammoniak-Zyan-Gemisches weisen mithin Merkmale der Wirkungen beider Gifte auf, wobei der zeitliche Ablauf der Symptome gegenüber den Versuchen mit den reinen Lösungen stark beschleunigt erscheint.

H. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

1. Zur Frage der Empfindlichkeit verschiedener Fischarten

Obschon in den bisherigen Experimenten nur wenige Einzelbeobachtungen an anderen Fischarten angestellt werden konnten, möchten wir kurz auf die festgestellten Empfindlichkeitsunterschiede eingehen. Es kann sich dabei lediglich um eine qualitative Abgrenzung der Reaktionszeiten verschiedener Arten bei Einwirkung der gleichen Gifte handeln.

Abb. 7a. Giftigkeit von Ammoniak für verschiedene Fischarten, schwarze Säulen bei 2,86 mg/l NH₃, schraffierte Säulen bei 10,5 mg/l NH₃. Ordinate: 1000 t_M . Temperatur 14° C.

Abb. 7b. Giftigkeit von Blausäure für verschiedene Fischarten. Konzentration: 0,66 mg/l; Ordinate: 1000 t_M . Temperatur 12–14° C.

In Abb. 7a und 7b sind Messungen zusammengestellt, die wir an Fischen anstellten, welche jeweils bei den Hauptversuchen zusammen mit den Alet in die Lösungen eingesetzt wurden. Der Empfindlichkeitsvergleich kann natürlich nur bei identischen Konzentrationen der Giftlösungen angestellt werden.

Die Darstellungen zeigen, daß große Unterschiede in den Manifestationszeiten der Fischarten bei den untersuchten Konzentrationen bestehen. Aus methodischen Gründen ist die Feststellung wichtig, daß der *ausgewachsene Alet* offenbar zu den *unempfindlichsten* Fischen gehört, denn im Vergleich mit den anderen untersuchten Arten besitzt er immer die längsten

Reaktionszeiten. Ferner zeigen die Ammoniakversuche, daß Forellenbrut allgemein viel empfindlicher ist als große Weißfische. Unsere Versuche mit Alet und Forellen grenzen deshalb vermutlich für eine große Anzahl von Fischarten den Empfindlichkeitsbereich ab. Diese Folgerung scheint uns besonders für die praktische Verwendung unserer bisherigen Ergebnisse von Bedeutung. Es wird die Aufgabe weiterer Experimente sein, möglichst viele Fischarten und Altersstadien bei einigen wenigen Konzentrationen zahlreicher Gifte zu untersuchen, um festzustellen, ob sich die einzelnen Arten und Gattungen bezüglich ihrer Empfindlichkeit in eine feststehende Reihe einordnen lassen und welche Empfindlichkeitsverschiebungen mit dem Wachstum der Fische verbunden sind.

2. Zum Mechanismus der Giftwirkung von Ammoniak und Blausäure

Aus den beschriebenen Versuchsergebnissen heben wir einige Beobachtungen von allgemeinerem Interesse heraus, die einer weiteren Diskussion bedürfen:

Sowohl bei Ammoniak- wie auch bei Zyanvergiftungen ist die Giftigkeit der ungeladenen Molekeln der Lösungen (NH_3 bzw. HCN) bedeutend größer als diejenige der Ionen (NH_4^+ bzw. CN').

Die Giftigkeit der beiden untersuchten Verbindungen erfährt bei ihrem Zusammenwirken eine ganz unerwartete Steigerung.

Die *Ammoniakvergiftung* scheint *weitgehend irreversibel* zu sein.

Die *Zyanvergiftung* ist *weitgehend reversibel*, und zwar auch dann, wenn ihr Ablauf durch gleichzeitige Ammoniakwirkung beschleunigt wird.

a) Einfluß der Kiemenpermeabilität

Die bei unseren Experimenten als Giftigkeitsmaßstäbe gewählten, äußerlich sichtbaren Reaktionen der Fische können nur dann auftreten, wenn das Gift an seinem Angriffspunkt im Tierkörper diejenige Konzentration erreicht hat, welche zur Auslösung einer Reaktion des angegriffenen Organs (oder zu einem Eingriff in Stoffwechselreaktionen) unbedingt notwendig ist. Es besteht demnach ein «innerer Schwellenwert» der Giftkonzentration. Dieser ist nicht mit dem Schwellenwert der Giftlösung identisch, welcher bei den Experimenten für die einzelnen Gifte festgestellt wurde, denn das in den Fisch eindringende Gift kann auf seinem Transport bis an den Angriffspunkt durch chemische Umsetzungen, Adsorption oder andere Vorgänge teilweise unschädlich gemacht worden sein (diese Reak-

tionen werden als Entgiftungsmechanismen zusammengefaßt). Die Zeit bis zur Erreichung des inneren Schwellenwertes ist damit abhängig vom gegenseitigen Verhältnis zwischen der pro Zeiteinheit einwandernden und der gleichzeitig vom Körper unschädlich gemachten Giftmenge. *Die Reaktionszeit des Fisches ist damit weitgehend eine Funktion der Einwanderungsgeschwindigkeit des Giftes in das Tier.*

Bei den Fischen kommt als Eingangspforte für die untersuchten Gifte praktisch vor allem der *Kiemenapparat* in Betracht. Der eventuelle Gifteintritt durch die Haut spielt bei den untersuchten Substanzen im Rahmen unserer Messungen keine Rolle. Dies zeigte sich bei Versuchen mit Tieren, welche Hautverletzungen aufwiesen und oft auf großen Flächen von Schuppen entblößt waren. Solche Fische reagierten genau gleich schnell wie unverletzte. *Die Giftigkeit einer Lösung ergibt sich deshalb zunächst als eine Funktion der Permeabilität der Kiemen für die giftig wirkenden Lösungskomponenten.*

Zur Erläuterung unserer Versuchsbeobachtungen ist es nicht notwendig, auf das große Gebiet der Permeabilität näher einzugehen. Wir verweisen lediglich auf die seit langem bekannte Tatsache (vgl. Zusammenfassung bei HÖBER, 1926 und 1945), die von sehr vielen Beobachtungen an pflanzlichen und tierischen Zellen gestützt wird, daß ungeladene Molekeln im allgemeinen viel leichter in Zellen einzudringen vermögen als Ionen. Dies wurde speziell für Ammoniak und Ammoniumionen an tierischen Zellen und isolierten Geweben und Organen mehrfach bestätigt (vgl. auch Zusammenfassung bei TRENDLENBURG, 1933). In gleicher Weise gilt diese Regel auch für Blausäure bzw. Zyanidionen.

b) Spezifische Ammoniakwirkungen

Auf Grund zahlreicher Untersuchungen ist schon lange bekannt, daß Ammoniak eine *typische Reizwirkung auf das Zentralnervensystem* ausübt, wobei von HEUBEL (1874) beim Frosch sogar eine bestimmte Stelle im verlängerten Mark als hauptsächlichster Angriffspunkt bezeichnet werden konnte. Diese Reizwirkung kann nicht einmal durch Narkotisieren des Tieres bei der Vergiftung behindert werden (ROSENSTEIN, 1873). Die Krämpfe treten jedoch nicht ein, wenn nach Durchschneiden des Rückenmarkes die nervöse Verbindung der Muskulatur mit der *Medulla oblongata* unterbrochen wird. Eine ähnliche Wirkung des Ammoniaks ist auch bei Säugetieren festzustellen, erscheint jedoch nicht in der extremen Ausbildung wie bei den Kaltblütern.

Eine weitere Schädigung des Fischkörpers tritt durch die *hämolytische Wirkung* des Ammoniaks ein (vgl. Literatur bei HÖBER, 1926). Diese wurde

bisher lediglich an isoliertem Blute experimentell untersucht. Unsere Versuche zeigten, daß die Hämolyse bereits beim lebenden, mit Ammoniak stark vergifteten Fisch in weitem Ausmaß erfolgen kann.

Obschon noch andere, beim Frosch und bei Säugetieren beobachtete Ammoniakwirkungen beschrieben worden sind, haben wir die Auffassung, daß die bei den Fischversuchen äußerlich markant auftretenden Vergiftungserscheinungen in erster Linie auf die beiden näher erwähnten Angriffe des Giftes zurückgeführt werden können. Dabei beobachteten wir, daß die Beeinflussung des Nervensystems bedeutend schneller eintritt (geringerer «innerer Schwellenwert») als die Hämolyse des Blutes.

c) *Blausäurewirkung*

Da Blausäure als starkes Fermentgift bekannt ist (Zusammenfassung bei ZEILE, 1941), ist seine hohe Wirksamkeit auch in verdünnten Lösungen nicht erstaunlich, besonders wenn man die große Kiemenoberfläche der Fische berücksichtigt. Die von der Blausäure bewirkte Blockierung der eisenhaltigen Atmungsfermente bringt deshalb eine Schädigung des gesamten für die Sauerstoffaufnahme des Tieres notwendigen Kiemenepithels mit sich. Die kurze Eintrittszeit der Blausäurevergiftung, die nur wenige Sekunden beträgt, ist deshalb leicht erklärlich. Trotz diesen ungünstigen Voraussetzungen tritt die Vergiftung der Fische erst allmählich ein. Dies beruht darauf, daß die Blockierung der Atmungsfermente in den Kiemenzellen zur Hemmung der Sauerstoffaufnahme des Blutes offenbar allein nicht genügt. Die tödliche Schädigung der Fische erfolgt erst, wenn auch im übrigen Körper der Atmungsstoffwechsel in irreversibler Weise betroffen ist. Dies erklärt auch den festgestellten, konzentrationsunabhängigen Minimalwert der Manifestations- bzw. Todeszeit.

Die Einwirkung der Blausäure auf das Kiemenepithel ist mit großer Wahrscheinlichkeit auch für den starken *Synergismus* von Blausäure und Ammoniak verantwortlich. Man kann annehmen, daß die an sich schon gute Permeabilität der Kiemen für Ammoniak bei einer Schädigung mittels Blausäure noch wesentlich erhöht wird, so daß auch aus Lösungen mit geringem Ammoniakgehalt in kurzer Zeit so große Mengen dieses Giftes in den Tierkörper einströmen können, daß die entgiftenden Reaktionen nicht mehr genügen. Da somit der Synergismus Ammoniak-Blausäure zur Hauptsache auf eine Permeabilitätssteigerung der Kiemen zurückgeführt ist, wäre es interessant, andere, ebenfalls permeabilitätsfördernde Substanzen in ihrem Zusammenwirken mit Ammoniak zu prüfen.

Von besonderem Interesse ist nun die Frage nach den *Ursachen der verschiedenen Empfindlichkeiten* der einzelnen Fischarten auf die untersuchten Gifte. Da die Fischgröße (Gewicht) nach den bisherigen Feststellungen keinen Einfluß auf die *relative* Empfindlichkeit der Arten hat, müssen charakteristische *Artunterschiede* bestehen, sei es in der Kiemenpermeabilität, der Höhe des «inneren Schwellenwertes» für die nervöse Reizung oder der Hämolysegeschwindigkeit usw. Die verhältnismäßig günstigen Möglichkeiten der Messung von Vergiftungserscheinungen an Fischen gestatten unter Umständen ein tieferes Eindringen in das Problem der verschiedenen Artempfindlichkeiten.

Die vorstehende Diskussion des Wirkungsmechanismus der untersuchten Gifte erfolgte ausschließlich auf Grund der bei anderen Organismen beobachteten Erscheinungen. Es muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, die bei Fischen spezifischen und für das äußerliche «Vergiftungsbild» maßgebenden Faktoren herauszuarbeiten.

I. ZUSAMMENFASSUNG

1. Es werden die theoretischen und methodischen Grundlagen, die bei Fischvergiftungsexperimenten zu berücksichtigen sind, besprochen. Ferner erfolgt eine Zusammenstellung der zur Bestimmung der Beziehungen zwischen Giftkonzentration und Giftwirkung verwendeten Begriffe.

2. Für ausgewachsene Alet (*Squalius cephalus*) und Brutfische der Regenbogenforelle (*Trutta iridea*) erfolgte bei 14° C und Sauerstoffsättigung des Wassers die Festlegung einer Konzentrations-Wirkungs-Kurve für Ammoniak. Die p_H -Abhängigkeit der Giftigkeit von Ammonsalzlösungen ist auf die Dissoziationsverhältnisse der Ammoniumbase bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen zurückzuführen. Die ungeladene Ammoniakmolekel NH_3 ist als viel «giftiger» zu bezeichnen als das Ammoniumion.

3. In gleicher Weise wurde für die Blausäure der Einfluß auf ausgewachsene *Squalius cephalus* bestimmt. Es konnte dabei nachgewiesen werden, daß die «Giftigkeit» der undissoziierten Blausäuremolekel größer ist als diejenige des Zyanidions.

4. Bei gleichzeitiger Einwirkung von Ammoniak und Blausäure erfolgt eine starke gegenseitige Steigerung der Giftwirkung der Mischungskomponenten.

5. Der Vergleich der Empfindlichkeit läßt darauf schließen, daß der Alet wohl zu den giftunempfindlichsten, die Forellenbrut zu den empfindlichsten Fischen gehört.

6. Die Diskussion der Wirkungsmechanismen der Gifte ergibt, daß in erster Linie die Permeabilität der Kiemen für die Toxizität der untersuchten Substanzen maßgebend ist.

SUMMARY

(1) An outline of the theoretical and practical fundamental facts which have to be considered in experiments on fish toxicology is given, followed by the definitions necessarily involved in the estimation of the toxic effect as a function of the concentration of a poisonous solution.

(2) We could establish a steady relation between the concentration of free ammonia in water and the degree of toxicity of this solution at 14°C and oxygen saturation for adult *Squalius cephalus* and fry (30 days old) of rainbow trout, *Trutta iridea*. As the concentration of free ammonia in a solution of an ammonia salt depends on its dissociation, the toxicity of such a solution is determined by its p_H and the concentration of the ammonia salt applied. Molecular ammonia is much more toxic than NH_4 -ions.

(3) The same relations could be found for the toxicity of cyanid solutions, i. e. hydrocyanic acid (experiments with *Squalius cephalus*). It can be shown that molecular hydrocyanic acid acts more toxic than cyanid ions.

(4) In mixed solutions, containing both free ammonia and hydrocyanic acid, a striking synergism of the two toxic compounds can be demonstrated.

(5) In a comparative study with different species of fish, *Squalius cephalus* proved to be the less sensitive and highly resistant one. On the other hand, trout fry was found to be very sensitive to the same toxic compounds. It is believed that our experiments with *Squalius* and trout fry thus enclose approximately the range of the toxic concentrations of ammonia and hydrocyanic acid for a large number of Swiss fish species.

(6) As far as the mechanism of the intoxications is concerned, the toxicity of the solutions applied seems to be strictly correlated with the permeability of the gills for the toxic molecules and ions.

LITERATURVERZEICHNIS

- ALEXANDER, W. B., SOUTHGATE, B. A., BASSINDALE, R., Techn. Pap. No. 5, Water Pollution Res. Board (London 1935).
ANDERSON, B. G., Sewage Works J. 16, 1156 (1944).
BANDT, H. J., Z. Fischerei 34, 359 (1936).
BELDING, D. L., Trans. Amer. Fish. Soc 57, 100 (1927/28).
BROWN, H. W., and JEWELL, M. E., Trans. Amer. Microsc. Soc. 45, 20 (1926).

- CLARK, A. J., General Pharmacology, Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Ergänzungswerk, Bd. 4 (Berlin 1937).
- CLARK, H. W., and ADAMS, G. O., Publ. Doc. No. 34, Massachusetts State Board of Health 6, 336 (1913).
- ELLIS, M. M., Bulletin No. 22, U. S. Bureau Fish. (Washington 1937) – Spec. Sci. Report No. 2, U. S. Bureau Fish. (Washington 1940).
- ELLIS, M. M., and CHIPMAN, N. A., Unveröffentlichtes Manuskript (1935).
- EMMERT, C. F., Diss. Tübingen (1805).
- HELFER, H., Kl. Mitt. Ver. Wasser-, Boden- Lufthygiene 12, 32 (1936).
- HEUBEL, E., Arch. ges. Physiol. 9, 263 (1874).
- HÖBER, R., Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe (Leipzig 1926). – Physiological Chemistry of Cells and Tissues (Philadelphia 1945).
- KÖNIG, J., Die Verunreinigung der Gewässer (Berlin 1887).
- KRAUSS, O., Z. Fischerei 34, 787 (1936).
- LÉGER, J. L., Trav. du Lab. Piscicult. Univ. Grenoble (1911/12).
- MACHOTIN, A., Arbeiten hydrobiol. Station See Glubokoje 4, 78 (1925).
- MIESCHER, K., Helv. med. Acta 7, Suppl. Bd. VI (1940/41).
- NAUMANN, E., Verschiedene Arbeiten in Kungl. Fysiograf. Sällskapets Förhandlingar 3 (1933), 4 (1933), 4 (1934).
- NUNNELEY, T., Transact. Prov. Med. Surg. Ass. 15 (1847).
- OSTWALD, WO., Arch. Physiol. 120, 19 (1907).
- ROSENSTEIN, S., Arch. path. Anat. 56, 583 (1873).
- SHELFORD, V. E., Bull. Illinois State Lab. nat. Hist. 11, 381 (1917).
- SCHÄPERCLAUS, W., Fischkrankheiten (Braunschweig 1941).
- SOUTHGATE, B. A., PENTELow, F. T. K., and BASSINDALE, R., Biochem. J. 27, 983 (1933).
- STARKENSTEIN, ROST, POHL, Toxikologie (Berlin 1929).
- STEINMANN, P., Toxikologie der Fische, Handbuch der Binnenfischerei Mitteleuropas, VI (Stuttgart 1927). – Z. Hydrologie 4, 104 (1928).
- STEINMANN, P., und SURBECK, G., Eidg. Dep. Innern (1918). – Z. Hydrologie 1, 51, 2, 111 (1919). – Schweiz. Fischereiztg. 5, 123 (1922).
- TRENDELENBURG, B., Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. 1, S. 470, (Berlin 1923).
- WEIGELT, C., Arch. Hygiene 3, 39 (1885).
- WIEBE, A. H., Trans. Amer. Microsc. Soc. 50, 380 (1931).
- WUHRMANN, K., ZEHENDER, F., und WOKER, H., Vjschr. naturf. Ges. Zürich 92, 198 (1947).
- WUNDSCH, H. H., Die Reinhaltung unserer Fischgewässer, Handbuch der Binnenfischerei Mitteleuropas, VI (Stuttgart 1926). – Kl. Mitt. Ver. Wasser-, Boden- Lufthygiene 11, 113 (1935).
- ZEILE, K., Methoden der Fermentforschung, Bd. 3, S. 2505 (Leipzig 1941).