Beiträge zur Toxikologie der Fische

VIII.

Über die Giftwirkungen von Ammoniak- und Zyanidlösungen mit verschiedener Sauerstoff- spannung und Temperatur auf Fische

Von K. WUHRMANN und H. WOKER

(Mitteilung aus der Eidgenössischen Anstalt für Wasserversorgung, Abwasser-
reinigung und Gewässerschutz an der Eidgenössischen Technischen Hochschule,
Zürich)

Eingegangen am 26. Oktober 1953

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung	236
II. Methoden	236
1. Apparatives	236
2. Versuchsplanung	237
3. Adaptation der Fische an die Versuchsbedingungen	238
III. Einfluss von Sauerstoffdruck und Temperatur auf die Giftigkeit von Ammoniaklösungen	241
1. Einfluss der Sauerstoffspannung	241
2. Temperaturabhängigkeit der Ammoniakwirkung	243
IV. Einfluss von Temperatur und Sauerstoffspannung auf die Giftigkeit von Zyanidlösungen	248
1. Temperaturabhängigkeit der Blausäurewirkung	248
2. Der Einfluss der Sauerstoffspannung und der Wechselwirkung zwischen Sauerstoffspannung und Temperatur auf die Giftigkeit von Zyanid- lösungen	249
a) Anlage und Auswertung des $CN \times O \times T$ -Faktorenversuches	250
b) Hauptwirkungen der Faktoren	255
c) Wechselwirkungen zwischen den Faktoren	257
V. Zusammenfassung	259
Literaturverzeichnis	260

I. EINLEITUNG

Bei unseren früheren toxikologischen Experimenten¹⁾ sind wir stets von gleichbleibenden äusseren Versuchsbedingungen ausgegangen (Wassertemperatur von $15^{\circ} \pm 0,2^{\circ}$ und Sauerstoffsättigung). Jene Untersuchungen waren in erster Linie auf die Beschaffung von Material ausgerichtet, um zu präzisen Grundvorstellungen über das Wesen von Fischvergiftungen zu gelangen. An Hand der gewonnenen Resultate sollten nun aber die ökologischen Faktoren, die im freien Gewässer das Fischleben beherrschen, in ihrer Bedeutung bei Fischvergiftungen geprüft werden. Toxikologische Untersuchungen müssen mindestens den – in weitem Rahmen wechselnden – Temperatur- und Sauerstoffspannungen von Fischgewässern Rechnung tragen, wenn sie für die fischereiliche Praxis nutzbar sein sollen.

In der vorliegenden Arbeit geben wir zunächst die Einzelergebnisse von Versuchen wieder, in denen entweder der Einfluss der Temperatur oder der Sauerstoffspannung des Wassers für sich allein auf die Wirkung eines Fischgiftes geprüft wurde. Diese Methode der isolierten Betrachtung einer einzigen Variablen ist aber nicht befriedigend, denn in der Natur verändern sich zum Beispiel Sauerstoffspannung und Temperatur eines Gewässers sehr häufig simultan. Das Zusammenwirken von Temperatur- und Sauerstoffspannungs-Änderungen auf die Giftigkeit einer Substanz muss deshalb stets in Betracht gezogen werden. In Abschnitt III stellen wir einen sogenannten Faktorenversuch dar, der dieser Forderung Rechnung trägt.

Auszüge einzelner Ergebnisse der nachstehend geschilderten Experimente wurden bereits früher in Form zusammenfassender, graphischer Darstellungen veröffentlicht (WUHRMANN und WOKER, 1952, WUHRMANN, 1952), aber ohne Angabe der zugrunde liegenden Messungen. Wir werden gelegentlich auf diese Abbildungen hinweisen, ohne sie jedoch in dieser Arbeit zu wiederholen.

II. METHODEN

1. Apparatives

Im wesentlichen wurden die hier vorgelegten Experimente in gleicher Weise ausgeführt wie früher beschrieben (vgl. WUHRMANN und WOKER, 1948). Für die Versuche bei Temperaturen unter derjenigen des Leitungs-

¹⁾ Beiträge zur Toxikologie der Fische I–VII. 7. Mitteilung vgl. K. WUHRMANN, *Sur quelques principes de la toxicologie du poisson*, Bull. Centre Belge d'Etude et de Documentation des Eaux, N° 15, 1952/I.

wassers wurde das Wasserbad, in welches die Vergiftungsbehälter eingetaucht waren, mittels einer Kühlmaschine abgekühlt¹⁾). Die Temperaturregulierung der Versuchsbehälter erfolgte automatisch auf $\pm 0,2^\circ$ genau. Alle Experimente erfolgten in sogenannten Steilbrustflaschen, wobei pro Versuchsfisch 0,6–1 l Versuchslösung (jedoch mindestens 6 l) eingefüllt wurden. Dank ständiger analytischer Überwachung der Lösungen während der Experimente war ihre Zusammensetzung stets bekannt.

Die benötigten, in weitem Bereich wechselnden Sauerstoffspannungen des Versuchswassers wurden durch Einleitung von O_2 - N_2 -Gemischen in die Versuchsgefässe erzielt. Diese Gasmischungen lassen sich gemäss den Temperatur- und Löslichkeitsverhältnissen ihrer Komponenten für die gewünschten Versuchsbedingungen zum voraus genau berechnen. Die Gemische wurden uns dann nach unseren Angaben von einem Sauerstoffwerk hergestellt und in üblicher Weise in Druckflaschen geliefert. Da praktisch bei allen Experimenten kohlenstofffreie Gasmischungen ständig die Versuchsbehälter durchspülten, war die CO_2 -Spannung in den Versuchslösungen annähernd gleich Null. *Der ökologische Faktor CO_2 -Spannung ist somit bei allen vorliegenden Experimenten ausgeschaltet.*

2. Versuchsplanung

Die Untersuchung des Einflusses mehrerer ökologischer Faktoren auf die Wirkung verschiedener Konzentrationen eines Giftes oder der Vergleich des Verhaltens mehrerer Fischarten bei einer grösseren Zahl von Vergiftungsbedingungen führt zwangsläufig zu sehr zahlreichen Experimenten. Diese beanspruchen zur Ausführung einen beträchtlichen Zeitraum, so dass bei der Auswertung die Ergebnisse von Testen miteinander verglichen werden müssen, die im Abstand von Wochen oder sogar Monaten erfolgten. Nun haben wir früher (WUHRMANN und WOKER, 1950) auf die grossen Streuungen hingewiesen, mit denen bei Fischtesten gerechnet werden muss und die in individuellen Empfindlichkeitsunterschieden zwischen einzelnen Tieren begründet sind. HERBERT und MERKENS (1952) konnten ausserdem zeigen, dass bei mehrfacher Wiederholung desselben Versuches innerhalb eines längeren Zeitraumes auch beträchtliche Streuungen zwischen den Durchschnittsergebnissen der einzel-

¹⁾ Auf Veranlassung von Herrn Direktor TREIG wurde uns von der Firma Standardwerke AG., Birmensdorf, ein Kühlapparat für längere Zeit unentgeltlich überlassen. Wir möchten der Firma an dieser Stelle bestens für die Unterstützung unserer Arbeit danken.

nen Experimente auftreten, die nicht auf individuelle Verschiedenheiten der Fische zurückzuführen sind.

Um trotz dieser schwierigen Umstände grössere Reihen von untereinander vergleichbaren Versuchsergebnissen zu erhalten, wurden die folgenden, statistisch wichtigen Grundsätze nach bester Möglichkeit bei der Durchführung der Experimente befolgt:

- Die für eine bestimmte Fragestellung vorgesehenen Versuche wurden in *zufälliger* zeitlicher Reihenfolge ausgeführt. Diese Reihenfolge wurde mittels Los bestimmt. Sofern mehrere Experimente aus praktischen Gründen zu Untergruppen zusammengefasst werden mussten, erfolgte die zufällige Anordnung einerseits für die Gruppenreihenfolge und andererseits für die Experimente innerhalb einer Gruppe (vgl. zum Beispiel Abschnitt IV, Zyanidfaktorenversuch; hier mussten Versuchsgruppen für die einzelnen Temperaturen gebildet werden).

- Sämtliche für eine Versuchsreihe benötigten Fische wurden aus demselben grossen Vorrat entnommen, der seinerseits eine einheitliche Population darstellte. Die im Vorrat gehaltenen Versuchstiere unterlagen einem geregelten Futterregime. Die Fütterung erfolgte 3mal pro Woche mit einem Gemisch von Leber, Muskelfleisch, Feinsand, «Vitola»-Fischfutter und Lebertran.

- Sämtliche Manipulationen bei der Versuchsdurchführung wurden in gleichbleibender Weise vorgenommen und alle äusseren Versuchsbedingungen, soweit sie nicht Versuchsvariable darstellten, möglichst konstant gehalten.

Trotz dieser sorgfältigen experimentellen Vorbereitung musste immer wieder beobachtet werden, dass grosse und unerklärliche Abweichungen zwischen Versuchen auftraten, so dass die Ergebnisse nur auf Grund einer eingehenden *Streuungsanalyse* beurteilt werden dürfen. Soweit notwendig, sind die Streuungserlegungen bei den nachfolgenden Resultattabellen angefügt.

3. Adaptation der Fische an die Versuchsbedingungen

Die Versuchsfische wurden bei der Temperatur des Leitungswassers gehältert (je nach Jahreszeit zwischen 10 und maximal 15° C). Temperaturversuche bedingten deshalb ein Umsetzen der Tiere von einer mittleren Temperatur zu den höheren oder niedrigeren Temperaturen der Versuchslösungen. Es ist seit langem bekannt, dass rasche Temperaturwechsel bei

poikilothermen Tieren momentane Stoffwechselstörungen zur Folge haben, die sich bei Fischen unter anderem in einer höheren Empfindlichkeit gegenüber Giften äussert (SUMNER und WELLS, 1935; SUMNER und DOUDOROFF, 1938). Die gleiche Erscheinung wurde von BEHRE (1918) auch bei *Planaria dorotocephala* beobachtet. HERBERT und MERKENS (1952)

Abb. 1. Einfluss der Temperaturadaptation auf die Vergiftungsgeschwindigkeit von Elritzen in einer Na-Zyanidlösung mit $0,5 \text{ mg CN}^-/\text{l}$ bei verschiedenen Temperaturen. Jeder Punkt entspricht dem Mittelwert der Manifestationszeiten von 10 Fischen, die Variationsbreite in jedem Versuch ist durch senkrechte Striche angegeben. Ordinate: Manifestationszeit in Minuten. Abszisse: Versuchstemperatur, °C. — Fische ohne Temperaturanpassung direkt aus dem Hälterbecken in die Giftlösungen versetzt. - - - Fische vor dem Versuch während 24 Stunden in reinem Wasser an die Vergiftungstemperatur angepasst.

bestätigten, dass unmittelbar nach einem Temperaturwechsel Regenbogenforellen auf Zyanide empfindlicher reagieren, als wenn die Tiere vorerst an die Vergiftungstemperatur angewöhnt werden.

In Abbildung 1 geben wir Ergebnisse eigener Versuche an Elritzen bekannt. Die bei $11-12^\circ \text{C}$ gehälterten Fische wurden in Zyanidlösungen gleicher Konzentration, aber verschiedener Temperatur umgesetzt, wobei das Umsetzen einerseits direkt aus dem Hälterbecken und andererseits unter 24stündiger Zwischenschaltung eines Temperierbeckens (gleiche Tempe-

ratur wie die Giftlösungen) erfolgte. Unser Beispiel zeigt, dass insbesondere das Versetzen der Fische zu tieferer als der gewohnten Temperatur eine starke Erhöhung der Empfindlichkeit gegenüber Zyaniden zur Folge hatte. Hingegen brachte der Wechsel zu höheren Temperaturen keine gesicherten Unterschiede in den Manifestationszeiten adaptierter und nichtadaptierter Fische hervor.

Temperaturadaptationen sind auf experimentellem Wege bei Fischen innerhalb recht grosser Temperaturspannen erzielt worden (LOEB und WASTENEYS, 1912, konnten *Fundulus* bis an 39° C angewöhnen!). Auch in der Natur sind Adaptationsbereiche ähnlicher Grösse aufzufinden (SUMNER und LANHAM, 1942). Der Mechanismus dieser Temperaturangewöhnungen ist noch ganz unklar, kann aber auf Grund der Beobachtungen zahlreicher Autoren mindestens teilweise auf Regulationen des Respirationsstoffwechsels zurückgeführt werden. Stark vereinfachend scheint es sich um folgendes zu handeln:

LINDROTH (1940, 1942) konnte zeigen, dass dem steigenden Sauerstoffverbrauch der Fische bei steigender Temperatur eine Erhöhung des kritischen Sauerstoffdruckes parallel geht. Der Leistung der Sauerstoffaufnahme- und Transportmechanismen kann also mit steigender Temperatur dem zunehmenden Sauerstoffbedarf der Gewebe nicht folgen, wenn nicht gleichzeitig eine Erhöhung des Sauerstoffdruckes im Wasser eintritt. Man muss ferner annehmen, dass die Anpassung der Sauerstofftransportkapazität des Fischblutes an veränderte Temperaturbedingungen relativ langsam erfolgt, während der Sauerstoffverbrauch sich nach einer Temperaturänderung sofort gemäss den veränderten Reaktionsgeschwindigkeiten der oxydativen Stoffwechselprozesse neu einstellt (SUMNER und LANHAM, 1942; BEHRE, 1918). Rasche Temperatursteigerungen müssen deshalb bei Fischen eine Gleichgewichtsstörung der Sauerstoffversorgung mit sich bringen, die unter Umständen zum Ersticken der Tiere führen kann (LOEB und WASTENEYS, 1912; SUMNER und LANHAM, 1942, und andere). Das plötzliche Umsetzen von Fischen in kaltes Wasser verursacht zunächst eine Verminderung des Sauerstoffverbrauchs. Gleichzeitig nimmt aber offenbar auch die Leistung der Versorgungsmechanismen so stark ab, dass ebenfalls Sauerstoffdefizite entstehen, die erst im Laufe einer längeren Anpassungsperiode überwunden werden (BEHRE, 1918). Dies erklärt die relativ grössere Giftigkeit von Zyaniden bei tiefer Temperatur für Fische, deren Atmungsstoffwechsel noch nicht an diese Bedingungen angepasst ist (Abb. 1).

Die vorstehende Diskussion zeigt mit aller Deutlichkeit, dass der Tem-

peraturadaptation der Versuchsfische bei toxikologischen Arbeiten grösste Bedeutung zukommt, und zwar vor allem bei Fischgiften, die mittelbar oder unmittelbar den Respirationsstoffwechsel beeinflussen. Ferner ergibt sich die zwingende Schlussfolgerung, dass eine physiologische Interpretation der Resultate von Vergiftungsversuchen nur möglich ist, wenn unter anderem der Atmungsstoffwechsel der untersuchten Fischarten genau bekannt ist. Leider sind auf diesem Gebiete noch grosse Lücken vorhanden, die das Verständnis bisheriger toxikologischer Experimente erheblich erschweren.

III. EINFLUSS VON SAUERSTOFFDRUCK UND TEMPERATUR AUF DIE GIFTIGKEIT VON AMMONIAK

Die beiden ökologischen Faktoren: Wassertemperatur und Sauerstoffdruck, wurden noch nach konventionellem Schema geprüft, indem der Einfluss jedes der beiden Faktoren auf die NH_3 -Wirkung nur für sich allein, unter Konstanthaltung des anderen, variiert wurde. Die *Wechselwirkung* zwischen Temperatur und Sauerstoffspannung konnte deshalb nicht erfasst werden.

1. Einfluss der Sauerstoffspannung

Die in Tabelle 1 zusammengestellten Versuchsergebnisse wurden bei $15^\circ \pm 0,2^\circ \text{C}$ gewonnen. Die Reaktion der Fische war bei allen Sauerstoffspannungen die bei Ammoniakvergiftungen typische: scheinbar lange Eintrittszeit und plötzliches Auftreten des sogenannten «Ammoniakkampfes». Im Vergleich mit den später zu schildernden Blausäureversuchen fällt die rasche Zunahme der Giftigkeit von NH_3 bei Sauerstoffspannungen unter rund 100 mm Hg auf. Diese Feststellung ist überraschend, da auf Grund der bisher bekannten Mechanismen der Ammoniakvergiftung keine unmittelbare Korrelation mit dem Atmungsstoffwechsel zu bestehen schien. Je niedriger die NH_3 -Konzentration gewählt wird oder, mit andern Worten, je länger die NH_3 -Einwirkung bis zur manifesten Vergiftung dauert, um so grösser fällt der Einfluss des O-Druckes aus. Da nach bisherigen, unveröffentlichten Befunden der kritische Sauerstoffdruck für Elritzen bei 15°C bei rund 25 mm Hg liegt, äussert sich der Einfluss der Sauerstoffspannung auf die Giftigkeit von Ammoniak derart, wie wenn durch NH_3 der kritische O-Druck für die Fische nach höheren Werten verschoben würde.

Tabelle 1

Giftwirkung von Ammoniak auf adulte Elritzen bei verschiedenen Sauerstoffdrucken im Wasser bei 15,0° C

(10 Fische pro Versuch)

O ₂ -Druck ~ 220 mm Hg					O ₂ -Druck ~ 144 mm Hg					O ₂ -Druck ~ 51 mm Hg					O ₂ -Druck ~ 26 mm Hg					O ₂ -Druck ~ 19 mm Hg				
pH	NH ₃ mg/l	$\delta p O$ mm Hg	$\bar{t}_M$ min	$s^{1)}$ $\pm$ min	pH	NH ₃ mg/l	$\delta p O$ mm Hg	t_M min	s $\pm$ min	pH	NH ₃ mg/l	$\delta p O$ mm Hg	$\bar{t}_M$ min	s $\pm$ min	pH	NH ₃ mg/l	$\delta p O$ mm Hg	$\bar{t}_M$ min	s $\pm$ min	pH	NH ₃ mg/l	$\delta p O$ mm Hg	$\bar{t}_M$ min	s $\pm$ min
8,0	2,04	220	234	78,1	8,0	0,91	142	—	—	8,0	0	54,5	∞	—	8,0	0	30,2	∞	—	8,0	0	19,5	∞	—
8,0	4,05	294	69	22,8	8,0	1,85	148	208,6	68	8,0	0,50	53,5	∞ ²⁾		8,0	0,18	29,6	∞ ³⁾		8,0	0,85	19,4	20,3	6,8
8,0	21,2	226	14,3	2	8,0	2,77	153	103,7	48,3	8,0	0,95	52,0	244	120	8,0	0,25	29,7	319	103	8,0	1,92	19,2	9,1	2,08
8,0	42,6	695	6	0,81	8,0	8,82	133	24,0	4,8	8,0	1,38	50,0	85,5	42,5	8,0	0,46	19,7	85,8	50,3	8,0	43,1	13,4	2,1	0,3
					8,0	17,77	147	16,3	2,8	8,0	2,80	49,5	33,0	7,9	8,0	0,81	24,9	38,9	14,2					
					8,0	39,1	141	8,1	2,4	8,0	4,52	51,5	19,2	4,61	8,0	0,81	22,0	35,9	16					
					8,0	58,2	144	6,3	1,1	8,0	9,0	54,5	15,2	5,2	8,0	1,85	26,6	14,0	3,3					
					8,0	68,2	141	6,8	0,5	8,0	22,85	49,5	7,2	1,76	8,0	9,61	26,9	5,5	0,4					
					9,0	94,2	146	3,0	0,5	8,0	53,5	53,4	3,9	0,7	8,0	27,5	27,5	3,3	0,3					
					9,0	190,0	146	1,4	0,7	8,0	65,0	44,3	4,9	1	8,0	48,6	26,0	2,4	0,5					
										9,0	87,4	52,6	2,0	0,5	9,0	77,2	17,8	1,4	0,4					
										9,0	200,0	57,4	1,0	0,4										

¹⁾ Standardabweichung.
²⁾ 2 Stück nach 273 bzw. 512 min, Rest ∞ .
³⁾ 6 Stück zwischen 215 und 441 min, Rest ∞ .

Wir haben bereits früher darauf hingewiesen (WUHRMANN und WOKER, 1948), dass bei langer NH_3 -Einwirkung im Fischblut eine zunehmende Hämolyse beobachtet werden kann. Dies ist aber gleichbedeutend mit einer abnehmenden Transportkapazität des Blutes für Sauerstoff, die ihrerseits eine entsprechende Erhöhung des kritischen Sauerstoffdruckes zur Folge haben muss. Diese Überlegung würde also eine befriedigende Erklärung für die experimentellen Beobachtungen bieten. Es muss aber weiteren Untersuchungen – speziell über die Hämolyse bei NH_3 -Vergiftungen – vorbehalten bleiben, genauere Unterlagen für die vorstehende Hypothese beizubringen.

Das vorliegende Ergebnis scheint uns im Hinblick auf praktische Fragen bedeutungsvoll zu sein. In Anbetracht des ziemlich hohen Pufferungsvermögens der meisten Oberflächenwässer treten ja im allgemeinen nur geringe Ammoniakkonzentrationen in Flüssen auf, selbst wenn sie mit ziemlich konzentrierten Ammoniaklösungen verunreinigt werden (vgl. WUHRMANN, ZEHENDER und WOKER, 1947). Dass trotzdem Ammoniakvergiftungen relativ häufig auftreten, hat offenbar seinen Grund in der beobachteten, überaus starken Verkürzung der Vergiftungszeit bei mittleren und niedrigen Sauerstoffspannungen. Obschon noch keine Versuche mit anderen Fischen vorliegen, kann nach den bisherigen Ergebnissen vermutet werden, dass die Giftigkeit von Ammoniak bei reduzierten Sauerstoffspannungen für die einzelnen Fischarten wahrscheinlich um so grösser sein wird, je höher ihr kritischer Sauerstoffdruck liegt.

2. Temperaturabhängigkeit der Ammoniakwirkung

Bei unserer früheren Untersuchung an Alet (WOKER, 1949) stellten wir im Bereich zwischen 10 und 25° C nur einen sehr geringen Temperaturkoeffizienten der Giftigkeit von NH_3 fest. Eine schwache Zunahme der Manifestationszeiten war bei den niedersten geprüften Temperaturen immerhin zu beobachten. Seit dieser Arbeit scheint die damals angeschnittene Frage nirgends aufgegriffen worden zu sein, so dass es uns notwendig erschien, ergänzende Untersuchungen besonders im niedrigen Temperaturbereich vorzunehmen. Als Versuchsfische wurden Elritzen gewählt. Die Sauerstoffspannung der Versuchslösungen wurde bei allen Temperaturen weit über dem Bedarfsdruck gehalten, wobei allerdings wegen der damals noch verwendeten einfachen Dosierungsmethode bei einzelnen Experimenten zum Teil hohe Sauerstoffübersättigungen eintraten. Das Ergebnis wird

jedoch nicht beeinträchtigt, da wir im vorigen Abschnitt zeigen konnten, dass die NH_3 -Wirkung von Sauerstoffdrucken über rund 90 mm Hg nicht mehr beeinflusst wird.

Unsere Versuche erfolgten bei pH 8,0. Trotz dem hohen pH-Wert ergaben sich auf Grund des ziemlich grossen Temperaturkoeffizienten der Dissoziationskonstante von Ammonium bei niederen Temperaturen bereits relativ konzentrierte Salzlösungen. In Tabelle 2 haben wir die benötigten Ammoniummengen zusammengestellt, um zum Beispiel bei pH 8 bei verschiedenen Temperaturen bestimmte Ammoniakkonzentrationen zu erhalten. Die zugrunde liegenden Dissoziationskonstanten sind nach der Formel von EVERETT und WYNNE-JONES (1938) berechnet.

Tabelle 2

Auswirkungen der Temperaturabhängigkeit der $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Dissoziation auf die benötigte Gesamtkonzentration des $[\text{NH}_4]$ in den Versuchslösungen

Temperatur °C	pH	% NH_3 des Gesamt- [NH_4]	Benötigte $(\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+)$ -Konzentration in mg [NH_4]/l für		
			1,5 mg NH_3 /l	5 mg NH_3 /l	50 mg NH_3 /l
2	8,0	1,04	152,8	509,9	5099
7	8,0	1,57	100,7	336,8	3368
12	8,0	2,29	69,0	230,9	2309
17	8,0	3,28	48,3	161,3	1613
22	8,0	4,68	33,8	113,2	1132
27	8,0	6,46	24,5	82,2	822

Tabelle 3

Temperaturabhängigkeit der Ammoniakwirkung auf Elritzen bei Sauerstoffspannungen über dem Bedarfsdruck. Mittelwerte von Versuchen mit je 10 adulten Tieren

Temperatur °C ($\pm 0,2^\circ$)	$\delta p\text{O}$ mm Hg	pH	NH_3 mg/l	$\bar{t}_M$ min	$\delta p\text{O}$ mg Hg	pH	NH_3 mg/l	$\bar{t}_M$ min	$\delta p\text{O}$ mm Hg	pH	NH_3 mg/l	$\bar{t}_M$ min
2	146	8,0	1,41	152,2	112	8,0	4,78	62,8	112	8,5	59,9	14
7	144	8,0	1,48	127,7	139	8,0	5,46	45,9	147	8,0	47,7	12,5
12	137	8,0	1,46	83,2	147	8,0	5,18	41,4	139	8,0	45,71	10,3
17	135	8,0	1,50	55,1	141	8,0	4,92	23,9	140	8,0	47,32	4,9
22	139	8,0	1,40	36,2	142	8,0	5,07	10,0	148	8,0	51,4	2,1
27	122	8,0	1,64	17,8	229	8,0	5,18	5,7	385	8,0	43,88	1,2
Gruppen- mittel:	137	8,0	1,48		151	8,0	5,09		178	8,0	49,32	

Tabelle 4

Statistische Auswertung des Ammoniak-Temperatur-Versuches (vgl. Tabelle 3)

a) Summen der mit 100 vervielfachten Logarithmen der Einzelwerte des Ammoniak-Temperatur-Versuches

NH ₃ -Konzentrationsstufen	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	Summen
C ₁ 1,48 mg/l	216	208	191	170	150	124	1059
C ₂ 5,09 mg/l	178	165	161	137	100	74	815
C ₃ 49,32 mg/l	114	108	101	68	32	6	429
Summen	508	481	453	375	282	204	2303

b) Streuungszерlegung

Streuung	FG	SQ	DQ
Zwischen Konzentrationen C	2	33635	16817
Zwischen Temperaturen T ..	5	24143	4828
Wechselwirkung C × T (= Rest)	10	363	36 = s ²
Insgesamt	17	58141	—

c) Kleinster signifikanter Unterschied zwischen Einzelsummen in Tabelle 4a für P = 0,05 und P = 0,01:

$$\begin{aligned}
 s^2 &= 36, \quad s = 6 \text{ mit } 10 \text{ FG,} \\
 t_{0,05} &= 2,23, \quad t_{0,01} = 3,17, \\
 \Delta S &= t s \sqrt{2N} \quad (N = 1), \\
 \Delta S_{0,05} &= 2,23 \cdot 6 \cdot \sqrt{2} = 18,9, \\
 \Delta S_{0,01} &= 3,17 \cdot 6 \cdot \sqrt{2} = 26,9.
 \end{aligned}$$

Die in Tabelle 3 (statistische Auswertung in Tabelle 4a-c) aufgeführten Ergebnisse haben wir in Abbildung 2 den früheren Beobachtungen an *Alet* gegenübergestellt. Diese Darstellung zeigt den grundsätzlichen Unterschied im Verhalten der beiden Fischarten. Wir berücksichtigen dabei nur den Temperaturbereich oberhalb 10–12° C, in welchem bei *Elritzen* die Logarithmen der Manifestationszeiten proportional mit steigen der Temperatur abnehmen. Dieser Temperaturgang ergibt bei *Elritzen* in den drei untersuchten NH₃-Konzentrationen relativ hohe Q₁₀-Werte zwischen 3,1 und 3,4. Bei *Alet* fanden wir bei drei NH₃-Konzentrationen ein

Q_{10} von nur rund 1. Eine Deutung dieses grossen Unterschiedes zwischen den beiden Fischarten ist unseres Erachtens erst möglich, wenn die zur Blutuntersuchung bei Fischen benötigten Mikromethoden so weit entwickelt sind, dass Messungen von Sauerstoffaufnahme und Hämolyse

Abb. 2. Temperaturabhängigkeit der Manifestationszeiten von Elritzen (*Phoxinus*) und Alet (*Squalius*) bei der Vergiftung mit Ammoniak verschiedener Konzentrationen. Ordinate: mittlere Manifestationszeit von 10 Fischen, Minuten; Abszisse: Temperatur, °C.

quantitativ an kleinsten Blutproben möglich werden, und der Respirationsstoffwechsel der beiden Arten hinreichend bekannt ist. Ferner sollten analoge Temperatur-NH₃-Vergiftungsreihen an anderen, bezüglich Sauerstoffbedarf stark voneinander abweichenden Fischarten ebenfalls noch durchgeführt werden.

Wir möchten nun noch auf die bei den Elritzenversuchen beobachteten Abweichungen von der linearen Temperatur-log t_M -Funktion bei

Temperaturen unter 12° C hinweisen (vgl. Tabelle 3). Die Vermutung lag nahe, dass die bei niederen Temperaturen notwendigen hohen Ammonsalzkonzentrationen für die scheinbar höhere Giftigkeit von NH_3 verantwortlich sind. Es wurden dementsprechend bei den Temperaturen von 2–12° C Experimente bei pH 6,5 angesetzt. Bei diesem pH ist gemäss der Formel von EVERETT und WYNNE-JONES in einer Ammonsalzlösung kein NH_3 vorhanden. Wie die Ergebnisse in Tabelle 5 zeigen, erliegen die El-

Tabelle 5

Manifestationszeiten (Mittelwerte von 10 Elritzen) in Ammonsulfatlösungen bei pH 6,5

Temperatur ° C	NH_4^+ mg/l	NH_3 mg/l	Manifestationszeit $\bar{t}_M$ Minuten
2	152	0	8 Stück zwischen 210 und 1440 min
	510	0	2 Stück nicht manifest nach 24 h
	5100	0	205 49
7	101	0	5 Stück zwischen 765 und 1440 min
	336	0	5 Stück nicht manifest nach 24 h
	3360	0	399 80
12	69	0	∞
	231	0	450
	2310	0	92

Die angegebenen NH_4^+ -Konzentrationen würden bei den betreffenden Temperaturen und bei pH 8,0 Konzentrationen von 1,5 bzw. 5 bzw. 50 mg NH_3 /l in den verwendeten Salzlösungen ergeben (vgl. Tabelle 2).

ritzen aber dennoch einer Vergiftung, wenn auch die Manifestationszeiten über denjenigen NH_3 -haltiger Lösungen liegen. Man findet somit, dass bei sehr hohen Konzentrationen von Ammoniumsalzen genügende Mengen von NH_4 -Ionen in die Fische hinein permeieren können, um Vergiftungserscheinungen zu erzeugen. Damit ist ein klarer Beweis dafür erbracht, dass die starke pH-Abhängigkeit der Giftigkeit von Ammoniumsalzen ausschliesslich in der grossen Differenz der Permeabilität von NH_4^+ und NH_3 zu suchen ist. Die Depression der Temperatur- t_M -Funktion bei niederen Temperaturen ist somit auf die zusätzliche Aufnahme von NH_4 -Ionen zurückzuführen.

Betrachtet man die vorliegenden Ergebnisse vom praktischen Gesichtspunkte aus, so wird man feststellen, dass bei Temperaturen unter 10–12° C in O-gesättigtem Wasser mit pH-Werten unter 8–8,5 Ammoniakvergiftungen sehr unwahrscheinlich werden, denn die notwendigen hohen

Ammoniumkonzentrationen sind sogar in extrem verunreinigten Gewässern noch nie nachgewiesen worden. Vergiftungsfälle bei den vorgenannten ökologischen Bedingungen sind nur denkbar, wenn hochkonzentrierte Ammonium- oder gar Ammoniaklösungen in die Gewässer gelangen.

IV. EINFLUSS VON TEMPERATUR UND SAUERSTOFF- SPANNUNG AUF DIE GIFTIGKEIT VON ZYANIDEN

Blausäure gehört zu den am häufigsten untersuchten Fischgiften (vgl. Literaturzusammenstellung bei DOUDOROFF und KATZ, 1953).

Der allgemeine Verlauf der Konzentrationswirkungskurve wurde in früheren Arbeiten eingehend geprüft, wobei für verschiedenste Fischarten das gleiche Ergebnis gefunden wurde (WUHRMANN und WOKER, 1948; WUHRMANN, 1952). HERBERT und MERKENS (1952) konnten unsere Beobachtungen bestätigen, wenn sie auch in der mathematischen Formulierung der Konzentrationswirkungskurven etwas andere Wege gingen. Erstaunlicherweise liegen aber auch bei diesem wichtigen Fischgifte fast keine Untersuchungen über den Einfluss ökologischer Faktoren auf die Giftwirkung vor, obschon sie für die fischtoxikologische Praxis dringend erwünscht wären.

1. Temperaturabhängigkeit der Blausäurewirkung

Eine Abhängigkeit der Blausäuregiftigkeit von der Temperatur wurde an Hand vorläufiger Ergebnisse von SOUTHGATE (1952) mitgeteilt. Die von uns in einigen Diagrammen veröffentlichten Beobachtungen (WUHRMANN, 1952) über die Temperaturbeziehung bei der Vergiftung verschiedener Fischarten möchten wir nun nachfolgend an Hand des Zahlenmaterials und neuerer Versuchsergebnisse etwas eingehender darstellen.

Zunächst untersuchten wir lediglich den Temperatureinfluss auf die Manifestationszeiten einiger Fischarten bei *Sauerstoffspannungen über dem Bedarfsdruck* und einer Zyanidkonzentration von rund 0,5 mg CN⁻/l¹⁾ (Tabelle 6). Mit den damals zur Verfügung stehenden Mitteln war allerdings die Einhaltung bestimmter Sauerstoffspannungen noch so schwierig, dass grosse Streuungen dieses Parameters in Kauf genommen werden mussten.

¹⁾ In den nachfolgenden Tabellen wird der Kürze halber die Zyanidkonzentration immer als mg CN⁻/l angegeben, obschon in den Lösungen entsprechend dem herrschenden pH auch undissoziierte Blausäuremolekeln anwesend sind. Die Giftwirkung ist als Summe der Wirkung von HCN und CN⁻ zu verstehen.

Tabelle 6

Temperatureinfluss auf die Giftigkeit von CN⁻ auf Schleien, Elritzen und Bachforellenjährlinge bei Sauerstoffspannungen über dem Bedarfsdruck

Schleie, <i>Tinca vulgaris</i>					Elritze, <i>Phoxinus laevis</i>					Bachforellen, <i>Trutta fario</i>				
<i>t</i> °C	CN ⁻ mg/l	δpO mg Hg	<i>t</i> _M min	<i>s</i> ± min	<i>t</i> °C	CN ⁻ mg/l	δpO mg Hg	<i>t</i> _M min	<i>s</i> ± min	<i>t</i> °C	CN ⁻ mg/l	δpO mg Hg	<i>t</i> _M min	<i>s</i> ± min
1,8	0,53	140,0	354	32,6	1,2	0,55	107	72	26,8	1,2	0,57	104	12	3,2
6,0	0,46	125	257	18,7	6,0	0,66	146	51	6,2	6,0	0,62	129	7,3	2,6
10,2	0,46	144	177	38,9	10,0	0,55	138	36	6,0	11,0	0,53	125	5,0	1,1
15,7	0,55	204	109	8,5	15,0	0,50	220	27	4,9	15,8	0,56	158	4,4	1,6
20,3	0,47	236	58	17,1	19,6	0,53	175	12	2	21,2	0,50	146	3	1,1
24,6	0,50	153	86	18,0	25,4	0,62	194	6	1,4	25,4	0,65	197	1,7	1,0
Zahl der Versuchstiere pro Versuch: 10					10					10				
Mittleres Gewicht: .. 6,5 g					1,6 g					5,1 g				
Alter: ~ 1					adult					~ 1				

Wie bei den NH₃-Temperaturversuchen findet man nach Logarithmieren der Manifestationszeiten in Tabelle 6, dass unter Berücksichtigung aller Streuungen ein *linearer Abfall dieser Logarithmen mit zunehmender Temperatur vorhanden ist*. Der Temperaturkoeffizient der Giftigkeitszunahme von Blausäure ist für die drei untersuchten Fischarten sehr ähnlich, nämlich:

Tinca

$Q_{10} = 2,2$

Trutta

$Q_{10} = 1,9$

Phoxinus

$Q_{10} = 2,6$

} zwischen 1° und 25° C bei 0,5 mg CN⁻/l
und O-Gehalten über dem Bedarfsdruck

Diese Temperaturkoeffizienten sind nur für die untersuchten CN⁻-Konzentrationen gültig, da eine *Wechselbeziehung* zwischen Temperaturwirkung und Giftkonzentration in Zyanidlösungen besteht, wie wir später zeigen werden.

2. Der Einfluss der Sauerstoffspannung und der Wechselwirkung zwischen Sauerstoffspannung und Temperatur auf die Giftigkeit von Zyanidlösungen

Die Empfindlichkeit der Fische gegenüber Blausäure wird von der Sauerstoffspannung des Wassers sehr stark beeinflusst, wie dies bereits SOUTHGATE, PENTLOW und BASSINDALE (1935) und SOUTHGATE (1952) zeigen konnten. Auszüge aus unseren eigenen Untersuchungen über diese

Frage (WUHRMANN, 1952) bestätigten diese älteren Beobachtungen. Da ERICHSEN JONES (1947) nachwies, dass unter Blausäurewirkung der Sauerstoffverbrauch von Fischen in Abhängigkeit von der Giftkonzentration mehr oder weniger stark abnimmt und anderseits der Sauerstoffbedarf von Fischen unter anderem eine Funktion der Temperatur ist (LINDROTH, 1940; SUMNER und LANHAM, 1942), musste mit einer *kombinierten* Beeinflussung der Vergiftungsgeschwindigkeit von seiten dieser beiden Faktoren gerechnet werden.

a) *Anlage und Auswertung des CN $\times$ O $\times$ T-Faktorenversuches*

Würde man den Einfluss der drei Faktoren Zyanidkonzentration, Temperatur und Sauerstoffspannung auf die Vergiftungszeit in konventioneller Weise untersuchen, indem man eine Variable nach der andern unter Konstanthaltung der übrigen abwandelte, so müssten unter Berücksichtigung der notwendigen Wiederholungen ausserordentlich grosse Versuchsreihen durchgearbeitet werden. Diese Versuchsanordnung ergäbe zudem keine Aussagen über die gesuchten *Wechselbeziehungen* zwischen den einzelnen Faktoren. Wir haben deshalb zum Mittel des sogenannten *Faktorenversuches* gegriffen¹⁾. Das Wesen dieser Versuchsanordnung liegt darin, dass für sämtliche Kombinationen der zu prüfenden Faktoren nur je ein Experiment ausgeführt wird. Der Einfluss der einzelnen Faktoren kann dann mit Masszahlen gemessen werden, die Mittelwerte aus soviel Experimenten sind, wie Kombinationen mit den einzelnen Stufen des betreffenden Faktors ausgeführt wurden. Der Faktorenversuch erfüllt somit die grundlegende Forderung nach der *Wiederholung* von Experimenten. Im vorliegenden Falle wurden folgende Stufen der drei zu prüfenden Variablen vorgesehen:

<i>Zyanidkonzentration :</i>	<i>Sauerstoffgehalt :</i>	<i>Temperatur :</i>
C ₁ 0,16 mg CN ⁻ /l	O ₁ 1,5 mg O/l	T ₁ 5 ° C
C ₂ 0,8 mg CN ⁻ /l	O ₂ 3 mg O/l	T ₂ 15 ° C
C ₃ 4 mg CN ⁻ /l	O ₃ 9 mg O/l	T ₃ 25 ° C
C ₄ 20 mg CN ⁻ /l		
C ₅ 100 mg CN ⁻ /l		

Es ergibt sich daraus ein Faktorenversuch mit $5 \times 3 \times 3 = 45$ Experimenten. Technische Gründe verlangten die Zusammenfassung aller Versuche der gleichen Temperaturstufe in Gruppen. Für die Ausführung

¹⁾ Herrn Prof. Dr. A. LINDER möchten wir für die Beratung bei der Planung und statistischen Auswertung dieses Versuches bestens danken (vgl. auch LINDER, 1953).

wurde die Reihenfolge der Temperaturblöcke durch das Los bestimmt. Auch innerhalb der Temperaturblöcke wurden die Experimente in zufälliger Reihenfolge vorgenommen. Damit liessen sich systematische

Abb. 3. Räumliche Darstellung der Ergebnisse des Blausäure-Temperatur-Sauerstoff-Faktorenversuchs (Tabelle 7). Ordinate: mittlere Manifestationszeiten von 10 Elritzen. Abszissen: Zyanidkonzentration in mg CN^-/l und Sauerstoffkonzentration in mg O/l . Parameter: Temperatur $^{\circ}\text{C}$. Die Ergebnisse der Ergänzungsversuche (Tabelle 9) sind im Interesse der Übersichtlichkeit nicht eingetragen.

Fehler aus dem Experiment eliminieren, die in Anbetracht der langen Versuchsperiode (mehrere Monate) unvermeidlich gewesen wären.

Die Versuchsergebnisse sowie die effektiven Werte der Faktorstufen in den einzelnen Experimenten sind in Tabelle 7 zusammengefasst. Eine bildliche Darstellung der Resultate (Abb. 3) vermittelt die Zusammenhänge noch übersichtlicher. Die Zusammenstellung zeigt, dass die Faktorstufen befriedigend genau eingehalten werden konnten. Wir setzten deshalb die gefundenen Manifestationszeiten (Mittelwerte $\bar{t}_M$ der Manifestationszeiten von je 10 Fischen) mit den *Mittelwerten* der Stufen der

Tabelle 7

Mittelwerte der CN^- - und O-Konzentration sowie der Manifestationszeiten bei den Temperaturblöcken des CN-Faktorenversuches
(10 adulte *Pboxinus laevis* pro Experiment)

Temp. °C	CN ⁻ mg/l	O mg/l	$\bar{t}_M$ min	CN ⁻ mg/l	O mg/l	$\bar{t}_M$ min	CN ⁻ mg/l	O mg/l	$\bar{t}_M$ min	CN ⁻ mg/l	O mg/l	$\bar{t}_M$ min	CN ⁻ mg/l	O mg/l	$\bar{t}_M$ min	Gruppenmittel der Sauerstoff- werte	
																O mg/l	δp O mm Hg
5 ± 0,2	0,16	1,5	105,5	0,86	1,5	31,6	4,2	1,7	20,9	19,3	1,4	20,4	101,0	1,6	9,4	1,5	19
	0,21	2,8	290,5	0,9	3,0	43,0	4,5	2,4	24,5	31,3	4,6	23,6	101,0	3,7	10,5	3,3	41
	0,20	7,7	608	0,79	12,0	50,6	4,3	11,4	30,9	21,4	11,9	18,9	85,0	11,8	9,9	10,9	135
15 ± 0,2	0,2	1,1	17,6	0,81	1,4	11,8	3,9	1,3	7,5	20,6	1,4	8,0	87,7	1,4	4,2	1,3	20
	0,18	3,2	40,6	0,94	3,5	13,1	3,9	4,2	10,2	19,05	4,4	8,3	84,0	3,9	5,6	3,8	59
	0,15	9,4	121,5	0,84	9,4	14,9	3,63	9,9	6,8	18,7	9,4	7,5	109	9,8	5,4	9,6	149
25 ± 0,2	0,15	1,35	6,4	0,95	1,3	4,4	5,6	1,16	3,4	21,5	1,4	3,4	98,0	1,5	2,3	1,3	24
	0,16	3,9	20,5	0,93	3,6	3,7	4,38	3,6	3,4	20,1	3,7	3,5	96,7	3,6	3,0	3,7	69
	0,17	9,1	27,5	1,03	8,4	8,7	4,35	8,6	4,2	21,3	8,9	3,4	101,5	8,8	3,4	8,8	165
Grup- pen- mittel der CN- Kon- zen- tration mg/l	0,16			0,9			4,69			20,36			95,9				

Tabelle 8a

Mit 10 vervielfachte Summen der Logarithmen der Manifestationszeiten in den Einzelversuchen von Tabelle 7

		C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	Summe
T ₁	O ₁	201	150	131	130	97	709
	O ₂	246	164	138	136	102	786
	O ₃	271	170	149	127	99	816
		718	484	418	393	298	2311
T ₂	O ₁	124	104	86	89	60	463
	O ₂	158	111	99	91	74	533
	O ₃	207	117	81	87	72	564
		489	332	266	267	206	1560
T ₃	O ₁	79	63	50	51	32	275
	O ₂	129	54	51	52	46	332
	O ₃	142	93	62	51	52	400
		350	210	163	154	130	1007
Zusammen	O ₁	404	317	267	270	189	1447
	O ₂	533	329	288	279	222	1651
	O ₃	620	380	292	265	223	1780
		1557	1026	847	814	634	4878

Tabelle 8b

Streuungszerlegung

Streuung		Freiheitsgrade	Summen der Quadrate	Durchschnittsquadrate
Hauptwirkungen	CN-Konzentration	4	55 545,5	13 886,4
	Temperatur	2	57 116,1	28 558,1
	Sauerstoffgehalt	2	3 758,8	1 879,4
Wechselwirkungen zwischen	CN-Konzentration und Temperatur	8	3 685,9	658,1
	CN-Konz. und O-Konz.	8	5 264,5	460,7
	Temp. und O-Konz.	4	97,1	24,3
	CN-Konz. und Temp. und O-Konzentration	16	1 034,9	64,7
	Insgesamt ...	44	126 502,8	—

Tabelle 8c

Kleinste signifikante Unterschiede zwischen Summen in Tabelle 8a

$$s^2 = 56,6;$$

somit $s = 7,5$ mit 20 Freiheitsgraden.

Da $t_{0,05} = 2,09$ und $t_{0,01} = 2,84$,

wird $\Delta S_{0,05} = 2,09 \cdot 7,5 \cdot \sqrt{2/N}$

und $\Delta S_{0,01} = 2,84 \cdot 7,5 \cdot \sqrt{2/N}$.

Hieraus:

Kleinsten signifikanten Unterschied zwischen	N	$\Delta S_{0,05}$	$\Delta S_{0,01}$
Einzelsummen	1	22,2	30,2
Summen der CN-Konzentrationsstufen	9	66,5	90,5
Summen der Temperaturstufen . . .	15	86	116,5
Summen der O-Stufen	15	86	116,5
Summen der O-Stufen innerhalb der CN-Stufen	3	38,5	52,2
Summen der Temperaturstufen innerhalb der O-Stufen	5	49,6	67,5

Variablen in Beziehung, ohne die kleinen Differenzen im CN- und O-Gehalt der Vergiftungslösungen vergleichbarer Versuche zu berücksichtigen.

Bei der Auswertung der Versuche muss davon ausgegangen werden, dass die 10 Fische pro Experiment gleichzeitig im *gleichen* Giftbad beobachtet werden. Die Streuung ihrer Manifestationszeiten ist also nicht eine Versuchsstreuung und bleibt daher unberücksichtigt (es handelt sich nicht um eine 10fache Wiederholung der Einzelversuche!). Man kann daher entweder die Mittelwerte oder die Summen der Manifestationszeiten der einzelnen Fische eines Versuches zur statistischen Auswertung heranziehen. Wir haben die Summe der Logarithmen der einzelnen Manifestationszeiten verwendet und gelangen zu den in den Tabellen 8a bis 8c zusammengestellten Ergebnissen.

An Hand der Streuungszerlegung (Tabelle 8b) und mit Hilfe der in Tabelle 8c berechneten kleinsten signifikanten Unterschiede zwischen den Summenwerten in Tabelle 8a kann man folgende Schlussfolgerungen aus dem ganzen Faktorenexperiment ziehen:

Mittelwerte zusätzlicher Experimente zum CN×O×T-Faktorenversuch
(10 adulte *Phoxinus laevis* pro Experiment)

Die Abhängigkeit der Manifestationszeiten von der *Temperatur* erweist sich in allen Fällen als statistisch gesichert. Die weitergehende Zerlegung der Temperaturstreuung in Komponenten höheren Grades deutet eine eventuelle Nichtlinearität der Temperaturfunktion an. In Anbetracht der Tatsache, dass diese *Nichtlinearität* nur schwach gesichert erscheint und die entsprechenden Funktionen lediglich durch drei Punkte bestimmt sind,

Abb. 4. Einfluss der Sauerstoffspannung auf die Manifestationszeit bei der Vergiftung von Elritzen in Zyanidlösungen bei 5° und 15° C. Ordinate: mittlere Manifestationszeit von 10 Elritzen in Minuten; Abszisse: Sauerstoffgehalt der Lösungen in mg O/l.

glauben wir aber, dass, wie bei den früheren Experimenten, die Logarithmen der Vergiftungszeiten mit steigender Temperatur *linear* abfallen.

Aus Tabelle 7 geht eindeutig hervor, dass ein wesentlicher Einfluss der *Sauerstoffspannung* auf die Vergiftungszeiten nur bei den niederen CN-Konzentrationen sichtbar ist. Je schneller die CN-Vergiftung eintritt, desto weniger wird sie durch höhere Sauerstoffspannungen beeinflusst, wie dies ein Auszug aus den Beobachtungen bei 15° C in Abbildung 4 er-

kennen lässt. Im wesentlichen stimmen diese Ergebnisse mit denjenigen überein, die wir in Vorversuchen gefunden haben und in Abbildung 7b unserer 7. Mitteilung veröffentlichten. Bei der Temperatur von 5° C ergeben sich O-Funktionen gleichartigen Verlaufs wie bei 15° C, die Manifestationszeiten bei gleichen Giftkonzentrationen sind jedoch nach wesentlich höheren Werten verschoben. SOUTHGATE (1952) machte an Regenbogenforellen bei 17° C dieselbe Feststellung, fand aber eine mehr oder weniger lineare Beziehung zwischen Sauerstoffgehalt und Vergiftungszeit bei CN-Konzentrationen von 0,1–0,16 mg CN/l.

c) Wechselwirkungen zwischen den Faktoren

Wir haben soeben festgestellt, dass die Giftigkeit von Zyanidlösungen gleicher Konzentration von der *Sauerstoffspannung* abhängig ist. Ferner sind die O-Funktionen wesentlich verschieden, je nachdem man hohe oder niedrige Giftkonzentrationen prüft (Abb. 4). Diese *Wechselwirkung* zwischen Sauerstoffspannung und Zyanidkonzentration ist gemäss der statistischen Auswertung der Resultate (Tabelle 8b, Streuungszerlegung) stark gesichert.

Desgleichen erwies sich die Wechselbeziehung zwischen *Temperatur und Giftkonzentration* als signifikant, oder, mit andern Worten, der Temperaturkoeffizient der Manifestationszeiten muss von der Giftkonzentration abhängig sein. Da nur drei Temperaturen geprüft wurden, ist eine genaue Berechnung der Temperaturkoeffizienten Q_{10} natürlich nicht möglich bzw. die gefundenen Werte sind mit grossen Streuungen behaftet. In Tabelle 10 sind für die drei niedrigsten CN-Konzentrationen des Faktorenversuches (ohne Ergänzungsversuche) die Werte für Q_{10} berechnet. Man erkennt, dass trotz der grossen Streuungen eine systematische Zunahme von Q_{10}

Tabelle 10

Q_{10} von Elritzen in Abhängigkeit von Giftkonzentrationen und Sauerstoffspannung bei niederen CN-Konzentrationen

Sauerstoffdruck mm Hg	CN-Konzentrationen, mg CN ⁻ /l		
	0,16	0,9	4,7
~ 21	2,4	3,7	3,5
~ 56	2,8	2,8	3,8
~ 150	2,3	4,1	3,7

mit steigender Giftkonzentration vorhanden ist. *Je höher die Giftkonzentration ist, um so stärker macht sich die Wassertemperatur im Sinne einer Verkürzung der Vergiftungszeit mit zunehmender Temperatur bemerkbar.*

Gemäss der Streuungserlegung erwies sich die dritte Wechselwirkung, nämlich die Beeinflussung des *Temperatureffektes* auf die Vergiftungszeiten durch den *Sauerstoffdruck*, als statistisch *nicht gesichert*. Diese Wechselwirkung würde bedeuten, dass zum Beispiel die Grösse der Temperaturkoeffizienten Q_{10} vom Sauerstoffdruck abhängig wäre. Ein Blick auf Tabelle 10 zeigt, dass unter Berücksichtigung der bereits erwähnten Streuungen diese Werte tatsächlich keine Korrelation mit den geprüften Sauerstoffspannungen aufweisen. *Temperatur und Sauerstoffdruck beeinflussen somit die Vergiftungsgeschwindigkeit in Zyanidlösungen unabhängig voneinander.*

Der Verlauf der Temperatur- $\bar{t}_M$ -Funktionen und der O- $\bar{t}_M$ -Funktionen zeigt, dass der mit steigender Temperatur zunehmenden Giftigkeit gegebener Zyanidkonzentrationen mit einer Erhöhung der Sauerstoffspannung in gewissen Grenzen entgegengewirkt werden kann. Diese Erscheinung könnte leicht mit der im Abschnitt II, 3, diskutierten Erhöhung der *Bedarfsspannung* mit zunehmender Temperatur erklärt werden. Nun hat aber ERICHSEN-JONES (1947) gefunden, dass bei der Zyanidvergiftung der *Sauerstoffverbrauch* sehr stark abnimmt, was sich in einem herabgesetzten Bedarfsdruck äussern müsste. Da augenscheinlich das Gegenteil der Fall ist, muss man annehmen, dass die Blausäurevergiftung nicht nur in einer Hemmung des Respirationsstoffwechsels besteht, sondern auch die *Sauerstoffaufnahme* oder (und) den *Sauerstofftransport* durch das Blut beeinträchtigt. Diese Interpretation unserer Ergebnisse wird durch die Beobachtungen von SUMNER und WELLS (1935) direkt bestätigt. Diese Autoren zeigten, dass Fische, die an hohe Temperaturen angewöhnt worden waren, nach ihrem Zurückversetzen in ein Milieu niedrigerer Temperatur gegenüber Blausäure weniger empfindlich waren als Vergleichsfische, welche die Temperaturadaptation nicht erfahren hatten. Da die Temperaturadaptation wohl zu einem wesentlichen Teil in einer Angleichung der Sauerstoff-Transportkapazität des Blutes an den veränderten Sauerstoffverbrauch (vgl. Abschnitt II, 3) besteht, ist damit die Beobachtung von SUMNER und WELLS ebenfalls darauf zurückgeführt, dass Zyanide unter anderem auch die O-Transportkapazität des Blutes herabsetzen. Logischerweise müssen demnach Fischarten mit einem relativ geringen Sauerstoffverbrauch bei gleichzeitiger hoher O-Transportkapazität des Blutes gegenüber andern Arten viel weniger empfindlich auf Zyanide reagieren. Dies scheint tatsächlich der Fall zu sein, wie dies das Beispiel der *Schleien*

(*Tinca*) zeigt (vgl. Tabelle 6 dieser Arbeit bzw. Abb. 6b in der 7. Mitteilung). Diese Fischart ist gemäss unseren Beobachtungen auch bei extrem niederen Sauerstoffspannungen (< 15 mm Hg) noch durchaus lebensfähig und erweist sich bei einer Temperatur von 15° C rund 5mal weniger empfindlich als Elritzen in Zyanidlösungen mit $0,5$ mg CN-/l.

Die vorstehende Diskussion der Vergiftungsversuche mit NH_3 und Zyaniden hat gezeigt, dass der Respirationsstoffwechsel der Fische eine entscheidende Rolle zur Beurteilung der Wirksamkeit dieser beiden wichtigen Fischgifte im freien Gewässer spielt. Eine genaue Kenntnis der Atmungsphysiologie der zu den Vergiftungsversuchen verwendeten Fischarten ist deshalb die erste Voraussetzung zur Deutung der unter verschiedenen äusseren Bedingungen gefundenen Konzentrations-Wirkungskurven.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Der Einfluss der ökologischen Faktoren Sauerstoffdruck und Temperatur des Wassers auf die Giftigkeit von Ammoniak- und Zyanidlösungen wurde bei mehreren Fischarten untersucht. Die Temperaturkoeffizienten Q_{10} der Giftwirkung von Zyaniden erwies sich bei den geprüften Arten als mehr oder weniger gleichartig, wenn von denselben Giftkonzentrationen ausgegangen wird. Bei der Ammoniakvergiftung besteht zwischen den Werten von Q_{10} bei Elritzen (*Phoxinus*) und Alet (*Squalius*) ein grundsätzlicher Unterschied. Bei beiden Giften ist die Grösse von Q_{10} eine Funktion der Giftkonzentration, indem Q_{10} mit zunehmender Giftigkeit einer Lösung zunimmt.

2. Der Einfluss des Sauerstoffdruckes auf die Giftigkeit von Ammoniak einerseits und von Blausäure andererseits ist deutlich voneinander verschieden. Die Vergiftungsgeschwindigkeit in NH_3 -Lösungen nimmt bei 15° C und bei Sauerstoffdrucken von weniger als rund 100 mm Hg sprunghaft zu. Oberhalb dieses Wertes sind die Vergiftungszeiten vom Sauerstoffdruck unabhängig. Die Giftigkeit von Zyanidlösungen nimmt im ganzen untersuchten Bereich mit abnehmendem Sauerstoffdruck stetig zu.

3. An Hand eines Faktorenversuches, in welchem fünf CN-Konzentrationen und je drei Temperatur- und Sauerstoffdruck-Stufen als Variable geprüft wurden, konnten die Wechselwirkungen zwischen den Einflüssen dieser Faktoren auf die Giftigkeit von Blausäurelösungen ermittelt werden. Es zeigte sich in Übereinstimmung mit früheren Experimenten, dass die Temperaturkoeffizienten der Zyanid-Wirkungsgeschwindigkeit konzentrationsabhängig sind. Desgleichen wurde beobachtet, dass die verlang-

samende Wirkung zunehmender Sauerstoffdrucke auf die Zyanidvergiftung mit zunehmender Zyanidkonzentration immer geringer wird. Eine Wechselbeziehung zwischen den Wirkungen von Temperatur und Sauerstoffdruck liess sich jedoch nicht nachweisen, das heisst, diese beiden ökologischen Faktoren beeinflussen die Geschwindigkeit der Zyanidvergiftung *unabhängig* voneinander (Versuche an Elritzen).

4. Eine physiologische Interpretation der gewonnenen Beobachtungen scheint erst möglich zu sein, wenn der Respirationsstoffwechsel der geprüften Fischarten in seinen Hauptzügen aufgeklärt ist, da die Ergebnisse darauf hindeuten, dass die untersuchten Gifte sowohl die Sauerstoffaufnahme- und Sauerstofftransportmechanismen wie auch den Sauerstoffverbrauch stark beeinflussen.

LITERATURVERZEICHNIS

- BEHRE, E. H., Biol. Bull. 35, 277 (1918).
DOUDOROFF, P., und KATZ, M., Sew. Ind. Wastes 25, 100 (1953).
EVERETT, H. D., und WYNNE-JONES, Proc. Roy. Soc. (London) [A] 169, 190 (1938).
HERBERT, D. W. M., und MERKENS, J. C., J. exp. Biol. 29, 632 (1952).
JONES, J. R. E., J. exp. Biol. 23, 298 (1947).
LINDER, A., *Planen und Auswerten von Versuchen* (Birkhäuser, Basel und Stuttgart 1953).
LINDROTH, A., Z. vgl. Physiol. 28, 142 (1940).
LINDROTH, A., Z. vgl. Physiol. 29, 583 (1942).
LOEB, J., und WASTENEYS, H., J. exp. Zool. 12, 543 (1912).
SOUTHGATE, B. A., PENTELOW, F. T. K., und BASSINDALE, R., Biochem. J. 27, 983 (1933).
SOUTHGATE, B. A., Water Pollut. Res. Annual Rep. H. M. Stat. Off. London 1952.
SUMNER, F. B., und WELLS, N. A., Biol. Bull. 69, 368 (1935).
SUMNER, F. B., und DOUDOROFF, P., Biol. Bull. 74, 403 (1938).
SUMNER, F. B., und LANHAM, U. N., Biol. Bull. 82, 313 (1942).
WELLS, N. A., Biol. Bull. 69, 361 (1935).
WOKER, H., Verh. Int. Ver. theor. angew. Limnol. 10, 575 (1949).
WUHRMANN, K., ZEHENDER, F., und WOKER, H., Vjschr. naturf. Ges. Zürich 29, 198 (1947).
WUHRMANN, K., und WOKER, H., Schweiz. Z. Hydrol. 11, 210 (1948).
WUHRMANN, K., und WOKER, H., Schweiz. Z. Hydrol. 12, 79 (1950).
WUHRMANN, K., Bull. Centre Eelge d'Etude et de Documentation des Eaux, N° 15, 1952/I.
WUHRMANN, K., und WOKER, H., in: *Fisch und Fischerei* (Schmid, Winterthur 1952).