Röntgenmikroanalyse von Zink und Eisen in Chloridzellen von Eintagsfliegenlarven aus der Sülz

Klaus Heuss und Wilfried Wichard

Landesanstalt für Wasser und Abfall Nordrhein-Westfalen und Institut für Cytologie und Mikromorphologie der Universität Bonn

Eingegangen am 10. Januar 1975

X-Ray Microanalysis of Zinc and Iron in the Chloride Cells of Mayfly Larvae of the River Sülz

Summary. Using the energy-dispersive X-ray microanalysis with the scanning electron microscope it was shown that the chloride cells of mayfly larvae accumulate dissolved iron and zinc in correlation to the different concentration in the river Sülz.

Zusammenfassung. Mit den Methoden der energiedispersiven Röntgenmikroanalyse in Verbindung mit dem Rasterelektronenmikroskop wird in den Chloridzellen von Eintagsfliegenlarven die Akkumulation von gelöstem Eisen und Zink entsprechend den differierenden Konzentrationen in der Sülz nachgewiesen.

Einleitung

Die Sülz ist ein Fließgewässer des Bergischen Landes und gehört zum Einzugsgebiet der Sieg. Sie ist — bedingt durch die geologischen Verhältnisse — reich an Eisen und mit zinkhaltigen Abwässern einer Zinkhütte sowie durch zufließende Sickerwässer von Halden bereits stillgelegter Gruben belastet. Infolge der Toxizität des Zinks ist eine erhebliche Verarmung in der aquatischen Fauna zu beobachten; lediglich einige Insekten vermögen gut zu überleben (Herbst, 1967).

Die in dieser Hinsicht interessierenden Insekten verfügen im Integument über ionentransportierende Zellen und Epithelien, die an der osmotischen Hyperregulation durch die Absorption von Ionen aus dem hypotonischen Medium beteiligt sind. Bei den in der Sülz lebenden Larven der Eintagsfliege *Baetis rhodani* L. handelt es sich um Chloridzellen vom coniformen Typ (Wichard *et al.*, 1972), die sich zahlreich im respiratorischen Epithel der Tracheenkiemen befinden und darüberhinaus mit unterschiedlicher Dichte nahezu auf der gesamten Körperoberfläche zu finden sind. Diese Zellen reichern depotartig Anionen und Kationen unter der wahrscheinlichen Beteiligung von Mucosubstanzen an und sind in der Lage, Schwermetalle zu akkumulieren (Wichard u. Schmitz, 1975).

Mit den Methoden der Röntgenmikroanalyse soll daher am Beispiel der Sülz versucht werden, über eine längere Fließstrecke die entscheidenden Stationen der Schwermetallbelastung durch die Akkumulation von Zink und Eisen in den Chloridzellen nachzuvollziehen.

Probe-	Zn	Fe	Pb	Cd	Cu	Hg	pH	GH	Leitf.
stellen	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)		⁰d	$\mu S \text{ cm}^{-1}$
1	0,03	0,20	0,02	0,002	0,008	< 0,001	8,2	6,9	251
2	0,04	0,47	0,02	0,001	0,008	<0,001	7,8	6,0	267
3	0,68	0,45	0,02	0,001	0,005	<0,001	7,9	6,8	283
4	4,40	0,29	0,02	0,010	0,005	<0,001	7,8	7,8	333

Tabelle 1. Chemische Daten der Wasseranalyse aus der Sülz

Material und Methode

An verschiedenen Stellen der Sülz wurden Wasserproben oberhalb und unterhalb der Schwermetall-Zuläufe entnommen. Die Wasseranalyse wurde für die gelösten Schwermetalle mit dem Atomabsorptionsspektralphotometer durchgeführt¹, während die übrigen Werte nach dem "Deutschen Einheitsverfahren" ermittelt wurden.

Die an den Probestellen aufgesammelten Larven von *Baetis rhodani* L. (Ephemeroptera, Baetidae) wurden etwa 10 min in aqua bidest. gebadet, um anhaftende Stoffe wegzuwaschen. Anschließend wurden sie 5 min mit 10% Ammoniumsulfid behandelt, um die Schwermetalle als schwerlösliche Sulfide zu fällen. Danach wurden die Larven erneut mit aqua bidest. gewaschen und dann in 70% Alkohol konserviert. Zur qualitativen Analyse der Schwermetallsulfide mit der energiedispersiven Röntgenmikroanalyse in Verbindung mit dem Rasterelektronenmikroskop wurden die Larven oder deren Tracheenkiemen luftgetrocknet auf einen Aluminium-Präparateträger gebracht und mit Kohle bedampft. Die Analyse dauerte jeweils 100 sec und erfolgte mit einer Anregungsenergie von 30 kV.

Ergebnisse

Die chemischen Daten (Tabelle 1) lassen erkennen, daß die Sülz überwiegend mit Eisen und Zink belastet ist, während andere Schwermetalle (Pb, Cd, Cu, Hg) nur minimal vorhanden sind. Im Untersuchungsgebiet befindet sich Probestelle 1 bei Hommerich. Sie liegt oberhalb der Schwermetall-haltigen Zuläufe und weist dementsprechend nur 0,03 ppm Zn und 0,20 ppm Fe auf. Flußabwärts werden zwischen Immekeppel und Hoffnungsthal über dem Immekeppeler Bach, der ein ehemaliges Grubengelände und Halden entwässert, und dem Ablauf des Grünwaldteiches, der einer Zinkhütte als Absetzbecken dient, zinkhaltige Abwässer mit einer Konzentration von ca. 4 ppm Zn in die Sülz eingeleitet (Probestelle 4). Auf der anderen Flußseite mündet bei Obereschbach der zinkarme (0.04 ppm Zn), aber eisenreiche (0,47 ppm Fe) Holzbach ebenfalls in die Sülz (Probestelle 2). Infolgedessen erfährt der Fluß im Unterlauf bei Rösrath eine Anreicherung von Eisen und Zink auf 0,68 ppm Zn und 0,45 ppm Fe (Probestelle 3). Die Larven von Baetis rhodani leben in der Sülz bei Hommerich (1), im Holzbach (2) und in der Sülz bei Rösrath (3), nicht aber in den zinkhaltigen Zuläufen. Diese Abwässer wirken offenbar auch bei den Larven toxisch und entfallen für den röntgenmikroanalytischen Vergleich der Schwermetallakkumulation bei Ephemeropteren.

Die energiedispersiven Röntgenspektren über Flächen von 50 μ m² auf einer Tracheenkieme und einem medianen Ventralbereich eines Abdominalsegments weisen bei den Larven der Probestelle 3 deutliche Intensitätsunterschiede der Elementenanalyse auf (Abb. 1) und machen damit die entsprechend unterschied-

¹ Frau Dipl. Chem. Nagel und Frl. Elmer, Landesanstalt für Wasser und Abfall NW, danken wir für die Schwermetallanalysen.



Abb. 1. Energiedispersives Röntgenspektrum einer Flächenanalyse über den medianen Ventralbereich eines Abdominalsegmentes (oben) und über eine Tracheenkieme (unten)

Abb. 2. Schematische Darstellung der Probestellen 1, 2 und 3 im Gewässersystem der Sülz (links) und die energiedispersiven Röntgenspektren von Punktanalysen über Chloridzellen für die 3 Probestellen (rechts)

liche Dichte der Chloridzellen auf beiden Flächen sichtbar. Neben den Elementen Phosphor, Schwefel, Chlor, Kalium und Kalzium, die teilweise als biochemische Bestandteile der Zelle und teilweise als Anreicherungen aus dem umgebenden Medium anzusehen sind, werden die Schwermetalle Eisen und Zink intensitätsverstärkter auf den chloridzellenreichen Tracheenkiemen als auf dem betreffenden chloridzellenarmen Abdominalsegment nachgewiesen; der Nachweis von Aluminium geht dabei auf den Al-Präparateträger zurück. Eine weitere Intensitätsverstärkung der Schwermetalle Eisen und Zink zeigt nach einer Punktanalyse in den Chloridzellen den tatsächlichen Ort der Schwermetallakkumulation an (Wichard u. Schmitz, 1975).

Die metallischen Elemente Eisen und Zink werden im Röntgenspektrum von Punktanalysen über Chloridzellen bei den Larven aller 3 Probestellen aufgezeichnet (Abb. 2). Der Anteil an gelöstem Eisen ist nach den chemischen Bestimmungen im Holzbach (2) und im Unterlauf der Sülz bei Rösrath (3) um mehr als das Doppelte gegenüber dem Oberlauf der Sülz bei Hommerich (1) angereichert. Dementsprechend wird Eisen im Röntgenspektrum intensitätsverstärkt für Probestelle 2 und 3 in der Fe-K_a und Fe-K_b Linie, aber für Probestelle 1 mit schwacher Röntgenintensität nur in der Fe-K_a Linie nachgewiesen. Nach Zulauf von zinkhaltigen Abwässern wird Probestelle 3 gegenüber Probestelle 1 und 2 um das ca. 20fache mit gelöstem Zink angereichert. Bei diesem Schwermetall weist das Röntgenspektrum für Probestelle 3 ebenfalls eine deutliche Intensitätsverstärkung in der Zn-K_a und Zn-K_b Linie auf, während an den beiden anderen Probestellen Zink mit nur schwacher Intensität in der Zn-K_a Linie festgestellt wird.

K. Heuss und W. Wichard

Auch das relative Verhältnis der Intensitäten für Eisen und Zink verändert sich im Röntgenspektrum entsprechend der Gewässerbelastung (Abb. 2). Vergleicht man in dieser Hinsicht die Wasseranalysen vom Oberlauf der Sülz (1) und vom Holzbach (2) mit den zugehörigen Röntgenspektren (1, 2), so wird für Probestelle 1 Eisen und Zink in den Chloridzellen zwar mit gleich schwacher Intensität registriert, die Probestelle 2 aber erfährt entsprechend dem doppelten Anteil an gelöstem Eisen eine Intensitätsverstärkung von Fe gegenüber Zn in der Fe-K_a und Fe-K_β Linie. Ein weiterer Vergleich des Holzbach (2) mit dem Unterlauf der Sülz (3), die durch oberhalb einlaufende Abwässer mit Zink belastet ist, zeigt nun ein umgekehrtes Bild der Intensitäten für Eisen und Zink (3), wobei allerdings beide Elemente im Röntgenspektrum anders als für Probestelle 1 in der K_a und K_β Linie nachgewiesen werden.

Diskussion

Die energiedispersiven Röntgenanalysen zeigen, daß die Stationen der Schwermetallbelastung in der Sülz nach Punktanalysen über Chloridzellen von Eintagsfliegenlarven verfolgt werden können. Dabei zeichnen sich aber Schwierigkeiten ab, die es noch zu klären gilt. So werden zwar Eisen und Zink mit Gewässerkonzentrationen von ≥ 0.03 ppm nachgewiesen, andere Schwermetalle wie Pb, Cd, Cu, und Hg, die mit Konzentrationen von ≤ 0.02 ppm im Wasser gemessen werden, sind jedoch röntgenanalytisch nicht aufgezeichnet (Tabelle 1, Abb. 2). Aus experimentellen Untersuchungen mit ⁶⁵Zn wissen wir (Wichard u. Schmitz, 1975), daß die Akkumulation in den Chloridzellen bereits bei Konzentrationen von 0.003 ppm ⁶⁵Zn unter kurzen Inkubationszeiten ohne Schwierigkeiten nachzuweisen ist; hierbei sind allerdings die gesamten Chloridzellen einer Larve einbezogen. Der Vorteil der Röntgenmikroanalyse besteht im lokalisierten Schwermetallnachweis einer einzelnen Zelle.

Wir glauben, daß zunächst Untersuchungen über die Kinetik der Akkumulation in den Chloridzellen unter veränderten limnochemischen Bedingungen und unter dem Gesamtaspekt der Osmoregulation wesentlich zur Klärung der Schwierigkeiten beitragen können, um möglicherweise die Chloridzellen als Bioindikatoren für die Schwermetallbelastung anwenden und um die Bedeutung der Chloridzellen als Schadstoffträger in der Nahrungskette einschätzen zu können.

Literatur

Herbst, H. V.: Experimentelle Untersuchungen zur Toxizität des Zinks. Gewässer u. Abwässer 44/45, 37-47 (1967)

Wichard, W., Komnick, H., Abel, J. H.: Typology of ephemerid chloride cells. Z. Zellforsch. 132, 533-551 (1972)

Wichard, W., Schmitz, M.: Der histochemische Nachweis von Schwermetallen in den Chloridzellen aquatischer Insekten als Indikator f
ür die Gew
ässerbelastung. Verh. Ges. Ökologie Erlangen 1974 (im Druck, 1975)

Dipl.-Biol. Klaus Heuss Landesanstalt für Wasser und Abfall Nordrhein-Westfalen Biologischer Dienst D-4150 Krefeld-Hülserberg Am Waldwinkel 70 Bundesrepublik Deutschland Dr. Wilfried Wichard Institut für Cytologie und Mikromorphologie der Universität Bonn D-5300 Bonn Ulrich-Haberland-Straße 61 a Bundesrepublik Deutschland