

WILFRIED WICHARD<sup>1</sup>, PHILIP T. P. TSUI<sup>2</sup> und ANNE MAEHLER-v. DEWALL

Institut für Cytologie und Mikromorphologie der Universität Bonn;  
 Environmental Science and Engineering, Inc., University Station Gainesville, USA;  
 Max-Planck-Institut für Limnologie Plön

Chloridzellen der Larven von *Caenis diminuta* WALKER  
 (Ephemeroptera, Caenidae) bei unterschiedlicher Salinität

Chloride Cells of the Larvae of *Caenis diminuta* WALKER  
 (Ephemeroptera, Caenidae) Under Different Salinity

Abstract

The larvae of *Caenis diminuta* WALKER (Ephemeroptera, Caenidae) have coniform chloride cells which are involved in osmoregulation. The number of chloride cells varies according to salinity conditions of the surrounding waters. The larvae from brackish water have less chloride cells than the larvae from fresh water.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung . . . . .	705
2. Material und Methoden . . . . .	705
3. Ergebnisse und Diskussion . . . . .	706
4. Zusammenfassung . . . . .	708
5. Literatur . . . . .	708

1. Einleitung

EASTHAM (1936) beschrieb auf den Tracheenkiemen der Larven von *Caenis* campaniforme Sensillen. Diese Strukturen erweisen sich aber nach cytologischen, physiologischen und ökologischen Untersuchungen an anderen Eintagsfliegenlarven als Chloridzellen, die für die Ionen-Absorption in Frage kommen und damit an der Osmoregulation beteiligt sind (WICHARD & KOMNICK 1971; KOMNICK, RHEES & ABEL 1972; WICHARD, KOMNICK & ABEL 1972; WICHARD, TSUI & KOMNICK 1973; WICHARD & HEUSS 1975). Unsere Arbeit setzt nun die Reihe der Untersuchungen zur osmoregulatorischen Anpassung von Eintagsfliegenlarven fort und beschäftigt sich mit den bisher noch nicht untersuchten Larven der Caenidae am Beispiel der im Brackwasser und Süßwasser lebenden *Caenis diminuta* WALKER.<sup>1</sup>

2. Material und Methoden

Die Larven wurden für feinstrukturelle Untersuchungen mit 1,5% OsO<sub>4</sub> in 0,1 M Cacodylat-Puffer bei pH 7,2 zwei Stunden fixiert und anschließend in 0,1 M Cacodylat-Puffer ausgewaschen. Danach wurden sie in der aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und während der Entwässerung mit 0,5% Uranylazetat kontrastiert. Eingebettet wurde in Styrol-Metaacrylat.

Zur weiteren Bearbeitung wurden die Larven aus einem Brackwasser (NaCl 189,75 mg/l) und aus einem Süßwasser (NaCl 4,13 mg/l) in Florida USA entnommen und mit 0,1 N AgNO<sub>3</sub> behan-

<sup>1</sup> Mit freundlicher Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

<sup>2</sup> Partially supported by a grant from the Co-operative State Research Service, U.S.D.A., P.L. 86-106, to Florida A. u. M. University, WILLIAM L. PETERS, Principal Investigator.

delt, anschließend in 1 N HNO<sub>3</sub> gewaschen, danach in 5% wässriger Glutaraldehyd-Lösung fixiert und in 70% Alkohol konserviert. Zur Reduktion des Silbers wurden die Larven intensiv belichtet. Anschließend wurden 10 Larven (4 mm Körperlänge) aus der Süßwasser-Probe und entsprechend 10 Larven aus der Brackwasser-Probe aussortiert. Jeweils die rechten Tracheenkiemen des 4. Abdominalsegments wurden zur weiteren Behandlung abgetrennt. Die in Eukitt eingebetteten Tracheenkiemen zeigen lichtmikroskopisch dunkle Punkte, die auf die Reduktion von gefälltem Silberchlorid zurückzuführen sind und die Orte der Chloridzellen lokalisieren. Die Chloridzellen wurden so auf den Tracheenkiemen ausgezählt, die Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) und Standardabweichungen ( $s$ ) errechnet und die Signifikanz im Vergleich der beiden Proben (Brackwasser/Süßwasser) im *t*-Test ermittelt.

Zur Röntgenmikroanalyse in Verbindung mit dem Raster-Elektronenmikroskop wurden einige Tracheenkiemen der mit AgNO<sub>3</sub>-behandelten Tiere nicht dem Licht ausgesetzt, sondern luftgetrocknet auf einen Al-Präparatethalter gebracht und mit Kohle bedampft.

In Ergänzung zu diesen Untersuchungen wurden die Tracheenkiemen von fünf mitteleuropäischen Arten (*Caenis macrura* STEPH., *C. moesta* BGTSS., *C. robusta* ETN., *C. horaria* L., *C. rivulorum* ETN.) im Rasterelektronenmikroskop untersucht. Die in Alkohol konservierten Larven stammen aus der Sammlung Dr. MÜLLER-LIEBENAU, Plön<sup>1</sup>.

### 3. Ergebnisse und Diskussion

Bei den Larven von *Caenis diminuta* liegen die Chloridzellen vor allem im respiratorischen Epithel der Tracheenkiemen und in der Hypodermis der abdominalen Tergite. Nach feinstrukturellen Befunden (Abb. 1 u. 2) gehören sie zum coniformen Typ (WICHARD, KÖMNICK & ABEL 1972; WICHARD & KÖMNICK 1973a). Diese Chloridzellen

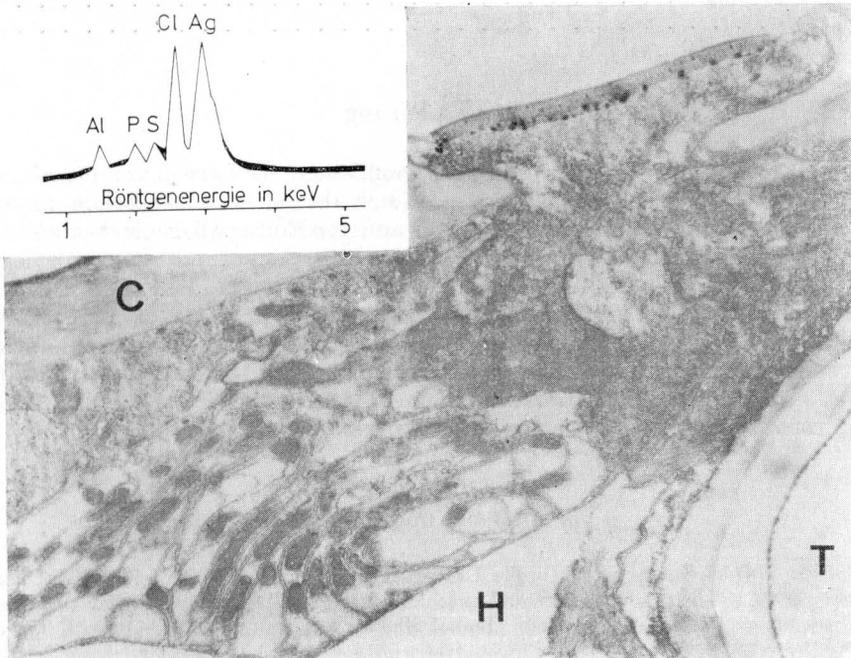


Abb. 1. Feinstrukturbild einer coniformen Chloridzelle im respiratorischen Epithel einer Tracheenkieme der Larve von *Caenis diminuta*

C Cuticula, H Haemolymphraum, T Trachee, 10000 ×.

Inset: Energiedispersives Röntgenspektrum einer Punktanalyse über eine Chloridzelle.

<sup>1</sup> Wir danken Frau Dr. I. MÜLLER-LIEBENAU für anregende Diskussionen.

sind im basalen Bereich durch intensive Verzahnungen mit einer oder mehreren Hüllzellen assoziiert, während der apikale Bereich in eine cuticuläre Aussparung ragt. Über dem Apex befindet sich im Niveau der Epicuticula eine Porenplatte, die außen von einem Ringwulst umgeben ist.

Die Chloridzellen sind in der Initialphase der Ionen-Absorption zur Akkumulation von Ionen befähigt (KOMNICK, RHEES & ABEL 1972). Im energiedispersiven Röntgenspektrum einer Punktanalyse über eine Chloridzelle werden die Elemente Aluminium, Phosphor, Schwefel, Chlor und Silber nachgewiesen (Abb. 1, Inset). Aluminium wird auf den Al-Präparatehalter zurückgeführt. Phosphor und Schwefel werden als biochemische Bestandteile der Zelle interpretiert. Der mit hoher Intensität verzeichnete Nachweis von Chlor und Silber zeigt die Lokalisation von Silberchlorid an, da zur Präzipitation des akkumulierten Chlorids die Tiere zuvor mit Silbernitrat behandelt wurden. Aus dem Verteilungsbild für Cl-K<sub>z</sub> geht deutlich hervor (Abb. 2, Inset), daß

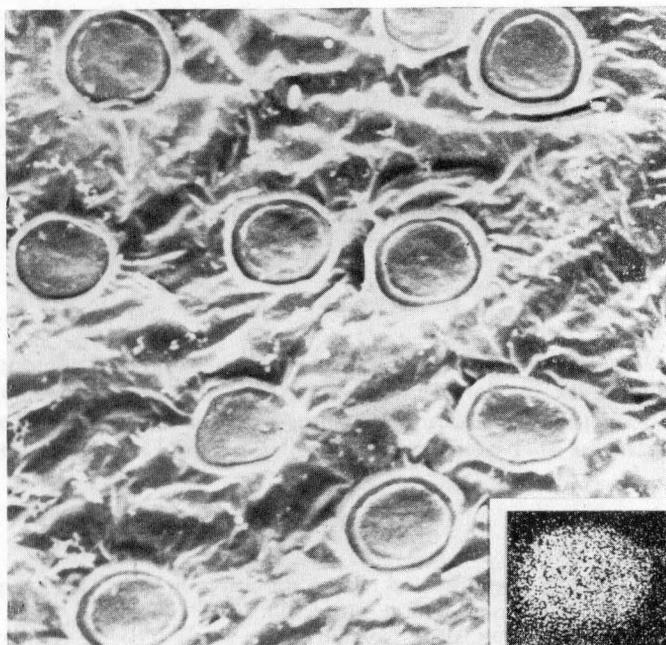


Abb. 2. Raster-Elektronenmikroskopisches Bild einer Tracheenkiemenoberfläche der Larve von *Caenis diminuta*; luftgetrocknet, Kohle/Gold bedampft. 2500 ×.  
Inset: Verteilungsbild von Cl-K<sub>z</sub> über eine Chloridzelle.

dieses Element im Bereich der Chloridzelle akkumuliert ist. Ähnliche röntgenmikroanalytische Ergebnisse konnten zuvor bei den Chloridzellen von Plecopteren-Larven erzielt werden (WICHARD & KOMNICK 1973 b).

Hinsichtlich der Anzahl von Chloridzellen auf den Tracheenkiemen können die Larven von *Caenis diminuta* aus dem Brackwasser und dem Süßwasser leicht voneinander unterschieden werden. Nach Tabelle 1 haben die Larven, die im Süßwasser mit einer Konzentration von 4,13 mg/l NaCl leben, erheblich mehr Chloridzellen als jene, die bei 189,75 mg/l NaCl im Brackwasser vorkommen. Diese ökomorphologische Anpassung der Larven steht im Einklang mit der Osmoregulation, die entsprechend der hohen Ionenkonzentration in der Hämolymphe der Larven (SUTCLIFFE 1962; FORBES & ALLANSON 1970) als hyperosmotische Regulation funktionieren muß.

Tabelle 1. Signifikanter Unterschied in der Anzahl von Chloridzellen auf den Tracheenkiemen der Larven von *Caenis diminuta* aus dem Süß- (1) und Brackwasser (2).

Salinität	Chloridzellenzahl	$(\bar{x} \pm s/N = 10)$
1. Süßwasser 4,13 mg/l NaCl	130,6 $\pm$ 35,8	$t = 5,36^{***}$
2. Brackwasser 189,75 mg/l NaCl	59,1 $\pm$ 21,5	

\*\*\* hochsignifikant/ $P < 0,001$

Wir kennen diese osmoregulatorische Anpassung mittels der differierenden Chloridzellenzahl bei aquatischen Insekten bislang nach Freiland- und experimentellen Untersuchungen an Larven verschiedener Arten der Baetidae (WICHARD, TSUI & KOMNICK 1973; WICHARD & HEUSS 1975) und bei der Wasserwanze *Notonecta glauca* (KOMNICK & WICHARD 1975). Diese Adaptation kann als supracelluläre Adaptation bezeichnet werden und steht der intracellulären Adaptation gegenüber, bei der kurzfristige Schwankungen in der äußeren Salinität durch Veränderungen an der resorptiven apikalen Zellmembran reguliert werden (WICHARD, TSUI & KOMNICK 1973; WICHARD 1974). Beide Adaptationsformen werden als morphologische Komponenten bei der hyperosmotischen Regulation verstanden.

#### 4. Zusammenfassung

Die Larven von *Caenis diminuta* WALKER (Ephemeroptera, Caenidae) haben coniforme Chloridzellen, die an der Osmoregulation beteiligt sind. Die Zahl der Chloridzellen steht in Beziehung zur Salinität des umgebenden Wassers. Die Larven aus dem Brackwasser verfügen über weniger Chloridzellen als die Larven aus dem Süßwasser.

#### 5. Literatur

- EASTHAM, L. E. S., 1936: The sensillae and related structures on the gills of nymphs of the genus *Caenis* (Ephemeroptera). — Trans. R. Ent. Soc. Lond. **85**: 401–414.
- FORBES, A. T., & B. R. ALLANSON, 1970: Ecology on the Sundays River — II. Osmoregulation in some mayfly nymphs (Ephemeroptera: Baetidae). — Hydrobiologia **36**: 489–503.
- KOMNICK, H. & W. WICHARD, 1975: Chloride cells of larval *Notonecta glauca* and *Naucoris cimicoides* (Hemiptera, Hydrocorisae): Fine structure and cell counts at different salinities. — Cell Tissue Research **156**: 539–549.
- R. W. RHEES, & J. H. ABEL, 1972: The function of ephemerid chloride cells. Histochemical, autoradiographic and physiological studies with radioactive chloride on *Callibaetis*. — Cytobiologie **5**: 65–82.
- SUTCLIFFE, D. W., 1962: The composition of haemolymph in aquatic insects. — J. exp. Biol. **39**: 325–343.
- WICHARD, W., 1974: Zum Indikatorwert der Chloridzellen aquatischer Insekten für die Salinität von Binnengewässern. — Ver. Ges. Ökologie, Saarbrücken 1973: 201–203.
- & K. HEUSS, 1975: Der Chloridzellenfehlbetrag als ökomorphologischer Zeigerwert für die Salinität von Binnengewässern. — Acta hydrochim. hydrobiol. **3**: 347–351.
- & H. KOMNICK, 1971: Electron microscopical and histochemical evidence of chloride cells in tracheal gills of mayfly larvae. — Cytobiologie **3**: 215–228.
- — 1973a: Feinstruktur der Chloridzellen von Eintagsfliegenlarven. — Verh. Deut. Zool. Ges. **66**: 80–83.

- WICHARD W. & H. KOMNICK, 1973b: Feinstruktureller und histochemischer Nachweis von Chloridzellen bei Steinfliegenlarven. 1. Die coniformen Chloridzellen. — *Cytobiologie* **7**: 297–314.
- & J. H. ABEL, 1972: Typology of ephemerid chloride cells. — *Z. Zellforsch.* **132**: 533–551.
- P. T. P. TSUI & H. KOMNICK, 1973: Effect of different salinities on the coniform chloride cells of mayfly larvae. — *J. Insect Physiol.* **19**: 1825–1835.

Dr. WILFRIED WICHARD, Institut für Cytologie und Mikromorphologie der Universität Bonn, D 53 Bonn 1, Ulrich-Haberland-Straße 61a — F. R. Germany.

Dr. PHILIP T. P. TSUI, Environmental Science and Engineering, Inc., University Station, P. O. Box 13454, Gainesville, Florida 32604 USA.

Dipl. Biol. ANNE MAEHLER-V. DEWALL, Max-Planck-Institut für Limnologie, D 232 Plön, Postfach 165 — F. R. Germany.

Manuskript angenommen: 14. Februar 1975