

(Aus der Biologischen Station Lunz.)

Morphologie und Physiologie des Branchialorgans der Helminenlarven.

Von

Ingeborg Metzky

Mit 11 Textabbildungen.

I. Material und Arbeitsmethoden.

Vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Klärung des Feinbaues und der Physiologie des Branchialorgans der Helminenlarven und wurde in Ergänzung der Untersuchungen *Beiers* (1948) auf dessen Anregung an der Biologischen Station Lunz durchgeführt.

Als Versuchsmaterial dienten Larven von *Helmis maugei aenea* Müll. und *Riolus cupreus* Müll.; zum Vergleich wurden die gleichfalls von *Beier* (1949, 1950) beschriebenen Larven von *Helodes hausmanni* Gredler und von *Eubria palustris* L. herangezogen. Bezüglich des Vorkommens und der Lebensweise der erwähnten Larven siehe *Beier* (1948, 1949, 1950). Die Atmungsphysiologie wurde allein bei den ersten beiden Larven untersucht, da nur sie ein geschlossenes Tracheensystem besitzen und ihr Atmungsvorgang daher von prinzipiellem Interesse war.

Die mikroskopischen Beobachtungen erfolgten mittels Reichert's Binokularmikroskop CMS und des Binokulars nach Greenough von Fa. Leitz-Wetzlar.

Da die genaue Morphologie und Histologie des Branchialapparates noch gänzlich unbekannt war, versuchte ich mittels Vitalfärbungen mit verdünntem Neutralrot, alkalischer Alizarinblaulösung und Methylenblau seinen inneren Aufbau zu erkennen. Alle drei Färbemethoden ermöglichten es durch ihre Anfärbespezifität für verschiedene Einzelheiten, ein deutliches Gesamtbild zu übermitteln.

Zur Klärung der Atmungsphysiologie der Larven wurden Versuche, die *Krawany* (1935) näher beschrieb, gemacht. Diese Methoden gestatten, den Sauerstoffeintritt und die Kohlendioxydabgabe wahrzunehmen. Die Luft in den Tracheenblasen von *Helmis* (*Beier* 1948, p. 152, Fig. 10) wurde mit der Versuchsanordnung der mikrogasanalytischen Absorptionsmethode von *Schwarz* untersucht. Die Feststellung des absoluten Wertes der Sauerstoffaufnahme erfolgte durch die *Winkler'sche* Titriermethode.

2. Morphologie und Histologie des Branchialorgans.

Das Branchialorgan der Helminen besteht aus einem dorsalen und zwei lateralen Tracheenkiemenbüscheln, die eine Ausstülpung der Kloakalkammer sind und in eingezogenem Zustande durch die Analklappe verdeckt werden. Wenn sich die Analklappe öffnet, kann das ganze Organ durch Blutdruck ausgetrieben werden. In das Organ hinein verzweigt sich der dorsale Längsstamm des Tracheensystems. Ein Kiemenbüschel des Branchialorgans besteht aus einem stärkeren basalen Teil und einem in eine größere Anzahl dünner Schläuche verzweigten distalen Abschnitt. Bei der *Helmis*-Larve besitzt ein laterales Büschel zehn bis dreizehn, das dorsale acht Endschläuche.

Um den Feinbau der Endschläuche erkennen zu können, mußte das Organ mit dem letzten Abdominalsegment abgetrennt und das Tergit und Sternit des Segmentes unter dem Binokular abgehoben werden. Damit war das Branchialorgan vollkommen isoliert. Da es von vielen Tracheenästen durchzogen ist, zeigte es sich bei der Präparation sehr widerstandsfähig. Es war nun zu beobachten, daß die Endschläuche zur Vergrößerung ihrer respiratorischen Oberfläche ein stark gewelltes Epithel besitzen; die respiratorische Fläche erfährt dadurch ungefähr eine Verdoppelung.

Zur Sichtbarmachung der inneren Struktur wurden Färbungen durchgeführt. Eine Vitalfärbung mit verdünntem Neutralrot, nachfolgendem Behandeln mit der üblichen Alkoholreihe zur langsamen Entwässerung und schließlicher Überführung in Cedernöl, um das Arbeiten mit der Ölimmersion zu ermöglichen, ließ die Anordnung der zahlreichen Kerne und ganz zart angedeutete Zellgrenzen erkennen. Die Epithelzellen selbst sind flach cylindrisch mit ziemlich großen, parallel zur Schlauchwand liegenden, abgeplatteten Zellkernen. Da letztere äußerst regelmäßig angeordnet sind, erscheint die Schlauchoberfläche bei schwächerer Vergrößerung gestreift. Der basale Abschnitt des Kiemenbüschels besitzt eine glatte Oberfläche (Abb. 1).

Die Messungen der Oberfläche des Branchialapparates ergaben:

Länge eines Kiemenbüschels: 0,5 mm.

Durchmesser des basalen Abschnittes: 0,046—0,054 mm (vor Aufzweigung).

Länge eines Endschlauches: 0,30 mm.

Durchmesser eines Endschlauches basal bis zur Spitze: 0,02 bis 0,007 mm.

Die Oberfläche eines Endschlauches beträgt daher durchschnittlich 0,0264 mm², wobei der Wert 0,0132 mm² der welligen Oberflächendifferenzierung eines Schlauches wegen verdoppelt ist.

Der Branchialapparat von *Helodes hausmanni* Gredler und von *Eubria palustris* L. besitzt eine im Verhältnis zur Körpergröße der Larve kleinere und vollkommen glatte Oberfläche. Die Larven dieser beiden Arten haben während ihrer ganzen Entwicklung ein am achten Abdominalsegment gelegenes Stigmenpaar zur Verfügung. Dieses ist befähigt, den Gasaustausch an der atmosphärischen Luft durchzuführen. Da die Stigmen unter Wasser aber geschlossen gehalten werden, erhalten die Larven durch die vorhandenen Analkiemien auch in diesem Medium eine Atmungsmöglichkeit.

Der Branchialapparat der *Eubria*-Larve besteht aus drei Tracheenkiemen und zwei Blutkiemen. Erstere verzweigen sich zweimal zu viel feineren Fäden, als dies bei der *Helmis*-Larve der Fall ist; die Blutkiemen sind unverzweigte Schläuche. Beide haben, wie später beschrieben wird, verschiedene Funktionen.

Die Analkiemien der *Helodes*-Larve bestehen nur aus fünf einfachen Schläuchen, die keine feinere Aufzweigung und äußere Differenzierung aufweisen.

Die beiden lateralen Kiemenbüschel der *Helmis*-Larve werden von je drei Endverzweigungen des paarigen dorsalen Längsstammes des Tracheensystems versorgt; in das dorsale Büschel treten zwei Tracheen ein, die ebenfalls aus den beiden dorsalen Längsstämmen entspringen (siehe *Beier* 1948, p. 157, fig. 13). Im

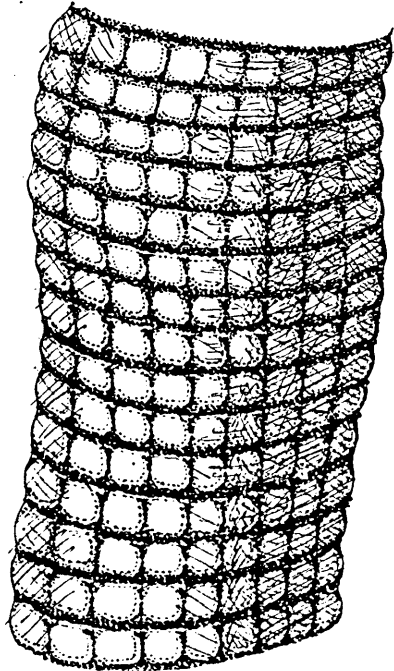


Abb. 1. Oberflächenstruktur eines Endschlauches der *Helmis*-Larve.

Basalteil jedes Kiemenbüschels erfolgt nun eine Aufzweigung der Tracheen in einzelne Äste, die in die Endschläuche führen. Um den Tracheenverlauf innerhalb der Endschläuche zu verdeutlichen, färbte ich wieder vital nach *Fischel* (1908) mit gutem Erfolg mit Alizarinblau in ganz schwach alkalischer Lösung. Es ergab sich folgende Feinstruktur: in jeden Endschlauch tritt ein Tracheen-

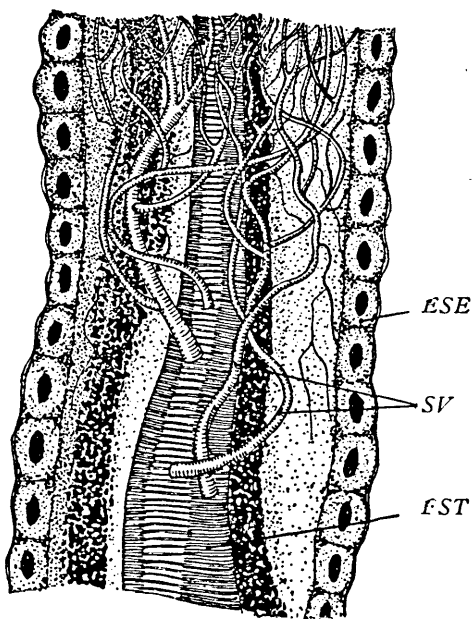


Abb. 2. Optischer Schnitt vom basalen Teil des Endschlauches. *ESE* = Endschlauchepithel, *EST* = Endschlauchtrachee mit Spiralstruktur, *SV* = Seitenverzweigung ohne Spiralstruktur.

zweig ein, der in seinem ganzen Verlaufe lange, dünne Ästchen abgibt, die sich wiederum teilen (Abb. 2). Erst im letzten Drittel des Endschlauches verästelt er sich vollständig. Bis dahin ist die Haupttrachee des Endschlauches mit Spiralstruktur versehen (Abb. 3). Die feineren und feinsten Verzweigungen besitzen eine glatte, dünne Wandung ohne Spiralstruktur. Nur diese feinen Tracheolen sind, wie später gezeigt werden soll, zur Sauerstoffaufnahme befähigt. Die allerfeinsten Tracheolen reichen bis an die Epithelzellen der Schlauchwandung heran und umspinnen diese. Sie treten also nicht in die Epithelzellen ein, sondern nur an diese heran.

Die Färbung mit Methylenblau hatte nicht so deutliche Effekte zu verzeichnen. Sichtbare Einzelheiten konnten nur das Gesamtbild ergänzen.

Der Durchmesser der Tracheen beträgt:

Durchmesser der Hauptschlauchtrachee: 0,011 mm.

Durchmesser des dünneren Seitenastes: 0,005 mm.

Durchmesser der feinen Verzweigung: 0,0007—0,001 mm.

Die Tracheolen, die an die Epithelzellen heranreichen, ergaben ihrer Feinheit wegen keine meßbaren Strecken.

Die *Eubria*-Larve besitzt in ihren Tracheenkiemen eine weitaus geringere Zahl von Tracheenästen (siehe *Beier* 1950). Da ja für das Branchialorgan dieser Larve eine zweimalige Aufspaltung in jeweils einem Punkte charakteristisch ist, führt in jede der ersten Schlauchverzweigungen nur eine Trachee mit Spiralstruktur, erst bei der zweiten Aufgabelung des Schlauches in die einzelnen Endfäden erfolgt eine Aufspaltung. Dort aber so, daß in jeden Endschlauch mehrere strukturlose Äste eintreten und verschlungen bis nahe an sein Ende verlaufen. Außerdem sind feinere Verzweigungen gegen die Wandung hin vorhanden, sodaß hier noch eine etwas intensivere Sauerstoffaufnahme erfolgen kann. Die beiden Blutkiemen sind vollkommen tracheenfrei, obwohl auch sie Ausstülpungen der Kloakaltasche sind.

Die *Helodes*-Larve hingegen besitzt, wie schon erwähnt, unverzweigte Schläuche mit wenigen Tracheenästen und nur hie und da lokal eine gewisse Konzentration an Tracheolen. Sie ist sehr lebhaft und gut beweglich, sodaß sie häufiger ihren Gasaustausch an atmosphärischer Luft durchführen kann. Ihr Branchialapparat hat also für die Unterwasseratmung geringe Bedeutung (siehe *Beier* 1949).

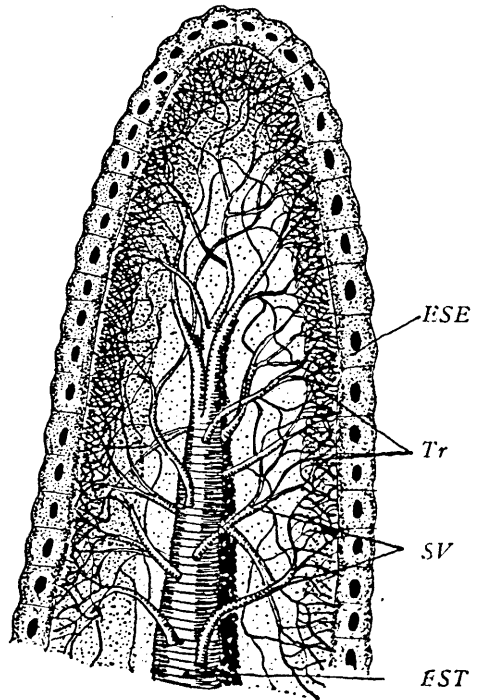


Abb. 3. Optischer Schnitt vom distalen Abschnitt des Endschlauches. *Tr* = Tracheolen, übrige Bezeichnungen siehe Abb. 2.

3. Funktion des Branchialorgans.

Die *Helmis*-Larve bedient sich zu ihrer Atmung allein ihres Branchialorgans; sie streckt es unter Wasser fast ununterbrochen hervor und zieht es nur zur Reinigung von anhaftenden Schmutz-

teilchen und bei Beunruhigung zeitweise ein. Die Funktion des Organs besteht in einer intensiven Sauerstoffaufnahme und Kohlendioxydabgabe. Es gelang experimentell, diese beiden Vorgänge sogar scharf lokalisiert und getrennt voneinander nachzuweisen; wie auch *Marcus* (1944, 1948, 1949) die Theorie einer anatomisch und physiologisch getrennt erfolgenden Sauerstoffversorgung und Kohlen-

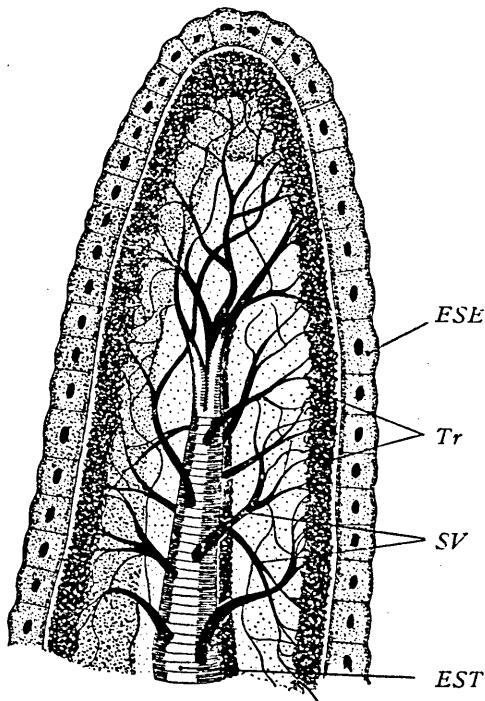


Abb. 4. Silberfärbung an dem Endschlauch der *Helmis*-Larve.

Bezeichnungen s. Abb. 2 und 3.

dioxydabgabe bei Landinsekten aufstellt. Versuche von *Krawany* (1935) an Trichopterenlarven, bei denen einerseits die Silberniederschlagsmethode und andererseits die Entfärbung kohlendioxydfreier Kalziumkarbonatlösung mit Phenolphthalein gefärbt angewendet wurden, erzielten auch bei der *Helmis*-Larve den gewünschten Erfolg. Die Silberniederschlagsmethode wurde allerdings für nicht ganz exakt erklärt, da auch Muskelansatzstellen die selbe Reaktion wie sauerstoffaufnehmende Stellen erzeugen. In unserem Falle ist jedoch die sauerstoffrezeperierende Zone nur auf das Branchialorgan beschränkt und dieses ist muskelfrei, sodaß der Silber-

niederschlag nur auf die Atmungstätigkeit zurückzuführen ist. Nachdem die Larven eine Viertelstunde in destilliertem Wasser waren, wurden sie in eine 1%ige Silbernitratlösung überführt. Es erfolgte durch die reduzierende Wirkung der atmenden Zellen eine Silberfällung. Aus dem einfach positiven Silberion (Ag^+) entstand metallisches Silber (Ag). Eine deutliche Schwärzung erfolgte nur an den Endschläuchen, wogegen die basalen Teile der Kiemenbüschel hell blieben. Sehr intensiv trat diese Reaktion nahe den Epithelzellen der Endschläuche auf, dort findet die stärkste

Sauerstoffabnahme statt. Daneben sind alle Tracheolen und feineren Tracheenverzweigungen dunkel gefärbt. Allein die Haupttrachee des Endschlauches, deren Spiralstruktur ich vorher schon erwähnte, blieb hell. Sie ist ihrer stärkeren Oberflächenstruktur wegen zur Sauerstoffabsorption ungeeignet, ihr kommt allein die Funktion des Gastransportes zu (Abb. 4).

Obige Versuche, bei der *Eubria*-Larve angewendet, ergaben nur eine Schwärzung der Endschläuche der drei Tracheenkiemen,

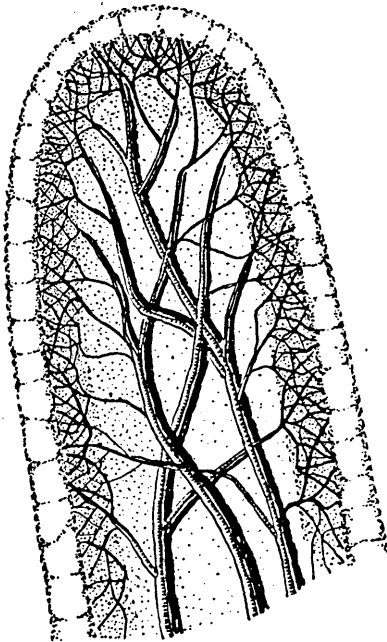


Abb. 5. Silberfärbung an dem Endschlauch der *Eubria*-Larve.

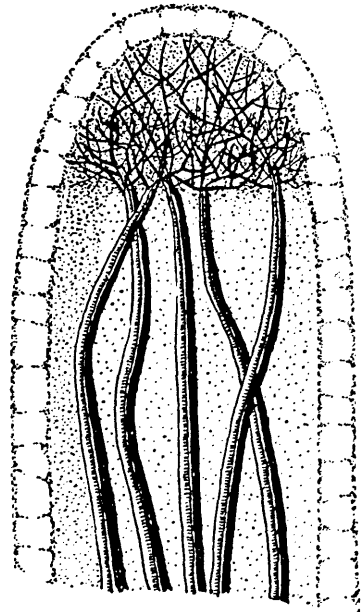


Abb. 6. Silberfärbung an dem Kiemenschlauch der *Helodes*-Larve.

die Blutkiemen wurden von der Silberfärbung nicht erfaßt. Der Silberniederschlag war wieder nur auf den dünnwandigen Tracheolen der Endschläuche festzustellen (Abb. 5). Feinste Endverzweigungen gegen die Epithelzellen sind hier seltener. Diese Beobachtungen konnten nur nach Abtrennung des Branchialapparates durchgeführt werden, da die Endfäden einen sehr kleinen Durchmesser haben und ständig bewegt werden. Die Silberanfärbung geschah natürlich noch am lebenden Tiere.

Versuche an der *Helodes*-Larve in dieser Richtung erzielten nur eine ganz geringe Schwärzung. Es erfolgte eine leichte Bräunung auf der gesamten sichtbaren Oberfläche der fünf Schläuche, nur im letzten Drittel der distalen Abschnitte wurde ein ganz dunkles Band sichtbar. Es sind dies die Stellen, wo die letzten feinen Verzweigungen der Tracheen auftreten, die ja, wie bei den übrigen Larven schon gezeigt wurde, zur Sauerstoffaufnahme stark prädestiniert sind (Abb. 6).

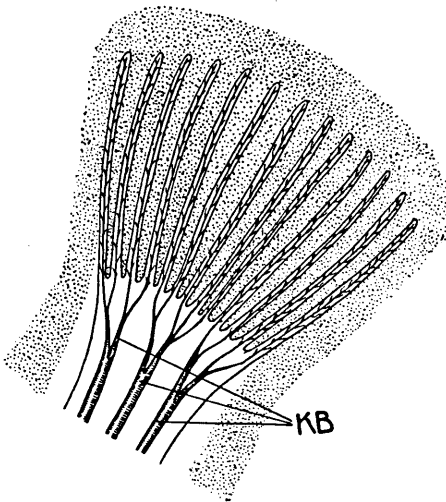


Abb. 7. Entfärbung von CO_2 -freiem Leitungswasser, mit Phenolphthalein gefärbt, an dem Branchialapparat der *Helmis*-Larve.

Um die Kohlendioxidabgabe zu lokalisieren, verwendete *Krawany* (1935) eine konzentrierte Lösung von Kalziumkarbonat, die er mit einer 1%igen alkoholischen Lösung Phenolphthalein so lange kochte, bis die gesamte Lösung infolge Kohlendioxidschwund intensiv rot gefärbt erschien; damit durchmischte er Agar-Agarlösung, sodaß er ein weiches Einbettungsmedium in Form einer Gallerte für seine Larven zur Verfügung hatte. Damit die nicht so widerstandsfähigen *Helminen*-Larven in ihrem normalen Biotop entsprechendes Medium erhielten, mußten die Versuchsbedingungen dahingehend geändert werden, daß statt mit ausgekochter Kalziumkarbonatlösung mit Leitungswasser und Phenolphthalein als Indikator experimentiert wurde. Es gelang auch nicht, die Larven zur leichteren Beobachtung in einer Gallerte zu fixieren, weil sie zum Unterschied von den Trichopterenlarven ein retraktiles Branchialorgan besitzen und die Tiere in dem ihnen ungewohnten und unbequemen Medium sofort ihre Analklappe schlossen. Unter den so geänderten Bedingungen erschien längs der basalen Abschnitte der drei Kiemenbüschel bei der Larve von *Helmis maugei* und *Riolus cupreus* eine deutliche Entfärbung des sie umgebenden, roten Mediums (Abb. 7). Da keine Schwarzfärbung an diesen Stellen mit Silbernitrat erfolgt und hier außerdem auch keine weiteren Tra-

...

cheenverzweigungen — außer der mit Spiralstruktur versehenen Haupttrachee — vorhanden sind, ist die Abgabe des Kohlendioxyds an diesen Teilen des Organs anzunehmen.

An anderen Körperstellen verliefen diese Reaktionen negativ, sodaß der Gasaustausch nur über den Branchialapparat erfolgen kann. Das Integument dieser Larven ist auch derartig chitinös und derb sklerotisiert, daß eine Hautatmung ganz ausgeschlossen ist.

Ähnlich wie bei der *Helmis*-Larve tritt der Entfärbungseffekt auch bei der *Eubria*-Larve auf, wo die Entfärbung des Phenol-

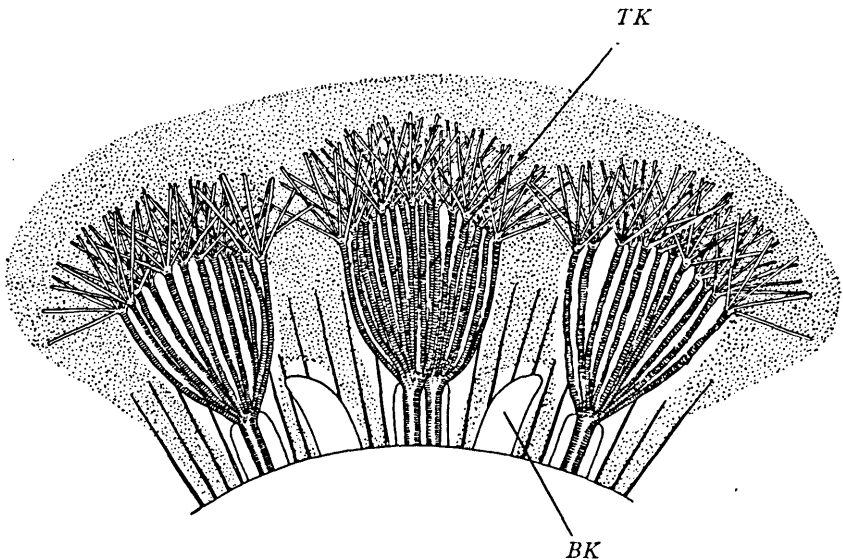


Abb. 8. Entfärbung bei dem Branchialorgan der *Eubria*-Larve.
TK = Tracheenkieme, BK = Blutkieme.

phtalein in der Umgebung der Basis des Branchialorgans bis zur Abzweigung der Endschläuche zu beobachten ist und also auch an Schläuchen des mittleren Organteiles erfolgt, die ja nur Tracheenäste spiraliger Natur aufweisen. Sehr deutlich zeigt sich jedoch die Reaktion um die Blutkiemen herum (Abb. 8), sodaß diese wahrscheinlich ausschließlich der Kohlendioxydabgabe dienen. Es ist bei ihnen außerdem auch keinerlei der Oberflächenvergrößerung dienende Differenzierung vorhanden, was ja, da Kohlendioxyd begierig vom umgebenden Wasser an sich gerissen wird, prinzipiell nicht nötig ist.

Bei der *Helodes*-Larve war eine diesbezügliche Beobachtung nicht möglich, weil die Tiere in ihren Bewegungen zu flink sind.

Da hier an den Schläuchen nur eine sehr schwache Sauerstoffaufnahme festzustellen war und diese in ihrer glatten Wandung auch keine Oberflächenvergrößerung erstreben, ist anzunehmen, daß sie hauptsächlich der Kohlendioxydabgabe dienen. Diese Annahme erhärtet sich umso mehr, als die Larven, wenn man sie unter Wasser hindert, ihr Branchialorgan in Tätigkeit zu setzen, an Selbstvergiftung sehr rasch zugrunde gehen, viel früher, als es der Verbrauch des durch die Stigmen aufgenommenen und in den geräumigen Luftschläuchen unter Wasser mitgenommenen Sauerstoffvorrates, erklären würde.

Parallel dazu hat nach *Alsterbergs* Versuchen (1934) auch der Branchialapparat der Syrphidenlarven nur kohlendioxydabsondernde Funktion.

4. Qualitative und quantitative Zusammensetzung der Tracheenluft.

Um die qualitative und quantitative Zusammensetzung der im Tracheensystem der *Helmis*-Larve vorhandenen Atemgase festzustellen, wurde der Inhalt der Tracheenblasen der Larven des letzten Entwicklungsstadiums geprüft. Die Larve wurde zu diesem Zwecke unter Glycerin geöffnet, damit während der Dauer des Experimentes kein Mediumwechsel stattfindet, und ihr der Teil des Tracheensystems entnommen, an dem die Blasen sitzen. Wie schon eingangs erwähnt, arbeitete ich mit der Apparatur von *Schwarz* zur Analyse von Gasmenngen unter 1 mm³ Volumen. Diese Methode beruht auf der Absorption von Kohlendioxyd und Sauerstoff durch 25%ige Kalilauge, bzw. Pyrogalllösung in schwach angesäuertem Glycerin als Medium. Der Gang der Analyse ist folgender: nach Füllung des Analysentrogens und der Absorptionspipetten wird eine Tracheenblase unter die Analysenbrücke gebracht, wo sie mittels einer kleinen, gebogenen Flachnadel durch Druck gegen das Glas zerquetscht wird. Es entweichen mehrere Gasblasen, von denen die größte, zur Analyse ausgewählte in die Mitte der Brücke geschoben wird, die übrigen entfernt man aus dem Blickfeld. Zuerst wird die Kohlendioxydabsorption durchgeführt. Die mit Rosolsäure gefärbte Kalilauge, die man langsam zufließen läßt, bildet einen roten Ring; dieser dient zur Kontrolle, daß die Kalilauge auch wirklich die Möglichkeit hatte, einzuwirken. Die Reaktion ist in ein paar Minuten beendet. Hierauf läßt man aus einer zweiten

Pipette alkalische Pyrogallollösung zufließen, bis sich um die Blase nun ein tiefbrauner Ring und Hof bildet. Diese Absorption dauert, da sie in Glycerin erfolgen muß, ungefähr eine Viertelstunde bis 20 Minuten. Die jeweils am Meßokular abgelesenen Teilstriche der drei Blasendurchmesser ermöglichen die Errechnung der einzelnen prozentuellen Gasanteile.

Nach Testversuchen mit atmosphärischer Luft und menschlicher Atemluft, die die Brauchbarkeit der Methode ergaben, wurden zunächst Versuche an frischgefangenen Larven durchgeführt. Dann hielt ich diese in hohlgeschliffenen Objektträgern mit Deckglas unter Wasser ohne Möglichkeit einer Lufterneuerung während des Versuchs. Die Experimente erstreckten sich bei verschiedenen Temperaturen auf verschiedene Zeiträume. Unter Zugrundelegung

$$\text{der beiden Formeln: } \% \text{ CO}_2 = \frac{D_2^3 - D_1^3}{D_1^3} \cdot 100$$

$$\% \text{ O}_2 = \frac{D_3^3 - D_2^3}{D_1^3} \cdot 100$$

D_1 ... normaler Blasendurchmesser,

D_2 ... Blasendurchmesser nach CO_2 -Absorption,

D_3 ... Blasendurchmesser nach O_2 -Absorption

ergaben diese Messungen bei frischgefangenen Larven folgende Werte:

$\% \text{ CO}_2$: 8,96; $\% \text{ O}_2$: 36,84; $\% \text{ Restgas}$: 54,37;

Messungen bei Tieren, die bei einer konstanten Temperatur von $12,2^\circ \text{C}$ gehalten wurden:

nach	$\frac{1}{4}$ h	$\% \text{ CO}_2$: 8,43;	$\% \text{ O}_2$: 37,20;	$\% \text{ Restgas}$: 54,37;
„	$1\frac{1}{4}$ h	$\% \text{ CO}_2$: 10,90;	$\% \text{ O}_2$: 34,00;	$\% \text{ „}$ 55,10;
„	$1\frac{1}{2}$ h	$\% \text{ CO}_2$: 12,52;	$\% \text{ O}_2$: 32,57;	$\% \text{ „}$ 54,91;
„	2 h	$\% \text{ CO}_2$: 13,32;	$\% \text{ O}_2$: 31,95;	$\% \text{ „}$ 54,73;
„	$2\frac{1}{4}$ h	$\% \text{ CO}_2$: 14,30;	$\% \text{ O}_2$: 31,31;	$\% \text{ „}$ 54,39;
„	3 h	$\% \text{ CO}_2$: 20,75;	$\% \text{ O}_2$: 24,59;	$\% \text{ „}$ 54,66;

Messungen bei Larven, die bei einer konstanten Temperatur von $20,8^\circ \text{C}$ (Zimmertemperatur im Sommer) gehalten wurden:

nach	$\frac{1}{2}$ h	$\% \text{ CO}_2$: 13,02;	$\% \text{ O}_2$: 31,00;	$\% \text{ Restgas}$: 55,98;
„	1 h	$\% \text{ CO}_2$: 18,70;	$\% \text{ O}_2$: 25,72;	$\% \text{ „}$: 55,58;
„	$1\frac{1}{2}$ h	$\% \text{ CO}_2$: 21,70;	$\% \text{ O}_2$: 23,25;	$\% \text{ „}$: 55,05;
„	2 h	$\% \text{ CO}_2$: 24,38;	$\% \text{ O}_2$: 19,80;	$\% \text{ „}$: 55,82;
„	$2\frac{1}{2}$ h	$\% \text{ CO}_2$: 28,36;	$\% \text{ O}_2$: 16,64;	$\% \text{ „}$: 55,00;

Messungen, die bei einer konstanten Temperatur von 22° C durchgeführt wurden, ergaben:

nach ½ h	% CO ₂ : 17,00;	% O ₂ : 27,77;	% Restgas: 55,23;
„ 1 h	% CO ₂ : 19,98;	% O ₂ : 25,00;	% „ : 55,02;
„ 1½ h	% CO ₂ : 22,02;	% O ₂ : 23,07;	% „ : 54,91;
„ 2 h	% CO ₂ : 24,28;	% O ₂ : 20,90;	% „ : 54,82;

Abb. 9 und 10 veranschaulichen obige Werte im Kurvenverlauf. Es ist deutlich zu erkennen, welche große Abhängigkeit die Zusammensetzung der Tracheenluft von der Temperatur hat. Der Kohlendioxydanstieg erfolgt bei den verschiedenen Temperaturen praktisch parallel, nur sind die Werte bei höherer Temperatur wesentlich größer als bei den tieferen Temperaturen zu den gleichen Versuchszeiten.

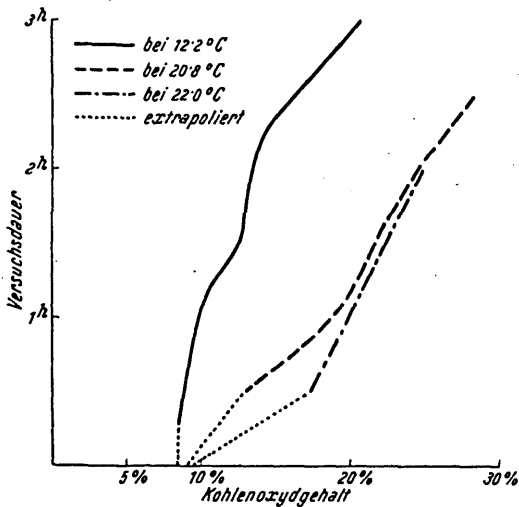


Abb. 9. Graphische Darstellung des Kohlendioxydanstiegs der Tracheenluft unter Variation von Temperatur und Versuchsdauer.

Das erste Temperaturintervall von t_1 (Temperatur bei der 1. Versuchsbedingung) zu t_2 (Temperatur bei der 2. Versuchsbedingung) ist wohl höher als der von t_2 zu t_3 (Temperatur bei der 3. Versuchsbedingung), es beträgt ungefähr das Dreifache. Doch sind, wie der Kurvenverlauf zeigt, die Werte bei t_3 nicht ihrer höheren Versuchstemperatur entsprechend, sondern liegen näher an der Kurve, die die Ergebnisse bei t_2 veranschaulicht. Es scheinen die beiden Temperaturen t_2 und t_3 schon in der Nähe der Letaltemperatur der Larven zu liegen, sodaß viel höhere Kohlendioxydgehalte nicht mehr wahrscheinlich sind.

Die Sauerstoffkurve zeigt eigentlich denselben Effekt, bloß in reziprotem Sinne. Die Kurve bei 22° weist eine Überschneidung mit der von 20,8° auf. Diese Unregelmäßigkeit läßt folgende Deu-

zung zu: die längere Versuchsdauer bei erhöhter Temperatur bedingt einen starken Sauerstoffschwund im umgebenden Medium a) durch die intensivere Atmung, b) durch den Luftabschluß. Die Tiere reduzieren nun ihre innere Atmung, was ja auch das völlige Einmünden der Kohlendioxydkurve von t_3 in t_2 veranschaulicht. Über den Vergleich der Atmungsintensität zur Temperatur wird im nächsten Kapitel berichtet.

Bemerkenswert ist die quantitative Gaszusammensetzung der Tracheenluft. Der Sauerstoffgehalt der eben frisch ihrem Biotop

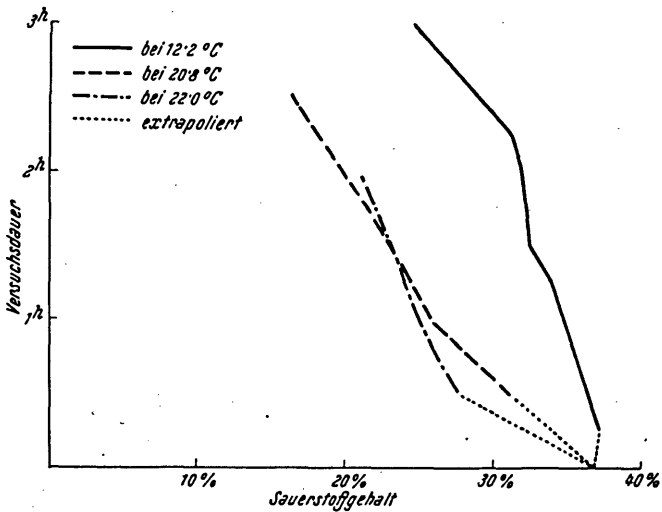


Abb. 10. Graphische Darstellung der Sauerstoffabnahme der Tracheenluft unter Variation von Temperatur und Versuchsdauer.

entnommenen Larven, der durchschnittlich um 36% beträgt, ist ja annähernd dem Prozentgehalt des im umgebenden Medium-Wasser von ungefähr 8° C gelösten Sauerstoffs gleich. Nun ist aber zu beachten, daß der im Wasser gelöste Sauerstoff bei einem einfachen Diffusionsvorgang im Atemgas der Tracheen nach dem Gesetz des Gleichgewichts der Gasverteilung wiederum im prozentuellen Wert des Luftgemisches auftreten müßte, also nur 21% betragen dürfte. der gefundene hohe Sauerstoffgehalt von 36% muß wohl durch eine chemische Reaktion im Branchialorgan hervorgerufen werden. Hierauf wird im nächsten Kapitel näher eingegangen.

Der Kohlendioxydgehalt von durchschnittlich 8% des vorhandenen Gases bei frisch gefangenen Larven erklärt sich ohne weiteres daraus, daß dieses Gas nach im Körper durchgeführtem Abbau nicht genügend rasch an das umgebende Medium abgegeben werden kann.

Den Verlust an Stickstoff gegenüber den 79% der atmosphärischen Luft auf 55% erzeugt die Larve notwendigerweise selbst, da sie, wie schon gesagt, die Möglichkeit besitzt, einen höheren Sauerstoffgehalt, als ihr rein physikalisch zusteht, zu erlangen.

Ähnliche Befunde wurden übrigens auch bei Fischen festgestellt, wo man in der Schwimmblase Sauerstoffwerte von 20 bis 80% und Stickstoffwerte von 40 bis 70% fand (*Winterstein* 1921). Dies soll hier nach *Jacobs* (1930) durch eine Gasdrüse, die Kohlendioxyd in das Blut abscheidet und dadurch eine erhöhte Abspaltung von Sauerstoff vom Oxyhämoglobin bewirkt, hervorgerufen werden. Da das Blut der Insekten aber kein Hämoglobin enthält, ist die obige Theorie hier nicht anwendbar.

Mit meinen zahlenmäßigen Angaben über den Prozentgehalt der einzelnen Gasanteile der Tracheenluft ist nun auch die Frage nach der qualitativen Zusammensetzung derselben bei branchiopneustischen Larven, die bis jetzt völlig unbekannt war, gelöst.

5. Ablauf der Atmungsvorgänge.

Physiologisch habe ich mich nur mit den Atmungsvorgängen der Larven von *Helmis maugei* und *Riolus cupreus* beschäftigt, da sie allein unter den von mir beobachteten Insektenlarven über ein geschlossenes Tracheensystem verfügen und daher von besonderem Interesse waren. Die nun beschriebenen theoretischen Überlegungen, die als Grundlage die erzielten Versuchsergebnisse beinhalten, versuchen die physiologischen Vorgänge der äußeren Atmung zu deuten.

Das für das Tier notwendige Atemgas tritt mittels Diffusion in die Epithelzellen der Endschlauchwandungen ein. Es muß dieser Vorgang nur durch ein einfaches Diffusionsgefälle erfolgen, da ich mit Silbernitrat auf den Epithelzellen selbst keinerlei Schwärzung erhielt und hier also auch keinerlei stark reduzierende Substanz vorhanden sein kann. Nun tritt das hineindiffundierte Gasgemenge, das nach meiner Annahme noch den Prozentgehalt des in Wasser gelösten Sauerstoffs, ungefähr 36% enthält, in die

Körperflüssigkeit (Blut) über, von der es noch im gelösten Zustande zu den Tracheolen und feinsten Endverzweigungen der Tracheenäste befördert wird. Erst hier tritt an der Grenze zwischen flüssigem und festem Medium eine intensive chemische Reaktion ein, die sich durch eine sehr starke Schwärzung bei der Silbermethode dokumentiert. An diesen Stellen muß auch die Sauerstoffanreicherung, die ich in dem Sauerstoffgehalt der Tracheenblasen als vollzogenen Vorgang beobachtete, in das Tracheensystem hinein erfolgen. *Krogh* (1919), der über den Gastransport in geschlossenen Tracheensystemen arbeitete, nimmt auch bei diesem Spezialfall der Tracheenatmung nur eine Diffusion an. Er hatte aber keine chemische Analyse der Tracheenluft durchgeführt.

Buddenbrocks Ausführungen (1939, p. 577) ließen die Vermutung aufkommen, daß auch bei diesem Vorgang das Eisen, eingebaut in komplizierte organische Verbindungen, eine katalytische Wirkung ausüben könnte. Diese Annahme sollte durch die Ausführung der Berlinerblaureaktion gestützt werden. Tatsächlich war eine blaue Färbung in den normal fast farblosen Endschläuchen an der Peripherie deutlich zu erkennen.

Warburg (1914) beschrieb nun das Vorhandensein von zweiwertigem Eisen, das als beschleunigender Katalysator an dem Atmungs Vorgang beteiligt ist. *Buddenbrock's* Abhandlung über die Zellatmung erklärt die Annahme eines eisenhaltigen *Warburg'schen* Atemfermentes, das ein häminhaltiger Körper ist, als durchaus stichhältig. Der aufgenommene Sauerstoff verändert die Valenz des Fermenteisens von Fe_2 zu Fe_3 , was einem Oxydationsvorgang gleichkommt. Bei der Reduktion Fe_3 zu Fe_2 wird der freiwerdende Sauerstoff auf weitere Fermente übertragen. In unserem Falle ist nun die Annahme möglich, daß bei den zuerst geschilderten oxydativen Vorgängen über den Weg von Wasserstoffperoxyd Sauerstoff abgespalten und damit wieder elementar frei wird. Da der hohe Sauerstoffgehalt der Tracheenluft der *Helmis*-Larve aber unbedingt eine vorausgehende Anreicherung infolge chemischer Bindung verlangt, wäre diese Theorie bei den Zellen der Tracheolenwandungen anwendbar. Die Larven hätten damit die Möglichkeit, die gesamte ihnen zur Verfügung stehende Sauerstoffmenge verwerten zu können.

Nachdem nun der freigewordene und in seinem prozentuellen Anteil an der Gesamtmenge des Atemgases angereicherte Sauer-

stoff in das Lumen der Tracheolen eingetreten ist, gelangt er durch die spiralleistig verdickten Leitungstracheen aus dem Branchialapparat in das eigentliche Körpertracheensystem.

Der Sauerstoff diffundiert nun in die Epithelzellen der Branchialschläuche in dem Maße wieder nach, als ihn der Körper verbraucht; es entsteht ein gewisses Diffusionsgefälle, das die Larven während ihrer gesamten Entwicklung zur Atemgasversorgung nötig haben.

Die Kohlendioxydabscheidung muß von der Körperflüssigkeit bewältigt werden, da die Austrittsstellen des Kohlendioxyds nur dort zu finden sind, wo entweder allein dicke, mit Spiralleisten versehene Tracheenäste (Basis der Tracheenkiemen von *Helmis* und *Eubria*) oder überhaupt keine (Blutkiemen von *Eubria*) vorhanden sind. Die mit chitiniger Wand versehenen Tracheenäste sind ihrer Oberflächenstruktur wegen nicht zur Sauerstoffaufnahme geeignet, doch läßt ihre semipermeable Wandung Kohlendioxyd in das Blut hindurchdiffundieren, aus dem es, vereinigt mit dem aus den Geweben sofort in das Blut abgeschiedenen Kohlendioxyd, an der Basis des Branchialorgans vom umgebenden Wasser begierig an sich gerissen wird. Der Abschnitt der Kiemenschläuche, der nur mehr feine, dünne Tracheenäste aufweist, ist wohl praktisch schon kohlendioxydfrei.

Vergleichsweise erfolgt die Einatmung bei den Syrphidenlarven, die ein offenes Tracheensystem besitzen, nach *Alsterberg* (1934) nur durch Unterdruck von 0,46 Atm., die Kohlendioxydabsonderung allerdings auch hier zur Hauptsache durch den Branchialapparat.

Der experimentell gefundene, absolute Sauerstoffverbrauch der *Helmis*-Larve in gewissen Zeiteinheiten konnte das Bild über die Atmung dieser Larven noch in interessanter Weise ergänzen. Die *Winkler*'sche maßanalytische Methode zur Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffs ermöglichte die Feststellung des Sauerstoffverbrauchs. Die Ausführung der Analysen erfolgte in kleinen Schliffflaschen von 10 bis 13 ccm Inhalt. Zur Schaffung einer Versuchsbasis wurden zuerst Sauerstoffbestimmungen des als Medium benützten Leitungswassers durchgeführt; dieser Sauerstoffgehalt betrug: 10,29 mg bzw. 10,31 mg. Bei den Versuchen wurden je zehn Larven in eine Flasche gesetzt und Versuchsdauer und Temperatur variiert. Besonders durch die Variation der Tem-

peratur tritt die Abhängigkeit der Atmungsintensität von ihr sehr deutlich hervor, wie das nach der *Van't Hoff'schen* Regel zu erwarten war. Nach dieser Regel erhöht sich nämlich der Sauerstoffverbrauch bei der tierischen Atmung bei einer Temperaturerhöhung um 10° um das Zwei- bis Dreifache. Meine Versuche ergaben nach der Formel $x = \frac{1000 \cdot 0,04 \cdot n}{V - 0,2}$, wobei x den Sauerstoffgehalt in mg pro Liter und V den Volumsinhalt der Versuchsfäschchen bedeuten, folgende Werte:

I. bei einer konstanten Temperatur von 13° C.

Versuch Nr. 1:	Versuch Nr. 2:
nach 1 h: $x = 9,45$ mg O_2	$x = 9,44$ mg O_2
nach 2 h: $x = 9,22$ mg O_2	$x = 9,26$ mg O_2
nach 3 h: $x = 9,08$ mg O_2	$x = 9,05$ mg O_2

Sauerstoffverbrauch der zehn Versuchstiere:

nach 1 h: $d_1 = 0,85$ mg O_2	
„ 2 h: $d_2 = 1,16$ mg O_2	$d_2 - d_1 = 0,21$ mg O_2
„ 3 h: $d_3 = 1,24$ mg O_2	$d_3 - d_2 = 0,18$ mg O_2

II. Konstante Temperatur von 23° C.

nach 1 h: $x = 8,54$ mg O_2	$x = 8,50$ mg O_2
„ 2 h: $x = 8,09$ mg O_2	$x = 8,09$ mg O_2
„ 3 h: $x = 7,95$ mg O_2	$x = 8,03$ mg O_2

Sauerstoffverbrauch der zehn Versuchstiere:

nach 1 h: $d_I = 1,78$ mg O_2	
„ 2 h: $d_{II} = 2,21$ mg O_2	$d_{II} - d_I = 0,43$ mg O_2
„ 3 h: $d_{III} = 2,31$ mg O_2	$d_{III} - d_{II} = 0,10$ mg O_2

Um richtige Werte zu erlangen, mußten die Versuchsfäschchen in kurzen Zeitabständen geschüttelt werden, damit die Tiere durch den von ihnen gebildeten Kohlendioxydhof nicht am Sauerstoffverbrauch gehindert werden konnten. Die Larven bewegen sich gemäß ihrem natürlichen Biotop nicht wesentlich.

An Hand der Kurven — Abb. 11 — und der Werte d_1 bis d_3 und d_I bis d_{III} ist nun tatsächlich eine Übereinstimmung mit der *Van't Hoff'schen* Regel leicht festzustellen. Die zehn Larven verbrauchen nämlich bei einer Versuchstemperatur von 23° C ungefähr die doppelte Sauerstoffmenge als die bei 13° C gehaltenen. An den Differenzen zwischen den einzelnen Versuchszeiten bei beiden Temperaturen und den Kurven ist außerdem sichtbar, daß auch die

äußere Atmung bei längerer Versuchsdauer systematisch nachläßt; ein besonderer Abfall ist bei der höheren Temperatur und der längsten Versuchszeit festzustellen, die Tiere scheinen hier organisch schon sehr angegriffen zu sein.

Aus den gewonnenen relativen Werten, umgerechnet in den absoluten Sauerstoffverbrauch einer Larve in der ersten Stunde, die wegen der Frische der Larven als maßgebend angenommen wurde,

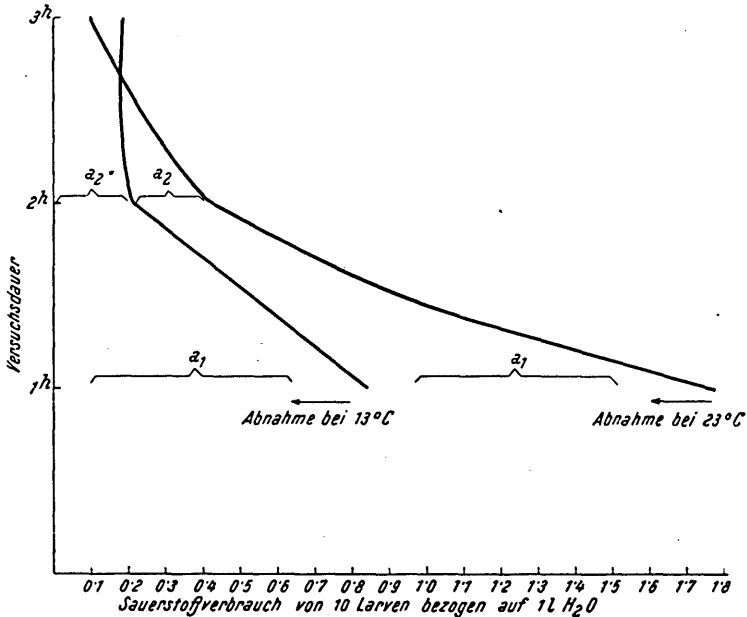


Abb. 11. Graphische Darstellung des Sauerstoffverbrauchs von je 10 Larven bei 13° und 23° Cels. bezogen auf 1 Liter Wasser.

und bei der dem Tier im natürlichen Milieu gebotenen Temperatur, die ungefähr der von mir angewendeten niedrigeren Versuchstemperatur entspricht, ergaben sich nachstehende Schlußfolgerungen:

Wie schon im zweiten Kapitel errechnet, beträgt die Oberfläche eines Endschlauches des Branchialorgans von *Helmis* 0,0264 mm². Da bei den erwachsenen Larven an jedem der beiden lateralen Kiemenbüschel meist dreizehn und am dorsalen Kiemenbüschel etwa acht Endschläuche vorhanden sind, ergibt sich eine Zahl von insgesamt 34 der Sauerstoffaufnahme dienenden Endschläuchen. Die gesamte sauerstoffaufnehmende Fläche des Branchialorgans beträgt daher $0,0264 \cdot 34 = 0,90$ mm². Diese Fläche be-

werkstelligt eine Sauerstoffaufnahme während einer Stunde, im absoluten Verbrauchswert angegeben, von 0,001 mg oder als Volumen ausgedrückt 0,7 mm³. 1 mm² Branchialepithel ist daher befähigt, ungefähr 0,011 mg oder 0,77 mm³ Sauerstoff aufzunehmen.

Zieht man zum Vergleich die menschliche Lunge heran, so findet man, daß hier 1 mm² Lungenoberfläche ungefähr 0,0107 mg oder 0,75 mm³ Sauerstoff bei normaler Beanspruchung in einer Stunde aufzunehmen imstande ist. Angenommen wurde hiebei eine Lungenoberfläche von 90 m² und ein Sauerstoffverbrauch von 67.500 cm³ in der Stunde bei einer durchschnittlichen Körperbeanspruchung. Der Vergleich der Leistungsfähigkeit des Branchialorgans der branchiopneustischen Käferlarven gegenüber dem menschlichen Lungengewebe zeigt zahlenmäßig annähernd das gleiche Vermögen zur Sauerstoffaufnahme.

Bei der Annahme eines menschlichen Körpervolumens von 50 dm³ und dem larvalen von 1,5 mm³ ergibt ein Vergleich des Sauerstoffverbrauchs von 1 mm³ Körpergewebe pro Stunde folgende Werte: 1,35 mm³ Sauerstoff für den Menschen und 0,47 mm³ Sauerstoff für die Larve. Die Gewebsatmung ist also beim Menschen als Warmblütler intensiver als bei der Larve; ihr Wert sinkt allerdings bei völliger Ruhe des menschlichen Organismus bis zu einem Sauerstoffverbrauch von 0,40 mm³.

6. Zusammenfassung.

Vorliegende Arbeit behandelt die atmungsphysiologischen Vorgänge bei branchiopneustischen Insektenlarven. Es wurden Versuche an Larven von *Helmis maugei acnea* Müll. und *Riolus cupreus* Müll. durchgeführt. Als Vergleichsmaterial dienten Larven von *Helodes hausmanni* Gredler und *Eubria palustris* L.

Der Branchialapparat der Larven wird auf Grund morphologischer und histologischer Untersuchungen beschrieben. Als besonders wichtige histologische Ergebnisse sind hervorzuheben: die wellige Oberflächenstruktur der Endschläuche, die Anordnung der Epithelzellen und ihrer Kerne sowie die Art der Tracheolenverzweigungen in den Endschläuchen.

Die Branchialoberfläche wurde in ihrer Gesamtheit und in ihren Einzelheiten meßtechnisch erfaßt.

Mittels chemischer Reaktionen wurden die Sauerstoffaufnahme und die Kohlendioxydabgabe als lokalisierte, voneinander

räumlich getrennte Vorgänge festgestellt. Bei den Helminen-Larven dient die Basis des Branchialorgans, die nur Tracheen mit Spiralstruktur, aber keine Tracheolen enthält, ausschließlich der Kohlendioxydabgabe, ebenso die Blutkiemen der *Eubria*-Larve. Die dünnen Endschläuche mit ihren feinen Tracheolen ohne Spiralstruktur besorgen hingegen nur die Sauerstoffaufnahme.

Die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Tracheenluft wurde mit Hilfe der Mikrogasabsorptionsmethode nach Schwarz ermittelt.

Basierend auf den Erkenntnissen, die durch morphologische Beobachtungen und chemische Analysen und Reaktionen gewonnen wurden, wird der wahrscheinliche Ablauf der Atmungsvorgänge beschrieben.

Der Verlauf der Atmung bei verschiedenen Temperaturen beweist die Abhängigkeit der Atmungsintensität von der Temperatur. Bei einer Erhöhung der Temperatur um 10° C wird innerhalb der möglichen Grenzen der Sauerstoffverbrauch ungefähr verdoppelt.

Zuletzt zeigt ein Vergleich zwischen der zur Einatmung dienenden menschlichen Lungenoberfläche und der Tracheenkiemenoberfläche der branchiopneustischen Larven, in Gegenüberstellung der beiden Leistungsvermögen, eine recht beachtenswerte Aktivität der larvalen Branchialflächen, die derjenigen der menschlichen Lunge gleichkommt.

Literatur.

- Alsterberg, G.*: Beiträge zur Kenntnis der Anatomie und Biologie der limnophilen Syrphidenlarven. — Biol. Centralbl. 54, 1934, p. 1—20. — *Beier, M.*: Zur Kenntnis von Körperbau und Lebensweise der Helminen (Col. Dryopidae). — Eos 24, 1948, p. 123—211; Körperbau und Lebensweise der Larve von *Helodes hausmanni* Gredler. — Eos 25, 1949; Zur Kenntnis der Larve von *Eubria palustris* L. (Col. Dascillidae). — im Druck. — *Buddenbrock, W.*: Grundriß der vergleichenden Physiologie. — Bd. 2, Berlin 1939. — *Fischel, A.*: Untersuchungen über vitale Färbungen an Süßwassertieren. — Int. Rev. ges. Hydrobiol. u. Hydrogr. 1, 1908, p. 73—141. — *Jacobs, W.*: Untersuchungen zur Physiologie der Schwimmblase der Fische. — Z. vergl. Physiol. 11, 1930. — *Krawany, H.*: Trichopterenstudien. — Int. Rev. ges. Hydrobiol. u. Hydrogr. 32, 1935, p. 241—264. — *Krogh, A.*: Studien über die Tracheenrespiration. — Pflüger's Archiv f. ges. Physiol. 179, 1920, p. 95—120. — *Marcus, H.*: La respiration de las hormigas. — Acta Zool. Lilloana 2, 1944; Sobre la respiracion de las Atecelerata. — Rev. Agricult., Cochabamba 3, 1945; Eine neue Theorie über die Atmung der Insekten. — Anz. Schädlingkunde, 21, 1948, p. 76—78. — *Schwarz, H.*: Mikrogasanalyse und ihre Anwendung. — Wien u. Leipzig 1935. — *Warburg, O.*: Über die Rolle des Eisens in der Atmung des Seeigels. — Z. physiol. Chem. 92, 1914, p. 231. — *Winterstein, H.*: Handbuch der vergleichenden Physiologie. — 1, II, Jena 1921.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Österreichische Zoologische Zeitschrift](#)

Jahr/Year: 1950

Band/Volume: [02](#)

Autor(en)/Author(s): Metzky Ingeborg

Artikel/Article: [Morphologie und Physiologie des Branchialorgans der Helminenlarven. 585-604](#)