



HAL
open science

**PHYSIOLOGISCHE UND OKOLOGISCHE
UNTERSUCHUNGEN AN EINEM HYDROPHILIDEN
AUS HYPERHALINEN GEWASSERN (BEROSUS
SPINOSUS STEPHEN) (COLEOPTERA)**

Harald Nemenz

► **To cite this version:**

Harald Nemenz. PHYSIOLOGISCHE UND OKOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN EINEM HYDROPHILIDEN AUS HYPERHALINEN GEWASSERN (BEROSUS SPINOSUS STEPHEN) (COLEOPTERA). *Vie et Milieu*, 1969, pp.171-230. hal-02957998

HAL Id: hal-02957998

<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-02957998v1>

Submitted on 5 Oct 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

— 271 —

I — EINLEITUNG

**PHYSIOLOGISCHE UND ÖKOLOGISCHE
UNTERSUCHUNGEN AN EINEM HYDROPHILIDEN
AUS HYPERHALINEN GEWÄSSERN
(*BEROSUS SPINOSUS* STEPHEN) (COLEOPTERA)**

von Harald NEMENZ

II. Zoologisches Institut der Universität, Wien, Autriche

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung	172
II. Material und Methode	175
III. Überlebensdauer in verschiedenen Medien	175
IV. Resistenz gegen Austrocknung	178
V. Osmoregulation	184
A. Osmoregulation in hypotonischen Lösungen	185
B. Osmoregulation in hypertonischen Lösungen	186
C. Einwirkung von Ionen auf die Osmoregulation	191
a. Zeitliche Änderung der Innenkonzentration bei gleichbleibender Aussenkonzentration	191
b. Der Einfluss verschieden konzentrierter Kationen ..	193
c. Der gemeinsame Einfluss zweier Kationen	195
d. Der Einfluss einzelner Anionen	198
D. Diskussion	198
E. Der Einfluss von Ligaturen und KCN auf die Osmoregulation tion	207
VI. Ökologische Beobachtungen an <i>Berosus spinosus</i> in SW-Frankreich und Physiographie der Wohngewässer	210
Zusammenfassung, Summary und Résumé	221
Literaturverzeichnis	225

I. — EINLEITUNG

Zahlreiche physiologische Untersuchungen haben uns eine Fülle von Material über den Wasser- und Salzhaushalt aquatischer Organismen geliefert. Zusammenfassungen und Referate versuchen in kurzen Abständen einen kritischen Überblick über das Material zu geben z.B. RAMSAY, 1954; BEAMENT, 1954; BEADLE, 1957; REMANE & SCHLIEPER, 1958; SHAW & STOBART, 1963; KINNE, 1964*b*; POTTS & PARRY, 1964 u. a. Die Vielfalt der gewonnenen Erkenntnisse zeigt, dass offensichtlich verschiedene Mechanismen existieren, um die relative Konstanz des Innenmilieus (Körperflüssigkeit oder Zellinneres) zu garantieren, ohne die ein Leben unmöglich ist. Mehr und mehr verschiebt sich das Schwergewicht auf zellphysiologische Untersuchungen (RAMSAY, 1954) und auf die Erforschung von Detailfragen, wie Diffusion und aktiver Transport der wichtigsten Ionen, bzw. des Wassers, Energetik der Transportmechanismen und Ähnliches. Dabei konnte festgestellt werden, dass einzelnen Ionen eine bestimmte und bei fast allen Tieren gleiche Bedeutung zukommt, z. B. vermindert Kalzium im allgemeinen die Permeabilität der Membranen.

Andererseits ist bekannt, dass aquatische Organismen ganz bestimmte Ansprüche an den Chemismus ihrer Wohngewässer stellen. Nicht nur die Konzentration, sondern auch die ionale Zusammensetzung spielen dabei eine wichtige Rolle. Beide Faktoren beeinflussen das Innenmilieu in ganz bestimmter Weise und sind auch von einander abhängig. Das Innenmilieu eines Tieres entspricht nie dem Aussenmilieu. In gewissem Ausmaße sind alle untersuchten Organismen in der Lage die ionale Zusammensetzung ihrer Körperflüssigkeiten zu regeln. Ausserdem enthalten alle tierischen Körperflüssigkeiten neben den anorganischen Bestandteilen organische Substanzen. Selbst unter der Annahme, dass tierische Membranen ideal semipermeabel wären, käme es auf Grund der Konzentrationsunterschiede, bzw. des Donnangleichgewichtes zu Diffusion von Wasser oder einzelner Ionen. Nun verhalten sich aber alle tierische Membranen mehr oder weniger stark abweichend. Allen ist eine gewisse Permeabilität auch für Salze eigen, die von den verschiedensten Faktoren abhängig sein kann (DAWSON & DANIELLI, 1943; NETTER, 1951; HÖBER et al., 1948; HAAS, 1955; GIESE, 1957 u. a.). Entspricht der osmotische Druck des Aussenmilieus dem des Innenmilieus, d. h. sind die Gesamtkonzentrationen innen und aussen gleich, so findet keine Diffusion von Wasser statt. Es hängt in diesem Fall von der Zusammensetzung der die Membran umspülenden

Flüssigkeiten ab, welche Stoffe für eine Diffusion in Frage kommen — theoretisch alle, deren Innen- und Aussenkonzentration nicht gleich ist — und von der Membran, welche Stoffe tatsächlich diffundieren können. Der tierische Organismus, der bestrebt ist, sein Innenmilieu so konstant wie möglich zu erhalten, muß sich in diesem Fall nur von dem Eindringen, bzw. dem Verlust bestimmter Substanzen schützen. Dies sind in erster Linie Salze, da die Membranen für hochmolekulare Substanzen weitgehend impermeabel sind.

Anders dagegen liegen die Verhältnisse, wenn Innen- und Aussenmilieu nicht nur verschieden zusammengesetzt, sondern auch verschieden konzentriert sind. Zu der oben erwähnten Diffusion tritt für das Tier das Problem, eine übermäßige Verdünnung oder Eindickung des Innenmilieus zu verhindern, also dauernd eindringendes Wasser abzuschneiden, oder verlorengegangenes Wasser nachzuschaffen. Es muss daher eine Regulation vorhanden sein. Im Süßwasser, insbesondere in hartem Wasser wird diese Regulation unterstützt durch den relativ hohen Kalziumgehalt des Wassers, da das Kalziumion die Permeabilität der Membranen verringert (s. o.; MACAN, 1961). Diese Eigenschaft ist nicht auf das Kalziumion beschränkt, doch ist es das weitaus wichtigste Ion mit dieser Eigenschaft und daher auch am häufigsten untersucht (z.B. HÖBER, 1917; Zusammenstellung SCHOFFENIELS & BACQ, 1963). Es stellte sich aber bald heraus, dass diese permeabilitätsverändernde Wirkung des Kalziumions unter anderen auch von den Begleitonen beeinflusst wird. Diese prinzipiell schon von RINGER (1882-1886), beobachtete Erscheinung, die seither Allgemeingut der Zellphysiologie geworden ist, hat auch für den in seinem natürlichem Milieu lebenden Organismus grosse Bedeutung. Viele Arbeiten befassen sich damit, die optimalen Mischungsverhältnisse verschiedener Salze für zahlreiche Tierarten festzustellen. Dabei wurden fast ausschliesslich marine oder Süßwasserorganismen verwendet und meist die Überlebensdauer als Kriterium gewählt (z.B. BERGER, 1929; HELFF, 1931; RUBINSTEIN et al., 1936; SHAW, 1960a, b, c). In manchen Fällen kann Kalzium durch andere Ionen ersetzt werden, doch sind die wirksamen Konzentrationen des Ersatzions meist höher und im Wechselspiel mit den anderen Ionen zeigen sich ganz andere Verhältnisse (HÖBER, 1917; SCHOFFENIELS & BACQ, 1963). Untersucht man Tiere, die unter extremen osmotischen Bedingungen leben, so können die Einflüsse der ionalen Zusammensetzung des Milieus entscheidend sein. Dies gilt besonders für die Bewohner von Binnenlandsalzgewässern, die oft stark konzentriert und an einzelnen Ionen angereichert sind. Physiologische Untersuchungen an solchen Tieren sind nicht sehr häufig, einzig *Artemia salina* ist bisher in ausgedehntem Maße Objekt solcher Untersuchungen geworden (in jüngster Zeit :

CROGHAN, 1958a, b, zitiert frühere Literatur). An anderen Tieren hyperhaliner Gewässer wurden bisher nur Krabben (GROSS, 1961; BARNES, 1967) und zwei Dipteren (BEADLE, 1939; RAMSAY, 1950; NEMENZ, 1960a, 1960b, 1960c) untersucht.

Die osmotische Belastung in hyperhalinen Gewässern kann ausserordentlich gross sein. Die Konzentrationsunterschiede zwischen Innen und aussen können einem osmotischen Druck bis zu 250 atm entsprechen (NEMENZ, 1960a) ! Dabei ist es unmöglich, diese Belastung durch Anpassung der Blutkonzentration an die Aussenkonzentration zu verringern, da die Konzentration der Haemolymphe einen bestimmten, nicht sehr hohen Wert nicht übersteigen darf, wenn keine irreversible Schädigung auftreten soll. Dazu kommt in praktisch allen Fällen ein starkes Schwanken der Konzentration das von den Tieren ertragen werden muss. Diese Konzentrationsschwankungen sind oft von Veränderungen des Chlormineralismus und starken Temperaturschwankungen begleitet (KINNE, 1956, 1964a). Im Great Salt Lake (Utah), ändert sich z. B. im Jahreslauf infolge Verdunstung und Niederschlägen die Konzentration : Im Laufe des Sommers fällt infolge Verdunstung NaCl aus, das durch die Herbst- und Winterregen wieder gelöst wird. Durch die winterliche Kälte wird der Löslichkeitskoeffizient für $MgSO_4$ unterschritten, so dass im Winter grosse Mengen dieses Salzes ausfallen, die sich bei Erwärmung wieder lösen. Der relative Gehalt dieser vier Ionen und die Gesamtkonzentration sind daher einem dauernden Wandel unterworfen.

Diese extremen Verhältnisse in hyperhalinen Gewässern liessen Untersuchungen an einem Vertreter einer anderen Insektenordnung als Dipteren interessant erscheinen, da immerhin die Möglichkeit bestand qualitative oder quantitative Unterschiede in der Art der Osmoregulation festzustellen. Es wurden die Larven von *Berosus spinosus* (Steph.) untersucht, einem Hydrophiliden, der nach der Literatur (WESENBERG-LUND, 1943; CHIESA, 1959) in « brackigen bis hypersalinen Gewässern » lebt. Die untersuchten Tiere stammten aus dem Etang du Douil, Aude (Frankreich), die Untersuchungen wurden durchgeführt im Laboratoire Arago, Banyuls-sur-Mer, Pyr.-Orient.

* Ich möchte an dieser Stelle allen danken, die meine Arbeit unterstützt haben. In erster Linie Herrn Professor Dr. W. KÜHNELT, Wien, der mir Urlaub gewährte, vielfältige Unterstützungen zukommen liess und meine Arbeit mit Interesse verfolgte, den Leitern des Laboratoire Arago Herrn Prof. P. DRACH und Prof. G. PETIT, Banyuls, die die Einrichtungen des Laboratoire zur Verfügung stellten sowie den stets hilfsbereiten Damen und Herrn des Labotoire Arago. Herrn Prof. PETIT danke ich ausserdem für manche Anregung und Diskussion. Finanzielle Unterstützungen erhielt ich vom Oesterreichischen Bundesministerium für Unterricht in Zusammenarbeit mit dem österr. Kulturinstitut in Paris, dem Dr.-Theodor-Körner-Stiftungsfond und dem Centre National de la Recherche Scientifique, Paris. Bei der Analyse der Wasserproben waren mir die Herrn Prof. KINZEL, Doz. Dr. H. LÖFFLER und Fr. F. PÉLZER behilflich.

II. — MATERIAL UND METHODE

Der osmotische Druck der Haemolymphe der Larven wurde kryoskopisch nach der Methode von GROSS (1954) bestimmt. Im Vergleich zu früheren Untersuchungen (NEMENZ, 1960a) wurde die Methode leicht verändert.

Die erwachsenen Larven von *Berosus spinosus* wurden in Wasser aus dem natürlichen Milieu ins Labor gebracht und dort bis zur Verwendung in Etang-Wasser mit Algen (*Enteromorpha* sp.) in Glascshalen bei Zimmertemperatur (+ 22-30 °C) gehalten. Zur Untersuchung wurden sie mit Zellstoff abgetrocknet, mit destilliertem Wasser gespült, nochmals mit Zellstoff getrocknet und in die vorbereiteten Lösungen gelegt. Die Schalen mit den Versuchslösungen (etwa 100 ml) wurden mit jeweils 8 Larven beschickt und blieben der Zimmertemperatur ausgesetzt, nur in einzelnen Fällen wurde das Verhalten bei tieferer Temperatur in einem belichteten Eiskasten untersucht, dessen Temperatur von + 4° - + 7 °C schwankte. Im Durchschnitt herrschte + 5 °C. Nach Beendigung des Versuches wurden die Larven herausgenommen und wie oben angegeben getrocknet, gewaschen und wieder getrocknet. Durch Einstecken einer ca. 8 cm langen Kapillare in das Dorsalgefäß wurde die Haemolymphe entnommen, durch Schütteln soweit in die Kapillare geschlagen, dass etwa 2 cm am Ende frei waren und hierauf beide Enden mit Plastellin verschlossen. Kapillaren mit trübem Inhalt wurden verworfen, ebenso undicht verschlossene. Bei Füllung der Kapillaren wurde darauf geachtet, dass die Länge und der Durchmesser der Kapillaren gleich war und sie gleich viel Flüssigkeit enthielten. Als Vergleichslösungen wurden NaCl-Lösungen genau bekannter Konzentration verwendet, die auf die gleiche Weise in Kapillaren gefüllt wurden.

Zur Untersuchung der Wirkung einzelner Ionen wurden diese entweder allein geboten, oder sie wurden einer 20 %igen NaCl-Lösung zugesetzt. Die Tiere waren also einem starken osmotischen Gefälle ausgesetzt, das durch die meist relativ geringen Mengen der anderen Ionen nicht sehr stark in der Konzentration verändert wurde. Bei länger dauernden Experimenten wurden die Lösungen mindestens einmal wöchentlich erneuert. Die Ergebnisse werden in den Kurven als

Mittelwerte $\pm \frac{\sigma}{\sqrt{N}}$ dargestellt. Zur Untersuchung der Transpiration

wurden die Tiere bei Zimmertemperatur in einem Exikator verschiedenen Luftfeuchtigkeiten ausgesetzt, die mittels übersättigter Salzlösungen konstant gehalten wurden. Die Transpiration wurde gravimetrisch gemessen.

III. — ÜBERLEBENSDAUER IN VERSCHIEDENEN MEDIEN

Die Unempfindlichkeit der Larven gegenüber der Konzentration und der Zusammensetzung des Aussenmediums ist sehr groß. Zu Überlebens-

experimenten wurden je 10 Larven bei Zimmertemperatur (etwa 22 °C) ohne Futter in Schalen mit je 200 ml Lösung gebracht und in kurzen Abständen kontrolliert. Tote Tiere wurden bei erster Gelegenheit entfernt. Als Kontrollversuch diente eine gleiche Schale in der die Tiere mit Futter im Etang-Wasser waren. Die verwendeten Lösungen und die Ergebnisse sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Die Larven lebten in allen Lösungen mindestens 5 Tage, in den Lösungen 1-7 bis zu 56 Tagen. In $MgSO_4$ -Lösungen war deutlich eine erhöhte Aktivität zu beobachten, die Tiere befanden sich fast dauernd in Bewegung, ohne dass dadurch die Lebensdauer merklich verkürzt wurde. Bei den $NaCl$ -Lösungen ist der Einfluss der Konzentration deutlich: in der 6,5 % Lösung lebten die Larven bis zum 27. Tag, in der 10 % Lösung bis zum 21. Tag, bevor die ersten Tiere starben. In der 15 % bzw. 20 % Lösung dagegen, starben die ersten Tiere bereits nach 5 bzw. 9 Tagen und am 25., bzw. 27. Tag waren alle tot. Diese beiden Lösungen wirkten fast gleich, im Gegensatz zu den Lösungen 8 und 9, die eine deutliche Zunahme ihrer Wirkung mit steigender Konzentration erkennen liessen.

Eine ähnlich konzentrationsabhängige Wirkung zeigten auch die Na_2SO_4 -Lösungen: in der 3 % Lösung begann sich ein toxischer Effekt nach 9 Tagen zu zeigen, in der 10 % Lösung nach 16 Tagen, und in der 20 % Lösung nach ca 13 Tagen. Das Absterben geht in der 3 % Lösung etwas langsamer vor sich, als in den stärkeren Lösungen. Die stärkste toxische Wirkung hatte die KCl -Lösung, in der die ersten Tiere nach 7 Tagen starben und alle 10 Larven nach 10 Tagen tot waren. (vergl. HAAS & STRENZKE, 1957a und b).

Es zeigt sich also, dass die Larven gegen hypotonische Lösungen sehr unempfindlich sind, da sie sogar im destillierten Wasser 1 1/2 Monate leben. Die Konzentration der Lösung allein, also der osmotische Gradient spielt keine so grosse Rolle. Dies zeigt der Versuch mit Glykose, die etwa meerwasser-isotonisch gewählt wurde und dennoch relativ bald zum Tode führte, während die Tiere im Meerwasser weiterlebten. Ausserdem findet man, dass sowohl die Kationen, als auch die Anionen eine Wirkung entfalten. Dies geht aus dem Vergleich der Paare: KCl - $NaCl$, $NaCl$ - Na_2SO_4 , Na_2SO_4 - $MgSO_4$ hervor. Ordnet man die verwendeten Salze nach ihrer toxischen Wirkung, so ergibt sich folgende Reihe: $KCl > Na_2SO_4 > NaCl > MgSO_4$. Die Reihung gilt nur für die einfachen Salzlösungen, denn bei Mischungen wirkt sich, wie noch gezeigt werden wird, der Antagonismus der einzelnen Ionen aus.

Die einzige untersuchte binäre Mischung, $NaCl$ 20 % + $CaCl_2$ 0.4 % zeigt eine geringe (nicht signifikante) Erhöhung der Lebensdauer gegenüber der korrespondierenden einfachen Lösung.

Die Widerstandsfähigkeit gegenüber hypotonischen Lösungen ist

bei den meisten Insekten nachgewiesen worden, die in stark konzentriertem Salzwasser leben, selbst dann, wenn die Larven aktiv salziges Wasser aufsuchen, wie es PING (1921) bei *Ephydra subopaca* nachweisen konnte (vergl. z. B. SUTCLIFFE, 1960; SHAW & STOBART, 1963). Ueberlebensversuche an salzwasserbewohnenden Insektenlarven in reinen Salzlösungen scheinen noch nicht durchgeführt worden zu sein, meist wird mit verschiedenen Verdünnungsreihen des natürlichen Gewässers gearbeitet. Reine Salzlösungen verwendete CROGHAN (1958a) bei *Artemia salina*. Obwohl *Artemia* in viel stärker konzentrierten natürlichen Gewässern vorkommt, als *Berosus*, überlebt sie den Aufenthalt in reinen Salzlösungen viel schlechter, was auf die beträchtliche Permeabilität des Tieres zurückzuführen ist. Ein dauernder Aufenthalt in destilliertem Wasser ist für *Artemia salina* unmöglich. NaSO_4 in etwa gleicher Konzentration ist für *Artemia* viel weniger giftig als für *Berosus*. KCl wirkt etwa gleich, es ist das giftigste der von CROGHAN und mir untersuchten Salze. Das gleiche Ergebnis lässt sich auch an Süßwassertieren zeigen: HELFF (1931) fand, dass KCl in allen Konzentrationen seine Versuchstiere (*Astacus clarkii*) tötete, während die NaCl-Lösungen ein viel längeres Leben gestatteten, ein Befund, der auch von PORA & STOICOVICI (1961a) an *Gammarus pulex* bestätigt wurde.

IV. — RESISTENZ GEGENÜBER AUSTROCKNUNG

Die Larven von *Berosus spinosus* entwickeln sich im Wasser, die verpuppungsreifen Altlarven graben sich in die feuchte Ufererde ein. Gelegentlich kann man Larven unter den ausgeworfenen Algen des Spülsaumes antreffen und wenn ein Tümpel austrocknet so bleiben sie unter dem Algenschlamm noch lange am Leben. Untersuchungen über das Transpirationsverhalten scheinen noch völlig zu fehlen. Die durchgeführten Transpirationsexperimente zeigen, dass die Tiere bei der unter normalen Umständen stets vorhandenen hohen Feuchtigkeit eine gewisse Zeit leben können, andererseits geben sie einen Hinweis für die Wasserdurchlässigkeit der Körperoberfläche. Der osmotische Gradient, dem ein Tier in stark hyperotonischen Lösungen ausgesetzt ist, lässt sich entfernt mit einer Austrocknung vergleichen, bei der ebenfalls durch die Körperoberfläche Wasser abgegeben wird. Diesem Vorgang wird nun mehr oder weniger Widerstand entgegengesetzt, entweder aktiv durch einen Regulationsmechanismus, oder passiv durch eine undurchlässige Kutikula.

Es wurden jeweils 6 Larven Feuchtigkeiten von 100 %, 92 %, 76 %, 55 %, und 35 % r. F. ausgesetzt. Die Luftfeuchtigkeiten wurden durch

übersättigte Lösungen folgender Substanzen erhalten : destilliertes Wasser, $\text{Na}_2\text{CO}_3 \times 10 \text{H}_2\text{O}$, KCl , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4 \text{H}_2\text{O}$ und $\text{CaCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$. Die prozentuelle Abnahme des Körpergewichts ist in den Kurven der Abb. 1-5 dargestellt.

Bei 100 % r. F. zeigt sich über längere Zeit keine auf Transpiration zurückführbare Gewichtsabnahme. Die durchschnittliche stündliche Gewichtsabnahme in 104 Stunden (bis zum Abbruch des Experiments) betrug etwa 0,06 % /h was auf Verbrauch der Reservestoffe der äusserst aktiven Tiere zurückgeführt werden kann. Die starken Anfangsschwankungen der Kurve sind durch die Störungen während der Wägung bedingt. Wird der Zeitraum zwischen zwei Wägungen vergrössert, so verläuft die Kurve ebenmässiger, da die Tiere seltener einer starken Austrocknung während der Wägung ausgesetzt sind (Abb 1). Bei den hohen Luftfeuchtigkeiten, 92 und 76 % r. F. ist die Gewichtsabnahme fast gleich (0,54 bzw. 0,50 %/h) und so klein, dass die Larven über längere Zeit leben können. So sterben bei 92 % r. F. die meisten Tiere erst nach rund 100 Stunden, bei 96 % r. F. nach etwa 110 Stunden (Abb. 2, 3).

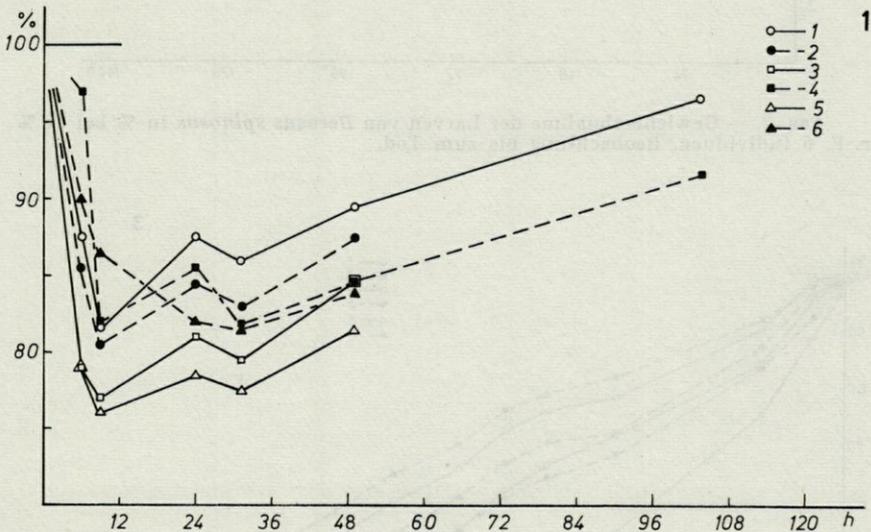


ABB. 1. — Gewichtsabnahme der Larven von *Berosus spinosus* in % bei 100 % r. F. 6 Individuen (1-6) in den ersten 24 Stunden wurden mehr Beobachtungen durchgeführt als eingezeichnet sind.

Bei geringerer r. F. ändert sich das Bild sehr deutlich (Abb. 4, 5). Die durchschnittliche Gewichtsabnahme steigt bei 55 % r. F. auf 2,3 %/h, bei 35 % r. F. sogar auf 7,7 %/h. Die Lebensdauer sinkt sehr stark : bei 55 % r. F. sterben die meisten Larven in

etwa 20 - 24 Stunden, bei 35 % r. F. tritt der Tod sogar schon nach 3 - 14 Stunden ein. Auch die Aktivität ist sehr gering. Zwischen 55 % und 76 % r. F. liegt also ein kritischer Wert bei dessen

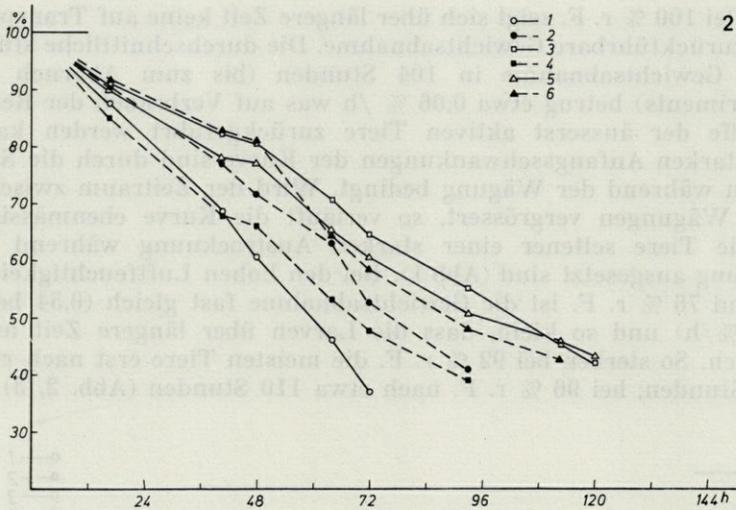


ABB. 2. — Gewichtsabnahme der Larven von *Berosus spinosus* in % bei 92 % r. F. 6 Individuen. Beobachtung bis zum Tod.

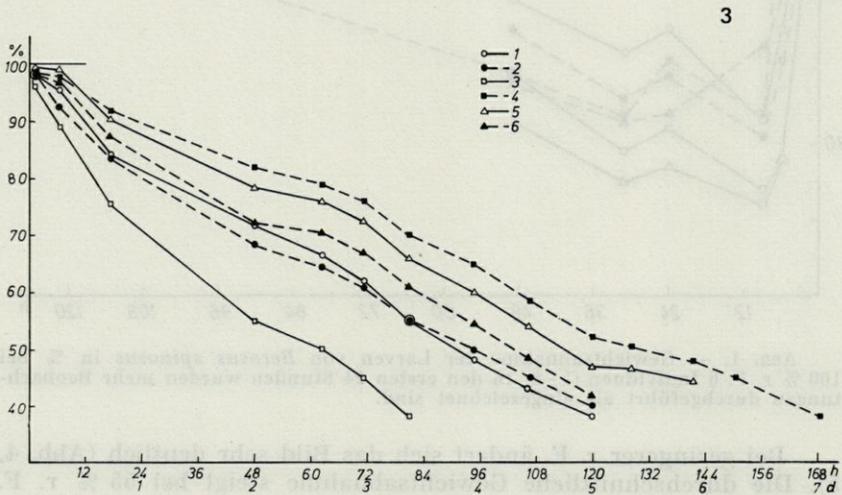


ABB. 3. — Gewichtsabnahme der Larven von *Berosus spinosus* in % bei 76 % r. F. 6 Individuen. Beobachtung bis zum Tod.

Unterschreitung die Transpiration so gross wird, dass die Lebensdauer der Tiere rapide abnimmt. Die starke Streuung der Werte bei der geringsten Feuchtigkeit (35 % r. F.) ist auffallend und weist

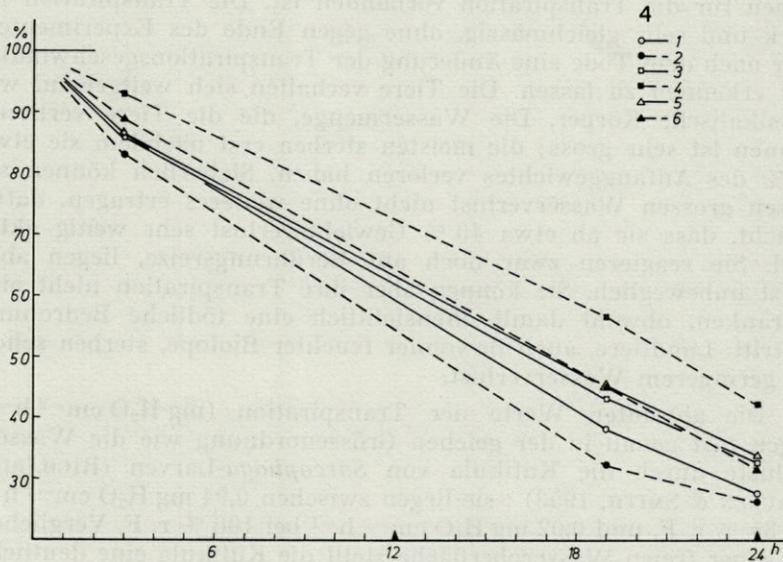


ABB. 4. — Gewichtsabnahme der Larven von *Berosus spinosus* in % bei 55 % r. F. 6 Individuen. Beobachtung bis zum Tod.

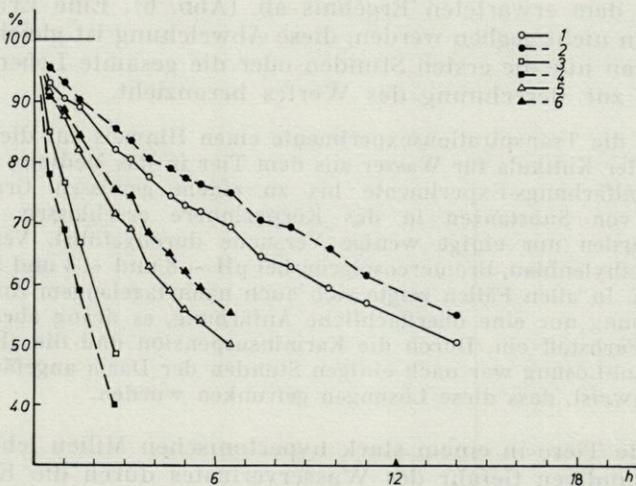


ABB. 5. — Gewichtsabnahme der Larven von *Berosus spinosus* in % bei 35 % r. F. 6 Individuen. Beobachtung bis zum Tod.

darauf hin, dass diese Trockenheit das Tier von Anfang an schwer schädigte.

Diese Experimente zeigen, dass kein aktives Regulationsvermögen für die Transpiration vorhanden ist. Die Transpiration ist stark und sehr gleichmässig, ohne gegen Ende des Experimentes, oder nach dem Tode eine Änderung der Transpirationsgeschwindigkeit erkennen zu lassen. Die Tiere verhalten sich weitgehend wie physikalische Körper. Die Wassermenge, die die Tiere verlieren können ist sehr gross; die meisten sterben erst nachdem sie etwa 60 % des Anfangsgewichtes verloren haben. Sicherlich können sie diesen grossen Wasserverlust nicht ohne weiteres ertragen, dafür spricht, dass sie ab etwa 40 % Gewichtsverlust sehr wenig aktiv sind. Sie reagieren zwar noch auf Berührungsreize, liegen aber sonst unbeweglich. Sie können aber ihre Transpiration nicht einschränken, obwohl damit offensichtlich eine tödliche Bedrohung auftritt. Landtiere, auch Bewohner feuchter Biotope, sterben schon bei geringerem Wasserverlust.

Die absoluten Werte der Transpiration ($\text{mg H}_2\text{O cm}^{-2} \text{h}^{-1}$) liegen fast genau in der gleichen Grössenordnung wie die Wasserverluste durch die Kutikula von *Sarcophaga*-Larven (RICHARDS, CLAUSEN & SMITH, 1953) : sie liegen zwischen $0,94 \text{ mg H}_2\text{O cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ bei 35 % r. F. und $0,02 \text{ mg H}_2\text{O cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ bei 100 % r. F. Verglichen mit einer freien Wasseroberfläche stellt die Kutikula eine deutliche Transpirationsbarriere dar. Erstaunlich gut ist die Übereinstimmung der gefundenen Werte für $\log \% \text{ Abnahme/h}$ gegen r. F. mit einer Exponentialfunktion, nur der Wert für 92 % r. F. weicht stark von dem erwarteten Ergebnis ab. (Abb. 6). Eine Erklärung dafür kann nicht gegeben werden, diese Abweichung ist gleich gross, egal ob man nur die ersten Stunden oder die gesamte Lebensdauer der Tiere zur Berechnung des Wertes heranzieht.

Geben die Transpirationsexperimente einen Hinweis auf die Durchlässigkeit der Kutikula für Wasser aus dem Tier in das Medium, so kann durch Vitalfärbungs-Experimente bis zu einem gewissen Grade die Diffusion von Substanzen in das Körperinnere erschlossen werden. Hierzu wurden nur einige wenige Versuche durchgeführt. Verwendet wurden Methylenblau, Bromcreosolgrün bei $\text{pH} \sim 8$ und ~ 3 und Karmin-suspension. In allen Fällen zeigte sich auch nach tagelangem Aufenthalt in der Lösung nur eine oberflächliche Anfärbung, es drang aber nichts von dem Farbstoff ein. Durch die Karmin-suspension und die alkalische Bromcreosol-Lösung war nach einigen Stunden der Darm angefärbt, was darauf hinweist, dass diese Lösungen getrunken wurden.

Da die Tiere in einem stark hypertonen Milieu leben sind sie der ständigen Gefahr des Wasserverlustes durch die Kutikula ausgesetzt, während andererseits Salze durch die Kutikula einzudringen drohen. Da die Kutikula, wie schon mehrfach nachgewiesen

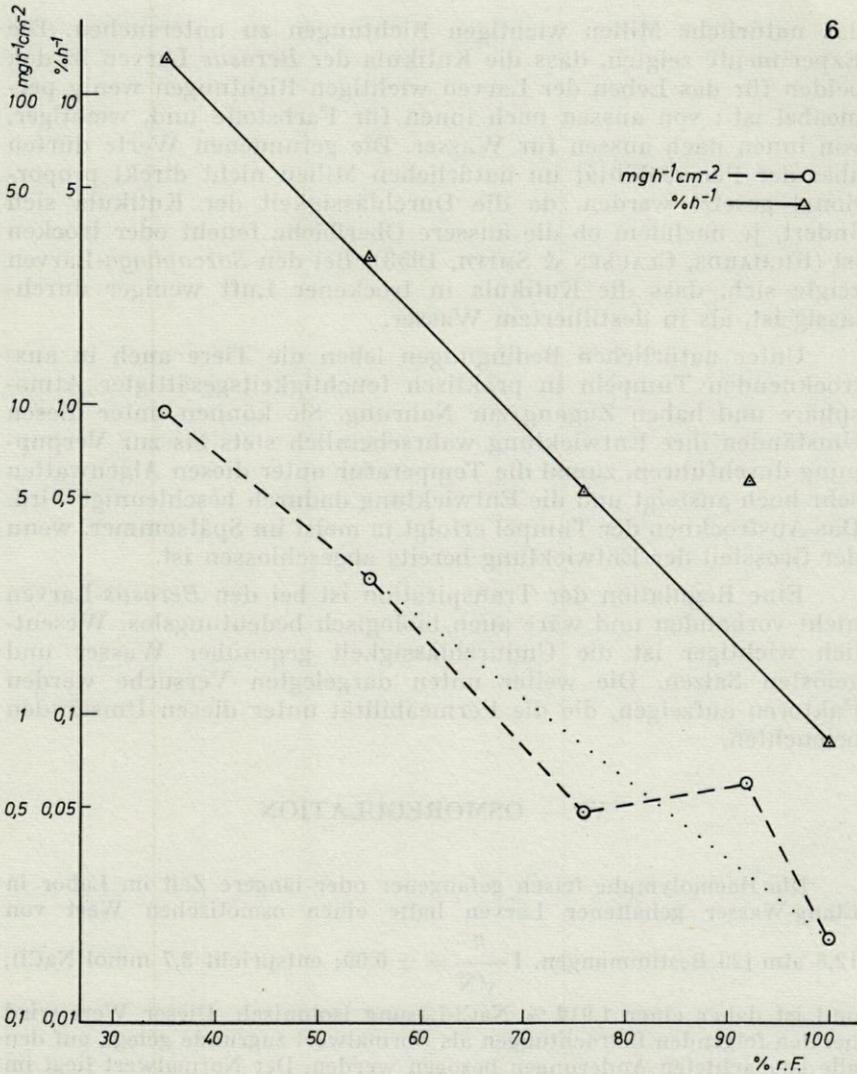


ABB. 6. — Transpiration der Larven von *Berosus spinosus* in Abhängigkeit von der r. F. Strichlierte Kurve: Absolutwerte mgH₂O/cm² Oberfläche/h, Durchschnittswerte von je 6 Tieren. Ausgezogene Kurve: prozentuelle Abnahme pro h, Durchschnittswerte von je 6 Tieren.

(z. B. BEAMENT, 1945, 1954; RICHARDS, CLAUSEN & SMITH, 1953 und SHAW, 1955a) eine sehr unterschiedliche polare Durchlässigkeit besitzt, die nicht nur von ihrer Struktur oder ihrer Dicke abhängt, sondern mehr noch von den physikalischen Eigenschaften der Wachs- oder Lipoidschicht, genügt es, die Permeabilität in den für

das natürliche Milieu wichtigen Richtungen zu untersuchen. Die Experimente zeigten, dass die Kutikula der *Berosus* Larven in den beiden für das Leben der Larven wichtigen Richtungen wenig permeabel ist: von aussen nach innen für Farbstoffe und, wichtiger, von innen nach aussen für Wasser. Die gefundenen Werte dürfen aber der Permeabilität im natürlichen Milieu nicht direkt proportional gesetzt werden, da die Durchlässigkeit der Kutikula sich ändert, je nachdem ob die äussere Oberfläche feucht oder trocken ist (RICHARDS, CLAUSEN & SMITH, 1953). Bei den *Sarcophaga*-Larven zeigte sich, dass die Kutikula in trockener Luft weniger durchlässig ist, als in destilliertem Wasser.

Unter natürlichen Bedingungen leben die Tiere auch in austrocknenden Tümpeln in praktisch feuchtigkeitsgesättigter Atmosphäre und haben Zugang zur Nahrung. Sie können unter diesen Umständen ihre Entwicklung wahrscheinlich stets bis zur Verpuppung durchführen, zumal die Temperatur unter diesen Algenwatten sehr hoch ansteigt und die Entwicklung dadurch beschleunigt wird. Das Austrocknen der Tümpel erfolgt ja meist im Spätsommer, wenn der Grossteil der Entwicklung bereits abgeschlossen ist.

Eine Regulation der Transpiration ist bei den *Berosus*-Larven nicht vorhanden und wäre auch biologisch bedeutungslos. Wesentlich wichtiger ist die Undurchlässigkeit gegenüber Wasser und gelösten Salzen. Die weiter unten dargelegten Versuche werden Faktoren aufzeigen, die die Permeabilität unter diesen Umständen beleuchten.

V. — OSMOREGULATION

Die Haemolympe frisch gefangener oder längere Zeit im Labor in Etang-Wasser gehaltener Larven hatte einen osmotischen Wert von

12,8 atm (20 Bestimmungen, $I \frac{\sigma}{\sqrt{N}} = \pm 0.09$; entspricht 3,7 mmol NaCl),

und ist daher einer 1,914 % NaCl-Lösung isotonisch. Dieser Wert wird bei den folgenden Betrachtungen als Normalwert zugrunde gelegt, auf den alle beobachteten Änderungen bezogen werden. Der Normalwert liegt im Bereich dessen, was bisher von Käfern bereits bekannt war (BUCK, 1953), wenn auch an der oberen Grenze der in der Literatur angegebenen Werte.

Im Zuge der Experimente wurden die Tiere sowohl schwächer als auch stärker konzentrierten Lösungen ausgesetzt, sie mussten also ihren Innendruck hyper- oder hypotonisch regulieren. Unter normalen Bedingungen kommt für die Tiere nur eine Hyporegulation in Frage, da das Aussenmilieu stets wesentlich konzentrierter ist (etwa 5-7 % NaCl). Die Frage, in wie weit es sich bei einem hypotonischen Aussenmilieu noch um ein biologisch bedeutsames Medium handelt, soll weiter unten behandelt werden, hier interessiert nur die Regulationsfähigkeit.

A) OSMOREGULATIONEN IN HYPOTONISCHEN LÖSUNGEN

Verbringt man die Tiere in destilliertes Wasser so sinkt der osmotische Wert der Haemolymphe mit der Zeit ab (Abb. 7). Bei einem Wert von etwa 8-9 atm stellt sich ein neuer Gleichgewichtszustand ein der über längere Zeit gehalten werden kann. Dieser neue Gleichgewichtszustand ermöglicht es den Tieren fast 2 Monate aktiv im destillierten Wasser am Leben zu bleiben, wie die Überlebensversuche (p. 184) gezeigt haben. Die Abnahme der Konzentration erfolgt nicht ganz gleichmässig, in den ersten Stunden ist sie stärker als etwas später. Im fließenden, destillierten Wasser, in dem eine Anreicherung der aus den Tieren ausgewaschenen Substanzen verhindert wird, stellt sich dieser neue Gleichgewichtszustand etwas früher ein (Abb. 7), die Endkonzentration ist etwa gleich. Bei dieser Kurve zeigt sich zu Beginn eine stärkere Unregelmässigkeit des Kurvenverlaufes als bei der ersten, jedoch ist die Abnahme auch hier in den ersten 10 Stunden stärker als später. Die anfänglichen Unregelmässigkeiten im Kurvenverlauf lassen darauf schliessen, dass der neue Wert nicht nur durch Eindringen des Wassers oder Salzverlust erreicht wird. Bei dem neuen Wert von etwas über 8 atm wird ein neues Gleichgewichtsverhältnis erreicht. Der Wert von 8,2 atm, der im fließenden destillierten Wasser erreicht wurde, stellt den untersten beobachteten Wert dar und liegt gut im Bereich der bisher bei anderen Insekten, besonders Käfern, beobachteten Werte (BUCK, 1953). Es ist nicht möglich die Innenkonzentration der Tiere weiter abzusenken.

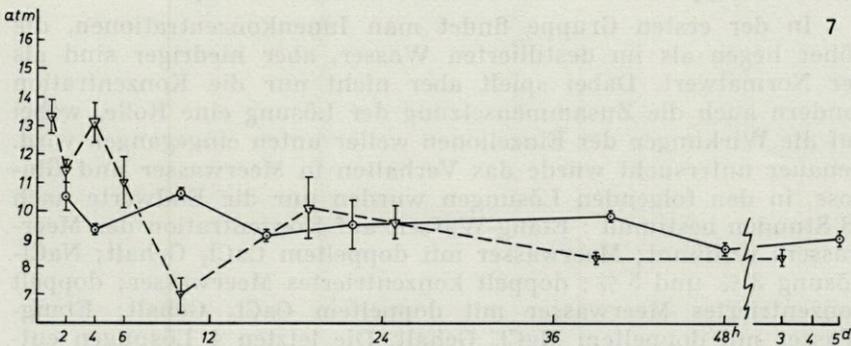


ABB. 7. — Osmotische Werte der Haemolymphe der Larven von *Berosus spinosus* in hypotonischen Lösungen. Ausgezogene Kurve: destilliertes Wasser. Strichlierte Kurve: fließendes destilliertes Wasser. 23 °C.

Im nicht gewechselten destillierten Wasser stellt sich durch die geringen sich im Aussenmedium ansammelnden Salzmen gen ein etwas höheres Gleichgewicht ein, als im fließenden destillierten Wasser. Diese schrittweise Verschiebung des Gleichgewichts fand schon SHAW (1959) bei *Astacus pallipes*. Dieser gibt in deionisiertem Wasser Na^+ an das Wasser ab, bis ein Gleichgewichtszustand erreicht wird. Diese Na-Abgabe lässt sich schrittweise wiederholen bis ein Zustand erreicht wird, wo trotz weiterer Auslaugung kein Na mehr abgegeben wird, sondern ein endgültiger Gleichgewichtszustand erreicht ist, den SHAW "minimum equilibrium concentration" nennt. Bei Insekten ist es dagegen nicht möglich das gesamte Na auszulaugen wie schon früher bei *Aedes aegypti* (TREHERNE, 1954) und *Ephydra cinerea* (NEMENZ, 1960b) nachgewiesen wurde. Der Verlauf der Na-Abnahme bei *Aedes aegypti* ist der Änderung der Innenkonzentration bei *Berosus* fast völlig gleich. Da nun aber die Innenkonzentrationsabnahme nicht nur von den Ionen, sondern auch von den Aminosäuren abhängt (siehe unten) kann man annehmen, dass beide proportional an der Konzentrationsabnahme beteiligt sind.

B) OSMOREGULATION IN HYPERTONISCHEN LÖSUNGEN

Unter den für *Berosus* Larven bluthypertonischen Aussenmedien lassen sich zwei Gruppen unterscheiden: Lösungen die schwächer oder gleich konzentriert sind als das normale Milieu und stärker konzentrierte. Bei der ersten Gruppe sinkt der osmotische Wert der Haemolymphmeist unter den Normalwert, bei der zweiten Gruppe kann er beträchtlich darüber ansteigen.

In der ersten Gruppe findet man Innenkonzentrationen, die höher liegen als im destillierten Wasser, aber niedriger sind als der Normalwert. Dabei spielt aber nicht nur die Konzentration sondern auch die Zusammensetzung der Lösung eine Rolle, wobei auf die Wirkungen der Einzelionen weiter unten eingegangen wird. Genauer untersucht wurde das Verhalten in Meerwasser und Glukose, in den folgenden Lösungen wurden nur die Endwerte nach 48 Stunden bestimmt: Etang-Wasser, auf Konzentration des Meerwassers verdünnt; Meerwasser mit doppeltem CaCl_2 Gehalt; NaCl-Lösung 3 % und 5 %; doppelt konzentriertes Meerwasser; doppelt konzentriertes Meerwasser mit doppeltem CaCl_2 Gehalt; Etang-Wasser mit doppeltem MgCl_2 Gehalt. Die letzten 4 Lösungen entsprechen in ihrer Konzentration weitgehend dem Etang-Wasser, die anderen sind etwa halb so konzentriert, nur die 5 % NaCl-Lösung steht beiläufig in der Mitte.

TAB. 2

Mittelwerte der Innenkonzentration von *Berosus spinosus*-Larven
in verschiedenen Medien nach 48 h

Medium	Innenkonzentration	$\pm \frac{\sigma}{\sqrt{N}}$
Aqua dest.	8,6	0,2
Meerwasser	10,3	0,5
Meerwasser + CaCl ₂	10,3	0,5
Etangwasser, verdünnt auf 1/2	9,9	0,5
Etangwasser	12,8	0,1
2x Meerwasser	9,5	1,3
2x Meerwasser + CaCl ₂	10,5	0,2
Etangwasser + MgCl ₂	10,1	1,2
Na Cl 3 %	8,9	0,1
NaCl 5 %	9,8	0,1
Glukose 22 %	10,1	0,2

Wie Tab. 2 zeigt, liegt die Innenkonzentration in allen diesen Lösungen unter dem Normalwert. Die Streuung ist in den meisten Fällen klein, nur durch grössere Mengen von Mg wird sie vergrößert. Auffallend ist, dass trotz der Verschiedenheit der Lösungen alle Innenkonzentrationen zwischen 9,5 und 10,5 atm liegen. Nur die Werte in der 3 % NaCl-Lösung (und im destillierten Wasser) liegen darunter, die im Etang-Wasser darüber.

Die Konzentrationsabnahme erfolgt einigermaßen gleichmässig, wie man aus Abb. 8 ersehen kann. Im Meerwasser sinkt der Innendruck schnell auf 12 atm und nähert sich dann 10 atm. Einzelbeobachtungen nach 5 Tagen zeigen, dass ein weiteres Absinken nicht mehr stattfindet, der Gleichgewichtszustand wird also bei etwa 10,0 - 10,5 atm erreicht.

Dass es sich dabei tatsächlich um eine Wirkung der Konzentration im Sinne einer osmotisch wirksamen Konzentration handelt und nicht um Ionenwirkungen, zeigt sich, wenn man statt der Elektrolytlösung eine 22 % Glukoselösung als Aussenmedium verwendet (Abb. 8). Der sich einstellende Gleichgewichtszustand liegt auf

gleicher Höhe wie im isotonischen Meerwasser. Der niedrigere Wert wird etwas früher erreicht als in der Elektrolytlösung, im Verlauf erinnert die Kurve an diejenige im destillierten Wasser (Abb. 7) : auf ein anfängliches Schwanken der Werte stellt sich der neue Gleichgewichtszustand nach etwa einem halben Tag ein und wird dann ziemlich stabil gehalten. Diese Ähnlichkeit der beiden Kurven ist nicht zufällig. Die Glukoselösung enthält ebenso keine Ionen wie das destillierte Wasser, dem daher der Kurvenverlauf gleicht; der neue Gleichgewichtszustand liegt aber etwas höher, was vielleicht auf die osmotische Wirksamkeit der Glukose zurückzuführen ist.

Steigert man die Konzentration einer als Aussenmedium vorliegenden NaCl-Lösung, so steigt auch die Innenkonzentration (Tab. 2, Abb. 9). Dieser Anstieg erfolgt aber nicht so gleichmässig, wie zu erwarten wäre. Die schwächste Na-Cl-Lösung führt zu einer Innenkonzentration, die nur wenig über der im destillierten Wasser liegt (8,9 atm, im destillierten Wasser 8,6 atm, Unterschied nicht signifikant). In der 5 % NaCl-Lösung findet man 9,7 atm und erreicht in der 7,5 % NaCl-Lösung ein neues Gleichgewichtsniveau, das etwa bei 11 atm liegt (7,5 % : 10,9 atm, 10 % : 10,7 atm und 12,5 % : 10,8 atm, Unterschiede nicht signifikant). Steigert man die Aussenkonzentration weiter so erreicht die Innenkonzentration bei 15 % NaCl ein neues Niveau über 12 atm (12,3), fast den Normalwert. Eine noch weitere Steigerung führt zu keiner wesentlichen Änderung : bei 20 bzw. 25 % findet man eine Innenkonzentration von 13,2 bzw. 12,9 atm. Man kann also mit Berechtigung annehmen, dass damit ein neues Gleichgewichtsniveau gefunden wurde, das bei den höchsten möglichen Konzentrationen erhalten werden kann. Sehr auffallend ist, dass der Normalwert erst bei einer so hohen NaCl Konzentration (15 %) erreicht wird, die Konzentration im Etang ist ja viel geringer.

Die Tiere zeigen also eine deutliche hypotonische Regulation, ausser im destillierten Wasser, in dem sie hypertonisch regulieren. Die Blutkonzentration wird einigermaßen konstant gehalten. Ähnliches ist auch von anderen Bewohnern hyperhaliner Gewässer bekannt, wie der Larve von *Aedes detritus* (BEADLE, 1939), *Ephydra riparia* (SUTCLIFFE, 1960), *Ephydra cinerea* (NEMENZ, 1960a, b) und *Limnephilus affinis* (SUTCLIFFE, 1961). Unter den extremsten Aussenkonzentrationen bricht das Regulationsvermögen nach einiger Zeit zusammen (Tab. 1), wie es auch bei den anderen Arten, ausser *Ephydra cinerea*, beobachtet wurde. Bei den bisher untersuchten Süsswasserarten wird etwa bis zum isosmotischen Punkt hypertonisch reguliert, darüber steigt der Innendruck mit dem Aussen- druck (z. B. SUTCLIFFE, 1960). Die Salzwasserarten zeigen teils eine geringe Unabhängigkeit von der Aussenkonzentration, wie *Limnephilus affinis*, oder eine grössere wie *Aedes detritus* oder sind über

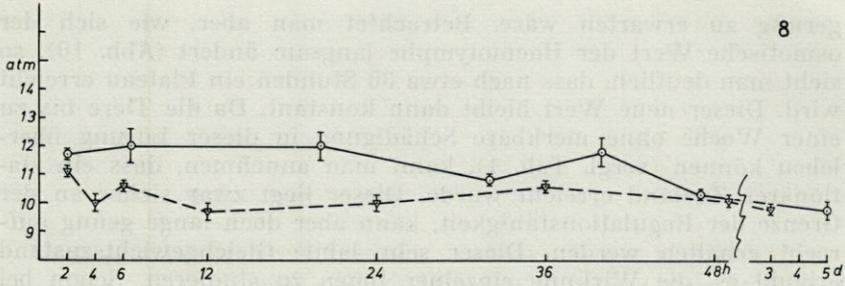


ABB. 8. — Osmotische Werte der Haemolymphe der Larven von *Berosus spinosus* in Meerwasser (augezogene Kurve) und Glukose-Lösung (strichliert).

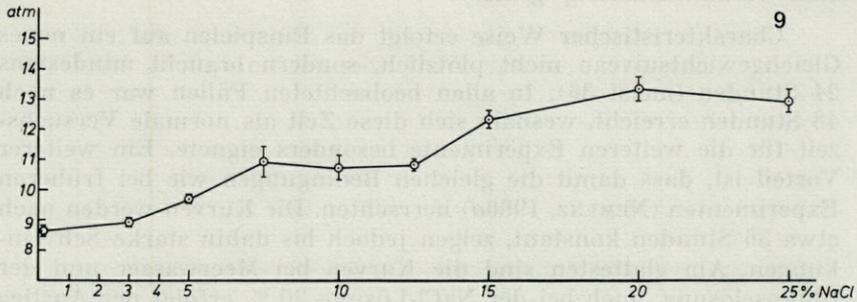


ABB. 9. — Osmotische Werte der Haemolymphe der Larven von *Berosus spinosus* in NaCl-Lösungen steigender Konzentration.

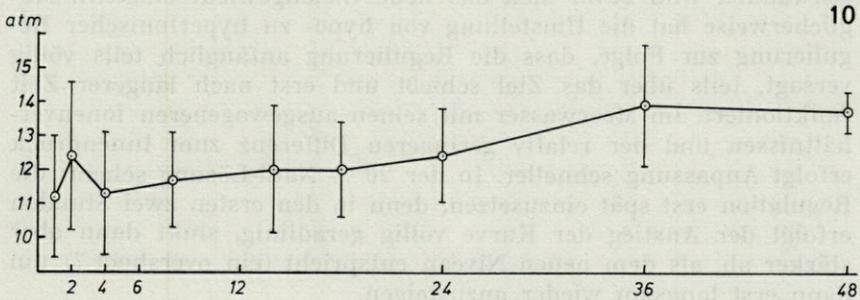


ABB. 10. — Regulation der osmotischen Werte der Larven von *Berosus spinosus* in 20 %iger NaCl-Lösung.

einem gewissen Wert praktisch unabhängig von der Aussenkonzentration wie *Ephydra riparia*, *Berosus spinosus* oder *Ephydra cinerea*.

Aus den vorhergegangenen Experimenten könnte der Schluss gezogen werden, dass vielleicht doch kein stationärer Zustand erreicht wird, sondern bei längerer Versuchsdauer eine weitere Stei-

gerung zu erwarten wäre. Betrachtet man aber, wie sich der osmotische Wert der Haemolymphe langsam ändert (Abb. 10), so sieht man deutlich, dass nach etwa 36 Stunden ein Plateau erreicht wird. Dieser neue Wert bleibt dann konstant. Da die Tiere bis zu einer Woche ohne merkbare Schädigung in dieser Lösung überleben können (vergl. Tab. 1), kann man annehmen, dass ein stationärer Zustand erreicht wurde. Dieser liegt zwar sicher an der Grenze der Regulationsfähigkeit, kann aber doch lange genug aufrecht erhalten werden. Dieser sehr labile Gleichgewichtszustand erlaubt es, die Wirkung einzelner Ionen zu studieren. Schon bei geringer Wirkung eines Ions wird das Gleichgewicht empfindlich gestört und die auftretenden Änderungen in den osmotischen Werten sind verhältnismässig gross.

Charakteristischer Weise erfolgt das Einspielen auf ein neues Gleichgewichtsniveau nicht plötzlich, sondern braucht mindestens 24 Stunden (meist 36). In allen beobachteten Fällen war es nach 48 Stunden erreicht, weshalb sich diese Zeit als normale Versuchszeit für die weiteren Experimente besonders eignete. Ein weiterer Vorteil ist, dass damit die gleichen Bedingungen wie bei früheren Experimenten (NEMENZ, 1960a) herrschten. Die Kurven werden nach etwa 36 Stunden konstant, zeigen jedoch bis dahin starke Schwankungen. Am glattesten sind die Kurven bei Meerwasser und der Glukoselösung, auch bei der NaCl-Lösung 20 % erfolgt der Anstieg einigermassen gleichmässig. Die stärksten Unregelmässigkeiten finden sich bei den Versuchen im destillierten Wasser. Die Werte schwanken wild bevor sich das neue Gleichgewicht einstellt. Möglicherweise hat die Umstellung von hypo- zu hypertotonischer Regulierung zur Folge, dass die Regulierung anfänglich teils völlig versagt, teils über das Ziel schießt und erst nach längerer Zeit funktioniert. Im Meerwasser mit seinen ausgewogeneren Ionenverhältnissen und der relativ geringeren Differenz zum Innendruck erfolgt Anpassung schneller. In der 20 % NaCl-Lösung scheint die Regulation erst spät einzusetzen, denn in den ersten zwei Stunden erfolgt der Anstieg der Kurve völlig geradlinig, sinkt dann aber stärker ab, als dem neuen Niveau entspricht (ein overshoot ?) um dann erst langsam wieder anzusteigen.

Die neuen Gleichgewichtszustände werden also weder sofort, noch geradlinig erreicht. Ausserdem ist die Höhe des neuen Gleichgewichtszustandes von der Aussenkonzentration abhängig und zwar nicht linear, sondern es finden sich verschiedene bevorzugte Niveaus, auf denen der innere osmotische Wert über einen beträchtlichen Bereich der Aussenkonzentration konstant gehalten wird. Solche Niveaukurven wurden früher schon bei *Ephydra cinerea* (NEMENZ, 1960a) und bei *Artemia salina* (PLATTNER, 1955) gefunden.

C) EINWIRKUNG VON IONEN AUF DIE OSMOREGULATION

Wie im vorhergehenden Abschnitt gezeigt wurde, reagieren die *Berosus*-Larven auf Änderung der Konzentration des Aussenmediums in ganz charakteristischer Weise durch Änderung des osmotischen Wertes der Haemolymphe. Bei einer Verminderung der Aussenkonzentration sinkt die Innenkonzentration, während eine Vergrößerung der Aussenkonzentration von keiner weiteren Konzentrationssteigerung der Haemolymphe beantwortet wird. Diese scheinbar einfache Reaktion des Organismus auf einen osmotischen Umweltreiz wird aber durch eine Reihe von Faktoren stark verkompliziert. Es ist durchaus nicht gleichgültig, welche Lösungen als Aussenmedium vorliegen: Lösungen mit verschiedener Konzentration können einen gleichen Innendruck zur Folge haben, andererseits kann durch geringfügige Änderung der Aussenlösung ein recht verschiedener Innendruck erzeugt werden.

Da der Zusatz verschiedener Ionen zu einer Lösung die Permeabilität von Membranen und die Osmoregulation stark beeinflusst, wurde diese Grenzsituation, in der das Tier gerade noch regulieren kann ausgenutzt um die Wirkung verschiedener Ionen auf die Osmoregulation hin zu untersuchen. Auch hier mußte erst geprüft werden, ob die unverletzten Tiere in einfachen oder chemisch komplizierter zusammengesetzten Lösungen nach 48 Stunden einen Gleichgewichtszustand erreicht haben.

a) Zeitliche Änderung der Innenkonzentration bei gleichbleibender Aussenkonzentration

Verwendet man statt der einfachen Lösungen, wie dies bisher geschah, eine 20 % NaCl-Lösung zu der geringe Mengen anderer Salze hinzugefügt wurden, so erreicht die Innenkonzentration nach 24 - 48 Stunden wieder ein gewisses Niveau, welches einige Zeit gehalten wird. Die Höhe dieses Niveaus hängt von den zugeführten Ionen ab, ebenso, wann es erreicht wird (Abb. 11, 12). Da die Salze nur in sehr geringen Mengen zugefügt werden, kann die Konzentrationsänderung keine Rolle spielen, die Unterschiede müssen also auf den Ionenzusatz zurückzuführen sein.

Zu Beginn der Versuchszeit erscheint das Bild sehr ungeordnet, die Wirkung der einzelnen Ionen kristallisiert sich erst nach mehrstündiger Versuchsdauer heraus. Dabei zeigt sich, dass der Zusatz von KCl und $MgCl_2$ zu einer höheren Innenkonzentration führt, als der Zusatz von $CaCl_2$ oder $CaCl_2$ gemeinsam mit $MgCl_2$. Der Zusatz von $MgCl_2$ führt zu größeren Anfangsschwankungen, die verschiedenen Lösungen die nur $CaCl_2$ enthalten führen zu einem recht ausgeglichenen Kurvenverlauf, der sich nur im Endniveau unterscheidet. Dieser Unterschied kann auf die einzige Veränder-

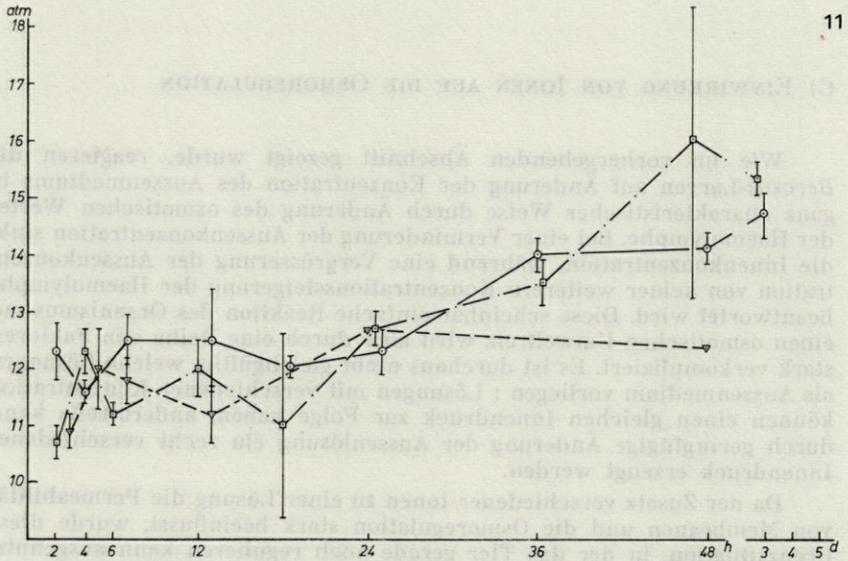


ABB. 11. — Osmotische Werte der Haemolymphe der Larven von *Berosus spinosus* in 20 %iger NaCl-Lösung und 2-wertigen Ionen. Ausgezogene Kurve : 20 % NaCl + 2 % CaCl₂; strichlierte Kurve : 20 % NaCl + 0,4 % CaCl₂; strichpunktirierte Kurve : 20 % NaCl + 0,56 % MgCl₂.

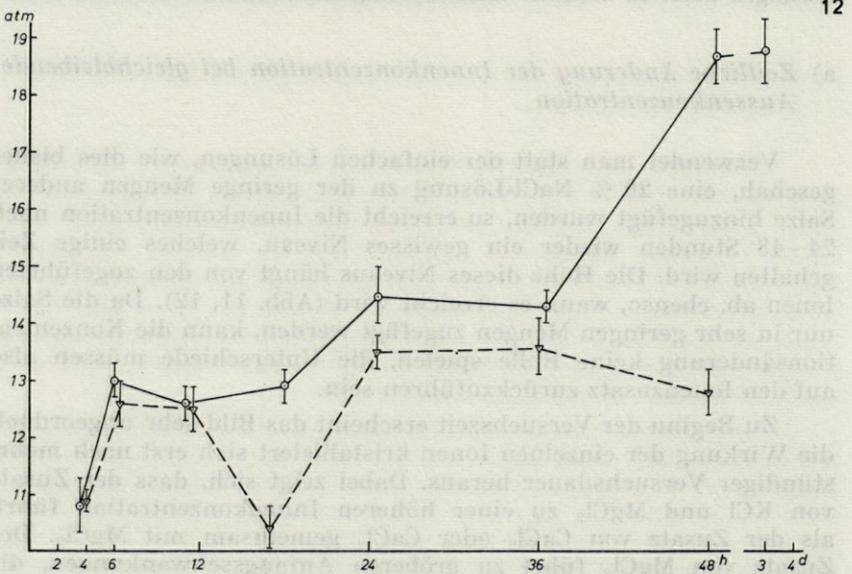


ABB. 12. — Osmotische Werte der Haemolymphe der Larven von *Berosus spinosus* in 20 %iger NaCl-Lösung und verschiedene andere Ionen. Ausgezogene Kurve : 20 % NaCl + 0,3 % KCl; strichlierte Kurve : 20 % NaCl + 0,56 % MgCl₂ + 0,4 % CaCl₂.

liche dieser Versuchsreihen, die Konzentration der Ca-Ionen zurückgeführt werden.

Aus den hier vorgelegten Versuchsergebnissen ersieht man :

- 1) Auch in binären Lösungen hat sich nach 48 Stunden ein Gleichgewichtszustand eingestellt, welcher über einige Zeit gehalten wird.
- 2) zeigen schon diese Vorversuche, dass nicht nur verschiedene Ionen, sondern auch verschiedene Konzentrationen desselben Ions den Innendruck unterschiedlich beeinflussen.

b) *Der Einfluss verschieden konzentrierter Kationen*

Zur Untersuchung wurden der 20 % NaCl-Lösung das entsprechende Ion als Chlorid in folgenden Konzentrationen zugesetzt : 10, 20, 40, 80, 160 und 200 mosmol. Dadurch wurde zwar die Gesamtkonzentration erhöht, doch kann dies für eine in dieser Versuchsserie beobachtete Steigerung der Innenkonzentration nicht verantwortlich gemacht werden. Die Messung der Innenkonzentration erfolgte nach 48 stündiger Versuchsdauer. Untersucht wurden die Alkali- und Erdalkalitionen.

Nach ihrer Wirkung lassen sich dabei deutlich zwei Gruppen unterscheiden : zur ersten Gruppe gehören die Ionen Li, Rb, Cs, Mg und Ba, der zweiten Gruppe gehören die Ionen Ca, und Sr an, während K eine Sonderstellung einnimmt. Eine Untersuchung der Wirkung aller möglichen Ionenkombinationen verbietet sich infolge ihres Umfanges von selbst. Damit soll aber nicht gesagt sein, dass nicht andere Ionen einen stärkeren Einfluss auf diverse Permeabilitätsvorgänge haben können, als die hier untersuchten (vergl. NEMENZ, 1963, 1964).

Die Wirkung der ersten Gruppe (Li, Rb, Cs, Mg und Ba) zeigt sich darin, dass bei geringer Konzentration (10 mosmol) der osmotische Wert des Innenmilieus erhöht wird, bei einer Steigerung auf 20 mosmol sinkt der Innendruck stark ab, nimmt aber bei einer weiteren Steigerung auf 40, bzw. 80 mosmol wieder zu, um bei 160 mosmol ein weiteres Minimum zu erreichen. Bei einer nochmaligen Konzentrationssteigerung auf 200 mosmol steigt der Innendruck bei allen Ionen, ausser bei Cs, wieder an. Im Einzelnen lässt sich folgendes beobachten : Die Kurven für Li und Mg verlaufen fast völlig parallel, jedoch liegt die Mg-Kurve höher, d.h., dass die absoluten Werte der Innenkonzentration unter Mg-Einwirkung höher liegen als bei Li. Auf etwa dem gleichen Niveau wie Li und weitgehend gleichlaufend liegen die Kurven für Rb und Cs (vergl. Abb. 13, 14). Die Cs-Kurve verhält sich allerdings in ihrem letzten Teil etwas anders : bei 200 mosmol Aussenkonzentration sinkt der osmotische Wert auf 10,4 atm, also sehr tief, während in allen anderen Fällen der osmotische Wert steigt. Am stärksten weicht die Ba-Kurve von den anderen ab. Das anfängliche Absinken bei 20 mosmol ist nicht sehr deutlich ausgeprägt, anschließend daran

steigt die Kurve langsam aber gleichmäßig, bis bei 80 mosmol ein Wert 15,0 atm erreicht ist. Darüber hinausgehende Ba-Konzentrationen erwiesen sich als toxisch, sodass der weitere Verlauf der Kurve nicht bestimmt werden konnte*.

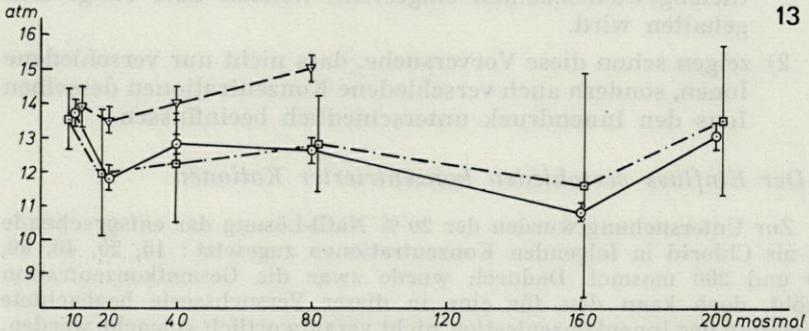


ABB. 13. — Osmotische Werte der Haemolymphe der Larven von *Berosus spinosus* in 20 %iger NaCl-Lösung und steigender Konzentration von LiCl, RbCl und BaCl₂. Auf der Abszisse sind nur die Konzentrationen der Kationen ausser Na eingetragen. Ausgezogene Kurve : 20 % NaCl + LiCl; strichpunktierter Kurve : 20 % NaCl + RbCl; strichlierte Kurve : 20 % NaCl + BaCl₂.

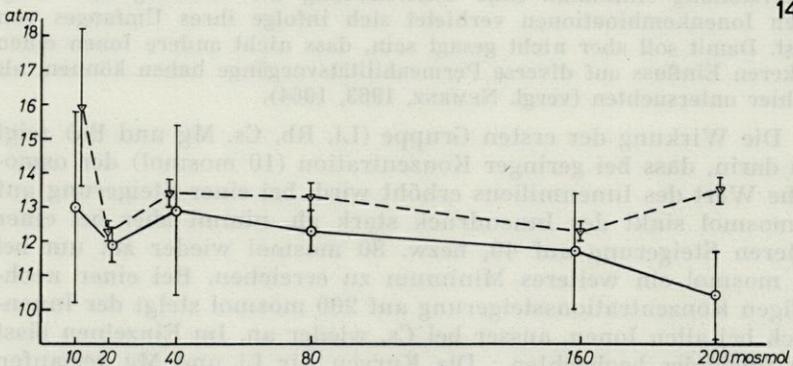


ABB. 14. — Osmotische Werte der Haemolymphe der Larven von *Berosus spinosus* in 20 %iger NaCl-Lösung und steigender Konzentration von CsCl und MgCl₂. Vergl. Abb. 13. Ausgezogene Kurve CsCl; strichlierte Kurve : MgCl₂.

* Die Art der toxischen Wirkung des BaCl₂ wurde nicht weiter untersucht. Es bleibt daher unentschieden, ob Ba in das Tier eindrang, oder ob durch die Atmung freiwerdendes CO₂ Barium als Carbonat an den der Atmung dienenden Hautstellen niederlag und so das Tier zum Ersticken brachte. Die erstere Deutung ist aber wahrscheinlicher, da ja dieser Niederschlag auch bei niedrigen Konzentrationen zu erwarten wäre, aber offensichtlich ausgeblieben ist.

Die Atemtätigkeit kann im Verlauf der Versuche die Konzentration mehrerer Ionen durch Carbonatbildung beeinflussen. Die angegebenen Konzentrationen sind stets die Anfangswerte.

Es zeigt sich also, dass die einwertigen Ionen eine geringere absolute Innenkonzentration bewirken, als die zweiwertigen in dieser Gruppe.

Die Wirkung der Ionen der zweiten Gruppe (Ca und Sr, Abb. 15) ist der ersten etwa entgegengesetzt. Bei 10 mosmol wird der osmotische Wert der Haemolymphe unter den Normalwert gedrückt, bei steigender Konzentration steigt anfänglich auch der Innendruck. Hier zeigt sich allerdings schon bald ein Unterschied zwischen den beiden Kurven. Der Anstieg bei der Ca-Kurve ist nur gering und einmalig (13,7 atm bei 20 mosmol), während der Innendruck unter Sr-Einwirkung viel höher ansteigt und auch erst langsamer wieder absinkt (bei 20 mosmol 14,5 atm, bei 40 mosmol 16,1 atm !). Nach einem annähernd ebenen Kurvenverlauf (von 40 mosmol bis 160 mosmol für Ca, von 80 mosmol bis 160 mosmol für Sr) sinken bei weiterem Konzentrationsanstieg die Innenwerte wieder ab und zwar bei Sr stärker als bei Ca. Sr bewirkt also extremere Schwankungen der Werte, Ca führt nur zu einer geringeren Schwankung um den Normalwert. Einwertige Ionen sind in dieser Gruppe nicht vorhanden.

Die Wirkung des K nimmt in mancher Beziehung eine Mittelstellung zwischen den beiden Gruppen ein. Bei 10 mosmol wird eine ausserordentlich hohe Innenkonzentration erreicht (18,7 atm), die mit steigender K-Konzentration langsam bis zu einem Minimum von 12,2 atm bei 80 mosmol absinkt, um bei weiterer Steigerung der K-Konzentration auch wieder anzusteigen, bis nach einem Maximum bei 160 mosmol (13,9 atm) die Innenkonzentration wieder absinkt (Abb. 15). Die Kurve gleicht also etwa einer stark auseinandergezogenen Mg-Kurve. Man kann das Verhältnis der K-Kurve dem Verhältnis gleichsetzen, in dem die Sr- zur Ca-Kurve steht : bei prinzipiell gleichem Kurvenverlauf sind die Extremwerte grösser und die Kurve in Richtung der x-Achse stärker gestreckt. Es ist aber wahrscheinlich nicht ohne Weiteres möglich, die K-Kurve in die erste Gruppe einzuordnen, denn der weitere Verlauf der Kurve (12,9 atm bei 240 mosmol) scheint anzudeuten, dass die Kurve etwa waagrecht verläuft, während entweder ein weiteres Absinken oder ein scharfer Anstieg zu erwarten wäre.

c) *Der gemeinsame Einfluss zweier Kationen*

Bei der Betrachtung der beiden besprochenen Ionengruppen wird der Eindruck erweckt, es handle sich um zwei antagonistisch wirkende Substanzgruppen, die sich bei gemeinsamer Einwirkung zum Teil oder ganz in ihrer Wirkung aufzuheben vermögen. Lässt man jedoch 2 Ionen gleichzeitig auf das Tier einwirken, so erhält man ein völlig anderes Ergebnis.

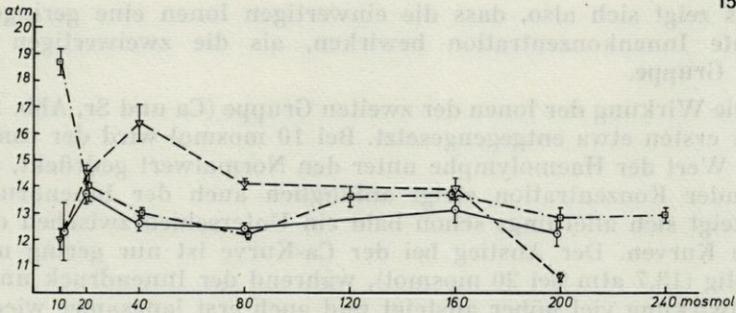


ABB. 15. — Osmotische Werte der Haemolymphe der Larven von *Berosus spinosus* in 20 %iger CaCl₂-Lösung und steigender Konzentration von CaCl₂, SrCl₂ und KCl. Vergl. Abb. 13. Ausgezogene Kurve : CaCl₂; strichlierte Kurve : SrCl₂; strichpunktirte Kurve : KCl.

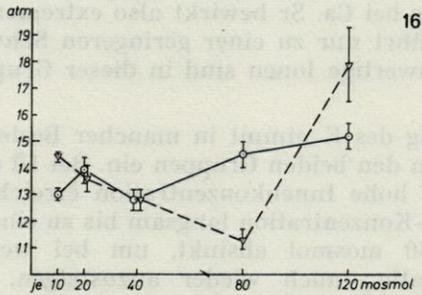


ABB. 16. — Osmotische Werte der Haemolymphe der Larven von *Berosus spinosus* in 20 %iger NaCl-Lösung und steigender Konzentration von 2 Kationen in gleichem Verhältnis. Vergl. Abb. 13. Ausgezogene Kurve : KCl + MgCl₂; jeweils doppelte Menge CaCl₂.

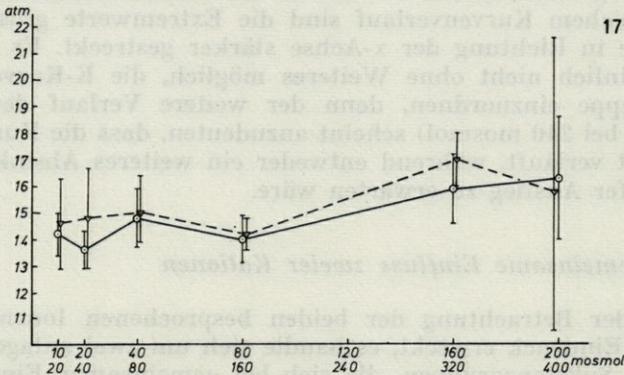


ABB. 17. — Osmotische Werte der Haemolymphe der Larven von *Berosus spinosus* in 20 %iger NaCl-Lösung und steigender Konzentration von 2 Kationen. Vergl. Abb. 13. Ausgezogene Kurve : CaCl₂ + MgCl₂; strichlierte Kurve : MgCl₂ + jeweils doppelter Menge CaCl₂.

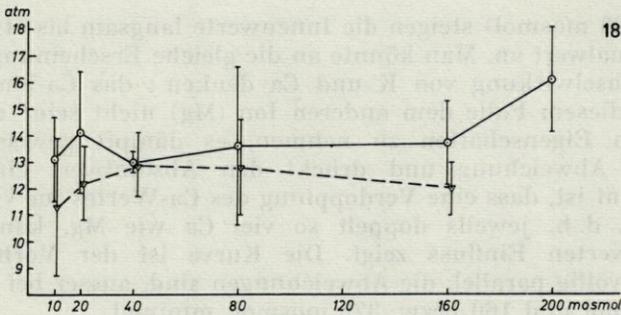


ABB. 18. — Osmotische Werte der Haemolymphe der Larven von *Berosus spinosus* in 20 %iger NaCl-Lösung und steigender Konzentration von NaHCO₃ (ausgezogene Kurve) und Na₂SO₄ (strichlierte Kurve).

Hier wurden nur die wichtigsten Ionen, K, Ca, und Mg untersucht. Liegen die beiden Ionen in gleicher Konzentration vor, so ergibt sich ein Kurvenbild das mit keinem der Einzelionen zu vergleichen ist. Fügt man K und Mg der 20 % NaCl-Lösung zu, so bleibt bei geringer Konzentration (je 10 mosmol) der Innendruck etwa auf der Höhe des Normalwertes (13,0 atm) (Abb. 16), während jedes Ion allein den Innendruck viel höher hatte hinaufschellen lassen. Bei je 20 mosmol steigt der Innendruck etwas an (auf 13,9 atm), um bei je 40 mosmol auf 12,7 atm abzusinken und bei je 80 mosmol wieder stärker anzusteigen (14,5 atm). Die Kurve ist also spiegelbildlich der Mg-Kurve, doch weicht sie weniger vom Normalwert ab als diese.

Lässt man hingegen K gemeinsam mit Ca wirken so erhält man eine Kurve, die der K-Kurve sehr ähnlich ist, aber wesentlich flacher verläuft. Die höchste Innenkonzentration (bei je 10 mosmol) beträgt nur 14,4 atm, bei steigender Konzentration sinkt der Innendruck gleichmässig bis auf 11,3 atm bei je 80 mosmol. Es hat den Anschein als ob das Ca-Ion die dem Kalium charakteristische Wirkung nicht abzuändern, sondern nur abzuschwächen vermag, während das Mg-Ion mit dem Kalium in eine grundsätzliche Wechselwirkung tritt (Abb. 16).

Da ja schon früh ein Antagonismus zwischen ein- und zweiwertigen Ionen angenommen worden war (z. B. HÖBER, 1917), ist das obige Ergebnis nicht so erstaunlich. Was geschieht nun, wenn man die beiden wichtigsten zweiwertigen Ionen (Ca und Mg) in Wechselwirkung treten lässt? Die resultierende Kurve ist genau spiegelbildlich zur K-Mg-Kurve, sie liegt nur in absolut tieferen Bereichen (Abb. 17). Bei je 20 mosmol sinken die Innenwerte relativ zu dem Werten bei je 10 mosmol, bei je 40 mosmol steigen die Werte wieder deutlich an, um bei je 80 mosmol wieder den Anfangswert wie bei 10 mosmol zu erreichen. Bei noch höheren Konzentrationen (je 160

und je 200 mosmol) steigen die Innenwerte langsam bis etwas über den Normalwert an. Man könnte an die gleiche Erscheinung wie bei der Wechselwirkung von K und Ca denken: das Ca-Ion vermag auch in diesem Falle dem anderen Ion (Mg) nicht seine charakteristischen Eigenschaften zu nehmen, es dämpft gewissermaßen nur die Abweichung und drückt den Absolutwert ein wenig. Interessant ist, dass eine Verdopplung des Ca-Wertes im Verhältnis zum Mg, d. h. jeweils doppelt so viel Ca wie Mg, kaum einen nennenswerten Einfluss zeigt. Die Kurve ist der Vorhergehenden fast völlig parallel, die Abweichungen sind, ausser bei 80 bzw. 160 mosmol und 160 bzw. 320 mosmol, minimal.

d) *Der Einfluss einzelner Anionen*

Der Einfluss der Anionen für die Osmoregulation war nur selten beachtet worden (HAAS & STRENZKE, 1957; CROGHAN, 1958a; SHAW, 1960b; STOBART, 1965). Es sollte geprüft werden, ob sich nicht wenigstens für die beiden wichtigsten Anionen Hinweise auf einen Einfluss auf die Osmoregulation der *Berosus*-Larven ergeben würde. Ähnlich wie bei den vorhergegangenen Versuchen wurde zur 20 % NaCl-Lösung das entsprechende Na-Salz hinzugefügt, verwendet wurden NaHCO_3 und Na_2SO_4 .

Wie Abb. 18 zeigt, ist auch bei den Anionen ein Einfluss auf den Innendruck zu verzeichnen. Die durch die Anionen verursachten Abweichungen vom Normalwert sind absolut geringer als bei manchen Kationen, sie sind aber deutlich zu merken. Interessanterweise erhöht NaHCO_3 in höherer Konzentration (200 mosmol) den Innendruck, Sulfat in geringerer Konzentration (10 und 20 mosmol) verringert den Innendruck. Ausser dem Anstieg bei höherer Konzentration des Karbonats und der Verringerung bei den niedrigeren Sulfatkonzentrationen laufen die Kurven etwa im Bereich des Normalwertes parallel zur x-Achse, d. h. die Innenkonzentration bleibt gleich. Ein Einfluss der Anionen auf die Regulation der Innenkonzentration ist also nachzuweisen, er ist jedoch, im Vergleich zu dem der Kationen, gering.

D) DISKUSSION

Bei den bisher besprochenen Versuchen wurden die Tiere einem sehr starken osmotischen Stress ausgesetzt, auf den sie durch eine Änderung der Innenkonzentration reagierten, wobei ganz bestimmte Wirkungen einzelner Ionen auftraten. Ganz allgemein kann ein osmotischer Stress am leichtesten durch eine gleichsinnige Änderung

der Blutkonzentration kompensiert werden. Infolge der extrem hohen Aussenkonzentration kommt eine Anglechung, in diesem Falle nicht in Frage, im günstigsten Fall kann eine Verringerung der Differenz: Innen-Aussen zu einer Verkleinerung des osmotischen Gradienten führen. Das würde allerdings an die Regulationsfähigkeit der Zelle erhöhte Ansprüche stellen. Die beobachteten Konzentrationsänderungen der Hämolyse entsprechen aber nur zum Teil den nach diesen Überlegungen zu erwartenden Änderungen, da die Wirkung einzelner Ionen die Konzentrationsänderungen beeinflusst. Um diese Wirkungen zu beschreiben wurde gelegentlich der Ausdruck Antagonismus verwendet, etwa in dem Sinn, wie er von LOEB (1911) eingeführt wurde. Auf Grund moderner Erkenntnisse über die Ionenwirkung bei den Permeabilitätsphänomenen (vergl. Überblick bei SCHOFFENIELS & BACQ, 1963) kann dieser Ausdruck höchstens zur Beschreibung eines Tatbestandes, nicht aber zu dessen Erklärung angewendet werden. Zwischen den einzelnen Ionen, deren antagonistische Wirkung beobachtet wurde, besteht ja kein Antagonismus in dem Sinn, dass das eine Ion das andere « bekämpft », sondern alle üben Wechselwirkungen aufeinander und auf das Tier aus. Eine Rivalität oder Konkurrenz besteht nur dort, wo im Falle eines aktiven Transportes mehr als ein Ion vom gleichen « Carrier » transportiert wird. Bei passiven Permeabilitätsvorgängen fällt diese Konkurrenz weg, übrig bleibt nur der Einfluss, den ein Ion auf die Permeabilität der betrachteten Membran ausübt. Da die Permeabilität einer Membran aber von der Wirkung aller auf die Membran einwirkenden Ionen beeinflusst wird, geht in das Ergebnis, also die « Netto-Permeabilität », die Summe aller Ionenwirkungen ein.

Diese Netto-Permeabilität wird von den einzelnen Ionen ganz verschieden beeinflusst. Hier spielen Faktoren wie die bioelektrischen Potentiale oder die Fixierung einzelner Ionen an der Membran (wie es z. B. für Ca nachgewiesen wurde) eine grosse Rolle, Faktoren, deren zellphysiologische Untersuchung und Aufklärung noch lange nicht abgeschlossen ist. Erschwert wird die Deutung am ganzen Tier noch dadurch, dass hier ja nicht die relativ einfachen Verhältnisse wie an einer Zelloberfläche vorliegen, sondern dass in der Gesamtoberfläche des Tieres ganz verschiedene und auch physiologisch verschieden aktive Zellarten und Kutikulazonen mosaikartig zusammengesetzt und der Einwirkung der Ionen ausgesetzt sind. Ausserdem sind aktive Regulationsmechanismen des Tieres zu erwarten. Das ganze Bild sieht also auf den ersten Blick hoffnungslos verworren und komplex aus.

Um so erstaunlicher ist es, dass dennoch gewisse Ionenwirkungen zum Tragen kommen, die offenbar so stark sind, dass ihre Wirkung im gleichen Maße an der Einzelzelle wie am ganzen Tier

in Erscheinung tritt. Die starke Wirkung, die die Erdalkalitionen ausüben, deutet darauf hin, dass es sich in erster Linie um passive Permeabilitätsvorgänge handelt die beeinflusst werden. Hierzu lassen sich in der Literatur eine Anzahl Beispiele finden, die eine gleiche Ionenwirkung auf das ganze Tier und auf einzelne Zellen zeigen, also eine Parallelität zwischen Zellphysiologie und der Reaktion des ganzen Tieres. Neben übereinstimmenden Beobachtungen gibt es aber auch genügend widersprechende Befunde, die zeigen, dass allgemeine Gesetzmässigkeiten noch nicht herausgearbeitet werden konnten. Beim Vergleich unverletzter Tiere aus verschiedenen Stämmen scheint besonders zwischen Vertebraten und Crustaceen ein deutlicher Unterschied in der Wirkung einzelner Ionen zu bestehen (BERGER, 1929; PORA & STOICOVICI, 1961a). Diese Beispiele sind nicht auf die Erdalkalitionen beschränkt, sondern erstrecken sich auch auf die Alkaliionen. Solange eine zellphysiologische Erklärung für die Wirkung der einzelnen Ionen noch aussteht, lassen sich hier nur Konvergenzen aufzeigen, kann aber eine Klärung nicht erwartet werden.

Die optimalen Ionengleichgewichte sind nicht nur für die verschiedenen Arten, sondern oft auch für die einzelnen Gewebe einer Art verschieden, worauf schon PORA (1958) hingewiesen hat. Es bestehen also auf dem Zellniveau Unterschiede die noch nicht herausgearbeitet wurden. Dabei handelt es sich um keinen Ionenantagonismus, wie PORA annimmt, sondern eher um einen Synergismus, da die Größe der Wirkung, die die einzelnen Ionen entfalten können, von der Anwesenheit anderer Ionen abhängt. Diese Wirkung entfalten die Ionen auch in verhältnismässig geringer Menge, also wenn ihr Anteil an der Gesamtkonzentration minimal ist.

Die Wirkung des Ca ist am besten bekannten : Ca verringert die Permeabilität tierischer und pflanzlicher Zellen für fast alle Stoffe (z.B. HARNISCH, 1951; GIESE, 1957; HEILBRUNN, 1958; SCHOFFENIELS & BACQ, 1963; vergl. auch die Zusammenfassungen von CLARK, 1958 und ROBERTSON, 1941), es sind nur wenige Ausnahmen bekannt. Sichtet man die in der Literatur verstreuten Berichte über die Ionenwirkung des Ca auf ganze Tiere, so findet man, dass die Reaktion unverletzter Tiere der der einzelnen Zellen gleicht. Die Permeabilität verschiedener Tiere ist in Ca-hältigen Lösungen oft geringer als in reinen Lösungen : ^{22}Na dringt bei Zusatz von Ca um etwa 30 %, ^{86}Rb um etwa 10 % langsamer in Larven von *Ephydra cinerea* (NEMENZ, 1960b), ^{32}P wird bei Erhöhung des Ca-Gehaltes um etwa 30 % langsamer von *Idothea baltica* und um fast 50 % langsamer von *Nereis diversicolor* aufgenommen, obwohl hier von Anfang an mit Meerwasser und nicht mit reinen Lösungen gearbeitet wurde (PORA & STOICOVICI, 1961b). Aus hypotonischen Lösungen wird der Influx von ^{24}Na in *Astacus pallipes* durch Ca im Aussenmedium

verringert oder nicht beeinflusst (SHAW, 1960c). Wahrscheinlich ist auch der Befund GEILENKIRCHEN'S (1961, 1964) auf der Basis der Permeabilitätsänderungen zu deuten, dass die LD_{50} für *Limnea stagnalis*-Eier in $CaCl_2$ -Lösungen bei Konzentrationen liegt, die bei Lösungen anderer Salze schon längst tödlich war. Auch die Überlebensdauer mancher Tiere wird in Ca-hältigen Lösungen deutlich erhöht. Marine Fische (*Gobius* sp., *Cristiceps* sp.) leben in Ca-hältigen NaCl-Lösungen (Konzentrationsverhältnis 2 : 98) deutlich länger als in reinen NaCl-Lösungen (BETHE, 1934). Bei Kaulquappen und Schleien ist eine Ca-Wirkung ebenfalls nachzuweisen, bei Schleien sind sogar reine $CaCl_2$ -Lösungen günstiger als solche, die NaCl enthalten (BERGER, 1929) ! Während HELFF (1931) an *Cambarus clarkii* feststellte, dass die Überlebensdauer in einer $CaCl_2$ -hältigen Lösung um etwa 30 % höher war, als in einer reinen NaCl-Lösung konnte BERGER (1929) bei anderen Crustaceen (*Daphnia*, *Mysis*, *Cancer* und *Carcinus*) nur einen geringen Einfluss des Ca feststellen. Dabei fällt schon eine deutliche Konzentrationsabhängigkeit auf, die maximale Wirkung liegt für *Gobius* bei etwa 3 % Ca-Zusatz, für *Mysis* aber bei etwa 1 %. In den anderen Fällen sind geringe Konzentrationen von Ca am Wirkungsvollsten.

Doch gibt es auch hier Ausnahmen. So ändert sich die Aufnahme von ^{32}P durch *Sphaeroma pulchellum* kaum durch Erhöhung des Ca-Gehaltes des verdünnten Meerwassers (PORA & STOICOVICI, 1961b), die Konzentration der Haemolymphe der Larve von *Aedes detritus* ist in einer $CaCl_2$ -Lösung etwa gleich gross wie in einer isotonischen NaCl-Lösung (BEADLE, 1939).

STOBBART (1965) stellte sogar fest, dass geringe Änderungen des Ca-Gehaltes des Aussenmilieus den Influx von Na in Larven von *Aedes aegypti* erhöht : wird der Ca-Gehalt auf 2,5 mMol/l erhöht, so steigt der Na- Influx auf das 2,3 fache um bei weiterer Steigerung auf 5 mMol/l auf das 1,8 fache des Influxes bei reiner 0,1 mMol/l NaCl-Lösung abzusinken. Dieser scheinbare Widerspruch ist darauf zurückzuführen, dass in dieser stark hypotonischen Lösung aktive Transportmechanismen eine grosse Rolle spielen, die in hyper-tonischen Medien nur unbedeutend sind.

Viele dieser Untersuchungen wurden nur mit einer Ca-Konzentration durchgeführt und sagen daher nichts über die Wirkung bei Konzentrationsänderungen aus. Die oben (p. 195, Abb. 15) dargelegten Befunde zeigen, dass geringe Änderungen des Ca-Gehaltes der Lösung Änderungen der Innenkonzentration zur Folge haben, die in erster Linie wohl als Permeabilitätsänderungen gedeutet werden können, z. T. aber auch durch Beeinflussung aktiver Regulationsmechanismen entstehen. Die Wirkung des Mg-Ions ist im allgemeinen ähnlich der des Ca-Ions, bloss etwas schwächer (HEILBRUNN, 1958; CLARK, 1958). Das stimmt auch für die zitierten Arbeiten von

BERGER (1929), HELFF (1931) und GEILENKIRCHEN (1961). PORA & STOICOVICI (1961b) finden dagegen je nach der Tierart eine verschiedene Wirkung. Bei *Idothea baltica* und *Nereis diversicolor* wird die Permeabilität durch Mg stärker verringert als durch Ca, während bei *Sphaeroma pulchellum* die Permeabilität sogar über den Wert der Kontrollen anstieg. Bei Anwesenheit von K ist die Mg-Wirkung stets deutlich geringer als die des Ca (PORA & STOICOVICI, 1961a; PORA et al., 1960). Ähnliches konnte auch bei den Larven von *Ephydra cinerea* beobachtet werden (NEMENZ, 1960b). BERGER (1929) hat verschiedene Konzentrationen von Mg verwendet und daraus eine ähnliche Wirkung wie von Ca ableiten können, die allerdings noch stärker von der Konzentration abhängig war, als bei Ca. Für *Daphnia* und Kaulquappen muss die Mg-Konzentration grösser sein als die von Ca um die gleiche Wirkung hervorzubringen. Auf den Na-Influx von *Aedes*-Larven ist Mg fast genau den gleichen Einfluss wie Ca (STOBBART, 1965), bei *Astacus* dagegen erhöht sich der Influx anfangs etwas, um mit steigender Konzentration von Mg sich wieder dem Normalwert zu nähern (SHAW, 1960c). Bei *Berosus spinosus*-Larven wirkt eine Konzentrationsänderung von Mg nicht nur viel stärker, sondern auch anderssinnig, als eine Änderung der Ca-Konzentration. Mg wurde daher weiter oben (p. 195, Abb. 14-15) zu einer anderen Gruppe gestellt als Ca, was ja durch einige der hier zitierten Literaturstellen gestützt wird. Mg selbst scheint nicht in grösserer Menge in den Körper aufgenommen zu werden. Darauf deutet das Verhalten der *Berosus*-Larven in der $MgSO_4$ -Lösung hin (p. 195). Die Tiere zeigten eine deutlich erhöhte Aktivität, während ein erhöhter Mg-Gehalt der Haemolymphe lähmend wirken würde (BUCK, 1953; CLARK, 1958). SCHLIEPER & KOWALSKI (1956a + b) nehmen an, dass beide Ionen die Stabilität der Zellcolloide zu erhöhen vermögen, eine Annahme, die durch GEILENKIRCHEN'S (1964) Untersuchungen zum Teil unterstützt wird, der die kolloidalen Phosphatide der Zellwand als Hauptangriffspunkte der Ionenwirkung annimmt. Bemerkenswert ist, dass trotzdem keine grössere Übereinstimmung der Resultate zu beobachten ist.

Die Wirkung der anderen zweiwertigen Ionen, Sr und Ba wurde bisher noch nicht untersucht. Einzig GEILENKIRCHEN (1961) bezog diese Elemente in seine Untersuchungen ein. Vergleicht man seine Mortalitätskurven (seine Abb. 6, p. 51) so findet man, dass Ba, Sr und Mg einer Gruppe angehören, die einen ähnlichen Kurvenverlauf haben (bezw. für Ba erwarten lassen), während die Ca-Kurve einen anderen Verlauf hat. Wir konnten die Gruppeneinteilung anders legen: Ca und Sr gehören einer Gruppe an, Ba und Mg einer anderen. Auch GEILENKIRCHEN wurde durch die Toxizität des Ba daran gehindert, den Kurvenverlauf bei höheren Konzentrationen zu untersuchen.

Die Wirkung des Kalium ist fast immer mehr oder weniger entgegengesetzt der des Kalzium (z. B. BETHE, 1934; SCHLIEPER & KOWALSKI, 1956a + b). Da K in höheren Konzentrationen eine gewisse Giftwirkung hat, zeigt sich bei Einwirkung reiner K-Lösungen gelegentlich eine Schädigung (z. B. HAAS & STRENZKE, 1957a + b; BEADLE, 1939; oben p. 184, Tab. 1). Geringe Zusätze von K haben gelegentlich eine sehr schwache aber gleichgerichtete Wirkung wie Ca: PORA & STOICOVICI (1961) zeigten, dass die Permeabilität für ^{32}P durch K-Zusatz bei *Idothea baltica* und *Sphaeroma pulchellum* abnimmt, sich also gleichsinnig verhält wie bei Ca-Zusatz, während bei *Nereis diversicolor* ein enormer Anstieg zu vermerken ist, also entgegengesetzt zum Verhalten bei Ca-Zusatz. Der Na-Influx bei *Astacus* wird durch steigenden K-Gehalt des Aussenmediums langsam kleiner (SHAW, 1960c, bei *Aedes* Larven dagegen verhält er sich bei K-Zusatz genau wie bei Ca-Zusatz: er steigt erst an, um bei grösserer K-Konzentration wieder etwas abzusinken (STOBBART, 1965). Häufig wirkt K weniger stark als Ca, in den meisten Fällen gleichsinnig, doch sind auch gegensinnige Wirkungen bekannt geworden (BERGER, 1929). Dass Na-Zusatz zu K-Lösungen eine entgiftende Wirkung hat, ist schon mehrfach festgestellt worden, zuletzt von CROGHAN (1958). Die Wirkung tritt aber erst auf, wenn Na im Überschuss vorhanden ist. Es liegt dann aber genau genommen keine K-Lösung mit Na-Zusatz vor, sondern eine Na-Lösung mit K-Zusatz. Man kann also nicht gut von einer « entgiftenden Wirkung des Na in K-Lösungen » reden. Zu ähnlichen Vergleichen bei den anderen untersuchten Ionen fehlt derzeit noch das Material.

Bei gleichzeitiger Einwirkung mehrerer Ionen, insbesondere solcher, die entweder im gleichen Sinn oder als « Antagonisten » wirken, erwartet man entweder eine Verstärkung oder Abschwächung der beobachteten Wirkung. Die Untersuchungsergebnisse beweisen aber, dass hier viel komplexere Verhältnisse vorliegen. Die gleichzeitige Einwirkung zweier Ionen ist bisher noch selten untersucht worden. HELFF (1931) und PORA & STOICOVICI (1961a) zogen bei ähnlichen Untersuchungen die Lebensdauer als Kriterium heran. BOONE & BAAS-BECKJNG (1931) und JACOBI & BAAS-BECKING (1933) beobachteten das Schlüpfen von Artemien-Eiern. HELFF fand, dass ein Zusatz von zwei der folgenden Salze: KCl, CaCl₂ und MgCl₂ zu einer NaCl-Lösung die Lebensdauer von *Cambarus clarkii* stärker verlängerte, als der Zusatz ein Salzes, sogar stärker, als wenn eine Summation der Wirkung angenommen wird. Die Wirkung hängt nicht nur von der Kombination sondern auch von der relativen Konzentration der Salze sehr stark ab. Bei zu hohen Ca und K-Konzentrationen überwiegt wieder die negative Auswirkung auf die Lebensdauer. Die Untersuchungen von PORA und Mitarbeitern (1960, 1961a) zeigen, dass bei Anwesenheit von K in den NaCl-

Lösungen Kalzium eine stärker lebensverlängernde Wirkung als Magnesium, bei Abwesenheit von K dagegen Magnesium stärker wirkt. Bei Anwesenheit von Kalium bleibt Magnesium wirkungslos; die Wirkung von Ca + Mg ist grösser, als die jedes einzelnen Ions, aber nur bei Anwesenheit von Kalium !

Die Nauplien von *Artemia* schlüpfen (BOONE & BAAS-BECKING, 1931; JACOBI & BAAS-BECKING, 1953) in NaCl-Lösungen mit Zusatz von, K, Ca, oder Mg oder deren Mischung, jedoch wird eine bestimmte K-Konzentration nicht überschritten, unbeschadet der Menge der anderen Ionen in der Lösung. Dennoch gibt es bestimmte Mischungsbereiche, in denen nicht einmal die Embryonalentwicklung beendet wird. Auffallenderweise liegen diese Bereiche nicht, wie anzunehmen wäre, um die höchsten K-Konzentrationen, sondern die hohen Mg-Konzentrationen töten schon den Keim. In Mischung mit anderen Ionen werden aber wesentlich höhere Mg-, als K-Konzentrationen ertragen.

Die Permeabilität für einzelne Ionen wird ebenfalls in unterschiedlichem Maße von Mg, Ca und deren Mischung beeinflusst (NEMENZ, 1960b). Sowohl ^{22}Na als auch ^{86}Rb permeieren in stärkerem Ausmaße in *Ephydra*-Larven, wenn der Aussenlösung Mg + Ca zugesetzt sind, als wenn nur eines der Ionen vorliegt. Dabei sind die Unterschiede nur quantitativ, egal ob ligierte oder unligierte Larven betrachtet werden. Nur die Na-Permeabilität unligierter Larven unterscheidet sich deutlich : bei Anwesenheit von Mg + Ca sinkt sie auf etwa 1,7 % der Permeabilität bei Mg allein, bzw. auf 3,5 % bei Ca allein ! Abgesehen davon, dass die spezifische Permeabilität der einzelnen Ionen auch bei gleichen Aussenbedingungen nicht ganz gleich ist, kann man daraus erkennen, dass auch andere Regulationsmechanismen eine grosse Rolle spielen, sonst könnten ja die Ergebnisse zwischen ligierten und unligierten Larven nicht so von einander abweichen (über die Wirkung der Ligaturen vergl. weiter unten). Die Konzentration von Ca + Mg bei den Versuchen mit *Ephydra* waren allerdings viel geringer als die höchsten hier verwendeten Konzentrationen. Bei unseren Versuchen mit *Berosus* zeigte die gemeinsame Einwirkung von Mg + Ca im Wesentlichen nur eine Stabilisierung der Innenkonzentration, wobei auch eine Veränderung der Relation Ca : Mg, nämlich Verdoppelung des Ca, kaum eine Änderung brachte (Abb. 17). Es kann sich also nicht nur um eine synergistische oder antagonistische Wirkung der Ionen auf das Kolloidsystem der Zellen handeln, sondern dieses Phänomen ist nur ein Aspekt, der aber von Mechanismen die hormonell oder nervös gesteuert sind, überlagert werden kann.

Der Einfluss der Anionen unterstützt diese Ansicht. Der Einfluss ist gering, er wirkt sich in erster Linie stabilisierend auf den Innendruck aus. Das Sulfation hat nur geringe Tendenzen zu per-

meiren (SNELL & CHOWDHURY, 1965; SHAW, 1960*b*) und beeinflusst den Influx von Na aus hypertonischen Medien in keiner Weise (SHAW, 1960*b*; STOBART, 1965), erleichtert aber offenbar die aktive Na-Aufnahme aus hypotonischen Medien (HAAS & STRENZKE, 1957). Die geringen, dennoch auftretenden Wirkungen deuten eher darauf hin, dass es seine Wirkung nicht direkt auf die Kutikula oder die direkt mit dem Medium in Verbindung stehenden Zellen ausübt, sondern, dass einer der anderen Steurmeehanismen durch die stets aufgenommenen Spuren beeinflusst wird.

In hypotonischen Lösungen verringern sowohl SO_4^{--} als auch HCO_3^- den Influx von Na in *Aedes aegypti* Larven (STOBART, 1965), verglichen mit einer reinen NaCl-Lösung. Der Zusatz der Ionen zu einer stark konzentrierten NaCl-Lösung, so wie es hier geschah, kann aber mit der aktiven Aufnahme aus verdünnten Lösungen nicht direkt verglichen werden.

Bekanntlich ist der osmotische Wert der Haemolymphe bei Insekten nicht nur von der Summe der anorganischen Bestandteile abhängig, sondern wird ausserdem in starkem Maße von der Konzentration der Trehalose und den freien Aminosäuren beeinflusst (z. B. BEADLE & SHAW, 1950; DUCHATEAU, LECLERCQ & FLORKIN 1958; FLORKIN, 1958; SCHOFFENIELS, 1960; SUTCLIFFE, 1963). Die osmotisch wirksame Menge der Aminosäuren ist bei den einzelnen Ordnungen verschieden; bei den Käfern scheint meist eine beträchtliche Menge vorhanden zu sein. Werden Tiere an ein anderes osmotisches Milieu angepasst, so ändert sich die Chloridkonzentration im gleichen Sinn mit der Aussenkonzentration, während die Menge der Aminosäuren sich entgegengesetzt verhält (BEADLE & SHAW, 1950; SCHOFFENIELS, 1960; FLORKIN, 1963). Die dabei beteiligten Aminosäuren sind prinzipiell nicht essentielle Aminosäuren wie Glykokoll, Prolin, Glutamin- und Asparaginsäure (SCHOFFENIELS, 1960; FLORKIN, 1963). Die Unterschiede in der Aminosäuren-Zusammensetzung zeigen, dass verschiedene Aminosäuren sich in ihrer osmotischen Wirkung gegenseitig vertreten können. Untersuchungen über die Ursachen, warum verschiedene Aminosäuren in diesen Fällen auftreten, und über die Mechanismen, durch die sie freigesetzt werden, fehlen weitgehend. Einzig SCHOFFENIELS & GILLES (1963) konnten bei Krebsen (*Astacus fluviatilis*) in vitro feststellen, dass die l-Glutaminsäuredehydrogenase in ihrer Wirkung sehr stark von der Konzentration der Na und K-Ionen in der Lösung beeinflusst wird. Neuerdings (1966) konnte SCHOFFENIELS diese Beobachtung bestätigen und feststellen, dass auch andere Kationen wie Li und NH_4 und Anionen wie NO_3 , Cl oder Acetat einen deutlichen Einfluss auf die Wirkung des Enzyms haben. Die Ionenwirkungen werden als typisch beschrieben und SCHOFFENIELS stellt eine gewisse Reihung nach ihrer Wirkung auf. Die Parallelitäten zwischen der Ionen-

wirkung auf das Enzym und die Osmoregulation sind auffallend, wenn auch die ganz andere Versuchsanordnung nicht gestattet, quantitative Vergleiche zu ziehen.

Die Regulation des Innendrucks der Insekten setzt sich also aus zahlreichen Komponenten zusammen : aktiver Transport, Permeabilität der Membranen und der Kutikula, Änderung der anorganischen Bestandteile der Haemolymphe, Änderung der Konzentration der freien Aminosäuren, und eventuell auch Änderungen der Konzentration von nicht-Aminosäure-Stickstoffhaltigen Substanzen und Trimethylaminoxid, worüber aber noch gar nichts bekannt ist. Die anorganischen Blutbestandteile werden durch Diffusion und aktiven Transport der Ionen und des Wassers in ihrer Konzentration verändert, wobei die Permeabilität der Kutikula und der Membranen eine Rolle spielt. Sowohl die Diffusion als auch der aktive Transport und die Permeabilität werden von der Zusammensetzung und Konzentration des Aussenmediums beeinflusst. Die Änderungen der freien Aminosäuren scheinen ebenfalls vom Ionengleichgewicht abhängig zu sein. Das könnte die Erklärung für die bisher ungeklärte Erscheinung sein, dass Änderungen des Chloridgehaltes der Haemolymphe nicht mit den erwarteten Änderungen des osmotischen Wertes übereinstimmen, sondern dass eine " Kompensatorische Regulation der Nicht-Chlorid-Fraktion " (WIGGLESWORTH, 1938; u.a.; siehe : BEADLE, 1957) postuliert und gefunden wurde. Diese Regulation erfolgt durch die Aminosäuren die wahrscheinlich aus den Blutproteinen freigesetzt werden.

Durch diese Vielfalt von Angriffspunkten erklärt sich, dass das Ionengleichgewicht, neben der osmotisch wirksamen Gesamtkonzentration, ein wesentlicher Faktor ist, der das Leben im wässrigen Milieu beeinflusst. Insbesondere unter Umständen die an die Regulationsfähigkeit des Organismus hohe Ansprüche stellen kann beim Zusammentreffen von für die Regulation ungünstigen Faktoren ein Gewässer für einen Organismus nicht besiedelbar sein, während die gleiche Gesamtkonzentration bei nur etwas geänderten Ionengleichgewicht erträglich ist. Dabei kommt es nicht nur darauf an, dass gewisse Ionen überhaupt vorhanden sind, ihre relative Konzentration ist mindestens genau so wichtig. Um in einem Organismus eine bestimmte Wirkung auszuüben kann die Konzentration der Ionen sich auch ändern, aber, und das ist wichtig, die Änderung der Konzentration der einzelnen Ionen muss nicht in der gleichen Weise erfolgen, sondern jede Konzentration eines Ions erfordert ein ganz bestimmtes Verhältnis zu den anderen Ionen, um die gleiche Endwirkung in der Osmoregulation zu entfalten.

Auf Grund dieses Sachverhaltes und den Schlüssen, die aus den physiologischen Experimenten gezogen wurden, war zu erwarten, dass *Berosus spinosus* an die ionale Zusammensetzung des

Wohngewässers ganz bestimmte Ansprüche stellen würde, bei denen besonders das Verhältnis der Ionen $K : Mg : Ca$ eine Rolle spielt. Zur Prüfung dieser Überlegungen wurden die natürlichen Wohngewässer in der näheren Umgebung des Etang du Doull untersucht. Die Gewässer lagen so nahe beieinander, dass eine Besiedlung durch den Käfer auf keine Hindernisse stossen dürfte, sondern dass seine An- oder Abwesenheit mit grosser Wahrscheinlichkeit auf Unterschiede im Chemismus des Wassers zurückgeführt werden dürfte. Neben der absoluten Konzentration war besonders auf die erwähnten Ionenverhältnisse zu achten. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden im ökologischen Teil behandelt.

E) DER EINFLUSS VON LIGATUREN UND KCN AUF DIE OSMOREGULATION

Obwohl das Interesse an der Regulationsfähigkeit des unverletzten Tieres im Vordergrund stand, wurden einige weiterführende Versuche durchgeführt. Durch Vergiftung mit KCN wurden stoffwechselabhängige Mechanismen stillgelegt, durch Ligaturen wurde orale Wasseraufnahme und anale Wasserabgabe verhindert, ausserdem wurde dadurch auch eine hormonale Beeinflussung des Wasser- und Mineralhaushaltes blockiert.

Der Einfluss von KCN ist sehr von der Konzentration abhängig. Die schwächste verwendete Konzentration war 0.5 mMol in 20 % NaCl. Innerhalb der ersten 12 Stunden war keine Wirkung zu beobachten, erst nach 30 Stunden (Abb. 19) zeigte sich ein schwacher Anstieg der Werte. Bei stärkeren Konzentrationen (2 mMol, 10 mMol und 20 mMol) (Abb. 20) steigt der Innendruck logarithmisch mit dem Logarithmus der Konzentration. Während bei 2 mMol KCN der Innendruck erst auf etwa 22 atm angestiegen war, stieg er bei 10 mMol auf etwa 26 atm, bei 20 mMol sogar auf rund 35 atm, wobei auch die Streuung stark zunahm. KCN bewirkt eine mit der Konzentration steigende Schädigung, die sich nicht nur durch einen steigenden Innendruck, sondern auch durch abnehmende Aktivität bemerkbar macht. Bei 10 mMol KCN leben etwa 2/3 der Versuchstiere und sind etwa normal turgeszent. In der 2 mMol KCN-Lösung ist die Aktivität sehr herabgesetzt. Bei einzelnen Tieren liess sich nicht immer feststellen, ob sie noch am Leben waren, da sie keine Reaktionen mehr zeigten, der Innendruck entsprach aber dem der anderen Tiere.

Werden Larven am Vorder- und Hinterende doppelt ligiert und sie dann der 20 % NaCl-Lösung ausgesetzt, so steigt der Innendruck anfänglich an (Abb. 19) bleibt einige Zeit auf einem leicht

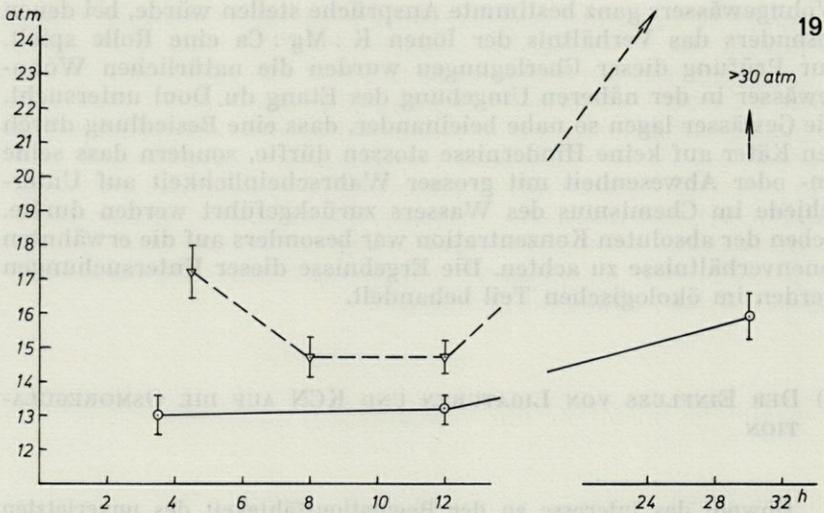


ABB. 19. — Osmotische Werte der Haemolymphe der Larven von *Berosus spinosus* in 20 %iger NaCl-Lösung unter Einfluß von 0,5 mmol KCN (ausgezogene Kurve) und Ligaturen.

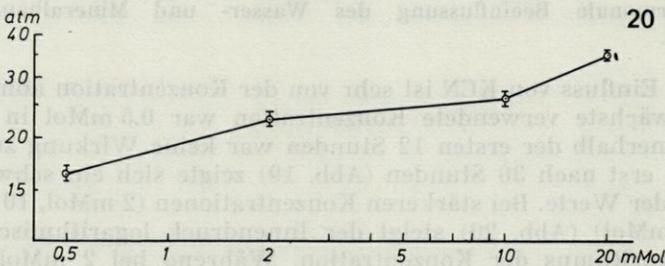


ABB. 20. — Osmotische Werte der Haemolymphe der Larven von *Berosus spinosus* in 20 %iger NaCl-Lösung bei steigender Konzentration von KCN.

erhöhten Niveau um gegen Ende des Versuches Werte über 38 atm zu erreichen. Allerdings war nicht immer sicher festzustellen, ob die Tiere noch am Leben waren.

Aus beiden Versuchen lässt sich ablesen, dass der hypotonische Innendruck nur von lebenden und nicht stark geschädigten Tieren aufrechterhalten werden kann. Die Kutikula allein vermag diese Leistung nicht zu vollbringen. Durch die Schnürungen waren auch alle Ausscheidungsmechanismen ausgeschlossen worden. Dass der Innendruck dennoch nur langsam ansteigt, deutet darauf hin, dass ein Teil der Regulationsmechanismen in der Kutikula oder Epidermis liegen muss. Diese Oberfläche nun ist, wie schon festgestellt,

wenig durchlässig. Die Versuche mit ligierten Larven zeigen weiter, dass nicht nur das Eindringen von Farbstoffen, sondern auch von Salz auf grossen Widerstand stößt. Die Kutikula ist also in der einen Richtung, in der die normalerweise auftretende osmotische Belastung wirksam ist, gegen Salze recht undurchlässig: das Eindringen von Salzen ist ebenso schwierig, wie der Austritt von Wasser, beides ist aber nicht unmöglich. Diese Schnürungsversuche harmonieren mit den Versuchen über die Transpiration, die weiter oben behandelt wurde. Der eben postulierte Regulationsmechanismus besteht wohl nur in einer sehr undurchlässigen Kutikula und nicht in einem aktiven Regulationsmechanismus der Körperoberfläche, der eine selektive Aufnahme oder Abgabe von Ionen oder Wasser ermöglicht. Zwar konnte WINSTON (1967) einen beschränkten Transport von Wasser durch die Insektenkutikula nachweisen, doch gilt das nicht für die Verhältnisse in stark hypertonen Medien. Die aktiven Mechanismen sind ausschließlich auf die resorbierenden Gewebe des Intestinaltraktes und die abscheidenden der Malpighischen Gefässe beschränkt.

Ähnliche Verhältnisse wurden auch an anderen Insektenlarven gefunden, bei denen durch Ligaturen die Körperöffnungen verschlossen worden waren. SUTCLIFFE (1961) konnte feststellen, dass die Inkorporierung von ^{24}Na in *Limnephilus*-Larven langsamer erfolgte, wenn den Larven die Mundöffnung verschlossen worden war. Bei an beiden Enden ligierten Larven nahm dagegen in Leitungswasser der Wassergehalt zu, da auch die Abgabe unterbunden war. Die prinzipiell gleichen Ergebnisse fand BEADLE (1939) an den Larven von *Aedes detritus*. Bei *Ephydra*-Larven fand NEMENZ (1960a), dass der osmotische Innendruck bei etwa 10 % Aussenkonzentration (verdünntes Salzseewasser) auf eine ähnlich Höhe stieg, wie bei den *Berosus*-Larven in 20 % NaCl-Lösung.

Der bisher allgemein bei Insekten nachgewiesene Ausscheidungsmodus überschüssiger Ionen durch die Malpighischen Gefässe und das Rectum gilt auch für Bewohner hyperhaliner Gewässer (vergl. z. B. RAMSAY, 1950, 1951 an *Aedes detritus*; BEADLE, 1939, u. a.). Die dazu nötige Wasseraufnahme durch Trinken wurde oft beschrieben (z.B. BEADLE, 1939; SCHALLER, 1949; KWARTIRNIKOFF, 1963) und spielt besonders in hypertonen Lösungen eine grosse Rolle für die Osmoregulation. Dass auch *Berosus spinosus* trinkt wurde durch die Aufnahme gefärbten Wassers in den Darm im Zuge der Vitalfärbungsversuche nachgewiesen.

Der Regulationsmechanismus von *Berosus spinosus* kann also als eine sehr wirkungsvoll arbeitende hyper- und hypotonische Regulation beschrieben werden, die am lebenden Tier auch bei langer Hungerzeit voll wirksam ist und sich durch eine weitgehend undurchlässige Körperoberfläche auszeichnet, andererseits aber auf die ionale Zusammensetzung des Aussenmediums reagiert.

VI. — ÖKOLOGISCHE BEOBACHTUNGEN
AN *BEROSUS SPINOSUS* IN SW-FRANKREICH

Die oben besprochenen Untersuchungen wurden alle an Tieren aus dem Etang du Doul durchgeführt. Dieser Etang ist limnologisch noch kaum bearbeitet worden. Er liegt etwa 1 km östlich von Peyriac-de-mer, 10 km südl. von Narbonne (Aude) auf einer Halbinsel, die in den Etang de Bages et de Sigean ragt (Abb. 21). Der Etang du Doul liegt in einem fast kreisförmigen Becken von etwa 600 m Durchmesser. Er steht mit dem Etang de Bages et de Sigean nicht in offener Verbindung, doch ist er durch einen kleinen Kanal mit einer Saline verbunden, die ihr Wasser zum Teil aus dem Etang du Doul zum anderen Teil aus dem Etang de Bages et de Sigean bezieht. Durch diesen Kanal wird auch Wasser aus der Saline in den Etang du Doul geleitet, so dass der Wasserstand ziemlichen Schwankungen unterworfen ist. Die Abhänge des Beckens sind teils mit Macchie, teils mit Weingärten bestanden. Sie bestehen zum kleineren Teil aus harten oligozänen Kalken (Chatt), andererseits aus rezenten alluvialen Strandablagerungen. Die etwa 50 m hohen, steilen Hügel im Westen des Etang bestehen aus oligozänen Konglomeraten und sind mit Weingärten bepflanzt.

An den Ufern finden sich neben Tamarisken typische Halophyten, vor allem *Salicornia herbacea*. Im Wasser wuchert an den Steinen und am treibenden Holz *Enteromorpha sp.* und *Ulva sp.* In den dichten *Enteromorpha*-Rasen leben die Larven von *Berosus spinosus*. An den flachen Stellen der Westseite wird das losgerissene Algenmaterial oft in dicken Teppichen zusammengetrieben, die bei sinkendem Wasserstand auf dem flachen Ufer liegen beiben und austrocknen. Die Larven sind sowohl in den noch schwimmenden Algenwatten, als auch unter dem austrocknenden Material anzutreffen. Die älteren Larven graben sich gegen Ende des Sommers (Ende August) in den Boden ein, wo sie etwas über dem Niveau des Wasserspiegels in 2-5 cm Tiefe eine Verpuppungskammer bauen. Die ersten Puppen konnten 1962 schon Ende Juli beobachtet werden. Die meisten Puppenkammern enthielten zu dieser Zeit noch Larven. Die Puppenkammern liegen teils im lehmigen Sand, teils im Faulschlamm, wobei ihre Wand heller ist als die Umgebung. Die früher als in den anderen Jahren einsetzende Verpuppung im Jahre 1962 ist wahrscheinlich auf die durchschnittlich höheren Temperaturen des Frühjahrs zurück zu führen (vergl. : Résumé mensuel du Temps en France).

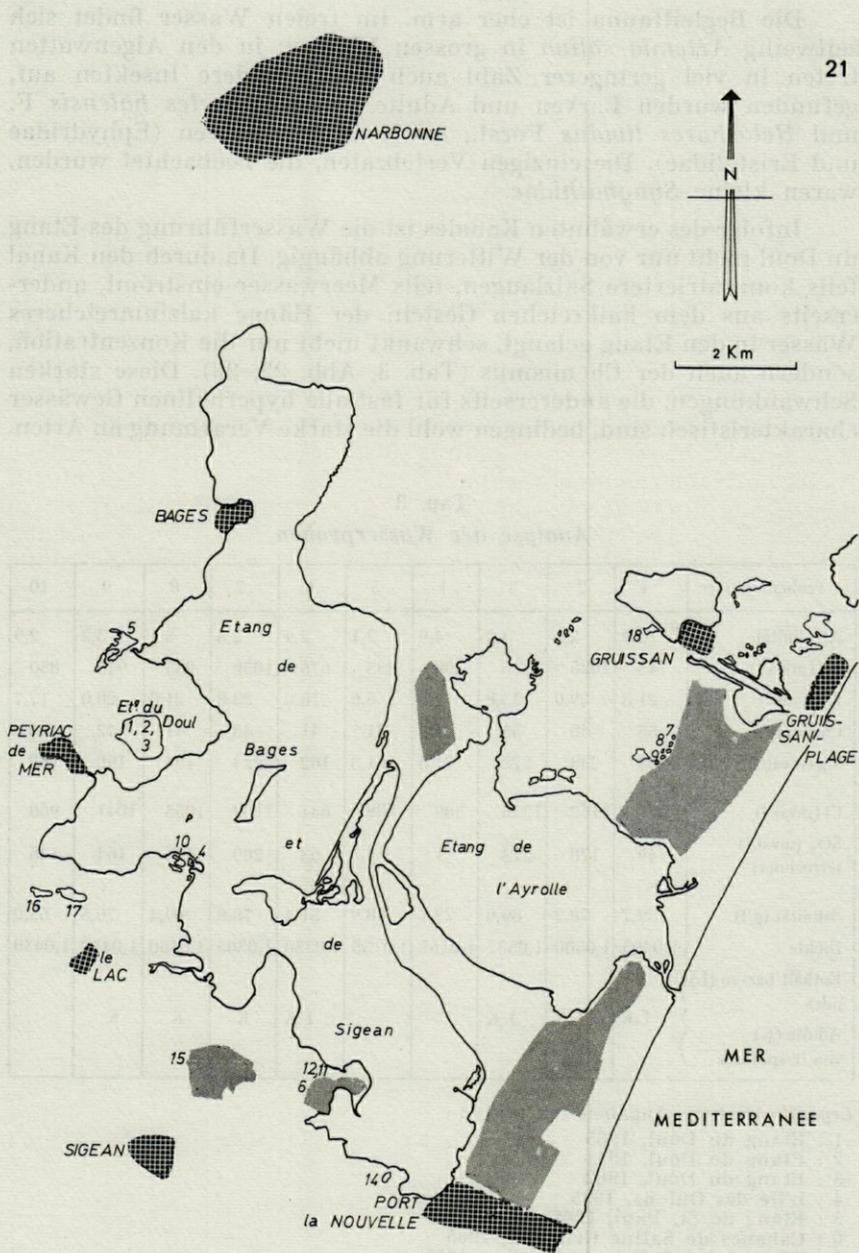


ABB. 21. — Karte des Untersuchungsgebietes. Grobes Raster : Ortschaften; feines Raster : Salinen; die Untersuchungsstellen sind durch Zahlen bezeichnet.

Die Begleitfauna ist eher arm. Im freien Wasser findet sich zeitweilig *Artemia salina* in grossen Mengen, in den Algenwatten treten in viel geringerer Zahl auch einige andere Insekten auf, gefunden wurden Larven und Adulte von *Deronectes halensis* F. und *Helochares lividus* Forst., sowie Dipterenlarven (Ephydridae und Eristalidae). Die einzigen Vertebraten, die beobachtet wurden, waren kleine *Syngnathidae*.

Infolge des erwähnten Kanales ist die Wasserführung des Etang du Doul nicht nur von der Witterung abhängig. Da durch den Kanal teils konzentriertere Salzlaugen, teils Meerwasser einströmt, andererseits aus dem kalkreichen Gestein der Hänge kalziumreicheres Wasser in den Etang gelangt, schwankt nicht nur die Konzentration, sondern auch der Chemismus (Tab. 3, Abb. 22, 23). Diese starken Schwankungen, die andererseits für fast alle hyperhalinen Gewässer charakteristisch sind, bedingen wohl die starke Verarmung an Arten.

TAB. 3
Analyse der Wasserproben

Probennummer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Alkalinität	2,9	2,3	3,2	4,9	2,1	2,9	2,8	3,1	3,2	2,9
Na (mval/l)	745	1025	1175	290	235	675	1050	935	945	850
K (mval/l)	21,8	29,0	33,8	7,5	6,0	16,0	23,8	21,0	20,0	17,7
Ca (mval/l)	55	48	55	21	31	41	43	41	42	58
Mg (mval/l)	204	238	272	71,5	61,3	162	224	194	198	188
Cl (mval/l)	876	1162	1323	389	329	831	1132	1055	1041	968
SO ₄ (mval/l) (errechnet)	149	178	213	1	4,3	63	209	136	164	146
Salinität (g/l)	59,7	78,2	89,9	22,1	18,9	51,4	78,8	69,4	70,5	65,0
Dichte	1,0405	1,0500	1,0557	1,0165	1,0135	1,0350	1,0505	1,0460	1,0450	1,0430
Enthält Larven (L) oder Adulte (K) von <i>B. spinosus</i>	L,K	L,K	L,K			L,K	K	K	K	

Legende (Nähere Angaben im Text) :

- 1 : Etang du Doul, 1965
- 2 : Etang du Doul, 1961
- 3 : Etang du Doul, 1962
- 4 : L'île des Oulous, 1965
- 5 : Etang de St. Paul, 1965
- 6 : Cabanes de Saline Grimaud, 1965
- 7 : Tümpel bei Saline de Reprise, 1965
- 8 : » » » » » 1965
- 9 : » » » » » 1965
- 10 : L'île des Oulous, 1965.

Während der drei Sommer, in denen Beobachtungen durchgeführt wurden, hatte der Etang im Jahre 1965 den tiefsten Wasserstand. Während des ganzen Sommers strömte Wasser durch den Kanal ein. Der höchste Wasserstand wurde 1962 beobachtet, wo er von 14. V. bis 27. VI. praktisch gleich blieb und erst Ende Juli etwas absank. Durch den Kanal strömte gelegentlich Wasser aus dem Etang. 1961 sank der Wasserstand während der Beobachtungsperiode (Mitte Juli bis Mitte August) in folge Verdunstung beständig ab, der Kanal war nicht in Tätigkeit. Am 18. August war der Wasserstand etwa so hoch wie im Jahre 1965. Dennoch ist die Gesamtkonzentration jedes Mal anders und ändert sich nicht proportional mit dem Wasserstand (Tab. 3, Abb. 22). Zur Zeit des tiefsten Wasserstandes (1965) betrug die Salinität $59,7\text{‰}$, bei etwa gleichem Wasserstand 1961 : $78,2\text{‰}$ und 1962, auch gegen Ende der Beobachtungsperiode $89,9\text{‰}$. Auf die damit Hand in Hand gehenden Änderungen im Chemismus wird weiter unten noch einzugehen sein. Für 1960 geben PETIT & MIZOULE (1962) eine Salinität von $70,30\text{‰}$ an, in früheren Jahren betrug seine Konzentration gelegentlich (XI. 1956) sogar nur $34,76\text{‰}$, war aber meist in der Grössenordnung der hier angegebenen Werte (Abb. 22) (PETIT & SCHACHTER, 1958).

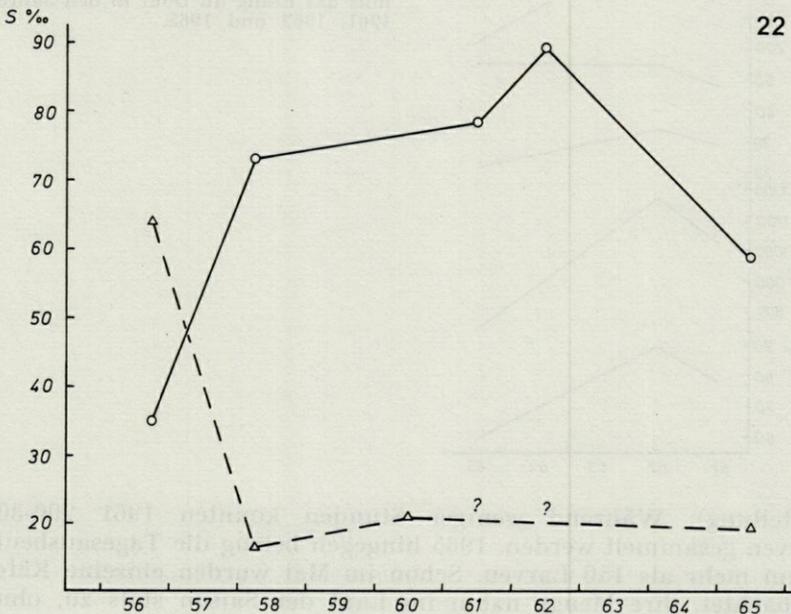


Abb. 22. — Änderungen der Salinität des Etang du Doul (ausgezogene Kurve) und des Etang St. Paul (strichlierte Kurve) in den Jahren 1956-1965. z. T. nach PETIT & MIZOULE und PETIT & SCHACHTER.

Berosus spinosus war stets in grossen Mengen anzutreffen, nur im letzten Jahr hatte seine Menge abgenommen, wahrscheinlich infolge der sehr intensiven Mückenbekämpfung durch Insektizide, die im vorausgehenden Frühjahr erfolgt war (PETIT, mündliche

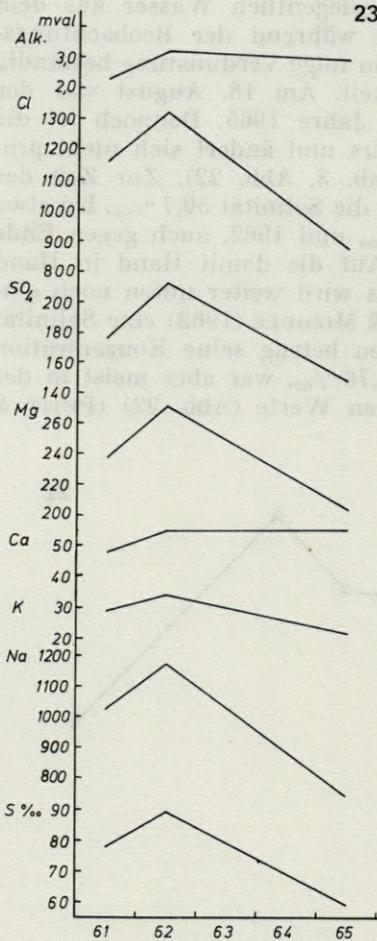


ABB. 23. — Änderungen im Chemies des Etang du Douil in den Jahren 1961, 1962 und 1965.

Mitteilung). Während weniger Stunden konnten 1961 200-300 Larven gesammelt werden, 1965 hingegen betrug die Tagesausbeute kaum mehr als 150 Larven. Schon im Mai wurden einzelne Käfer beobachtet, ihre Menge nahm im Lauf der Saison stets zu, ohne dass die Menge der Larven merkbar geringer wurde.

In der näheren Umgebung des Etang du Douil befinden sich eine grössere Anzahl kleinerer Gewässer, die als potentielle Wohn-

gewässer von *B. spinosus* anzusprechen waren. Eine Untersuchung der meisten dieser am 2., 3. und 4. VIII. 1965 (Abb. 21) zeigte, dass viele auf der Karte verzeichnete Gewässer zu diesem Zeitpunkt eingetrocknet waren und daher für *Berosus spinosus* keine Lebensmöglichkeit boten. Von einigen Gewässern wurden Wasserproben mitgenommen und in Wien analysiert (Tab. 3). Im Folgenden sollen die einzelnen Gewässer kurz charakterisiert werden.

Im Gegensatz zum Etang du Doul liegen alle anderen Gewässer in alluvialen Strandablagerungen.

Cabanes de Saline Grimaud (bei Port-la-Nouvelle) (Abb. 21, Tab. 3, Nr. 6, 11, 12) : untersucht wurden einige Abflussgräben der Gradierbecken die einen dichten Blaualgenbewuchs aufwiesen. Während einiger Besuche (VII, VIII. 1965) wurden stets die gleichen Verhältnisse vorgefunden. Unter den dichten Algenwatten, bzw. in den Blaualgenrasen fanden sich sowohl Käfer als auch Larven. Einmal konnte ein *Syngnathus sp.* beobachtet werden, am Ufer flogen zahlreiche Dipteren (Ephydriden). Die Salinität eines untersuchten Grabens (Nr. 6, Probenentnahme am 3. VIII. 1965) betrug 51,4 ‰, ein anderer Graben mit schwacher Strömung hatte am 26. VII. eine Salinität von 60 ‰, ein altes Gradierbecken mit stehendem Wasser 62 ‰ (Salinität aus Dichte berechnet). Die drei Gewässer hatten etwa gleich dichten Algenbewuchs, *B. spinosus* war in allen gleich häufig.

Tümpel bei Salin de Reprise (bei Gruissan) (Abb. 21, Tab. 3, Nr. 7, 8, 9) : westl. der Salin de Reprise liegt ein Rudealgelände, in dem sich einige 1-2 m tiefe Tümpel von 10-50 m Durchmesser finden, die weder Zu- noch Abfluss haben. Einige dieser Tümpel liegen in feinem Ton und sind stark getrübt, die anderen besitzen eine mehr oder weniger starke Faulschlammschicht, sind viel weniger trüb, haben einen reichen Algenbesatz und riechen zum Teil sehr deutlich nach H₂S. Die getrübten Tümpel enthalten fast keine Algen. Eine Untersuchung zeigte, dass in keiner dieser trüben Lacken *B. spinosus* zu finden war, nur in drei der veralgten Tümpel fanden sich viele Adulte, jedoch keine Larven. Ausser einiger Larven anderer Käfer (? *Deronectes sp.*) lebten im größten dieser Tümpel (Nr. 7) Mengen von *Gammarus sp.* Die Salinität war in allen Fällen hoch, im größten Tümpel betrug sie 78,8 ‰, in den beiden kleineren 69,4 ‰ bzw. 70,5 ‰.

Mourel du Teule (bei Port-la-Nouvelle) (Abb. 21, Nr. 14) : ein kleiner Tümpel, etwa 70 m Durchmesser. Kreisrund, neben der Strasse gelegen. Am 26. VII. 1965 fast völlig eingetrocknet, dicke Algenschichten bedeckten den Boden, darunter noch feucht. Einige adulte *Berosus*, keine Larven, viele Ephydriden (Larven, Puppen und Adulte), Tipulidenlarven.

L'île des Oulous (Abb. 21, Tab. 3, Nr. 4, 10) : zwei der eingezeichneten Tümpel enthielten Wasser, einer davon steht über einem ganz schmalen Durchlass mit dem Etang des Bages et de Sigean in Verbindung. Dieser enthält *Ulva sp.* (non *lactuca*!), *Zostera* und ist am Rande mit *Phragmites* bestanden. Auf den abgestorbenen Pflanzenteilen im Wasser ist *Idothea* häufig, *Berosus* fehlt (Nr. 4), Salinität 22,1 ‰. Der zweite Tümpel ist durch einen etwa 20 m breiten Landstreifen, der offensichtlich selten überflutet wird vom Etang und vom ersten Tümpel getrennt, enthält sehr wenig Algen, etwas abgestorbenes Seegras. Der Boden ist kiesig, das Wasser ganz klar, etwa 40 cm tief, an Tieren wurde gefunden: *Gammarus sp.*, einige Eristalidenlarven, *Berosus* fehlt (Nr. 10), Salinität 65,0 ‰.

Etang de St. Paul (Abb. 21, Tab. 3, Nr. 5) : Der Etang de St. Paul wird durch die auf einem Damm verlaufende Strasse Peyriac-de-mer - Bages vom Etang des Bages et de Sigean getrennt. Dieser Damm hat einige kleine Durchstiche, so dass ein ständiger, wenn auch geringer Wasseraustausch mit dem Etang de Bages et de Sigean möglich ist. Da kein regelmässiger Süßwasserzufluß besteht, ist die Salinität höher als im anschliessenden Teil des Etang de Bages et de Sigean. Zur Zeit der Probenentnahme betrug die Salinität 18,9 ‰, PETIT & MIZOULE (1962) haben für 1960 Salinitäten von 19,12 ‰ und 20,88 ‰ angegeben, während gleichzeitig in nächster Nähe im grossen Etang des Bages 17,31 ‰ herrschten. (Die Salinitätsbestimmungen von PETIT & MIZOULE gehen auf Cl-Titrationen zurück, während die hier vorliegenden Angaben stets aus den Wasseranalysen errechnet wurden. Bei den thalassohalinen Gewässern ist der daraus resultierende Fehler gering, beim Etang du Douil ist er etwas grösser, aber auch nicht gravierend). In früheren Jahren schwankte die Salinität noch stärker und erreichte viel höhere Werte (PETIT & SCHACHTER, 1958), der höchste gemessene Wert war 64,64 ‰ (am 9. IX. 1956), der geringste 16,72 ‰ (am 3. IV. 1958) (Abb. 22). Im Etang St. Paul findet man an Algen hauptsächlich *Cladophora sp.* und *Enteromorpha intestinalis*, in Bruchten steht am Ufer *Juncus sp.* Die fauna ist reich an Isopoden (*Idothea baltica* und *Sphaeroma sp.*, det. MIZOULE) und Mollusken, besonders kleine Schalen von *Cardium sp.* und *Hydrobia sp.*. *Berosus* wurde an verschiedenen Stellen und zu verschiedenen Zeiten gesucht, aber nie angetroffen.

Graben der Grande Saline (bei Sigean) (Abb. 21, Nr. 15) : ein tiefer Graben neben der Strasse, dicht mit Algenwatten bewachsen, enthielt nie *Berosus*. Die Salinität wechselte sicher stark, wenn auch der Wasserstand meist etwa gleich war. 1962 bestimmte DIETZ (1964) die Salinität mit 73 ‰.

Gräben in der Saline de La Palme (bei La Palme, ausserhalb der Karte in Abb. 21, etwa 10 km südlich) : in den stark konzentrierten Abzugsgräben konnte neben dicken Algenwatten *Artemia salina* gefunden werden, jedoch keine Insekten. Ephydriden flogen zwar in Mengen, Larven waren keine vorhanden, *Berosus spinosus* fehlt.

Strandsee süd. von Port la Nouvelle : sehr seicht, enthält Meerwasser, etwas *Ulva sp.*, vereinzelt Ephydralarven, *Berosus* fehlt.

L'Œil de Chat (bei Le Lac) (Abb. 21, Nr. 16, 17) : der westlichere der beiden Tümpel (Nr. 16) völlig eingetrocknet, der andere enthält Süsswasser, ist an den Rändern stark verschilft. *Berosus* wurde nicht gefunden.

Tümpel westl. von Gruissan an der Strasse nach Tournebellette (Abb. 21, Nr. 18) : reicher Schilfbewuchs an den Rändern, sehr flach, Süsswasser, *Berosus* wurde nicht gefunden.

Die Larven von *B. spinosus* leben, wie schon oben erwähnt, stets in den Algenwatten, von denen sie sich ernähren. Die Nahrungsaufnahme selbst konnte nicht beobachtet werden, da die Tiere bei der geringsten Störung jegliche Bewegung einstellen. Der Darminhalt, der oft durch die Körperdecke durchschimmert, ist grün und enthält Bruchstücke von Algenfäden. Trotzdem die Tiere oft lange ohne Nahrung gehalten wurden, konnte nie Kannibalismus beobachtet werden. Die Larven sind also trotz der schlanken Mandibel die auf eine räuberische Lebensweise zu deuten scheinen, Pflanzenfresser. Obwohl BØVING & HENRIKSEN (1938) daran zweifeln, muss man WILSON (1923) recht geben, der die *Berosus*-larven als harmlose Pflanzenfresser beschrieb. An Feinden kommen für die Larven fast nur andere räuberische Insektenlarven in Frage, wie sie in den obigen Aufstellungen erwähnt wurden. Die Adulten dagegen dürften in erster Linie von Vögeln, besonders Möven (*Larus ridibundus*) erbeutet werden, die an manchen Gewässern in größeren Mengen auftreten. Am Etang du Doul wurden auch Limicole beobachtet, die wahrscheinlich auf die Käfer Jagd machen. Bei Magenuntersuchungen fanden AGUESSE & BIGOT (1959) allerdings, dass nur die Lachseeschwalbe (*Geochelidon nilotica*) Larven und Adulte von Wasserkäfern gefressen hatte, während die anderen kleinen Limicolen diese Kost verschmähten.

Wie aus der obigen Aufstellung ersichtlich, wurde *Berosus* im Untersuchungsgebiet nie in Wässern unter etwa 50 ‰ Salinität angetroffen. Das bedeutet aber nicht, dass er nicht auch in weniger konzentrierten Gewässern vorkommen könnte. Nach CHIESA (1959) ist *Berosus spinosus* ein Bewohner « brackiger Gewässer » (« in acque semisalate litoranee »). Seine Angaben beziehen sich aber offensichtlich nicht auf genaue Untersuchungen, ausserdem verwen-

det er den Ausdruck « semisalate » nur, um vom Süßwasser abweichende Bedingungen zu kennzeichnen; eine Aussage über die tatsächliche Konzentration ist damit nicht verbunden. Da alle Probenentnahmen im Sommer erfolgten, also zu einer Zeit geringen Wasserstandes, ist die Konzentration höher als nach den Winterregen. Die Wasserstandsschwankungen dieser abflusslosen Gewässer sind ja sehr stark, mit ihnen Hand in Hand gehen aber auch starke Konzentrationsschwankungen. Bei den hier untersuchten Gewässern kann dies nur für den Etang du Doul belegt werden, dessen Konzentration und Zusammensetzung schon bei diesen wenigen Untersuchungen stark schwankte. Diese Konzentrationsschwankungen treten auch in den anderen Etangs auf (PETIT & MIZOULE, 1962; PETIT & SCHACHTER, 1958) dabei werden die Salinitätsgrenzen der Venediger Nomenklatur leicht überschritten, wie dies AGUESSE (1957) für die im allgemeinen geringer konzentrierten Gewässer in der Camargue nachgewiesen hat. Im Sommer 1965 waren alle Wohngewässer von *Berosus spinosus* hyperhalin, während des Winterhalbjahres dagegen werden sicher die meisten bis in mixohaline Bereiche verdünnt. Dabei bleibt unberücksichtigt, dass bei Inlandsalzgewässern, und als solche können die mit dem Meer nicht in Austausch stehenden betrachtet werden, die chemischen Unterschiede oft so gross sind, dass die Konzentrationsunterschiede und schwankungen in ihrer Bedeutung in den Hintergrund treten können (vergl. auch LÖFFLER, 1960; BEADLE, 1943). Letzterer Fehler haftet prinzipiell auch der Einteilung von AGUESSE an, da es dieser Autor in der Camargue aber nur mit thalassohalinen Gewässern zu tun hat, spielen die chemischen Unterschiede dort keine Rolle. Bei Gewässern mit starken Unterschieden in der Ionenzusammensetzung ist jedoch auch die Einteilung von AGUESSE nicht unbedingt anwendbar, sondern es muss, je nach dem Ziel der Untersuchung, der chemische oder Konzentrationsaspekt im Vordergrund stehen.

Wie aus Tab. 3 ersichtlich, bestehen alle hier untersuchten Gewässer im wesentlichen aus eingedicktem oder verdünntem Meerwasser, sind also nach BOND (1935) als thalassohalin anzusprechen. In der Ionenzusammensetzung finden sich dessen ungeachtet einige Unterschiede, insbesondere in der Relation der drei Kationen Kalium, Kalzium und Magnesium (Tab. 3, Abb. 24) Schon im Etang du Doul bewirkt die Konzentrationsveränderung Verschiebungen in den Ionenverhältnissen (Abb. 23). Die Absolutwerte der Konzentration von Na, Mg, Cl, und SO_4 verändern sich parallel mit der Konzentration. Bei starker Verdünnung bleibt die K-Konzentration etwas höher, während die Ca-Konzentration und die Alkalinität mit der Konzentrationszunahme zwar anstiegen (1961-62), bei Abnahme (1962-65) dagegen gleich blieben. Das führt zu einer relativen Anreicherung an Ca und, in geringerem Maße, auch an K. Während der starken Konzentrationszunahme 1961-62 blieb die relative Kon-

zentration der Ionen etwa gleich. Daher liegen die Punkte für diese beiden Jahre auf Abb. 24 eng nebeneinander, während der Punkt für 1965 weit abseits liegt.

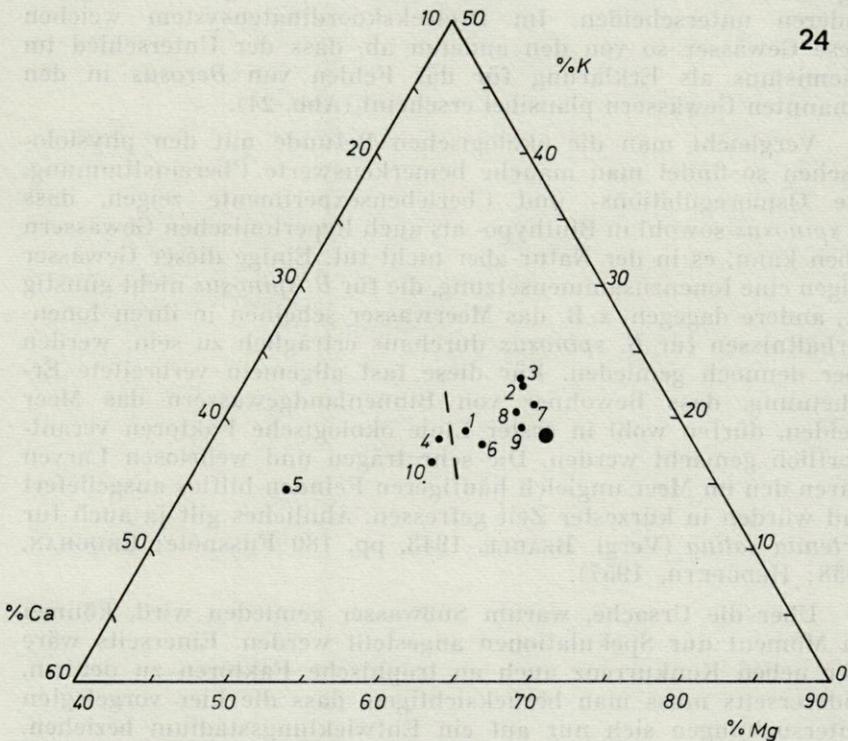


Abb. 24. — Prozentverhältnisse der Kationen K, Ca und Mg in den untersuchten Gewässern (1-10) und im Meerwasser (grosser Punkt). Links von der strichlierten Linie die Gewässer ohne *Berosus*-Besatz.

Neben der beschriebenen Schwankung der Salinität zeichnet sich der Etang du Doul also auch durch eine chemische Instabilität aus, die natürlich starken Einfluss auf die Besiedlung hat. Vergleicht man den Etang du Doul mit den anderen Gewässern, so ist für diese Ähnliches zu erwarten, obwohl nur je eine Analyse vorliegt. Im Ganzen gesehen schwanken die Werte der einzelnen Ionen in den Gewässern mehr oder weniger abhängig von der Konzentration und man kann sagen, dass hier eine Anzahl prinzipiell thalassohaliner Gewässer vorliegt, die sich aber doch in ihrem Chemismus merklich, und für manche Tiere entscheidend, unterscheiden.

Versucht man nämlich, die Verteilung von *B. spinosus* in den untersuchten Gewässern auf einen abiotischen Faktor zurück-

zuführen, so ergibt sich, dass weder die Konzentration, noch edaphische Faktoren sich als Erklärung anbieten. Berechnet man die Ionenverhältnisse, so ergeben sich nur bei den drei Kationen Ca, Mg und K Werte, die die drei Gewässer ohne *B. spinosus* von den anderen unterscheiden. Im Dreieckskoordinatensystem weichen diese Gewässer so von den anderen ab, dass der Unterschied im Chemismus als Erklärung für das Fehlen von *Berosus* in den genannten Gewässern plausibel erscheint (Abb. 24).

Vergleicht man die ökologischen Befunde mit den physiologischen so findet man manche bemerkenswerte Übereinstimmung. Die Osmoregulations- und Überlebensexperimente zeigen, dass *B. spinosus* sowohl in Bluthypo- als auch hypertonen Gewässern leben kann, es in der Natur aber nicht tut. Einige dieser Gewässer zeigen eine Ionenzusammensetzung, die für *B. spinosus* nicht günstig ist, andere dagegen, z. B. das Meerwasser scheinen in ihren Ionenverhältnissen für *B. spinosus* durchaus erträglich zu sein, werden aber dennoch gemieden. Für diese fast allgemein verbreitete Erscheinung, dass Bewohner von Binnenlandgewässern das Meer meiden, dürfen wohl in erster Linie ökologische Faktoren verantwortlich gemacht werden. Die sehr trägen und wehrlosen Larven wären den im Meer ungleich häufigeren Feinden hilflos ausgeliefert und würden in kürzester Zeit gefressen. Ähnliches gilt ja auch für *Artemia salina* (Vergl. BEADLE, 1943, pp. 180 Fussnote; CROGHAN, 1958; HEDGPETH, 1957).

Über die Ursache, warum Süßwasser gemieden wird, können im Moment nur Spekulationen angestellt werden. Einerseits wäre hier neben Konkurrenz auch an trophische Faktoren zu denken, andererseits muss man berücksichtigen, dass die hier vorgelegten Untersuchungen sich nur auf ein Entwicklungsstadium beziehen. So kann z. B. bei den Häutungen eine grössere Empfindlichkeit gegenüber hypotonischen Lösungen bestehen, oder es kann ein nicht untersuchtes Stadium, z. B. die Eilarve, besonders empfindlich sein. Es wäre auch daran zu denken, dass die konzentriertere Lösung Parasitismus oder Verpilzung verhindern könnte.

Hypertone Lösungen werden von *Berosus spinosus* sowohl im Experiment, als auch in der Natur gut vertragen. Reine, nicht zu sehr konzentrierte NaCl-Lösungen erlauben nicht nur wochenlanges Überleben, sondern auch der osmotische Druck der Haemolymph steigt nicht über ein zellphysiologisch erträgliches Maß. Stärker konzentrierte Lösungen werden wenigstens für kurze Zeit ertragen. In der Natur kann eine Konzentrationssteigerung dieses Ausmaßes im Sommer leicht vorkommen, so dass es für die Altlarven sehr wichtig ist, diese Konzentrationen wenigstens kurzfristig überdauern zu können. In nicht zu hohen Konzentrationen werden auch andere Salze als NaCl ($MgSO_4$, Na_2SO_4) für eine Weile gut

ertragen. Ihre Ionen spielen in den hyperhalinen Seewassertümpeln, in denen *B. spinosus* lebt, eine besondere Rolle. Am wenigsten gut vertragen wird KCl. Das steht sowohl damit in Übereinstimmung, dass Kalium das physiologisch am schlechtesten verträgliche Ion ist, als auch damit, dass es im Meerwasser in geringerer Menge vorkommt, als die anderen Ionen Na, Mg, oder sogar Ca.

Unter erhöhter osmotischer Belastung ist die gemeinsame Einwirkung von K und Mg für die Osmoregulation günstiger als die Wirkung von K und Ca. Damit stimmt überein, dass die Wohngewässer einen höheren Mg-Gehalt haben. Die Anionen haben demgegenüber nur geringe Bedeutung für die Osmoregulation. Auch in den natürlichen Wässern ist Chlorid das ausschlaggebende Ion, die anderen spielen eine untergeordnete Rolle.

Die Tatsache, dass ein Organismus seiner Umwelt angepasst ist, und in ihr optimal zu leben vermag, lässt sich durch züchterische Methoden meist leicht beweisen. Eine Erklärung ist schwieriger beizubringen. In diesem Fall hat die experimentelle Untersuchung ergeben, dass die Osmoregulation durch die Ionenzusammensetzung des Wohngewässers ebenso beeinflusst wird, wie durch die Konzentration. In Fällen, in denen die Ionenverhältnisse, und zwar insbesondere der Ionen K, Ca, und Mg, nicht günstig sind, kann trotz sonst geeigneter Umstände wie Konzentration, Nahrung, Temperatur etc. ein Gewässer nicht besiedelt werden, weil die lebensnotwendige Innenkonzentration nicht aufrechterhalten werden kann.

ZUSAMMENFASSUNG

Verschiedene physiologische und ökologische Aspekte des Salzwasser-bewohnenden Hydrophiliden *Berosus spinosus* werden untersucht.

1) Die osmotische Toleranz der Larven gegenüber hypo- und hypertonischen Lösungen ist gross. Auch in 6,5 %igen KCl-Lösung lebten die Tiere mindestens 6 Tage, in schwachen NaCl-Lösungen betrug die Überlebensdauer mehr als 20 Tage und war deutlich konzentrationsabhängig. In destilliertem Wasser leben die Tiere über 1 1/2 Monate.

2) Durch Transpirationsversuche wurde festgestellt, dass die Kutikula für Wasser wenig durchlässig ist. Eine Regulation der Transpiration konnte nicht nachgewiesen werden.

3) Der normale osmotische Wert der Haemolymphe der Larven beträgt 12,8 atm (= 3,27 mMol NaCl). In destilliertem Wasser sinkt er auf etwa 8 atm, im Meerwasser beträgt er etwa 10 atm, ebenso

in einer isotonischen Glukoselösung. In 20 %igen NaCl-Lösungen steigt der Wert auf etwa 13 atm. Der Anstieg erfolgt nicht gleichmässig mit der Aussenkonzentration, sondern es lassen sich einige bevorzugte Niveaus erkennen.

4) Die Einstellung eines bestimmten Gleichgewichtes wird durch den Zusatz weiterer Ionen in charakteristischer Weise beeinflusst, wobei nicht nur die Art des Ions, sondern auch dessen Konzentration eine wesentliche Rolle spielen. Die Kationen lassen sich dabei in 2 Gruppen anordnen, die etwa entgegengesetzte Wirkungen haben. Zur ersten Gruppe gehört Li, Rb, Cs, Mg und Ba, zur zweiten Ca und Sr, während K eine Mittelstellung einnimmt.

5) Bei gemeinsamer Einwirkung zweier Kationen zeigt sich, dass ihre Gruppenzugehörigkeit im obigen Sinn keine antagonistische Bedeutung hat, da sich die Wirkungen nicht aufheben, sondern gelegentlich verstärken. Nur das Ca-Ion wirkt in allen Fällen dämpfend auf die Schwankungen im Kurvenverlauf.

6) Anionen (Sulfat und Bikarbonat) haben ebenfalls einen, wenn auch geringen, Einfluss auf die Osmoregulation.

7) Durch doppelte Ligaturen und Vergiftung durch KCN wird nachgewiesen, dass nur von lebenden unbeschädigten Tieren der stark hypotonische Wert der Haemolymphe aufrecht erhalten werden kann. Die Versuche mit ligierten Larven untermauern die geringe Durchlässigkeit der Kutikula, die schon bei den Transpirationsversuchen festgestellt worden war.

8) An der französischen Mittelmeerküste wurde *Berosus spinosus* stets nur in Gewässern mit über 50 ‰ Salinität angetroffen. Eine Anzahl dieser Gewässer wurde analysiert, zu einigen werden limnologische Beobachtungen mitgeteilt. Die Verteilung von *Berosus spinosus* lässt sich aus dem Verhältnis Ca : K : Mg erklären. Die gemiedenen Gewässer zeigen Ionenverhältnisse, bei denen die physiologischen Experimente eine schlechtere Osmoregulationsfähigkeit der Larven erwarten lassen.

RÉSUMÉ

Les aspects physiologiques et écologiques de l'Hydrophilide des eaux salées *Berosus spinosus* sont étudiés.

1) La tolérance osmotique des larves vis-à-vis des solutions hypo- et hypertoniques est importante. Même dans des solutions de KCl à 6,5 %, les animaux restaient vivants pendant au moins 6 jours; dans des solutions faibles de NaCl, la durée de survie

dépassait 20 jours et était nettement dépendante de la concentration. Dans l'eau distillée, les animaux vivent plus d'un mois et demi.

2) Des expériences de transpiration ont démontré que la cuticule est peu perméable à l'eau. Une régulation de la transpiration n'a pu être mise en évidence.

3) La valeur osmotique normale de l'hémolymphe des larves est de 12,8 atm (= 3,27 Mol Na Cl). Dans l'eau distillée, elle descend à 8 atm environ; dans l'eau de mer, elle est de 10 atm à peu près, comme dans une solution de glucose isotonique. Dans des solutions de NaCl à 20 %, la valeur monte à 13 atm environ. Cette augmentation n'est pas proportionnelle à la concentration externe. Elle se fait de manière discontinue, par phases successives.

4) L'obtention de l'équilibre osmotique est influencée par l'addition d'autres ions et varie suivant leur nature et leur concentration. Les cations peuvent être divisés en deux groupes qui ont une action plus ou moins opposée. Font partie du premier groupe Li, Rb, Cs, Mg et Ba; du deuxième Ca et Sr, K ayant une position intermédiaire.

5) L'influence combinée de deux cations montre que l'appartenance aux groupes mentionnés sous 4) n'est pas liée à une action antagoniste; les actions ne s'annulent pas, mais s'amplifient parfois. Seul l'ion Ca a toujours une action déterminante sur les fluctuations au cours de la courbe.

6) Des anions (sulfate et bicarbonate) ont également une influence mais peu importante sur l'osmorégulation.

7) Par des ligatures doubles et l'intoxication par KCN, il est prouvé que seuls les animaux vivants et intacts peuvent maintenir la valeur fortement hypotonique de l'hémolymphe. Les expériences faites avec des larves qui avaient subi des ligatures renforcent la conception d'une faible perméabilité de la cuticule qui a déjà été observée lors des expériences de transpiration.

8) Sur la côte méditerranéenne française, *Berosus spinosus* vit toujours dans des eaux dont la salinité dépasse 50 ‰. Une certaine quantité de ces eaux a été analysée; des observations limnologiques sur quelques-unes sont rapportées. La distribution de *Berosus spinosus* peut être expliquée par la relation Ca : K : Mg. Les eaux non habitées montrent des conditions ioniques dans lesquelles les expériences physiologiques devraient probablement être caractérisées par une capacité plus faible d'osmorégulation des larves.

SUMMARY

Several ecological and physiological aspects of *Berosus spinosus* are described, a Hydrophilid beetle living in saline waters.

1) The larvae are highly tolerant against hypo- and hypertonic media. Even in KCl — solutions of 6.5 % the animals live 6 days at least, in diluted NaCl-solutions they survive more than 20 days. Here the survival depends on the concentration of the solution. In distilled water the animals survived one month and a half.

2) Transpirations experiments showed, that the cuticle has a low permeability to water. Transpiration evidently cannot be regulated.

3) The normal osmotic value of the larval haemolymph is 12.8 atm (= 3.27 mmol NaCl). In distilled water it decreases to about 8 atm, in sea water and in sea water-isotonic glucose solution it approaches 10 atm. The osmotic value increases to 13 atm in 20 % NaCl. This increase is not continuous, several preferred levels can be recognised.

4) Any osmotical balance is characteristically modified by addition of further ions. This modification is influenced not only by the kind of ion, but also by their relative concentration. The cations can be arranged in two groups of approximately opposite effects. The first group consists of Li, Rb, Cs, Mg, and Ba, the later of Ca, and Sr, while K takes an intermediate position.

5) Combined application of two cations shows, that these two groups are not antagonists, as there is no annulation of their respective effects but some times even an intensification. The Ca-ion only has a repressive effect in every case.

6) Anions (sulphate and hydrocarbonate) show only a weak influence on osmoregulation.

7) By double ligating and poisoning of the larvae with KCN it could be proved that the living and unhurt animals are able to regulate only to the highly hypotonic values of the haemolymph. The experiments with ligated larvae corroborate the assumption of a low permeability of the cuticle, as determined by transpiration experiments.

8) *Berosus spinosus* was found in water bodies of more than 50 % salinity only. Several of these waters were analysed ; limnological data are given for some of them. The distribution of *Berosus spinosus* can be explained by the ratio of Ca : K : Mg. In the waters avoided by the animals the ratios of these ions are physiologically unfavourable for the larvae as proved by the osmoregulation experiments.

SUMMARY

Several ecological and physiological aspects of *Berosus spinosus* are described. A hydrophilic beetle living in saline waters.

LITERATURVERZEICHNIS

- AGUESSE, P., 1957. La classification des eaux poikilohalines, sa difficulté en Camargue, nouvelle tentative de classification. *Vie Milieu*, 8 : 341-365.
- AGUESSE, P. & L. BIGOT, 1959. Les coléoptères Hydracanthares de Camargue : Essai écologique et faunistique. *Terre Vie*, 106 (1) : 128-148.
- BARNES, R.S.K., 1967. The osmotic behaviour of a number of grapsoid crabs with respect to their differential penetration of an estuarine system. *J. exp. Biol.*, 47 : 535-551.
- BEADLE, L.C., 1939. Regulation of the haemolymph in the saline water mosquito *Aedes detritus* Edw. *J. exp. Biol.*, 16 : 346-362.
- BEADLE, L.C., 1943. Osmotic regulation and the faunas of inland water. *Biol. Rev.*, 18 : 172-183.
- BEADLE, L.C., 1957. Comparative physiology : osmotic and ionic regulation in aquatic animals. *Ann. Rev. Physiol.*, 19 : 329-358.
- BEADLE, L.C. & J. SHAW, 1950. Retention of salt and the regulation of the nonprotein nitrogen fraction in the blood of the aquatic larva, *Stalis lutaria*. *J. exp. Biol.*, 27 : 96-109.
- BEAMENT, J.W.L., 1945. The cuticular lipoids of insects. *J. exp. Biol.*, 21 : 115-131.
- BEAMENT, J.W.L., 1954. Water transport in insects. *Symp. Soc. exper. Biol.*, 8 : 94-117.
- BERGER, E., 1929. Unterschiedliche Wirkungen gleicher Ionen und Ionen-gemische auf verschiedene Tierarten (Ein Beitrag zur Lehre vom Ionenantagonismus). *Pflüger's Arch. ges. Physiol.*, 223 : 1-39.
- BETHE, A., 1934. Entgiftung isotonischer Natriumchlorid-Lösungen durch Kalium (aber nicht Calcium) bei einigen marinen Crustaceen. *Pflüger's Arch. ges. Physiol.*, 234 : 645-647.
- BOND, R.M., 1935. Investigations of some Hispanolian lakes (Dr. R.M. Bond's expedition). II. Hydrology and hydrography. *Arch. Hydrobiol.*, 28 : 137-161.
- BOONE, E. & L.G.M. BAAS-BECKING, 1931. Salt effect on eggs and nauplii of *Artemia salina* L. *J. gen. Physiol.*, 14 : 753-763.
- BØVING, A.G. & K.L. HENRIKSEN, 1938. The developmental stages of the danish Hydrophilidae (Ins., Coleoptera). *Vidensk Medd. Dansk. nat. Foren.*, 102 : 27-162.
- BUCK, J.B., 1953. Physical properties and chemical composition of insect blood. In *Insect Physiology*, ed. : K.D. ROEDER, J. Wiley & Sons, Inc. New York : 147-190.
- CHIESA, A., 1959. Hydrophilidae Europae. Coleoptera, Palpicornia. Tabelle di determinazione. Bologna. 167 p.
- CLARK, E.W., 1958. A review of literature on calcium and magnesium in insects. *Ann. ent. Soc. America*, 51 : 142-154.

- CROGHAN, P.C., 1958a. The survival of *Artemia salina* (L.) in various media. *J. exp. Biol.*, **35** : 213-218.
- CROGHAN, P.C., 1958b. The osmotic and ionic regulation of *Artemia salina* L. *J. exp. Biol.*, **35** : 219-238.
- DAVSON, H. & J.F. DANIELLI, 1943. The permeability of natural membranes. Cambridge, Univ. Press. 361 p.
- DIETZ, G., 1964. Beitrag zur Kenntnis der Ciliatenfauna einiger Brackwassertümpel (Etangs) der französischen Mittelmeerküste. *Vie Milieu*, **15** : 47-93.
- DUCHATEAU, G., J. LECLERCQ & M. FLORKIN, 1953. Sur les constituants de la base inorganique de l'hémolymphe des insectes. *J. Physiologie*, **45** : 107.
- FLORKIN, M., 1958. The free amino acids of insects hemolymph. IV. Int. Congr. Biochem., **XII** : 63-77.
- FLORKIN, M., 1963. Effectors and mechanisms of the intracellular iso-osmotic regulation in euryhaline invertebrates. *Biochem. J.*, **89** : 107.
- GEILENKIRCHEN, W.L.M., 1961. Effects of mono- and divalent cations on viability and oxygen uptake of eggs of *Limnea stagnalis*. Diss. Utrecht. 96 p.
- GEILENKIRCHEN, W.L.M., 1964. The action and interaction of calcium and alkali chlorides on eggs of *Limnea stagnalis* and their chemical interpretation. *Exper. Cell. Res.*, **34** : 463-487.
- GIESE, A.C., 1957. Cell physiology. W.B. Saunders Comp. Philadelphia. London. 534 S.
- GROSS, W.J., 1954. Osmotic responses in the Sipunculid *Dendrostomum zosteriolum*. *J. exp. Biol.*, **31** : 402-423.
- GROSS, W.J., 1961. Osmotic tolerance and regulation in crabs from a hypersaline lagoon. *Biol. Bull.*, **121** : 290-301.
- HAAS, J., 1955. Physiologie der Zelle. Bornträger, Berlin. 464 p.
- HAAS, H. & K. STRENZKE, 1957a. Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der ionalen Zusammensetzung des Mediums auf die Entwicklung der Tubuli von *Chironomus thummi*. *Biol. Zentralbl.*, **76** : 486-509.
- HAAS, H. & K. STRENZKE, 1957b. Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der ionalen Zusammensetzung des Mediums auf die Entwicklung der Analpapillen von *Chironomus thummi*. *Biol. Zentralbl.*, **76** : 513-528.
- HARNISCH, O., 1951. Hydrophysiologie der Tiere. Binnengewässer, **19** : 299 p.
- HEDGPETH, J.W., 1957. Estuarines and lagoons. II. Biological aspects. *Geol. Soc. Amer. Memoir*, **67** (1) : 693-727.
- HEILBRUNN, V.L., 1958. Grundzüge der allgemeinen Physiologie. Berlin. Hochschulbücher f. Biologie, Bd. 5 : 787 p.
- HELFF, O.M., 1931. Toxic and antagonistic properties of Na, Mg, K, and Ca ions on duration of life of *Cambarus clarckii*. *Physiol. Zool.*, **4** : 380-393.

- HÖBER, R., 1917. Beiträge zur Theorie der physiologischen Wirkung des Calciums. *Pflüger's Arch. ges. Physiol.*, **166** : 531-608.
- HÖBER, R., D.I. HITCHCOCK, J.B. BATEMAN, D.R. GODDARD & W.O. FENN, 1948. Physical chemistry of cells and tissues. Philadelphia-Toronto. 676 p.
- JACOBI, E.F. & L.G.M. BAAS-BECKING, 1933. Salt antagonism and effect of concentration in nauplii of *Artemia salina* L. *Tijdschr. ned. dierk. Ver.*, **3** : 145-153.
- KINNE, O., 1956. Über Temperatur und Salzgehalt und ihre physiologische Bedeutung. *Biol. Zentralbl.*, **75** : 314-327.
- KINNE, O., 1964a. The effects of temperature and salinity on marine and brackish water animals. II. Salinity and temperature-salinity combinations. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, **2** : 281-339.
- KINNE, O., 1964b. Physiologische und ökologische Aspekte des Lebens in Ästuarien. *Helgol. wiss. Meeresuntersuch.*, **11** : 131-156.
- KWARTIRNIKOFF, M., 1963. Wasserhaushalt und Osmoregulation der Larve von *Corethra plumicornis*. Diplomarbeit aus dem Zoologischen Institut der Friedr. Schiller Universität Jena. 43 p.
- LOEB, J., 1911. Über den Mechanismus der antagonistischen Salzwirkungen. *Biochem. Z.*, **36** : 275.
- LÖFFLER, H., 1960. Limnologie. *Fortschr. Zoologie*, **12** : 379-432.
- MACAN, T.T., 1961. Factors, that limit the range of freshwater animals. *Biol. Rev.*, **36** : 151-198.
- NEMENZ, H., 1960a. On the osmotic regulation of the larvae of *Ephydra cinerea*. *J. ins. Physiol.*, **4** : 38-44.
- NEMENZ, H., 1960b. Experimente zur Ionenregulation der Larve von *Ephydra cinerea* Jones (Dipt.). *Sitzber. Öst. Akad. Wiss. math.-natw. Kl. Abt. I*, **169** : 17-41.
- NEMENZ, H., 1960c. Beiträge zur Kenntnis der Biologie von *Ephydra cinerea* Jones 1906 (Diptera, Ephydridae). *Zool. Anz.*, **165** : 218-226.
- NEMENZ, H., 1963. Ionenantagonismus und Osmoregulation einer Hydrophilidenlarve. *Verh. D. Zool. Ges.*, **1963** : 231-236.
- NEMENZ, H., 1964. Der Einfluß der ionalen Zusammensetzung des Aussenmediums auf die Osmoregulation von *Berosus*-Larven (Coleoptera : Hydrophilidae). *Naturwiss.*, **51** : 170-171.
- NEMENZ, H. (im Druck). Ionenverhältnisse und die Besiedlung hyperhaliner Gewässer, besonders durch Insekten. Ein Beitrag zum Rapie-Problem. *Acta biotheor.*
- NETTER, H., 1951. Biologische Physikochemie. Akad. Verlagsges. Potsdam. 325 p.
- PETIT, G. & R. MIZOULE, 1962. Contribution à l'étude écologique du complexe lagunaire Bages-Sigean (Aude). *Vie Milieu*, **13** : 205-230.
- PETIT, G. & D. SCHACHTER, 1958. Les étangs et lagunes du littoral méditerranéen français et le problème de la classification des eaux saumâtres. *Arch. Océanogr. Limnol., Supp.* **XI** : 75-91.
- PING, C.T., 1921. The biology of *Ephydra subopaca* Loew. *Mem. Cornell agric. Exp. Sta.*, **49** : 555-616.

- PLATTNER, F., 1955. Der osmotische Druck von *Artemia salina*. *Pflüger's Arch. ges. Physiol.*, 261 : 172-182.
- POTTS, W.T.W. & G. PARRY, 1964. Osmotic and ionic regulation in animals. Pergamon Press, Oxford. 423 p. (Int. Ser. monogr. pure appl. biol., Div. Zool., vol. 19).
- PORA, E.A., 1958. Considérations sur l'équilibre ionique chez les animaux. L'homéopathie. *J. Physiologie*, 50 : 462-464.
- PORA, E.A. & F. STOIKOVICI, 1961a. L'action du changement des rapports ioniques dans le milieu externe sur la survie de quelques animaux aquatiques (Rum., fr. Zusfg.). *Stud. cerc. Biol. Cluj*, 12 : 135-144.
- PORA, E.A. & F. STOIKOVICI, 1961b. L'action du facteur rapique sur la pénétration du ³²P chez *Idothea baltica*, *Sphaeroma pulchellum* et *Nereis diversicolor* de la Mer Noire (rum., fr. Zusfg.). *Stud. cerc. Biol. Cluj.*, 12 : 267-274.
- PORA, E.A., F. STOIKOVICI, D. RUSDEA, C. WITTENBERGER & H. KOLASOVITCH, 1960. La durée de survie et la consommation d'oxygène chez *Idothea baltica* de la Mer Noire et chez *Artemia salina* du lac sursalé de Techirghiol en fonction du rapport ionique du milieu extérieur. *Rep. Proc. Verb. Réunion CIESMM, Monaco, XV* : 189-198.
- RAMSAY, J.A., 1950. Osmotic regulation in mosquito larvae. *J. exp. Biol.*, 27 : 145-157.
- RAMSAY, J.A., 1951. Osmotic regulation in mosquito larvae : The role of the Malpighian tubules. *J. exp. Biol.*, 28 : 62-73.
- RAMSAY, J.A., 1954. Movements of water and electrolytes in Invertebrates. *Symp. Soc. exp. Biol.*, 8 : 1-15.
- REMANE, A. & C. SCHLIEPER, 1958. Die Biologie des Brackwassers. Die Binnengewässer 22 : 348 p.
- RICHARDS, A.G., M.B. CLAUSEN & M.N. SMITH, 1953. Studies on arthropod cuticle. X. The asymmetrical penetration of water. *J. cell. comp. Physiol.*, 42 : 395-413.
- RINGER, S., 1882. Concerning the influence exerted by each of the constituents of the blood construction of the ventricle. *J. Physiol.*, 3 : 380-393.
- RINGER, S., 1886. Further experiment regarding the influence of small quantities of lime, potassium and salts on muscular tissue. *J. Physiol.*, 7 : 291-308.
- ROBERTSON, J.D., 1941. The function and metabolism of calcium in the Invertebrata. *Biol. Rev., Cambridge Phil. Soc.*, 16 : 106-133.
- RUBINSTEIN, D.L., H. BURLAKOWA & W. LWOWA, 1936. Über die Allgemeingültigkeit des Loebischen Ionenquotienten. *Biochem. Ztschr.*, 284 : 437-442.
- SCHALLER, F., 1949. Osmoregulation und Wasserhaushalt der Larve von *Corethra plumicornis*, mit besonderer Berücksichtigung der Vorgänge am Darmkanal. *Z. vergl. Physiol.*, 31 : 684-695.
- SCHLIEPER, C. & R. KOWALSKI, 1956a. Über den Einfluß des Mediums auf die thermische und osmotische Resistenz des Kiemengewebes der Miesmuschel *Mytilus edulis* L. *Kieler Meeresforsch.*, 12 : 37-45.

- SCHLIEPER, C. & R. KOWALSKI, 1956b. Quantitative Beobachtungen über physiologische Ionenwirkungen im Brackwasser. *Kieler Meeresforsch.*, **12** : 154-165.
- SCHOFFENIELS, E., 1960. Rôle des acides aminés dans la régulation de la pression osmotique du milieu intérieur des insectes aquatiques. *Arch. Intern. Physiol. Biochem.*, **68** : 507-508.
- SCHOFFENIELS, E., 1966. Activité de la déshydrogénase de l'acide l-glutamique et osmorégulation. *Arch. Intern. Physiol. Biochem.*, **74** : 333-335.
- SCHOFFENIELS, E. & Z.M. BACQ, 1963. Les équilibres cationiques. in : *Handbuch der experim. Pharmakologie, Erg. Werk XVII/1* : 492-515.
- SCHOFFENIELS, E. & R. GILLES, 1963. Effect of cations on the activity of l-glutamic acid dehydrogenase. *Life Sci.*, **11** : 834-839.
- SHAW, J., 1955a. The permeability and structure of the cuticle of the aquatic larva of *Sialis lutaria*. *J. exp. Biol.*, **32** : 330-352.
- SHAW, J. 1959. The absorption of sodium ions by the crayfish *Astacus pallipes* Lereboullet. I. The effect of external and internal sodium concentrations. *J. exp. Biol.*, **36** : 126-144.
- SHAW, J., 1960a. The absorption of chloride ions by the crayfish *Astacus pallipes* Lereboullet. *J. exp. Biol.*, **37** : 557-572.
- SHAW, J., 1960b. The absorption of sodium ions by the crayfish *Astacus pallipes* Lereboullet. II. The effect of the external anion. *J. exp. Biol.*, **37** : 534-547.
- SHAW, J., 1960c. The absorption of sodium ions by the crayfish *Astacus pallipes* Lereboullet. III. The effect of other cations in the external solution. *J. exp. Biol.*, **37** : 548-556.
- SHAW, J. & R.H. STOBART, 1963. Osmotic and ionic regulation in insects. *Advances Insect Physiology*, **1** : 315-399.
- SNELL, F.M. & T.K. CHOWDHURY, 1965. Conlateral effects of sodium and potassium on the electrical potential in frog skin and toad bladder. *Nature*, **207** : 45-46.
- STOBART, R.H., 1965. The effects of some anions and cations upon the fluxes and net uptake of sodium in the larva of *Aedes aegypti* (L.). *J. exp. Biol.*, **42** : 29-43.
- SUTCLIFFE, D.W., 1960. Osmotic regulation in the larvae of some euryhaline Diptera. *Nature*, **187** : 331-332.
- SUTCLIFFE, D.W., 1961. Studies on salt and water balance in cadies larvae (Trichoptera) : I. Osmotic and ionic regulation of body fluids in *Limnephilus affinis* Curtis. *J. exp. Biol.*, **38** : 501-519.
- SUTCLIFFE, D.W., 1962. The composition of haemolymph in aquatic insect. *J. exp. Biol.*, **39** : 325-344.
- SUTCLIFFE, D.W., 1963. The chemical composition of haemolymph in insects and some other arthropods, in relation to their phylogeny. *Comp. Biochem. Physiol.*, **9** : 121-135.
- TREHERNE, J.E., 1954. The exchange of labelled sodium in the larva of *Aedes aegypti* L. *J. exp. Biol.*, **31** : 386-401.

- WESENBERG-LUND, C., 1943. *Biologie der Süßwasserinsekten*. Springer-Verl., Berlin-Wien, 682 p.
- WIGGLESWORTH, V.B., 1938. The regulation of osmotic pressure and chloride concentration in the haemolymph of mosquito larvae. *J. exp. Biol.*, 15 : 235-247.
- WILSON, C.B., 1923. Water beetles in relation to pondfish culture with life histories of those found in fishponds at Fairpont, Iowa. *Bull. U.S. Bur. Fisheries, Wash.*, 39 : 231-345.
- WINSTON, P.W., 1967. Cuticular water pump in insects. *Nature*, 214 : 383-384.

Reçu le 2 septembre 1968.