

Nachdruck verboten.

Übersetzungsrecht vorbehalten.

## Studien an intracellularen Symbionten.

### III. Die Symbiose der Anobiinen mit Hefepilzen.

Von

Prof. Paul Buchner, München.

(Hierzu Tafel 14 und 4 Textfiguren.)

Bereits seit 20 Jahren wissen wir, daß *Anobium paniceum*, ein in den verschiedensten Speisevorräten, vor allem aber in Kleie sich findender kleiner Käfer, regelmäßig in einem begrenzten Teile seines Darmepithels fremde Mikroorganismen beherbergt. KARAWAIEW beschrieb 1899 eigentümliche Blindsäcke, die sich am Anfang des Mitteldarmes ausbuchten und deren Zellen zum großen Teil mit Gebilden vollgepfropft sind, die er für Flagellaten hielt. Da er nie einen Käfer fand, der frei von diesen Eindringlingen gewesen wäre, drängte sich bereits ihm der Gedanke auf, daß es sich vielleicht hier doch nicht um Parasiten handle, sondern ein geregeltes Zusammenleben vorliege, das durch einen unbekanntes Vorteil zu erklären sei, den die Wirtstiere bei ihrer Verdauung von den Symbionten hätten. Diese Vermutung nahm schon 1900 ESCHERICH auf, der mit Entschiedenheit erklärte, daß von Parasiten nicht die Rede sein könne und daß zweifellos ein merkwürdiger Fall von Symbiose vorliege, eine Erscheinung, die damals, als man die beträchtliche Verbreitung derartiger Vorkommnisse noch nicht ahnte, noch ganz vereinzelt stand. ESCHERICH'S Untersuchung stellt vor allem darin einen Fortschritt dar, daß er die Symbionten als Hefepilze erkannte und daß es ihm gelang, diese auch auf künstlichen Nährböden zu züchten. Außer diesen beiden Autoren hat sich niemand mit der Frage beschäftigt. BIEDERMANN würdigt in seiner Physiologie des Stoffwechsels

ihre Beobachtungen eingehend und hält die Annahme ESCHERICH'S für recht wahrscheinlich; in CALWER'S Käferbuch (6. Auflage, von C. SCHAUFUSS verfaßt) findet man, ohne nähere Begründung, die Bemerkung, daß es zweifelhaft sei, ob man hier von Symbiose reden kann.

Schon seit einer Reihe von Jahren habe ich Beobachtungen über die Anobiensymbiose gesammelt und gelegentlich einiges darüber mitgeteilt (1912, 1913, 1920). Es galt eine Reihe von Lücken auszufüllen, die KARAWAIEW und ESCHERICH noch gelassen hatten; vor allem fehlte noch die Kenntnis der Übertragungsweise der Pilze von einer Generation auf die andere, ferner bot sich hier, wo das Darmepithel selbst bewohnt wird, eine Schwierigkeit, die in den bisher bekannten Fällen einer intracellularen Symbiose bei Insekten wegfiel, indem bei der Metamorphose die behafteten Zellen zugrunde gehen und der Darm der Imago aus zunächst pilzfreien Zellen neu aufgebaut wird. Auch hatte man bisher nur das *Anobium* (besser *Sitodrepa*) *paniceum* untersucht und besaß keinerlei Aufschlüsse über den Umfang des Vorkommnisses. Und schließlich wird noch nicht einmal der Versuch gemacht, über die Art des Nutzens eine genauere Vorstellung zu gewinnen. Da ich nun in der Lage bin, wenigstens ein gut Teil dieser Fragen zu beantworten, seien im folgenden meine Erfahrungen im Zusammenhang dargestellt.

## 1. Die Mitteldarmdivertikel und ihre Bewohner in der Larve, Puppe und Imago.

Die Anobienlarve besitzt einen schon von KARAWAIEW genauer geschilderten infolge seiner relativen Länge zu Windungen gezwungenen Darmkanal, der in der gewohnten Weise in Vorder-, Mittel- und Enddarm zerfällt. Der Vorderdarm schwillt nach hinten zu allmählich flaschenartig an und springt, wie das auch sonst bei Insekten zu beobachten ist, mit einer Falte in das Lumen des Mitteldarmes vor. Sein Bau hängt mit der Ernährungsweise der betreffenden Form innig zusammen. Die meisten Anobien leben in trockenen Hölzern, in Stämmen, Balken, Zapfen und ähnlichem und nähren sich wahrscheinlich in erster Linie von dem in diesen aufgespeicherten Stärkemehl; eine Ausnahme hiervon macht lediglich *Sitodrepa panicea* L., die Hölzer meidet und dafür alles erdenkliche andere aussucht. Bei den Holzfressern beteiligt sich nun auch der Vorderdarm als Kaumagen noch an der so nötigen Zerkleinerung der Nahrung, denn er ist von scharfen nach rückwärts gerichteten Zähnen dicht ausgekleidet und hinter seinem Epithel ist eine mächtige

Ringmuskulatur entwickelt. Dies ist z. B. bei *Ernobius abietis* der Fall, dessen Larve in der Spindel und der Schuppenbasis von Fichtenzapfen miniert. Bei *Sitodrepa panicea* L., deren Nahrung ohne so große Schwierigkeiten zugänglich ist, fehlt eine solche Funktion des Anfangsdarmes; er ist hier dünnwandig, nur mit einer feinen Chitinmembran begrenzt, ohne daß es zu einer Zahnbildung käme, und die Muskulatur ist entsprechend ungleich schwächer entwickelt; nur nach dem Mitteldarm zu nimmt sie an Stärke um wenig zu; sie hat hier nur für Schluckbewegungen, nicht für das Zerkleinern zu sorgen, das von den Mandibeln allein in hinlänglicher Weise durchgeführt werden kann.

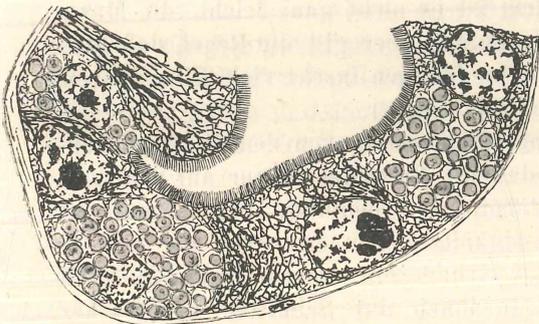
In beiden Fällen gelangt ein wohl vorbereiteter Speisebrei in den Mitteldarm, der nun gleich bei seinem Beginn eine ganz merkwürdige Entfaltung zeigt. Er stülpt hier allseitig gedrungene Blindsäcke aus, die selbst wieder durch Einschnürungen in Unterabteilungen zerfallen, so daß dieser Abschnitt einen traubigen Charakter bekommt. Die Medianebene wird von diesen Ausbuchtungen nicht berührt, schon KARAWAIEW hat beobachtet, daß ein Schnitt durch diese Region nichts von ihnen zeigt; die Faltungsstellen sind vielmehr ziemlich regelmäßig seitlich angeordnet. Nach hinten zu geht dieser Abschnitt unvermittelt in den übrigen Teil des Mitteldarms über, von dem nichts Besonderes zu sagen ist. Diese Darmbuckel stellen den Sitz der Symbionten dar. Im Totalpräparat wie auf Schnitten fallen sofort zwei ganz verschiedene Zellsorten auf, typische Epithelzellen, wie sie der übrige Mitteldarm besitzt, und dazwischen eingesprengte große, angeschwollene Zellen, die in sich in Menge die Hefepilze beherbergen.

Während die Kerne der pilzfreien Zellen denen der übrigen Mitteldarmzellen gleichen und rundliche oder ovale Gestalt besitzen, sind die Kerne der verpilzten Zellen unregelmäßig vieleckig geworden, indem sich an der ganzen Oberfläche zum Teil recht tiefe Nischen in sie einsenken. Auf Totalpräparaten kommt dies allerdings viel schöner zum Ausdruck, als auf Schnitten. Die Nischen werden von den Hefepilzen eingenommen und sie entstehen möglicherweise unmittelbar unter dem mechanischen Einfluß der sich allseitig drängenden Symbionten (Taf. 14, Fig. 4). Solche Kernformen sind auch bei den Mycetocyten vieler anderer Tiere zu finden, sie sind z. B. typisch für manche Schildläuse, Cicaden und Cicadelliden. Ein weiterer merkwürdiger Unterschied zwischen den beiden Zellsorten bezieht sich auf die dem Lumen zugewandte Oberfläche, die pilzfreien Zellen schließen hier mit einem hohen, sehr deutlichen

Bürstenbesatz ab, wie auch im übrigen Mitteldarm, die pilzbewohnten lassen ihn durchweg vermissen. Es ist auffallend, daß dies von den bisherigen Untersuchern nicht auch schon bemerkt wurde, verständlich wird es aber, wenn man sieht, wie oft ein solcher Saum auch bei den Mycetocyten durch Schnitte vorgetäuscht wird, die nicht genau durch die Mitte gehen und bei denen nach dem Lumen zu noch der Rand der hier eng die Mycetocyte umfassenden pilzfreien Nachbarzellen mitgetroffen wird. Auf solche Weise können auch Bilder entstehen, die glauben lassen, daß die pilzhaltigen Zellen oft gar nicht bis an die Oberfläche aufsteigen, aber auch dies ist tatsächlich nie der Fall. Ein dritter Unterschied bezieht sich, wie schon kurz erwähnt, auf die Form der Zellen. Diese ist aber im Epithel der Larve und der Imago bei *Sitodrepa* recht verschieden. In der Larve von *Sitodrepa* ist das Epithel der Blindsäcke überall annähernd gleich hoch, die Pilzzellen sind im Verhältnis zu den pilzfreien weniger zahlreich, aber viel voluminöser. Sie bauchen sich seitlich weit aus, werden so oft fast rundlich und deformieren die benachbarten Zellen, die typische Cylinderepithelzellen darstellen, zum Teil aber zwischen Mycetocyten eingekeilt aus Platzmangel nur einen schlanken Fußteil entwickeln und sich erst oben etwas ausdehnen können. In flächenhafter Ansicht erscheinen sie in Regionen, wo Mycetocyten reichlich vorhanden sind, netzartig angeordnet und man gewinnt dann den Eindruck, wie wenn ihre Funktion nur noch daran bestände, pfeilerartig die, wie wir gleich sehen werden, protoplasmaarmen und flüssigkeitsreichen Nachbarn zu stützen. Tatsächlich aber üben alle einigermaßen wohl entwickelten Epithelzellen der Blindsäcke, soweit sie pilzfrei sind, sichtlich auch noch die Funktionen des normalen Mitteldarmepithels aus. Ich muß das daraus schließen, daß sie ihnen strukturell völlig gleichen, daß sie insbesondere auch in älteren Larven die gleichen charakteristischen Einschlüsse in Menge enthalten wie diese. Es handelt sich um Haufen kleiner, intensiv z. B. mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin färbbarer Granula, die allmählich heranwachsend zu kleinen Hohlkugeln werden, und später um eine innere Hohlkugel noch eine zweite viel größere, blassere herumlegen. Auch der in gleicher Weise ausgebildete mächtige Bürstenbesatz legt eine gleichartige Funktion nahe.

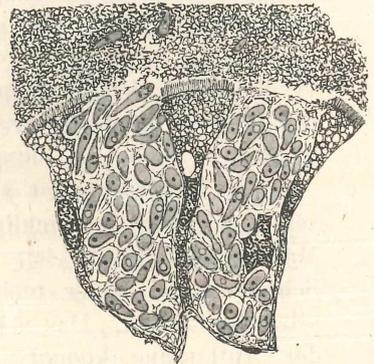
Die Entfaltung der Mycetocyten ist keineswegs bei allen Arten die gleiche. Vergleicht man *Sitodrepa* mit *Ernobius abietis*, so ist der Unterschied nicht sehr beträchtlich, Textf. 1 gibt von dieser Form einen Ausschnitt wieder, auf dem auffällt, wie hier die Kerngröße der pilzfreien Zellen die der pilzhaltigen bei weitem übertrifft. Ich

habe jedoch noch eine andere Anobiine untersucht, die leider nicht näher bestimmt wurde, und in einem alten Stuhl ihre Gänge trieb. Bei ihr erreichte der Pilzreichtum einen ganz ungeheuerlichen Umfang. Die mächtigen Säcke hinter dem mit starker Muskulatur versorgten Vorderdarm waren fast ausschließlich von Pilzzellen gebildet, die die der anderen Arten bei weitem an Größe übertrafen. Die pilzfreen Zellen blieben fast durchweg nur als schlanke Pfeiler stehen und waren meist erst bei genauerem Zusehen zu erkennen. Wo aber einmal besser entfaltete Epithelzellen sich erhielten, besaßen sie auch hier die Einschlüsse der übrigen Mitteldarmzellen. Die Bürstenbesätze fehlten auch hier den Mycetocyten vollkommen. Die Deformation des Kernes erreicht den Höhepunkt. Die Textf. 2 gibt von alledem kein entsprechendes Bild, hier ist eine Stelle mit relativ kleinen Mycetocyten wiedergegeben, um den säulenförmigen Charakter der dazwischenstehenden Zellen zu zeigen.



Textfig. 1.

Textfig. 1. Ausschnitt aus den Darmblindsäcken der Larve von *Ernobius abietis*.



Textfig. 2.

Textfig. 2. Ausschnitt aus den Darmblindsäcken der Larve einer Anobiine aus einem Stuhl.

Die Imagines besitzen wohl die gleichen Aussackungen an der entsprechenden Stelle, aber das Epithel ist unter Umständen etwas anders geartet. Bei *Sitodrepa* sind seine Zellen nun nicht mehr gleich hoch, sondern es wechseln Gruppen höherer und niederer Zellen ab; sie sind jetzt fast alle schlank und keulenförmig geworden, auch die Mycetocyten, während sie in der Larve breiter wie hoch waren; Sträußen gleich ragen jetzt ihre Gruppen in das Lumen der Blindsäcke, die eingesprengten pilzfreen Zellen sind mehr in den Hintergrund gerückt, als bei der Larve, auch sie sind entsprechend anders

gestaltet (Taf. 14, Fig. 6). Die Kerne der Mycetocyten sind nicht mehr so polymorph, zeigen nur hie und da eine kleine Nische, oft rücken sie in den verbreiterten distalen Teil hinauf, Bürstenbesätze besitzen jetzt weder sie noch die pilzfreen Zellen, die entsprechend auch im übrigen Mitteldarm nun nackt bleiben. Bei der unbestimmt gebliebenen Form aus einem Möbelstück und bei einer weiteren, die ich in den getrockneten Pflanzen eines Herbariums fand, fehlen dagegen solche weitgehenden Unterschiede zwischen Larve und Imago.

Man kann also zusammenfassend sagen, daß der Reichtum an Hefepilzen und die Einzelheiten im Aufbau des von ihnen bewohnten Darmabschnittes bei den verschiedenen Arten und Gattungen verschieden sein können, daß auch zwischen dem Bau der Blindsäcke in Larve und Imago ein und derselben Spezies Unterschiede bestehen können, daß aber offenbar bei allen Vertretern der ganzen Gruppe die gleiche Symbiose vorkommt. ESCHERICH meint, daß entsprechend der Intensität der Nahrungsaufnahme bei *Sitodrepa* in der Larve sich mehr Pilze fänden, als in der Imago; ich kann aber wesentliche Differenzen kaum finden, zudem ist es nicht ganz leicht, die Masse vergleichend abzuschätzen. Jedenfalls aber gilt die Regel, daß pilzreiche Arten in der Larve und im fertigen Insekt viele Pilze führen, pilzärmere in beiden entsprechend weniger.

Die Mycetocyte ist allemal gleichmäßig von den Hefen durchsetzt und zwar so reichlich, daß ihr Protoplasma nur auf spärliche Maschen beschränkt ist, in denen die Fremdlinge liegen, und auf Schnitten viel heller und flüssigkeitsreicher erscheint als das der pilzfreen Zellen. Das mag der Grund sein, warum KARAWAIEW zu der Auffassung kommt, daß in ihnen auf Schnitten bei starker Vergrößerung kein Protoplasma zu finden ist, sondern nur „eine homogene, durchsichtige, schleimige Masse“.

Die Pilze selbst sind typische Hefepilze. Zerzupft man die Zellen im Leben, so kann man sie am schönsten zur Darstellung bringen. Man erkennt dann, daß sie bei *Sitodrepa* vornehmlich tropfenförmig sind, manchmal mehr birnförmig oder oval, und daß ein wesentliches Charakteristikum eine einzige, mächtige Vakuole ist, die manchmal den größten Teil des Pilzkörpers erfüllt. Ständig trifft man einen Teil derselben in Knospung. Die Knospe sitzt aber nicht terminal, sondern ist etwas nach der Seite gerückt; sie kann am spitzeren oder stumpferen Ende entstehen. Wie sich bei näherem Zusehen ergibt, daß die Hefen einer jeden Schildlausart sich von denen einer anderen unterscheiden lassen, so auch hier; ich bilde noch die in *Ernobius abietis* lebenden ab, die breiter sind, oft ganz eiförmig,

manchmal auch zitronenförmig und deren Knospen genau terminal abgeschnürt werden. So auffallende Vakuolen fehlen hier, wenn auch hier und da eine zu Gesicht kommt, dafür sind ziemlich große, lichtbrechende Einschlüsse vorhanden, allemal ein einziger in jeder Zelle. Die Hefen aus der einen unbestimmten Form (Stuhl) sind wieder ganz anders gestaltet, lang und schmal wie Zigarren, die aus dem Herbarium ganz besonders klein. Auf die Fragestellungen, die sich aus solchen Unterschieden hinsichtlich einer möglichen Umwandlung der Symbionten im Wirt oder einer vielfach vorgekommenen Parallelinfektion ergeben, soll an einem anderen Ort an der Hand eines reicheren Materials eingegangen werden.

Wie ich schon eingangs betonte, ergibt sich nun bei den Anobien eine Schwierigkeit, die bei keinem der vielen übrigen mit Symbionten versorgten Insekten besteht. Die Anobien sind die einzigen unter ihnen, bei denen die pflanzlichen Organismen das Darmepithel selbst bewohnen. Wo es sonst noch auf den ersten Blick den Anschein hat (*Camponotus*, *Haematopinus*), stellt sich bei genauerer Prüfung heraus, daß nur dicht hinter dem Darmepithel liegende, wenn auch zwischen die Epithelzellen sich vordrängende Zellen von wohl stets mesodermaler Herkunft pilzbewohnt sind. Zwischen dem Mitteldarmepithel der Larve und der Imago aber besteht nun bei den Insekten bekanntlich keine Kontinuität. Bei der Metamorphose geht das erstere völlig zugrunde und wird von den imaginalen Kryptenzellen neu aufgebaut. Bei unseren Käfern geht die Metamorphose recht unauffällig vor sich. Die Kryptenzellen vermehren sich und bilden schließlich eine ununterbrochene Schicht hinter dem alten Epithel. Dieses zieht sich nach den Beobachtungen KARAWAIEW'S, nachdem schon vorher der ganze Darminhalt entleert wurde, zu einem dünnen Rohr zusammen, das sich vom neuen Epithel löst. Später zerfällt es in die einzelnen Elemente, die frei in der Darmflüssigkeit schwimmen und allmählich völliger Degeneration verfallen. Wie die entsprechenden Vorgänge sich an den Blindsäcken abspielen und wie insbesondere die Kontinuität der Mycetocyten gewahrt wird, konnte KARAWAIEW nicht beobachten.

Die entscheidenden Prozesse gehen bereits in alten Larven vor sich; ich fand eine solche, bei der die Bildung des imaginalen Mitteldarmes eben einsetzte, der Prozeß beginnt an den Aussackungen und läuft erst allmählich nach hinten zu weiter, so daß vorne bereits eine an das alte Epithel dicht anschließende zusammenhängende Zellschicht entstanden ist, während im übrigen Teil die Kryptenzellen sich erst zu vermehren beginnen. Zu dieser Zeit tritt ein im Ver-

hältnis zur ganzen Masse geringer Teil der Hefen in die jugendlichen Zellen, die sich durch ein viel dichteres, stärker färbbares Plasma auszeichnen, über. Auf dem in Fig. 5 (Taf. 14) gezeichneten Stadium erkennt man fünf solche neu infizierte Zellen; das larvale Epithel ist stark zusammengeschrumpft und nur noch arm an Mycetocyten. Gleichzeitig schwimmen im Darmlumen zahlreiche degenerierende Plasmafetzen mit ihren Kernen. Wir werden nicht fehl gehen, wenn wir annehmen, daß dies aus dem epithelialen Verbands der Blindsäcke gestoßene Elemente sind, die sich ihrer Einmieter entledigt haben. Schon in jüngeren Larven kann man nämlich die Zellen verlassende und zwischen dem Speisebrei schwimmende Pilze finden (vgl. Textf. 2) und wir werden sogleich noch zu zeigen haben, wie der Übergang der Symbionten in das Freie auch zu anderen Zeiten unter Umständen in Massen vor sich geht. Wenn das alte Epithel in der jungen Puppe abgestoßen worden ist, bilden die imaginalen Zellen wieder regelrechte Säcke aus, die zunächst nur als solide Buckel hinter dem zusammengezogenen Larvendarm angelegt waren; sie formieren ein Epithel, ähnlich dem in jüngeren Larven, mit Mycetocyten, die allmählich zahlreicher werden, aber die pilzfreien Zellen nicht mehr so sehr an Größe übertreffen, wie in der Larve. Ob die Vermehrung der Mycetocyten nur durch Teilung der schon vorhandenen geschieht, oder ob zu dieser Zeit auch Infektionen von noch pilzfreien Nachbarzellen vorkommen, kann ich nicht sicher sagen. Der Umstand, daß ich immer nur gleichmäßig gefüllte Zellen angetroffen habe, spricht gegen diese letztere Möglichkeit. Alle Elemente des Puppenepithels sind gleich hoch, der oben geschilderte Zustand des Epithels in den Blindsäcken der Imago kommt erst in dieser zum Vorschein.

## 2. Die Übertragungsweise der Anobien-Symbionten.

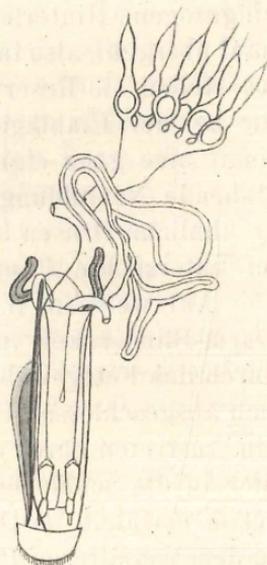
Die Frage, wie die Hefepilze der Anobien von einer Generation auf die andere übertragen werden, wird in den Arbeiten KARAWAIEW'S und ESCHERICH'S nicht beantwortet. Letzterer meint, daß wahrscheinlich die Eier bereits infiziert werden und BIEDERMANN schließt sich dieser Vermutung an. Nachdem man inzwischen von so vielen Insekten die Infektion der Eier durch die Symbionten kennen gelernt hat, mußte dies erst recht für das naheliegendste gehalten werden. Bereits 1912 konnte ich jedoch durch Untersuchung ausgewachsener Eier feststellen, daß die Erwartung nicht zutrifft. Die Anobien sind tatsächlich die einzigen bisher bekannten Insekten, bei denen die Pilze

nicht wie bei allen symbiontisch lebenden Hemipteren, Blattiden, Hymenopteren, Pediculiden in die Eier übertreten. Es blieb damit nur die Möglichkeit einer jeweiligen Neuinfektion durch den Mund der Larve. Weitere Studien haben dies nun bestätigt und gezeigt, daß diese an sich natürlich bei weitem nicht so sichere Übertragungsweise durch eine Reihe von Einrichtungen und Instinkten doch zu einer äußerst genau arbeitenden gemacht wird.

Untersucht man die abgelegten Eier (ich benutzte hier ausschließlich *Sitodrepa panicea*) in einem Tropfen Wasser, so findet man zwischen den kugelförmigen, die ganze Oberfläche bedeckenden Höckern überall zerstreut Hefezellen haften, die zweifellos mit den im Muttertier lebenden identisch sind (Taf. 14, Fig. 1). Sie haben die typische Tränengestalt und die große Vakuole, sind aber nur sehr selten in Knospung begriffen.

Über die Art, wie sie dahin gelangen und warum man keine nicht mit Pilzen besudelten Eier antrifft, gibt der Bau des Geschlechtsapparates Aufschluß. Bereits der alte, klassische Untersucher der weiblichen Geschlechtsapparate der Käfer, STEIN, gibt eine sorgfältige, allerdings auf *Anobium pertinax* sich beziehende Abbildung derselben (1847) (Textfigur 3). Das Hinterende des Abdomens, das an seiner Spitze übereinander gelagert die Mündung des Enddarmes und der Vagina trägt, ist, wie bei allen Käfern, tief in das Innere zurückgezogen, was dadurch ermöglicht wird, daß die Verbindungshaut zwischen den zurückgezogenen und den scheinbar letzten Segmenten, bzw. Segmentteilen außerordentlich entwickelt ist und nach rückwärts einschlagend ein röhrenförmiges Futteral bildet; in diesem liegt erst das eigentliche Ende des Abdomens verborgen und kann gewöhnlich nur durch Druck hervorgeschoben werden. In diesem Abschnitt, den STEIN das Scheidenmastdarmrohr nennt, treten die beiderlei Ausführwege ein und an ihrem Ende mündet unter einer das letzte Segment darstellenden Analplatte der Enddarm und darunter von zwei weniggliedrigen Palpen seitlich begrenzt, die Scheide.

Diese entsteht durch Vereinigung der beiden Eileiter und nimmt hierauf noch die unpaare Begattungstasche auf, in die neben einer



Textfig. 3.

♀ Geschlechtsapparat  
von *Anobium pertinax*  
nach STEIN.

Anhangsdrüse das Receptaculum seminis einmündet. Dazu kommen nach STEIN noch zwei akzessorische Drüsen, paarige, „gefäßartige“, die nach seiner Abbildung in der Gegend der Umschlagsstelle einmünden und eine größere unpaare, lang eiförmige, die er in der Nähe der Hinterleibsspitze enden läßt.

Letztere kann ich bei *Sitodrepa panicea* nicht auffinden, wohl aber die paarigen „akzessorischen Drüsen“ STEIN'S. Tatsächlich stellen sie allerdings keine Anhangsdrüsen der Vagina dar, sondern es handelt sich um lange, wurmförmige Schläuche, die in der Imago mit den Symbionten prall gefüllt sind. Ihre Wandung besteht keineswegs aus Drüsenzellen, sondern wird von einem dünnen abgeplatteten Epithel geliefert, das ein feines Chitinhäutchen absondert (Fig. 7, Taf. 14). Auch münden sie überhaupt nicht in die Vagina, sondern öffnen sich in den Winkel, in dem das eingezogene Hinterleibsende in die nach vorne ziehende Verbindungshaut übergeht, also tatsächlich auf die Oberfläche des Körpers. Zweifellos stellen sie Reservoirs dar, von denen die Hefen geliefert werden, die bei der Eiablage auf die Eischale gelangen und repräsentieren somit eine ganz eigentümliche im Zusammenhang mit der Symbiose stehende Neubildung am Insektenkörper. STEIN gibt selbst an, daß er ähnliche Drüsen bei verwandten Formen nicht konstatieren konnte (er untersuchte *Ptinus fur* und *Dorcatoma flavicornis*).

Auf welchem Wege gelangen nun die Pilze von den entlegenen Darm-Blindsäcken in diese Einstülpungen hinein? Eine Wanderung durch das Fettgewebe und eine rückwärtige Durchbohrung ist ziemlich ausgeschlossen, es bleibt nur ein Übertreten in das Darmlumen und ein Austreten durch den Darm auf die Oberfläche des Tieres und von hier in die Schläuche hinein. Tatsächlich findet man nicht nur, wie schon erwähnt, im Darmlumen der Larven freie Hefen, sondern auch in dem von älteren Puppen, die wieder reichlich Mycetocyten gebildet haben. Diese müssen das Material hierzu darstellen, denn in den Puppen wird ja bereits die Entwicklung des Geschlechtsapparates vollendet und werden auch schon die Schläuche gefüllt. Die Einzelheiten dieser Vorgänge habe ich jedoch nicht näher untersuchen können. Zum Teil wird auch die tatsächlich zu beobachtende Vermehrungstätigkeit der Pilze an Ort und Stelle zur Füllung beitragen. Wünschenswert wären noch nähere biologische Beobachtungen über den Vorgang der Eiablage, um zu sehen, wie der Inhalt an die Eier gebracht wird. Man wird sich vorstellen müssen, daß vor allem bei dem Vortreten des röhrenförmigen Hinterleibsendes seine mit feinen Haaren besetzte Oberfläche mit Hefepilzen verunreinigt wird und

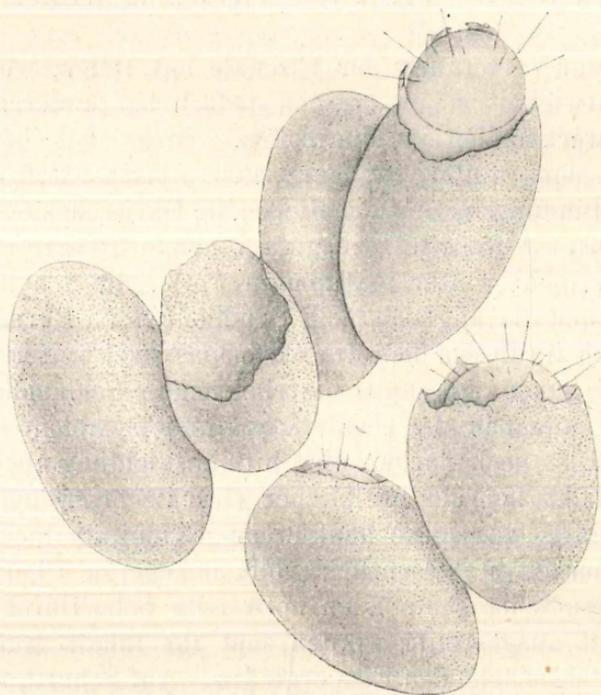
diese auf das abgelegte Ei übertragen werden. Tatsächlich konnte ich auf Schnitten schon in eingestülptem Zustand diese Teile mit Pilzen behaftet sehen. Unterstützt mag die Besudelung noch dadurch werden, daß auch in den geschlechtsreifen Tieren ständig Hefen das Darmepithel verlassen und zum Teil sicher auch auf die Oberfläche der Genitalregion gelangen. Besondere Einrichtungen, die pumpenartig auf den Inhalt der Schläuche wirken könnten, habe ich nicht gefunden. Es ist aber ohne weiteres anzunehmen, daß die mit der Eiablage im Zusammenhang stehenden Kontraktionen des Abdomens und der Druck der durch diese enge Stelle gleitenden Eier eine den teilweisen Austritt der Pilze befördernde Wirkung haben wird.

Die Einrichtungen zur Versorgung der Eischale mit Hefen, wie wir sie bei *Sitodrepa* entwickelt sehen, werden jedoch bei anderen Anobiinen noch an Zweckmäßigkeit übertroffen. STEIN hat bei *Anobium pertinax* noch eine weitere unpaare akzessorische Drüse gesehen, die nach ihrer Mündungsstelle zu schließen, im Darmscheidenrohr selbst liegen muß; bei *Sitodrepa* ist wie gesagt nichts derartiges vorhanden, aber bei der nicht weiter bestimmten Form, die ich in einem alten Stuhl fand und die ungleich mehr Symbionten im Darmepithel birgt, liegen auch in diesem Teil des Abdomens zwei weitere, fast den ganzen eingezogenen Abschnitt durchziehende Schläuche von ganz ähnlicher Beschaffenheit, die ebenfalls prall mit Symbionten gefüllt sind. Ihr Epithel ist noch flacher, die Chitinauskleidung aber stärker. Sie münden dicht bei der weiblichen Geschlechtsöffnung an der Innenseite der Basis der diese flankierenden Genitalpalpen. Hier handelt es sich um einen wesentlich vollkommeneren Übertragungsmodus, denn diese Schläuche müssen notwendig beim Durchtritt des Eies zum Teil ausgestreift werden und ihr Inhalt muß sich unmittelbar auf die Oberfläche des Eies ergießen. Auf Schnitten durch die Mündungsstelle ist zu erkennen, daß hier die Hefen durch eine kittartige Masse verbacken sind, die am lebendigen Objekt sicher dazu dient, die Pilze auf der Eischale gut haften zu lassen.

Der unpaare Schlauch, den STEIN bei *Anobium pertinax* beschreibt, hat ganz die gleiche Gestalt und Lage und stellt wahrscheinlich eine ähnliche Einrichtung dar. Es verspricht noch manche interessante Einzelheit, wenn man es unternehmen würde, diese Beschmiervorrichtungen vergleichend zu untersuchen und durch biologische Beobachtungen zu ergänzen.

Es bleibt nun noch festzustellen, wie die Hefen von der Eioberfläche in den larvalen Mitteldarm, beziehungsweise dessen Epithel

gelangen. Es fällt nicht schwer, die Larven von *Sitodrepa* beim Ausschlüpfen zu beobachten. Man sieht dann, wie sie zunächst mit einem Stück ihres Kopfes zum Vorschein kommen und die Ränder der Öffnung allmählich immer weiter abfressen, bis etwa die halbe Eischale verzehrt ist (Textfig. 4). Dann verlassen sie den Rest und beginnen andere Nahrung aufzusuchen. Daß sie sich damit aber bereits infiziert haben, beweisen Schnitte durch solche noch in der Eischale sitzende oder eben sie verlassende Lärvcchen. Man kann bei sorgfältigem Suchen in ihrem Darmkanal nicht nur die zermalmtcn Schalenreste finden, sondern dazwischen auch hier und da einmal



Textfig. 4.

Ausschlüpfende Larven von *Sitodrepa panicea* beim Fressen der Eischale.

Deutung nicht ganz einwandfrei war. Fig. 2 und 3 (Taf. 14) zeigen solche Infektionen. Von Interesse ist es dabei, zu sehen, wie stets nur diejenigen Zellen infiziert werden, die an der Stelle der künftigen Ausstülpungen liegen, nie etwas weiter rückwärtige. Wir haben die gleiche Gesetzmäßigkeit vor uns, wie sie auch bei der Übertragung der Eier der Hemipteren zu beobachten ist, wo stets nur ein ganz beschränkter sich durch nichts unterscheidender Teil des Follikels als Einfallspforte in das Ei selbst benutzt wird. Zunächst besitzen

eine Hefezelle. Der Anfangsteil des Mitteldarmes zeigt zu dieser Zeit noch keinerlei Besonderheit. Die Ausbuchtungen werden nicht etwa bereits vorausschauend angelegt, sondern das jetzt noch recht niedere Epithel zeigt hinter der Einmündung des Ösophagus ganz den gleichen Charakter wie im übrigen Mitteldarm. Die Larven, bei denen ich mit Sicherheit Hefezellen bereits intracellulär feststellen konnte, waren etwa einen Tag alt. Von jüngeren boten sich mir nur Bilder, deren

diese jungen Darmzellen, auch soweit sie infiziert sind, noch ihren Bürstenbesatz; die vereinzelt Hefezellen liegen in gesonderten Vakuolen und die eingangs geschilderten Zustände, die scharfe Sonderung von Mycetocyten und pilzfreien Zellen und die Ausstülpungen des infizierten Epithels entwickeln sich erst allmählich. Diese allein dadurch erklären zu wollen, daß die Mycetocyten so sehr heranwachsen und insbesondere auch ihre Basalfläche vergrößern (KARAWAIEW), geht wohl nicht an, zu diesem untergeordneten Moment muß vor allem eine besonders rege Vermehrung der Zellen in dieser Zone hinzukommen.

Zweifellos finden sich in den von den Anobien durchwühlten Speisen auch zahlreiche freigewordene Hefezellen vor und werden solche gelegentlich mit der Nahrung wieder aufgenommen. Wir dürfen vermuten, daß solche Pilze dann auch noch in der Lage sind, in die Epithelzellen einzudringen und bei einer zufällig einmal mangelhaft funktionierenden Beschmierung der Eier noch eine Infektion der Larven herbeizuführen.

Der Zyklus der Anobiensymbiose ist damit geschlossen. Zu keiner Zeit ist an der Hefe Sporenbildung zu beobachten, so wenig, wie bei den Hefen, die in Schildläusen und Cicaden leben, und an anderen symbiontisch lebenden Microorganismen. Es handelt sich stets um asporogene Rassen, wie diese auch sonst unter gewissen Bedingungen erzielt werden können, oder doch wenigstens bei solchen Formen, die wie die vorliegende so zahlreich in die Außenwelt zurückkehren um asporogene Perioden, denn im letzten Fall muß man annehmen, daß unter geeigneten Lebensbedingungen auch im Freien rege Vermehrung eintritt und Sporenbildung einsetzt.

Die Anobiensymbiose steht, mit den übrigen intracellularen Insektensymbiosen verglichen, ganz einzig da. Wenn auch jede der sonst Symbionten beherbergenden Gruppen ihre Besonderheiten hat, so besitzen sie doch auch Vergleichspunkte, zum mindesten in der Art der Infektion der Eier und in dem Sitz der Symbionten im Bereich des mittleren Keimblattes; bei dem vorliegenden Objekt aber wohnen die Pilze im Entoderm und geschieht die Übertragung in Gestalt einer Neuinfektion durch den Mund, unterstützt durch ganz eigentümliche Hilfseinrichtungen am Abdomen. Beide Besonderheiten stehen zweifellos in Abhängigkeit voneinander, denn für Darmepithelbewohner liegen offenbar organisatorische Schwierigkeiten vor, in die heranwachsenden Eier zu gelangen. Es scheint mir von besonderem Interesse, zu sehen, wie hier die um ihre Mittel nie verlegene Natur trotzdem, von der gegebenen Straße des Darmkanals ausgehend, eine Einrichtung

zu schaffen vermag, die an Sicherheit der Übertragung nichts zu wünschen übrig läßt. Es wäre höchstens noch an die Möglichkeit zu denken, daß die Pilze aus dem Darm in die Scheide übertreten, hier bis zu den Ovarien hinaufwandern und ein Infektionsorgan bilden, ähnlich etwa den eigentümlichen Ovarialampullen der Läuse, deren Bedeutung ich vor kurzem aufklären konnte. Vielleicht findet man eines Tages noch Insekten mit darmbewohnenden Symbionten, bei denen dies verwirklicht ist.

Man muß sich eigentlich wundern, daß das Darmepithel bei den so sehr zur Aufnahme intracellulärer Symbionten neigenden Insekten — gibt es ja sogar Formen unter ihnen, die zwei ganz verschiedene Pilze beherbergen — sonst nirgends Sitz der Symbionten wird, obwohl von hier aus eine günstige Beeinflussung der Verdauung am ehesten gegeben erschiene und wiederholt der Drang, die Pilze dicht an dem Darm und weit unter ihm ausgedehnt zu lokalisieren, zu Tage tritt (*Pediculus*, *Haematopinus*, *Camponotus*). Ich glaube, daß hier die eben betonte Schwierigkeit der Eiinfektion eine Rolle spielt, die vor allem auch überall dort einem Übertragungsmodus wie bei den Anobien vorzuziehen sein wird, wo die Eier bzw. Embryonen starken Frösten und insbesondere auch der Trockenheit ausgesetzt sind, was z. B. bei den Phytophthiren vielfach der Fall ist. Wissen wir doch von den freien Hefen, die überall, vor allem auf faulenden Früchten und an anderen Pflanzensäften vorkommen, daß sie im Winter allorts in den oberflächlichen Schichten (etwa bis in 30 cm Tiefe) der Erde zu treffen sind, im Sommer aber infolge der Trockenheit nur in größeren Tiefen sich zu halten vermögen. Bei den Anobien fallen solche Bedenken nicht ins Gewicht. Meines Wissens überwintern bei keiner Form die Eier, sondern stets die im Holz, in Zapfen oder Trieben minierenden Larven, die bereits nach einer kurzen Pause dem Ei entschlüpfen.

Während wir, wie gesagt, unter den übrigen intracellulären Symbiosen bei Insekten bis heute nirgends Vergleichbares finden, sind wir durch eine vorzügliche Studie PÉTRI'S über die Symbiose der Olivenfliege (*Dacus*) mit im Darmlumen frei lebenden Bakterien unterrichtet, die auffällig viel Ähnliches bietet. Hier leben die Symbionten der Larve in Ausstülpungen des Anfangsteiles des Mitteldarmes, also an ganz identischer Stelle. Die Gefahren der Metamorphose aber werden dadurch umgangen, daß ein kleiner Teil sich in eine unpaare Schlundtasche im Kopfe der Imago rettet. Die Übertragung wird ebenfalls durch „Besmiedrüsen“ bewerkstelligt, die in größerer Anzahl seitlich und dorsal in den Enddarm

münden, kurz bevor er sich mit der Vagina vereinigt. Bei der Eiablage wird hier lediglich die Micropylengegend behaftet, deren seltsam lakunenartig erweiterte Hohlräume sich allmählich völlig mit Bakterien füllen. Schon bevor jedoch die Larve die Eischale verläßt, aber erst nach Bildung des Darmrohres, ist diese bei *Dacus* infiziert; hier unterscheiden sich also beide Formen wesentlich. Ob bei der Olivenfliege die Bakterien aktiv die Dotterhaut, die die längste Zeit intakt bleibt, durchbohren, oder vom Insekt verursachte Risse benutzt, bleibt ebenso unsicher, wie die Bedeutung des ganzen Zusammenlebens.

Jedenfalls geht aus dem Vergleich der beiden Formen, Anobien und *Dacus*, hervor, daß gerade das, was bei ersteren als primitive Einrichtungen auffällt, enge Beziehungen mit der ursprünglicheren *Dacus*-Symbiose aufweist, und daß man sich auch bei den Anobien leicht einen ähnlichen Zustand vorausgegangen denken kann.

Wenn unter den innigen Insektensymbiosen eine Neuinfektion durch den Mund außer bei Anobien nirgends vorkommt, so kennen wir doch bei niederen Tieren ähnliche Übertragungsweisen. Die an grüne Flagellaten eng angepaßte *Convoluta roscoffensis* legt symbiontenfreie Eier in eine Kapsel vereint ab, diese aber ist äußerlich und innerlich von den Flagellaten, zu *Chlamydomonas* zu stellenden Formen, verunreinigt und beim Ausschlüpfen gelangt der eine oder andere Symbiont alsbald in die jungen Würmer hinein, die daraufhin jede weitere Nahrungsaufnahme einstellen und nur noch auf Kosten ihrer Inwohner leben. Bei ihnen handelt es sich allerdings um Organismen, die auch sonst an den betreffenden Lokalitäten außerordentlich häufig sind, so daß eine Infektion auch bei künstlich flagellatenfrei den Kapseln entnommenen Tieren mit großer Sicherheit zu erwarten ist. Immerhin kann man die Anbahnung ähnlicher Zustände, wie bei den Anobien, in dieser Einrichtung der *Convoluten* sehen. Völlig auf jedesmalige Neuinfektion durch den Mund sind ja auch die meisten mit Zooxanthellen lebenden Cölenteraten angewiesen — bei verschwindend wenigen nur werden die Eier infiziert —, hier besteht nirgends eine Kontinuität zwischen den gelben Zellen des Muttertieres und denen der Nachkommen, sondern die Flagellatenstadien derselben sind im Meere so außerordentlich verbreitet, daß es nicht lange dauert, bis in deren Mund der eine oder andere Symbiont gelangt, der sich, in das Wirtsgewebe aufgenommen, lebhaft vermehrt und zu dem sich immer neue hinzugesellen. Es sind eben alle erdenklichen Zustände des gegenseitigen Abhängigkeitsverhältnisses und der gegenseitigen

Sicherung entwickelt, unter denen die hier für die Anobien klar-gelegten zu den interessantesten gehören.

### 3. Die Bedeutung der Anobiensymbiose.

Daß es sich bei dem Zusammenleben der Anobien mit Hefen um wirkliche Symbiose handelt, daran wird wohl niemand zweifeln, der die voranstehenden Einzelheiten der gegenseitigen Anpassung kennen gelernt hat, auch ohne daß zunächst ein wirklicher Beweis für die Bedeutung der Pilze im Haushalt der Käfer erbracht ist. Tatsächlich ist aber vielleicht gerade bei diesem Objekt ein solcher in besonders hübscher Weise zu bringen. Denn hier liegt noch am ehesten die Möglichkeit vor, den Wirt auf experimentellem Wege pilzfrei zu machen, ohne zu gefährlichen und schwierigen Exstirpationen schreiten zu müssen. Ich denke an die Aussichten, die abgelegten Eier durch Waschungen mit geeigneten Mitteln keimfrei zu machen und die Lebensfähigkeit der in pilzfreier Nahrung ausschlüpfenden Larven mit der in ebensolcher befindlicher aber infizierter Larven zu vergleichen. Ich habe die ersten Vorversuche in dieser Richtung bereits angestellt und hoffe, daß sich dies auf ähnliche Weise erreichen läßt, wie man etwa pilzfreie Samen durch Spülung mit Kaliumpermanganat oder Wasserstoffsperoxyd gewinnt. Ich zweifle nicht daran, daß man hierbei ähnliche Resultate bekommen wird, wie bei jenen Convoluten, die man, bevor sie sich infizieren konnten, aus ihrem Kokon befreite und die in symbiontenfreiem Seewasser dahinsichten, durch rechtzeitige Algenfütterung aber am Rande des Todes noch gerettet werden konnten.

Auch hinsichtlich der Frage nach der spezifischen physiologischen Leistung ergeben sich einige Anhaltspunkte. Daß es sich um eine für den Wirt günstige Beeinflussung des Speisebreies handelt, geht schon aus den topographischen Verhältnissen hervor. Bevor die Nahrung in den eigentlichen verdauenden Teil des Mitteldarms gelangt, passiert sie die Region der Blindsäcke und füllt auch diese selbst aus. In dem unmittelbar vorangehenden Kaumagen wird die Nahrung erst noch gründlich durchgeknetet und schon hier sicher mit Stoffen, die in den Blindsäcken ausgeschieden werden, reichlich durchmengt. Die Nahrung selbst besteht bei allen Anobiinen mit Ausnahme von *Sitodrepa* in Holzsubstanz; die *Hedobien-* und *Xestobium-*Larven leben in abgestorbenem Laubholz, in Buchen, Haseln, Apfel-, Lindenbäumen und so fort, *Ernobius-*Larven vor allem im Mark von Coniferenzapfen, *Ernobius mollis* schädigt Balken und

Hausgeräte, die Anobien hausen mit Vorliebe in ganz altem Holz von Möbeln und Balken, die bekannte Totenuhr ist ja eine *Anobium*-Art (*Anobium pertinax*). Nur *Sitodrepa* hat sich von der ursprünglichen Lebensweise abgewandt und ist in die menschlichen Vorratskammern eingedrungen, wo sie vor allem Kleie bevorzugt, aber auch an alles erdenkliche andere geht. In CALWERS Käferbuch kann man lesen, daß sie sich an Biskuits, Pfefferkuchen, Schokolade, Nudeln, Ölkuchen, Kopra, Rizinuskerne macht, aber auch Farbwurzeln, Alkanna und Krapp, scharfe Gewürze, wie Ingwer, Drogen aller Art, Papiermaché und anderes verzehrt.

Als hauptsächliche Nahrung, die sich den Holzfressern bietet, wird die Stärke zu nennen sein, die die Bäume im Herbst in ihrem Holz aufspeichern. Nun besitzen die Insekten bekanntlich keine Zellulose lösenden Stoffe, nur der Inhalt derjenigen Zellen ist ihnen zugänglich, die von den Mandibeln oder den Zähnen des Kaumagens teilweise zerstört worden sind. Man könnte daran denken, daß die symbiontische Hefe ein Holzsubstanz lösendes Ferment liefert. Eine andere Möglichkeit legt die große Stickstoffarmut der zur Verfügung stehenden Nahrung nahe, es ist jedenfalls auch der Frage näher zu treten, ob nicht die Hefen den Stickstoff der Luft, den ihnen die die Ausstülpungen des Darmes versorgenden Tracheen zur Verfügung stellen könnten, zu assimilieren vermögen. Wir wissen zur Zeit weder etwas von Zellulose vergärenden Hefen noch ist Sicherheit darüber vorhanden, ob es Luftstickstoff assimilierende gibt. Nach Erfahrungen von ZIKES u. KOSSOWICZ (1912) sollen tatsächlich solche vorkommen. Wenn sich mit Saccharomyceten vertraute Gärungsphysiologen der *Anobium*-Hefen annehmen und ihre Eigenschaften in Kulturen außerhalb des Wirtes studieren würden, deren Herstellung bereits ESCHERICH gelungen ist, so müßte sich diese Frage lösen lassen.

### Literaturverzeichnis.

- BIEDERMANN, W.: Physiologie des Stoffwechsels. Handb. d. vergl. Physiol. von WINTERSTEIN Bd. 2 1911.
- BUCHNER, P.: Studien an intracellularen Symbionten. I. II. Arch. f. Protistenk. Bd. 26 u. 39 1912, 1918.
- : Neue Erfahrungen an intracellularen Symbionten bei Insekten. Naturw. Wochenschrift Bd. 12 1913.
- : Neue Beobachtungen an intracellularen Symbionten. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Physiol. München 1919.
- : Zur Kenntnis der Symbiose niederer pflanzlicher Organismen mit Pedikuliden. Biol. Zentralbl. Bd. 39 1920.
- : Tier und Pflanze in intracellulärer Symbiose. Berlin 1921.
- CALWER'S Käferbuch. Verfaßt von C. SCHAUFUSS. 6. Aufl. 1916.
- ESCHERICH, R.: Über das regelmäßige Vorkommen von Sproßpilzen in dem Darmepithel eines Käfers. Biol. Zentralbl. Bd. 20 1900.
- KARAWAIEW, W.: Über Anatomie und Metamorphose des Darmkanals der Larve von *Anobium paniceum*. Biol. Zentralbl. Bd. 19 1899.
- PETRI, L.: Ricerche sopra i batteri intestinali della Mosca olearia. Mem. R. Staz. Patol. veget. Roma 1909.
- STEIN, FR.: Die weiblichen Geschlechtsorgane der Käfer. Vergleichende Anatomie und Physiologie der Insekten. 1. Monographie. Berlin 1847.

### Tafelerklärung.

#### Tafel 14.

Alle Figuren sind mit Ölimmers. ZEISS 2 mm und Comp. Oc. 8 auf Objekttischhöhe gezeichnet.

Fig. 1—8 von *Sitodrepa panicea*.

Fig. 1. Oberfläche eines abgelegten Eies, die Hefen liegen zwischen den Höckern, nach dem Leben.

Fig. 2 u. 3. Erste Infektionsstadien des Mitteldarmepithels in ganz jungen Larven, die die Eischale vor kurzem verlassen haben.

Fig. 4. Mycocyten aus den Blindsäcken einer älteren Larve.

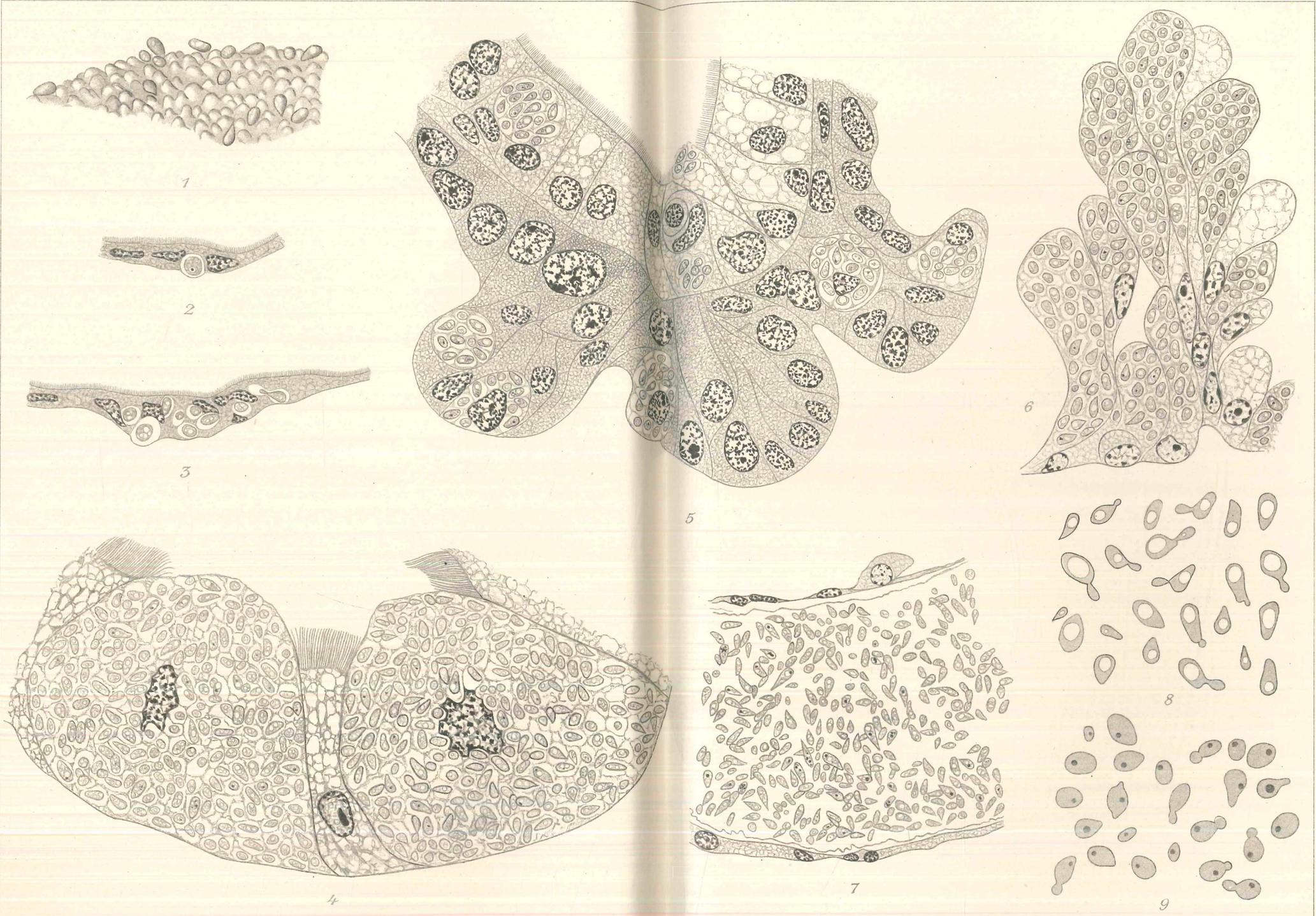
Fig. 5. Bildung des imaginalen Epithels an den Blindsäcken einer alten Larve. Neuinfektion desselben.

Fig. 6. Mycocyten aus den Blindsäcken einer Imago.

Fig. 7. Stück eines pilzerfüllten Sackes am Abdomen der ♀ Imago, der zum Besmieren der Eier dient.

Fig. 8. Die Hefezellen aus der Larve, nach dem Leben.

Fig. 9. Die Hefezellen aus der Larve von *Ernobius abietis*, nach dem Leben.



# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1921

Band/Volume: [42\\_1921](#)

Autor(en)/Author(s): Buchner P.

Artikel/Article: [Studien an intracellularen Symbionten. 319-336](#)