

Bakterien und Bakteroiden bei Oligochaeten

KURT W. PAETZ

 Springer

Bakterien und Bakteroiden bei Oligochaeten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Philosophischen Fakultät
der Universität zu Greifswald

vorgelegt von

Johannes Knop
aus Körlin

Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH

ISBN 978-3-662-39281-2 ISBN 978-3-662-40313-6 (eBook)
DOI 10.1007/978-3-662-40313-6

Gedruckt mit Genehmigung der Philosophischen Fakultät
der Universität Greifswald

Dekan: Prof. Dr. Kolbe
Referent: Prof. Dr. P. Buchner
Korreferent: Prof. Dr. J. Buder

Tag der mündlichen Prüfung: 2. März 1926

Sonderabdruck aus der Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere.
Bd. 6, Heft 3.

Inhaltsverzeichnis.		Seite
1. Einleitung		588
2. Geschichtliches		589
3. Material und Methode		590
4. Die Bakterien in den Exkretionsorganen		591
a) Die Bakterien in der Ampulle von <i>Lumbricus terrestris</i>		591
b) Übertragung		595
c) Vergleichende Untersuchungen an anderen Lumbriciden		600
d) Untersuchungen an anderen Oligochäten		602
e) Beurteilung des Zusammenlebens		611
5. Bakteroiden.		614
6. <i>Microscölex phosphoreus</i>		620
7. Literaturverzeichnis		623

1. Einleitung.

Unsere Kenntnis der symbiontischen Beziehungen zwischen Tieren und einzelligen Pflanzen ist verhältnismäßig neu, und doch liegt hierüber schon ein umfangreiches Tatsachenmaterial vor. Sie beginnt mit der Feststellung der Algennatur (Zoochlorellen und Zooxanthellen) von bis dahin rätselhaften grünen und gelblichen Einschlüssen bei Protozoen, Cölenteraten, Schwämmen und Würmern und schien damit zunächst den wesentlichen Geltungsbereich derselben umschrieben zu haben. Das änderte sich aber völlig, seit die in den letzten 15 Jahren von PIERANTONI und ŠULC begonnenen und von BUCHNER weitergeführten Untersuchungen über Pilz- und Bakteriensymbiosen bei Insekten zeigten, welche Fülle der verschiedenartigsten Einrichtungen für die Beherbergung und Übertragung der Symbionten auf die Nachkommenschaft bei den Wirten auftreten kann. Durch diese Ergebnisse konnte erst die wahre Natur einer Reihe bis dahin rätselhafter Organe aufgedeckt werden. Zu den bisher erwähnten Tatsachen kommt noch als neuestes und vielleicht interessantestes Gebiet das Problem des tierischen Leuchtens hinzu. PIERANTONI, BUCHNER u. a. konnten teils

zeigen, teils wahrscheinlich machen, daß das Leuchten einer Reihe von Tieren, Pyrosomen, Cephalopoden, Fischen, Ctenophoren und Coleopteren seine Ursache in Leuchtsymbionten hat.

Überblickt man die bisherigen Leistungen auf dem Gebiet der Symbioseforschung, so kann man wohl sagen, daß hier in kurzer Zeit unsere Kenntnis erstaunlich bereichert worden ist, daß aber noch viel zu tun bleibt, um dieses Grenzgebiet der Zoologie auch nur einigermaßen erschöpfend zu klären. Einen neuen Beitrag zu den bisher bekannten Ergebnissen zu liefern, soll die vorliegende Arbeit versuchen. Die Anregung zu ihr erhielt ich durch Herrn Professor Dr. P. BUCHNER, dem ich hierfür und vor allem für das rege Interesse, das er jederzeit meinen Arbeiten entgegenbrachte, zu ganz besonderem Danke verpflichtet bin.

2. Geschichtliches.

Von einer regelmäßigen Besiedlung von Oligochäten und Polychäten mit Bakterien ist schon lange vor dem eben kurz skizzierten Aufschwung der Symbioseforschung mehrfach die Rede gewesen. Zweierlei ist dabei auseinanderzuhalten: 1. die Bakteroiden, 2. die Ampullenbesiedlung.

CERFONTAINE (1890) und CUÉNOT (1898) waren die ersten, die ein regelmäßiges Vorkommen von Bakterien bei Lumbriciden behaupteten. Sie sahen sie in stäbchenförmigen Gebilden, die überall im Bindegewebe und in der Leibeshöhle bei fast sämtlichen Oligochäten charakteristisch sind. CERFONTAINE machte sie dafür verantwortlich, daß die toten Regenwürmer so schnell verwesen, während CUÉNOT sie vor allem aus dem Grunde für Bakterien hielt, weil er beobachtet hatte, daß die aus den Zellen herausgefallenen von Amöbozyten verdaut wurden.

K. C. SCHNEIDER (1902) beobachtete diese Stäbchen ebenfalls überall im Bindegewebe. Er nennt sie Bakteroiden und zweifelt an ihrer Bakteriennatur.

TROJAN (1919) hat sich in einer neueren Arbeit genauer mit ihnen befaßt. Er sagt: „Die Bakteroiden der alten Autoren sind gewiß keine Mikroben; sie stehen vielmehr bei *Chaetopterus* mit der Bildung des fibrillärfaserigen Bindegewebes im Zusammenhange und werden im Hinblick darauf Fibrochondren genannt.“

Die Ampullenbesiedlung hat bisher nur MAZIARSKI (1905) näher untersucht. Es handelt sich bei der Ampulle um ein kurzes Stück des Nephridiums, dessen Zellen nach dem Lumen zu mit einem dichten Belag versehen sind. Diesen hat MAZIARSKI einer näheren Prüfung unterzogen und für Bakterien erklärt. Er gibt in seiner Arbeit „Recherches cytologiques sur les organes ségmentaires des verres de terre“ eine photographische Abbildung von ihnen und behauptet, zweifelsfreie Teilungsstadien von den Bakterien gefunden zu haben. Auch hat er versucht, Reinkulturen zu gewinnen. Die Identität der kultivierten

Bakterien mit denen in der Ampulle konnte er allerdings nur durch morphologische Vergleiche wahrscheinlich machen.

MEISENHEIMER (1910) spricht in seiner Arbeit „Die Exkretionsorgane der wirbellosen Tiere“ über den Stäbchenbelag der Ampulle von „bakterienartigen Körperchen oder gar echten Bakterien nach der Annahme von MAZIARSKI“. Die Existenz wirklicher Bakterien war also noch zweifelhaft. Hatte doch K. C. SCHNEIDER, der in seinem „Lehrbuch der vergleichenden Histologie“ eine vorzügliche Abbildung der Ampulle gibt (siehe dort Abb. 392), die Natur des Ampullenbelags nicht erkannt. Er sagt: „Immer reich an Körnern ist die ampullenartige Erweiterung des Drüsenkanals, wo auch das Lumen manchmal ganz von Körnern ausgefüllt erscheint“. Da er nicht auf den Gedanken kam, daß hier eine Besiedlung mit Bakterien vorliegen konnte, war es natürlich, daß er diese für Sekretkörner hielt.

Auch die moderne Symbioseforschung hat sich endlich bereits auf die Oligochäten ausgedehnt. Hier war es PIERANTONI, der im vorigen Jahre eine kurze Arbeit über den leuchtenden *Microscolex phosphoreus* veröffentlichte. Seine Untersuchungsergebnisse machen es wahrscheinlich, daß die Ursache des Leuchtens dieses Tieres auf die Anwesenheit zahlreicher, diesem Wurm eigentümlicher Bakterien zurückzuführen ist, um so mehr, als auch die leuchtenden Eier damit schon infiziert sind. Da er jedoch die Bakteroiden mit den Leuchtbakterien identifiziert, muß ich in einem besonderen Abschnitt noch auf seine Arbeit zurückkommen.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchungen war nun, 1. festzustellen, ob die in den Ampullen der Lumbriciden gesehenen Stäbchen echte Bakterien sind, 2. über ihre Lokalisation Genaueres zu erfahren, 3. ob und gegebenenfalls wie eine Übertragung auf die Nachkommenschaft erfolgt, wenn es sich um echte Bakterien handelt, 4. wie weit ähnliche Erscheinungen sich bei anderen Oligochäten vorfinden, 5. die Natur der Bakteroiden aufzuklären, 6. die Bakterien des leuchtenden *Microscolex phosphoreus* zum Vergleich heranzuziehen und ihr Verhältnis zu den Bakteroiden aufzuklären.

3. Material und Methode.

Zur Untersuchung wurde im allgemeinen *Lumbricus terrestris* L., MÜLL. benutzt. Diese Art eignet sich gut dazu, weil sie die größte unter den einheimischen Arten ist, sehr leicht zu bestimmen und stets in genügender Anzahl zu bekommen ist. Ebenso macht es keine Schwierigkeit, während der Monate April bis August Kokons in hinreichender Anzahl zu erhalten. Soweit sie gefunden werden konnten, wurden auch andere einheimische Lumbriciden zum Vergleich herangezogen, deren Bestimmung nach MICHAELSEN, Oligochaeta, 10. Lief. aus dem Tier-

reich, geschah. Die verschiedenen Lumbricidenarten wurden in mäßig feucht gehaltenen Blumentöpfen gezüchtet, aus denen man dann einwandfrei Kokons der einzelnen Arten erhalten konnte. Zur Untersuchung der Ampullen von anderen Oligochäten bekam ich in Alkohol fixiertes Material von Herrn Professor MICHAELSEN aus Hamburg, dem ich auch an dieser Stelle meinen wärmsten Dank dafür aussprechen möchte. Aus dem Folgenden wird hervorgehen, wie sehr durch dieses Material exotischer Formen unsere Kenntnis der fraglichen Erscheinungen gefördert worden ist.

Zur Fixierung des frischen Materials hat sich am besten die Mischung nach BOUIN (15 ccm gesättigte wässrige Pikrinsäure, 5 ccm Formol, 1 ccm Eisessig) bewährt, und zwar vor allem deswegen, weil diese Lösung keinerlei Schrumpfungen bewirkt und das Bindegewebe im Gegensatz zur FLEMMINGSchen Lösung z. B. ziemlich hell läßt. Die Schnitte wurden $7\frac{1}{2}\mu$ stark hergestellt und mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN gefärbt. Zur Nachfärbung des Plasmas wurde Lichtgrün benutzt. Sehr gute Dienste leisteten mir auch Ausstriche aus Ampulle und Kokon. Sie wurden mit wässriger Sublimatlösung fixiert und mit Karbolthionin gefärbt, worauf die Präparate an der Luft getrocknet und dann in Kanadabalsam gelegt wurden.

4. Die Bakterien in den Exkretionsorganen.

a) Die Bakterien in der Ampulle von *Lumbricus terrestris*.

Die Lumbriciden besitzen, wie nahezu alle Oligochäten, die Nephridien paarweise. Zum besseren Verständnis der Lokalisation der fraglichen Symbionten sei hier in Kürze an den komplizierten Bau der Segmentalorgane eines Lumbriciden erinnert (Abb. 1). Ein jedes Nephridium ragt mit dem Anfangsteil — Nephrostom und ein Stück des Anfangskanals — in das vorhergehende Segment. Nach dem Durchbruch des Dissepiments biegt der Anfangskanal bald um, und nun bildet das Nephridium, quer zur Längsachse des Regenwurms liegend, drei große Schleifen (siehe Abb. 1, I, II, III), die von Peritonealgewebe umhüllt werden. Die Kanäle entstehen dadurch, daß Zellen, die wie Ringe aneinanderliegen, jeweils durchbohrt sind. Der Anfangskanal geht in der ersten Schleife in den Schleifenkanal über. Dieser besteht aus langgestreckten Zellen und trägt nur an zwei kurzen Stellen Wimpern. Er tritt in Schleife I ein, durchläuft unter vielfacher Schlängelung beide Schenkel, geht dann in Schleife II über, wo er gestreckt fast bis zum Ende und wieder zurückläuft, und schlängelt sich nun noch einmal durch beide Schenkel der Schleife I. Nun erweitert sich das Lumen des Kanals und wird, weil seine Innenwand ganz mit Zilien ausgekleidet ist, als Wimperkanal bezeichnet. Er reicht nur von der Basis bis zur Spitze der Schleife II und hat eine dickere Zellwand als der Schleifenkanal.

An der Spitze der Schleife erweitert er sich bedeutend und geht in die Ampulle über. Damit sind wir im Anfangsteil des Drüsenkanals. Dieser geht wieder zur Basis der Schleife II zurück, durchläuft die Schleife I und geht erst in der Schleife III in die Harnblase über. Bevor es jedoch

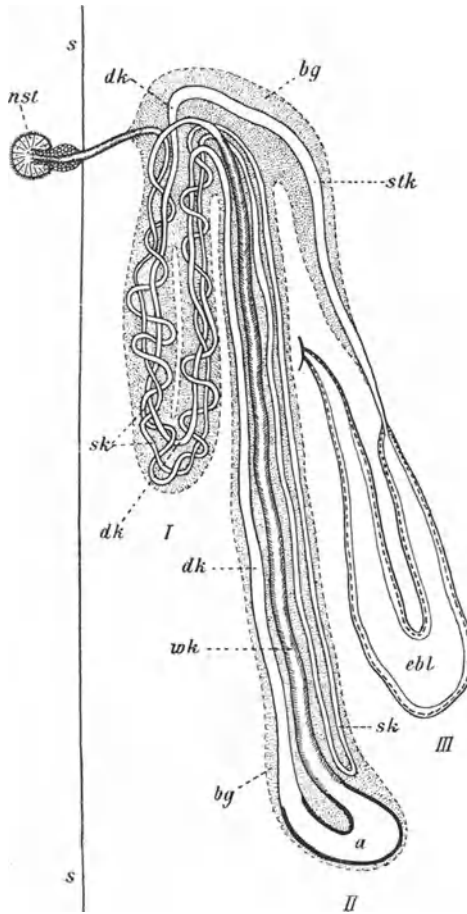


Abb. 1. Schematische Darstellung des Nephridiums eines Regenwurms (nach Maziariski 1905) I—III die drei Hauptschleifen, a Ampulle, dk Drüsenkanal, ebl Endblase, sk Schleifenkanal, wk Wimperkanal.

dazu kommt, ändert sich die Struktur des umgebenden Plasmas. Dieser Teil des Drüsenkanals wird von der Basis der Schleife I an bis zum Eintritt in die Harnblase auf Grund der in der Basis der Zellen eingelagerten körnigen Filamente als Stäbchenkanal bezeichnet. Die folgende Harn- oder Endblase hat je nach dem Kontraktionszustand eine verschieden dicke Zellwand, die von sich kreuzenden Muskelfasern

umhüllt ist. Es folgt der Ausführgang, der oft noch eine beträchtliche Strecke in der Ringmuskulatur verläuft, ehe er an äußerst wechselnden Stellen durch die Epidermis bricht.

Wir kehren nunmehr wieder zur Spitze der Schleife II zurück, dorthin, wo der Wimperkanal in den Drüsenkanal übergeht. Schon bei Lupenbetrachtung erkennt man die starke Anschwellung dieser Ampulle. Sie ist am stärksten am Ende des Wimperkanals und geht allmählich zur gewöhnlichen Stärke des Drüsenkanals über. Abgetrennt von Wimper- und Drüsenkanal bietet sie ein keulenartiges Aussehen. Dieser Eindruck wird noch verstärkt, wenn zu gewissen Zeiten, auf die ich noch weiter unten zu sprechen komme, die Ampulle besonders geschwollen ist. Dann erscheint das Sark stark aufgelockert und hebt sich durch eine hellere Farbe von den übrigen Zellen des Kanalsystems ab. Schnitte durch die Ampulle zeigen, daß die Struktur durchaus verschieden von den Zellen des Wimper- und Drüsenkanals ist. Die Körnchen, die in den letzteren sehr zahlreich auftreten, sind in den Zellen der Ampulle verschwunden. Die Fasern des Netzwerks im Plasma färben sich weniger stark. Zahlreiche Vakuolen sind vorhanden, die nach der Basis der Zellen zu größer sind als nach dem Außenrand zu. Die Zilienbedeckung des Wimperkanals ist vollkommen verschwunden. Nur selten sieht man kleine, helle Sekrettröpfchen in den Zellen (Abb. 3 und 4).

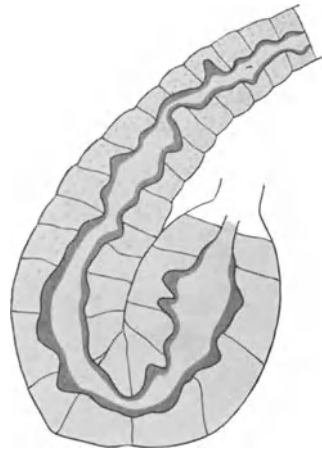


Abb. 2. Schematischer Längsschnitt durch eine Ampulle.

Der Innenrand ist mit einem breiten Saum von Gebilden belegt, die sich auf den ersten Blick als Bakterien bekunden. Sie sind stäbchenförmig, etwa $3-5\ \mu$ lang und $0,5-0,7\ \mu$ dick. Die einzelnen Stäbchen liegen dicht neben- und übereinander, meist senkrecht auf den Zellrand gerichtet. Oft sieht man sie reihenweise nebeneinander liegen. Dann kann man deutlich erkennen, daß die Pole sich stärker färben als die Mitte, weshalb man häufig den Eindruck hat, daß sie aus zwei Körnchen zusammengesetzt sind, die durch einen hellen Teil vereinigt sind. Bei einem bestimmten Stadium der Differenzierung (mit Eisenalaun nach Färbung mit Eisenhämatoxylin) wird dieser Eindruck so stark, daß man tatsächlich nur Körnchen zu sehen glaubt. So kann ich es mir auch erklären, daß K. C. SCHNEIDER, der im übrigen ein vorzügliches Bild von einem Querschnitt durch die Ampulle gibt, nur „Sekretkörnchen“ zeichnet und beschreibt.

Wo die Bakterien weniger zahlreich sind, kann man erkennen, daß sie in eine Substanz eingebettet sind, die gallertig oder sehr feinkörnig erscheint, und die offenbar die kleinen Stäbchen verklebt. Auf das Vorhandensein einer solchen muß man schließen, da man für gewöhnlich, trotz des hier ja doch ständig vorhandenen Durchstroms, in den folgenden Teilen des Nephridiums keine Bakterien findet. Die Abgrenzung der Bakterien-schicht nach dem Rande der Zellen zu ist durchaus scharf. Nirgendwo kann man ein Eindringen der Bakterien in das Plasma beobachten. Wenn man häufig auf Schnitten Bakterieninseln im Plasma sieht, so zeigen doch allemal die vorhergehenden oder nachfolgenden Schnitte der Serie, daß wir hier den Anschnitt einer Ausbuchtung des Lumens vor uns haben. Wie ja überhaupt der Innenrand

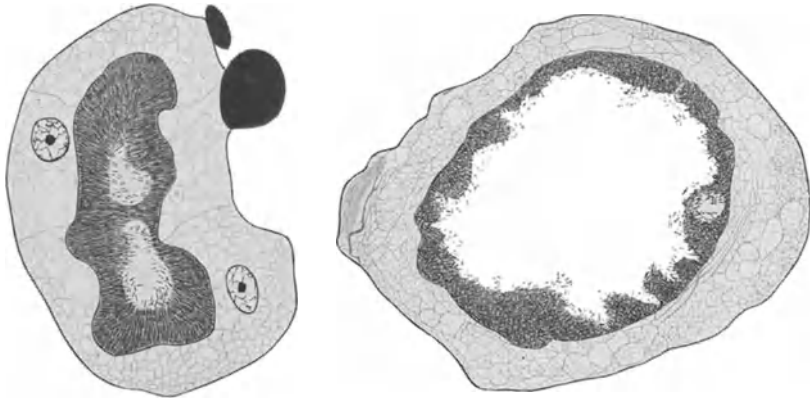


Abb. 3. Anschnitt einer Ampulle von *Lumbricus terrestris*. Ok. 4. $\frac{1}{12}$ Imm.

Abb. 4. Querschnitt durch eine Ampulle von *Octolasion cyaneum*, Wales. Ok. 2. $\frac{1}{12}$ Imm.

der Ampulle sehr viele Vorsprünge und Einbuchtungen zeigt, denen der Bakterien-saum folgt. Die schematisierte Abbildung eines Längsschnittes durch eine Ampulle (Abb. 2) gibt davon einen allerdings nur schwachen Eindruck. Sie zeigt aber andererseits, welches Stück vom Drüsenkanal noch zur Ampulle zu rechnen ist, also wie weit er noch dauernden Bakterienbelag besitzt.

Bei der Anwendung von Schnitten wird bei einer so dichten Lagerung von Bakterien deren Natur nie so evident sein wie im Ausstrich. Wie zu erwarten, erschienen auch hier im Ampullenausstrich die Bakterien mit aller wünschenswerten Klarheit, nachdem spezielle Färbemethoden angewandt wurden. Allerdings hat sich dabei gezeigt, daß solche Ausstriche nicht jederzeit gleich gut herzustellen sind. Unter Umständen sind, wenn man eine Ampulle abtrennt und auf dem Objektträger zerzupft, die Bakterien untereinander und mit der Zelloberfläche so fest verkittet, daß nach Färbung mit Karbolthionin doch nur dichte Bakterienhaufen, meist noch von Zellen bedeckt, zu sehen waren. Sobald

ich aber nach vielen vergeblichen Versuchen eine besonders geschwollene Ampulle zum Ausstrich benutzte, quoll plötzlich ein verhältnismäßig beträchtlicher Flüssigkeitstropfen heraus und konnte sehr leicht verschmiert werden. Fixiert und gefärbt zeigte ein solches Präparat nun, daß die feste Verklebung der Bakterien untereinander und mit dem Zellsaum in solchen Ampullen aufgehört haben mußte, daß also mit verstärkter Anschwellung der Ampulle und dem Ansammeln einer immerhin beträchtlichen Flüssigkeitsmenge ein Freiwerden der Bakterien untereinander und von dem Substrat stattgefunden hatte. Die weiteren Beobachtungen ergaben, daß dieser Zustand immer dann auftritt, wenn der Regenwurm sich in einer Periode befand, in der er seine Eier in Kokons ablegte. Für *Lumbricus terrestris* L., MÜLL. kann man also in den Monaten April—August mit ziemlicher Sicherheit auf solche Stadien rechnen, während für *Eisenia foetida* Sav., der in Komposthaufen auch während des Winters Kokons legt, das ganze Jahr hindurch diese Möglichkeit besteht. Die Beobachtung dieser Ausstriche — in frischem Zustande und im Präparat — machte die Bakteriennatur der Stäbchen zur völligen Gewißheit.

b) Übertragung.

Dies regelmäßige Vorkommen und die gesetzmäßige Lokalisation der *Lumbricus*-Bakterien mußte von vornherein damit rechnen lassen, daß besondere, ebenfalls stets in den gleichen Bahnen ablaufende Übertragungseinrichtungen das Zusammenleben der beiden Partner — Wurm und Bakterium — garantierten. Hat sich doch auch immer wieder bei den neueren Symbiosestudien zeigen lassen, zu welcher vorzüglich funktionierenden Einrichtungen die Natur hierbei greift.

Um hier in unserem speziellen Fall diese Frage zu prüfen, mußten zunächst Eier und Embryonen untersucht werden; denn die Eiinfektion stellt ja den bei weitem am häufigsten benutzten Weg hierbei dar. Es zeigte sich aber bald, daß Eier und jüngere Embryonen stets frei von Bakterien waren. Dagegen hatten die Tiere, die kurz vor dem Ausschlüpfen aus dem Kokon standen, stets die Ampullen mit Bakterien gefüllt. Diese wichtige Feststellung wies mit aller Deutlichkeit auf eine Infektion im Kokon hin, die im letzten Stadium der Entwicklung vor sich gehen muß. Voraussetzung hierzu aber mußte eine vorangegangene Infektion der Eiweißflüssigkeit sein. Damit wurden plötzlich die oben schon mitgeteilten Erfahrungen über eine besondere Schwellung der Ampullen zur Zeit der Kokonbildung und die Verflüssigung der sonst eine Ortsveränderung der Bakterien verhindernden Kittsubstanz von Bedeutung. Untersucht man Drüsenkanal und besonders Harnblase zu dieser Zeit genauer, so stellt sich heraus, daß auch sie, die für gewöhnlich frei von Bakterien sind, jetzt stark damit angefüllt sind. Der

Schnitt durch die Harnblase (Abb. 5) zeigt, daß sie zu dieser Zeit nicht in verklebten Häufchen, sondern einzeln in die Harnblase gelangt sind. Da die Schnitte durch die Ampulle keine merkliche Abnahme der Bakterienmenge erkennen lassen, muß wohl eine stärkere Vermehrung zu dieser Zeit eingesetzt haben. Davon zeugen auch die häufiger sichtbaren Teilungsstadien. Nichts liegt näher, als in diesen Vorgängen die Einleitung einer Infektion der Kokonflüssigkeit zu sehen. Macht man Ausstriche von ihr und untersucht sie entweder frisch oder mit Sublimat fixiert und Karbolthionin gefärbt, so zeigt sich, wie zu erwarten, daß

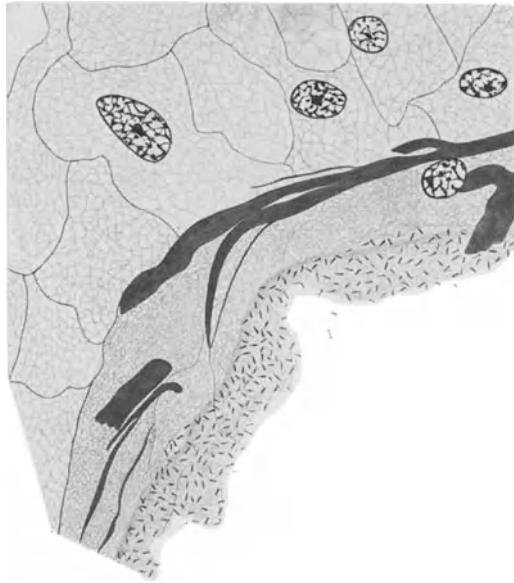


Abb. 5. Ausschnitt aus einer Harnblase von *Lumbricus terrestris*. $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 4.

stets Bakterien in ihr vorhanden sind, jedoch mit Unterschieden hinsichtlich der Mengen. Frisch gelegte Kokons enthalten die Bakterien in nicht zu zahlreichen, kleinen Häufchen. Große Flächen der ausgeschmierten Eiweißflüssigkeit sind vollkommen frei von ihnen (Abb. 6). Je älter aber der Kokon ist, um so zahlreicher finden sich die Bakterien, bis endlich ein Stadium erreicht wird, wo die ganze Eiweißflüssigkeit gleichmäßig davon erfüllt ist (Abb. 7). Die Bakterien liegen dann dicht an dicht in der Eiweißflüssigkeit, die, anfangs meist zäh und trübe, nun schon ziemlich dünnflüssig und klar ist. Es hat demnach eine starke Vermehrung der Bakterien stattgefunden.

Nachdem wir also eine gewaltige Überschwemmung der Kokonflüssigkeit mit den Symbionten haben eintreten sehen, bleiben zwei

Wege, auf denen sie in die Ampullen der anfangs sterilen Embryonen gelangen können. Da der Embryo sich von der Eiweißflüssigkeit nährt, ist es ohne weiteres möglich, daß die Bakterien mit dem Nährbrei in den Darm gelangen. Von hier könnten sie durch die Darmwand treten, in die Leibeshöhle gelangen und entweder nach abermaliger Passage von Zellwänden oder durch den Trichter in das Lumen der Nephridien gelangen. Tatsächlich scheidet bei näheren Studien aber dieser Weg aus. Wohl finden sich die Bakterien alsbald auch im Darmlumen, aber sie unterliegen hier offenbar der Verdauung. Jedenfalls habe ich nie beobachten können, daß sie etwa aus dem Darmlumen in die Gewebe oder in das Zöлом eindringen, wohl aber kann man dort häufig Übergänge von unversehrten Stäbchen bis zu unregelmäßigen Haufen kleiner Körner, die man vielleicht als in Zerfall befindliche Bakterien deuten

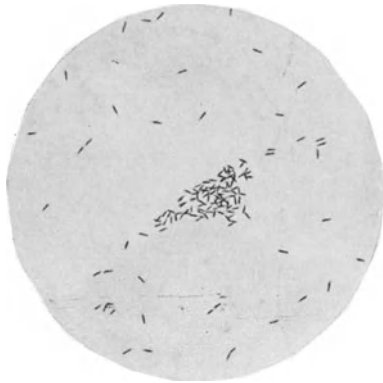


Abb. 6. Ausstrich aus einem frisch gelegten Kokon von *Lumbricus terrestris*. $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 12.

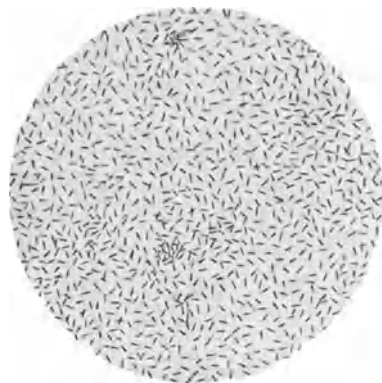


Abb. 7. Ausstrich aus einem älteren Kokon von *Lumbricus terrestris*. $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 12.

darf, erkennen. Das sich entwickelnde Nephridium und die umhüllenden Gewebe aber bleiben jedenfalls bakterienfrei. So kommt es, daß der Embryo schließlich bereits gut ausgebildete Ampullen besitzt, diese aber, obwohl er in einer mit Bakterien dicht gefüllten Flüssigkeit schwimmt, noch vollkommen frei davon sind. Der andere Weg, der sich der Infektion a priori bietet, ist der durch die segmental sich öffnenden Exkretionsporen. Unsere Beobachtungen haben ergeben, daß er es tatsächlich ist, der eingeschlagen wird.

Der Exkretionsporus bricht bekanntlich erst durch, wenn das Nephridium vollkommen ausgebildet ist. Dieser Durchbruch ist an keine bestimmte Stelle gebunden und hängt davon ab, wie der Ausführgang der Harnblase sich zwischen der Ringmuskulatur anlegt. Da dieser Ausführgang also nicht fest bestimmt ist, hält es schwer, ihn immer mit Sicherheit auf den Schnitten zu finden, um so mehr, da er nur eine dünne Wand besitzt und verhältnismäßig eng ist. Damit hängt auch zusammen,

daß es nicht leicht ist, auf den Schnitten das erste Stadium des Eintretens zu Gesicht zu bekommen. Immerhin gelang es bei sorgfältiger Durchsicht, sie im engen Lumen des Ausführanges mit Sicherheit festzustellen. Sehr leicht dagegen ist es, sie dann in der viel größeren Harnblase zu finden (Abb. 8 und 9), zumal man von ihr auch fast immer gute Längsschnitte bekommt. Hier liegen sie gewöhnlich zu dieser Zeit

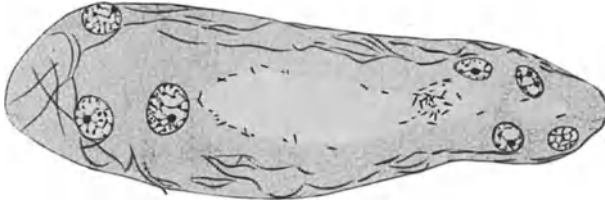


Abb. 8. Anschnitt einer Harnblase eines Embryo von *Lumbricus terrestris*. $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 4. Die Bakterien sind auf dem Wege in die Ampulle.

in größerer Anzahl und dringen nun allmählich in die Ampulle ein (Abb. 10—12). Für das genaue Studium dieser interessanten Phase im symbiontischen Zyklus ist es besonders günstig, daß die Entwicklung



Abb. 9. Querschnitt durch ebensolche Harnblase.

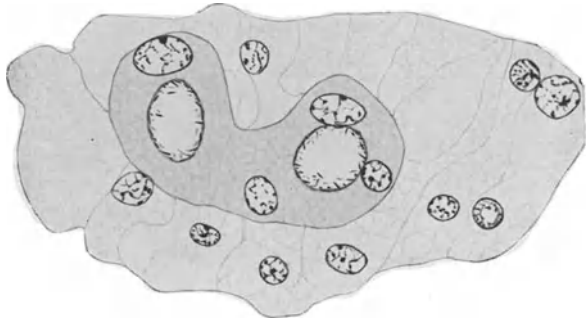


Abb. 10. Anschnitt der beiden Ampullenschenkel eines Embryos. $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 12. Die Ampulle ist noch schwach mit Bakterien besiedelt.

der Nephridien in jedem Wurm ja kranialwärts immer weiter fortschreitet, so daß eine Schnittserie durch einen solchen Embryo zugleich eine Reihe fortschreitender Infektionsstadien liefert. Vergleicht man sie untereinander, dann ergibt sich auch deutlich daraus die Richtung der Einwanderung vom Exkretionsporus in die Harnblase und von hier in die Ampulle, also entgegengesetzt dem künftigen Exkretionsstrom. Als besonders günstig erwies sich uns hierzu *Lumbricus rubellus* HOFFMEISTER. In dem vorderen Körperabschnitt sind dann die Ampullen

bereits mit Bakterien gefüllt. Hierauf folgt eine Zone, in der die immer leicht aufzufindende Harnblase Bakterienhäufchen enthält, während die Ampullen von Bakterien teils frei, teils wenig infiziert sind. Und in dem hinteren Körperabschnitt sind weder in der Ampulle noch in

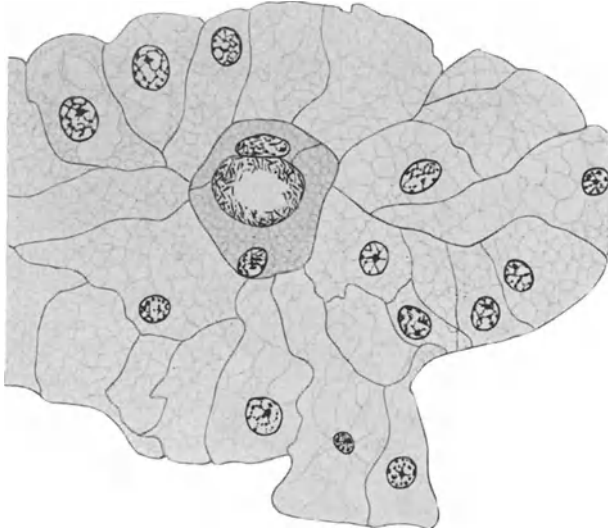


Abb. 11. Querschnitt durch einen Schenkel der Ampulle aus demselben Embryo von der vorderen Körperregion. Die Bakterienbesiedlung ist dichter geworden. $\frac{1}{2}$ Imm. Ok. 12.

der Harnblase Bakterien zu finden. Wenn aber der Wurm den Kokon verläßt, sind sämtliche Ampullen infiziert.

Damit wäre der Übertragungszyklus im wesentlichen geschlossen. Es bleibt aber noch die Frage zu klären, wie die Bakterien aus dem Muttertier in den Kokon gelangen. Diese Frage wäre zu lösen, wenn es gelänge, die Kokonbildung des Regenwurms zu studieren. Das ist aber bis jetzt nicht möglich gewesen. Selbst ein so gründlicher und langjähriger Beobachter der Embryonalentwicklung der Oligochäten, wie VEJDOVSKY (1888—1892) muß, gestehen, daß es „absolut unmöglich ist, einen Regenwurm bei der Kokonbildung zu überraschen“. Er meint aber, daß diese ähnlich erfolgen muß wie bei *Rhynchelmis*. Demnach würde also am Vorderkörper zunächst ringförmig um den ganzen Körper eine Ausscheidung von Hautsekreten erfolgen, die später zur Konmembran erstarrt. Darunter wird nun von den Eiweißdrüsen der Epi-

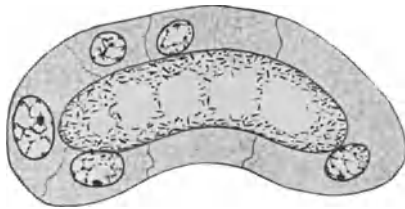


Abb. 12. Eine entsprechende Ampulle längs getroffen. $\frac{1}{2}$ Imm. Ok. 12.

der Harnblase Bakterien zu finden. Wenn aber der Wurm den Kokon verläßt, sind sämtliche Ampullen infiziert. Damit wäre der Übertragungszyklus im wesentlichen geschlossen. Es bleibt aber noch die Frage zu klären, wie die Bakterien aus dem Muttertier in den Kokon gelangen. Diese Frage wäre zu lösen, wenn es gelänge, die Kokonbildung des Regenwurms zu studieren. Das ist aber bis jetzt nicht möglich gewesen. Selbst ein so gründlicher und langjähriger Beobachter der Embryonalentwicklung der Oligochäten, wie VEJDOVSKY (1888—1892) muß, gestehen, daß es „absolut unmöglich ist, einen Regenwurm bei der Kokonbildung zu überraschen“. Er meint aber, daß diese ähnlich erfolgen muß wie bei *Rhynchelmis*. Demnach würde also am Vorderkörper zunächst ringförmig um den ganzen Körper eine Ausscheidung von Hautsekreten erfolgen, die später zur Konmembran erstarrt. Darunter wird nun von den Eiweißdrüsen der Epi-

dermis die Eiweißflüssigkeit abgesondert, in die die Eier und Spermatozoen abgegeben werden. Durch diesen Wulst, der äußerst eng um den Wurm herumliegt, zieht er nun den Vorderkörper unter starken Kontraktionen zurück. Es ist augenscheinlich, daß hierbei eine Entleerung der Harnblase und wenigstens ein teilweises Auspressen der zu dieser Zeit stark geschwollenen Ampullen erfolgen muß. Verläuft aber der Prozeß der Kokonbildung so — und es gibt keine Gründe, die dagegen sprechen —, dann muß notwendig eine Infizierung des Kokons erfolgen. Es wird dann auch verständlich, daß nur in den Perioden der Kokonbildung die Ampulle stark mit Flüssigkeit gefüllt ist, und daß nur dann Bakterienansammlungen in der Harnblase zu finden sind. Daß die Bakterien in den Kokons mit denen der Ampulle identisch sind und von ihnen stammen, wird noch durch folgende Tatsachen äußerst wahrscheinlich gemacht: 1. Der mikroskopische Vergleich läßt erkennen, daß keinerlei morphologische Unterschiede zwischen den Ampullen- und Kokonbakterien bestehen. 2. Man findet in den Kokons nur Bakterien von einer Art. 3. Wollte man annehmen, daß auch Bakterien von außen hereinkommen, so müßten doch manchmal verschiedenartige Bakterien in der Eiweißflüssigkeit festzustellen sein. 4. Es spricht auch für ihre Identität, daß die Bakterien in dem Kokon in keiner die Embryonen schädigenden Weise wirken, daß es sich also um Formen zu handeln scheint, die an den Entwicklungszyklus des Wurmes offenbar angepaßt sind.

c) Vergleichende Untersuchungen an anderen Lumbriciden.

Ogleich diese Untersuchungen, wie ich schon einleitend ausführte, in der Hauptsache an *Lumbricus terrestris* L., MÜLLER angestellt wurden, sind die Ergebnisse stets an anderen Lumbriciden, soweit das Material zu beschaffen war, nachgeprüft worden. Ja, durch die Freundlichkeit von Herrn Prof. MICHAELSEN war es möglich, die Ampullen einer Reihe nichtdeutscher Lumbriciden vergleichsweise zu untersuchen. Es ergaben sich überall analoge Verhältnisse. Auch waren die Unterschiede der Bakterien in bezug auf Form und Größe zwischen den einzelnen Arten nur geringfügig.

Folgende Zusammenstellung soll zeigen, welche Arten untersucht wurden, und wie weit die Untersuchungen durchgeführt werden konnten. In derselben Weise wie bei *Lumbricus terrestris* wurde die Übertragung nachgeprüft bei

- Eiseniella tetraedra* (typica) SAV.,
Allolobophora caliginosa trap. ANT. DUG.,
 „ *chlorotica* SAV.,
Dendrobaena rubida var. *subrubicunda* EISEN,

Octolasion lacteum ÖRLEY,
Lumbricus rubellus HOFFMEISTER,
 „ *castaneus* SAV.,
Eisenia veneta hortensis MICH.

Bei den nachfolgenden Arten konnte die embryonale Infektion wegen Materialmangel nicht nachgeprüft werden, wohl aber wurde die Anwesenheit von Bakterien im Kokon und in der Ampulle festgestellt.

Eisenia foetida SAV.,
Allolobophora caliginosa SAV.,
Dendrobaena octaedra SAV.,
Bimastus eiseni LEVIUS.

Die folgenden Lumbriciden konnten nur auf ihre Ampullen hin untersucht werden, weil die Kokons nicht einwandfrei zu erhalten waren.

Allolobophora longa UDE,
 „ *limicola* MICH.,
Helodrilus oculatus HOFFMEISTER,
Bimastus constrictus ROSA,
Octolasion cyaneum SAV.,
Eisenia rosea SAV.

Von außerdeutschen Lumbriciden konnten natürlich nur die Ampullen untersucht werden. Es waren:

<i>Octolasion cyaneum</i> SAV.,	Wales,
„ <i>complanatum</i> ANT. DUG.,	Spanien,
<i>Allolobophora smaragdina</i> ROSA,	Krain,
„ <i>georgii</i> MICH.,	Spanien,
„ <i>jassyensis</i> MICH.,	Rumänien,
„ <i>japonica</i> MICH.,	Japan,
<i>Dendrobaena mariupoliensis</i> WYSSOTZKY,	Südrußland,
<i>Eisenia tigrina</i> ROSA,	Ungarn,
„ <i>veneta hortensis</i> MICH.,	Chile,
<i>Bimastus parvus</i> EISEN,	Kapland,
„ <i>palustris</i> H. F. MOORE,	Nordamerika.

Es ist also von sämtlichen Unterfamilien der Lumbriciden eine Reihe von Vertretern des In- und Auslandes untersucht worden, ohne daß auch nur einmal abweichende Ergebnisse gefunden wurden. Demnach ist kaum zu erwarten, daß unter den übrigen Arten sich noch welche befinden, die von den untersuchten prinzipiell abweichen.

Zusammenfassend ergibt sich also folgendes Bild: Alle Lumbriciden leben in gesetzmäßiger Weise mit Bakterien zusammen, und zwar ist diese Gemeinschaft auf einen kurzen Abschnitt des Nephridiums, die Ampulle, begrenzt. Die Bakterien sitzen hier im Lumen, nicht in den

Zellen. Die Übertragung erfolgt durch Infektion der Eiweißflüssigkeit der Kokons, in der die Bakterien sich stark vermehren, und von wo sie, entsprechend der fortschreitenden Entwicklung der Nephridien, durch die jeweils durchbrechenden Exkretionsporen wieder in die Ampullen des heranwachsenden Wurmes einwandern. Dies geschieht noch innerhalb des Kokons. Unterschiede in bezug auf die Bakterien und in der Übertragungsweise konnten innerhalb der Lumbricidenfamilie nicht festgestellt werden. Die Verhältnisse sind in hohem Maße einheitlich bei allen Unterfamilien durchgeführt.

d) Untersuchungen an anderen Oligochäten.

Es ergab sich nunmehr die Frage, ob die Familie der Lumbriciden in der Besiedlung der Ampulle mit Bakterien eine Ausnahme unter den Oligochäten bildet, oder ob nicht noch bei anderen Familien, wenn auch nicht dieselben, so doch ähnliche Erscheinungen zu finden sind. Von vornherein war zu erwarten, daß eine gründliche Untersuchung in dieser Hinsicht nicht unfruchtbar sein würde. Die zunächst nach dieser Richtung angestellten Beobachtungen ergaben negative Resultate. Es handelt sich dabei um folgende, durch MICHAELSEN bestimmte Oligochäten:

Familie Megascolecidae.

1. Unterfamilie Acanthodrilinae.

Yagansia spatulifera MICH., terrestrisch, Chile. *Microscolex dubius* FLETCH, terrestrisch, Australien.

2. Unterfamilie Megascolecinae.

Plutellus marmoratus EISEN, terrestrisch, Kalifornien.

3. Unterfamilie Eudrilinae.

Eudrilus eugeniae KINB., terrestrisch, Ceylon.

Familie Glossoscolecidae.

1. Unterfamilie Criodrilinae.

Criodrilus lacuum HOFFM., limnisch, Südrußland.

Alma nilotica GRUBE, limnisch, Ägypten.

Sparganophilus eiseni FR. SN., limnisch, Illinois.

2. Unterfamilie Hormogastrinae.

Hormogaster redii ROSA, terrestrisch, Sardinien.

3. Unterfamilie Microchaetinae.

Microchaetus microchaetus RAPP., terrestrisch, Kapland.

„ *griseus* MICH., terrestrisch, Südafrika.

Glyphidrilus annandalei MICH., limnisch, Südindien.

Callidrilus scrobifer MICH., limnisch, D.-Ostafrika.

Außer diesen vorgenannten wurden noch zwei Vertreter der zu den Glossoscoleciden gehörenden Unterfamilie Glossoscolecinae aus dem tro-

pischen Südamerika untersucht, die im Gegensatz zu den anderen gut ausgebildete Ampullen mit Bakterienbesiedlung erkennen ließen. Hierdurch wurde ich veranlaßt, diese Unterfamilie einer näheren Betrachtung zu unterziehen. Wieder war es Herr Professor MICHAELSEN in Hamburg, der mir dazu bereitwilligst das Material zur Verfügung stellte. Es zeigte sich nun, daß die Verhältnisse bei den Glossoscolecinen in interessanter Weise von denen der Lumbriciden abweichen. Zeigte hier die Bakterienbesiedlung keine bemerkenswerten Unterschiede innerhalb der Familie, so ist bei den Glossoscolecinen in dieser Hinsicht kaum eine Gattung der anderen völlig gleich. Nur in einem Punkt herrscht hier fast durchgehend Übereinstimmung. *Die Bakterien sitzen hier immer — abgesehen vielleicht von der Gattung Diachaeta — im Lumen und in den Zellen der Ampulle.* Bei der nun folgenden Besprechung beginne ich mit den Gattungen, die im Sinne meiner Untersuchungen den Lumbriciden am nächsten stehen. Vorausschicken möchte ich jedoch noch zwei Bemerkungen allgemeiner Art. Bei den Lumbriciden ergab sich die Abgrenzung der Ampulle von dem Drüsenkanal, von dem sie ja selbst ein Teil ist, durch die Besiedlung mit Bakterien. Da diese Abgrenzung bei den Glossoscolecinen auch immer möglich ist — mit Ausnahme der Gattung *Glossoscolex* —, so werde ich auch bei den folgenden Ausführungen den Begriff Ampulle im Sinne der Lumbricidenampulle anwenden. Das Material war, wie üblich, in Alkohol fixiert. Das ergab nicht immer einen guten Erhaltungszustand der Gewebe, so daß ich mich bei einigen Gattungen auf allgemeine Feststellungen beschränken mußte. Von diesen konnte ich deshalb auch keine Abbildungen liefern.

Gattung *Diachaeta*, terrestrisch, Antillen.

Diachaeta thomasi BENHAM besitzt eine Ampulle, die in Gestalt und Größe der Lumbricidenampulle ähnlich ist, nur daß die dort erkennbare Keulenform hier mehr zu einer kugeligen wird. Die Grenzen der einzelnen Zellen heben sich schon bei schwacher Vergrößerung als deutliche Einschnürungen am Außenrande ab. Das Sark erscheint fast strukturlos. Man erkennt nur eine Reihe verschieden großer Sekrettropfen, die von ziemlich gleichmäßiger, hellgelb erscheinender Beschaffenheit sind. Der Kanal ist fast ganz mit Bakterien angefüllt, die auffallend kurz und dick erscheinen. Sie färben sich stärker an den Polen, zwischen denen nur eine kurze hellere Zone liegt. Die Grenze zwischen dem Bakterienhaufen und den Zellen ist deutlich. Ob das Plasma der Zellen auch besiedelt ist, konnte wegen schlechter Fixierung nicht genau entschieden werden. Da jedoch die anderen Glossoscolecinen eindeutig Bakterien in den Zellen haben, ist es hier wohl auch anzunehmen. Der anschließende Drüsenkanal und die Harnblase sowie das übrige Nephridium

sind vollkommen bakterienfrei. Es sind also im allgemeinen nur geringfügige Unterschiede gegenüber den Lumbriciden vorhanden.

Gattung *Enantiodrillus*, terrestrisch, Brasilien.

Enantiodrillus borellii COGN. Im allgemeinen gilt das von *Diachaeta* Gesagte auch für diese Gattung. Auch hier ist die Ampulle verhältnismäßig klein, der größte Querschnitt kaum größer als das angeschnittene Bauchmark. Ihr äußerer Umriß unterscheidet sie fast nicht von einer Lumbricidenampulle. Hier sind die Sekretropfen noch häufiger als bei *Diachaeta*, so daß die Zellen dicht damit angefüllt erscheinen. In den Sekretanhäufungen sieht man vereinzelt Bakterienansammlungen. Die Bakterien sind ebenfalls kurz, jedoch bedeutend dünner als bei *Diachaeta*. Das übrige Nephridium ist frei von Bakterien.

Die nun folgenden Gattungen zeigen, daß die Anhäufung von Sekreten in dem Ampullengewebe die Ampulle in erstaunlicher Weise anschwellen läßt, während gleichzeitig die Bakterien auch in größeren Mengen die Zellen besiedeln.

Gattung *Andiorrhinus*, terrestrisch, Brasilien.

Andiorrhinus rubescens MICH. und *Andiorrhinus pictus* MICH. An geeigneten Querschnitten durch einen *Andiorrhinus* fallen sofort zu

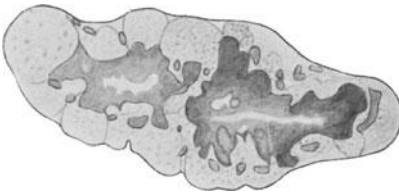


Abb. 13. *Andiorrhinus rubescens*. Querschnitt durch eine Ampulle. Obj. 3. Ok. 8.

beiden Seiten des Bauchmarks zwei Gebilde auf, die in ihrer Ausdehnung das angeschnittene Bauchmark um das Doppelte übertreffen. Wir haben hier die Ampullen vor uns, wie an dem Lumen und dem breiten Bakterienbelag der Zellen leicht zu erkennen ist. Schon bei schwacher

Vergrößerung sieht man in den Zellen zahlreiche Sekretropfen, die nach dem Teil der Ampulle hin, der in den Drüsenkanal übergeht, dunkler werden (Abb. 13).

Abb. 14 zeigt eine Zelle vom helleren Teil der Ampulle. Sie ist ganz mit Sekretropfen von wechselnder Größe erfüllt. Ihr Rand nach dem Lumen hin hat, wie bei den Lumbriciden, einen Bakterienhaufen. Die Sekretropfen erscheinen schwach gelblich und von ziemlich gleichmäßiger Struktur. Sie nehmen in Eisenhämatoxylin nur schlecht eine Färbung an und geben sie in Eisenaun sehr schnell wieder ab. Nur in wenigen Tropfen sieht man Bakterien und zwar in wechselnder Zahl von einigen wenigen bis zu größeren Haufen. Selten liegen Bakterien zwischen den Tröpfchen. Die Zelle hat mehrere Kerne, die verhältnis-

mäßig klein sind. Sie erscheinen teils kugelig, teils hantelförmig, häufig in mehrere spitze Fortsätze auslaufend.

In dem Ausschnitt der Ampulle, den Abb. 15 wiedergibt, sind die Sekrettröpfchen weniger zahlreich und auch noch mit verhältnismäßig wenigen Bakterien besiedelt. Auch der Rand nach dem Lumen zu zeigt

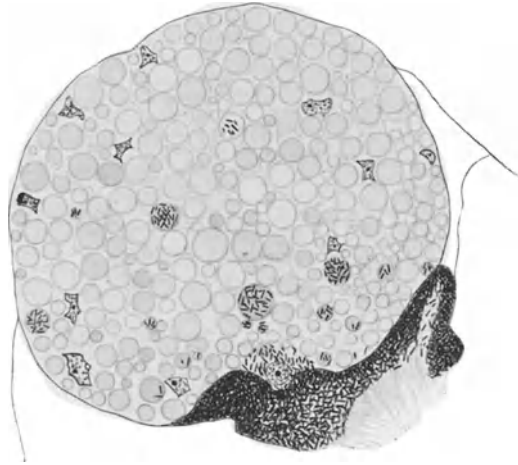


Abb. 14. *Andiorrhinus rubescens*. Eine Zelle der Ampulle mit wenigen Bakterien. $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 2.

weniger Bakterien, um so besser sieht man den dichten Zilienbesatz, der hier bei *Andiorrhinus* zum ersten Male auftritt und bei den folgenden Gattungen stets im größten Teil der Ampulle vorhanden ist. Die

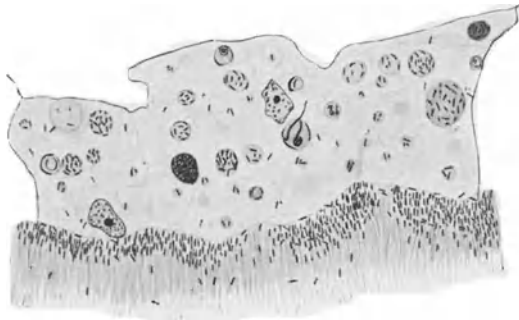


Abb. 15. *Andiorrhinus rubescens*. Eine Zelle der Ampulle mit Zilienbesatz. $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 4.

Vergrößerung der Ampulle erfolgt also fast ausschließlich auf Kosten des Wimperkanals.

Einen anderen Anblick bieten die Zellen der Ampulle, die in der Nähe des Drüsenkanals sitzen (Abb. 16). Wieder sieht man am Rande der Zelle einen Belag von stäbchenförmigen Bakterien und die Zelle mit zahlreichen Sekretropfen erfüllt. Dagegen findet man hier kaum

einen Tropfen, der ohne Bakterien ist, ja, in manchen liegen sie in so dichten Mengen, daß nichts weiter als eine Bakterienkugel erkennbar ist. Im allgemeinen sind die kleinen Sekretröpfchen am dichtesten besiedelt, während in den großen die Bakterien in verhältnismäßig geringer

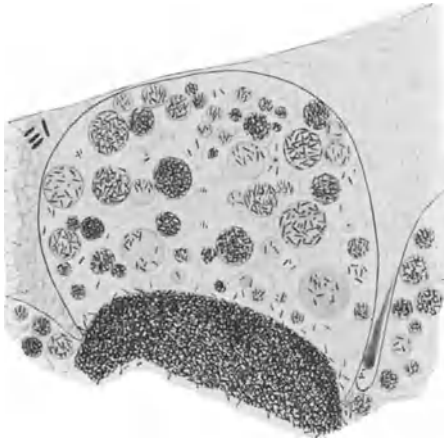


Abb. 16. *Andiorrhinus rubescens*. Eine Zelle derselben Ampulle mit vielen Bakterien. $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 8.

Anzahl auftreten. Auch zwischen den Tropfen sieht man sie fast überall liegen. Man hat durchaus den Eindruck, als wenn die Sekretröpfchen durch die Tätigkeit der Bakterien zusammenschrumpfen würden.

Im Drüsenkanal hört der Bakterienbelag im Lumen auf, dagegen sind in den Zellen die Bakterien noch zahlreich zu finden. Anfangs sieht man noch viele Sekretkugeln in den Zellen, später verschwinden diese vollkommen. Dann sind die Bakte-

rien ziemlich gleichmäßig im Plasma verteilt. Während die anfangs kaum erkennbare peritoneale Umhüllung immer breiter wird, werden die Zellringe des Kanals allmählich kleiner. Zuletzt liegen die Bakterien nur noch in einer schmalen Zone um den Kanal, um in der Harnblase dann völlig aus dem Plasma zu verschwinden. Jedenfalls konnte niemals mit Sicherheit festgestellt werden, daß die Bakterien hier auch in den Zellen sitzen.

Die beiden folgenden Gattungen schließen sich unmittelbar den *Andiorrhinen* an.

Gattung *Andiodrilus*, terrestrisch, Columbia.

Andiodrilus affinis MICH. Hier liegen die Verhältnisse ähnlich wie bei *Andiorrhinus*. Abb. 17 zeigt einen Ausschnitt aus der Ampulle. Auffällig ist die Dicke der Bakterien, die darin alle anderen bisher gefundenen Ampullenbakterien übertreffen.

Gattung *Thamnodrilus*, terrestrisch, trop. Südamerika.

- Thamnodrilus columbianus* MICH.,
- „ *duodenarius* MICH.,
- „ *huwaldi* MICH.,
- „ *puenio* MICH.,
- „ *tenkatei* HORST.

Die Ampulle ist hier noch größer als bei *Andorrhinus*. Sie reicht fast von einer Zölomwand bis zur anderen und zeigt einen Querschnitt von mehr als der sechsfachen Größe des angeschnittenen Bauchmarks.

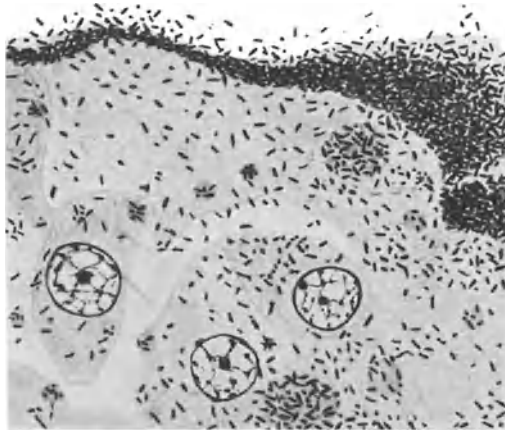


Abb. 17. *Andiodrilus affinis*. Teil einer Ampulle. $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 4.

Bildete sie bei den Lumbriciden einfach die Spitze der einen Schleife, so ist sie hier als gewaltig angeschwollene „Spitze“ umgelegt und an die

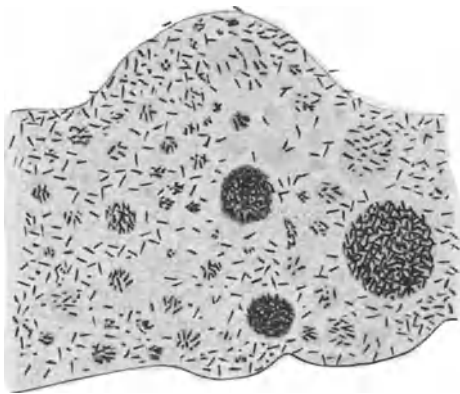


Abb. 18. *Thamnodrilus purnio*. Teil des Drüsenkanals. $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 4.

beiden Schenkel gepreßt, da sie andernfalls das Bauchmark völlig verdrängen müßte. Außerdem fällt die starke Ausdehnung des Drüsenkanals in Länge und Breite auf. Dies scheint auf Kosten des Wimper- und Schleifenkanals zu gehen, die beide ziemlich kurz sind. Im übrigen sind die Ampullen und der Drüsenkanal in derselben Weise besiedelt

wie bei *Andiorrhinus*. Abb. 18 zeigt einen Ausschnitt aus dem Drüsenkanal, aus dem hervorgeht, daß die Bakterien hier nur im Plasma, nicht im Lumen sitzen.

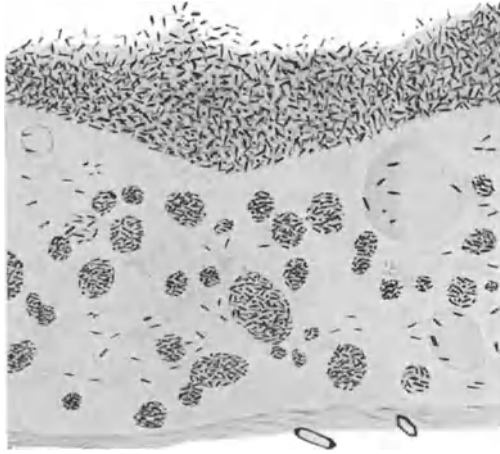


Abb. 19. *Thamnodrilus duodenarius*. Teil einer Ampulle. Am Außenrande 2 Bakteroiden, $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 8.

Gattungen *Rhinodrilus* und *Inkadrilus*, terrestrisch, tropisches Südamerika.

Rhinodrilus papillifer MICH. und *Inkadrilus octocystis* MICH. Bei diesen beiden Gattungen mußte ich mich auf die Feststellung beschränken, daß sie eine mit Bakterien besiedelte, den Thamnodrilen ähnliche Ampulle besitzen. Nähere Untersuchungen konnten nicht gemacht werden, da das Material zu schlecht fixiert war.

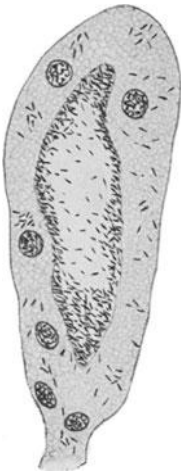


Abb. 20. *Pontoscolex corethrurus*. Anschnitt einer Ampulle. $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 2.

Gattung *Pontoscolex*, terrestrisch, tropisches Südamerika.

Pontoscolex corethrurus FR. MÜLL. Wir kommen hiermit zu einer Gattung, deren Ampulle wieder an die Lumbricidenampulle erinnert. In der äußeren Form ähnelt sie ihr ganz, in der Größe steht sie ihr nach. Die Bakterien liegen im Lumen in geringeren Mengen als bei *Lumbricus*, dafür sitzen sie aber, wenn auch ziemlich verstreut, teils einzeln, teils in kleinen Häufchen im Plasma (Abb. 20). Die Zellen enthalten keine erkennbaren Sekrete. Der Drüsenkanal ist bakterienfrei. In der Harnblase jedoch, besonders in ihrem letzten Abschnitt, liegen die

Bakterien ziemlich zahlreich, stellenweise dicht beisammen in den Zellen. Sie unterscheiden sich in ihrem Aussehen offensichtlich von den Ampullenbakterien, indem sie länger sind und dadurch schlanker erscheinen. Eine erkennbare Veränderung der Gewebe in der Harnblase ist durch sie nicht erfolgt (Abb. 21).

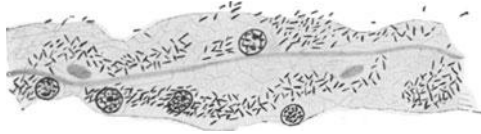


Abb. 21. *Pontoscolex corethrurus*. Ausschnitt aus einer Harnblase. Ok. 4.

Gattung *Glossoscolex*, terrestrisch, tropisches Südamerika.

Glossoscolex colonorum
MICH. Bei der vorigen Gattung hatten wir noch eine gut ausgebildete, wenn auch kleine Ampulle feststellen können, bei *Glossoscolex* fehlt sie völlig. Nur an der Umkehr des Drüsenkanals an der Spitze der Schleife II erkennt man die Stelle, die bei den Lumbriciden von der Ampulle eingenommen wird. An der Abb. 22 kann man sehen, daß im Lumen nur wenige Bakterien sind. Es ist kein dichter Belag wie bei *Lumbricus* vorhanden. Zahlreicher sitzen sie im Plasma der Zellen, und zwar hier in dem inneren Teil dicht, nach außen fast ganz fehlend. Die Zellen unterscheiden sich in ihrer Struktur nur unwesentlich von den Zellen des übrigen Nephridiums. Auch ist die Besiedlung mit Bakterien nicht allein auf die Ampul-

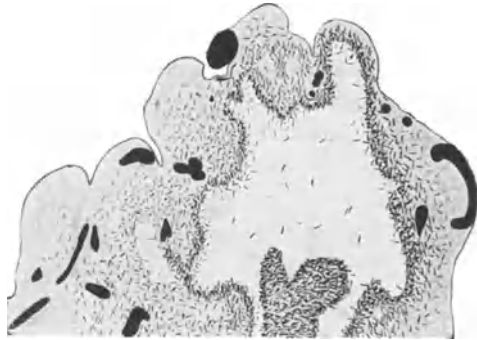


Abb. 22. *Glossoscolex colonorum*. Ampulle. $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 8.



Abb. 23. *Glossoscolex colonorum*. Ausschnitt aus einer Harnblase. $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 8.

lenzellen beschränkt. Das ganze Nephridium, einschließlich Schleifen- und Wimperkanal, enthält sie in dichten Mengen. Auch in den Zellen der Harnblase treten sie auf (Abb. 23), und zwar auch hier nach dem Lumen zu dichter; nach außen zu fehlen sie. Die Bakterien sind hier noch schlanker als bei der Gattung *Pontoscolex*, so daß man sie fast als fadenförmig bezeichnen kann.

Noch zwei Gattungen der Glossoscolecinen wurden untersucht: *Onychochaeta* und *Aptodrilus*, beide terrestrisch, aus dem tropischen Südamerika.

Onychochaeta windlei BEDDARD konnte wegen des mangelhaften Erhaltungszustandes keine sichtbaren Ergebnisse bringen. Es ist vielleicht möglich, daß hier die Harnblase von Bakterien besiedelt ist. Von *Aptodrilus ohansi* MICH. kann ich mit Sicherheit angeben, daß in keinem Teil des Nephridiums Bakterien zu finden sind.

Zusammenfassend ergibt sich, daß wir bei den Glossoscolecinen zwei Formen von Bakterien auseinanderhalten müssen, die sich auch morphologisch durchaus unterscheiden: die schlanken Bakterien in der Harnblase oder im ganzen Nephridium und die polar sich stärker färbenden, die nur in der Ampulle oder im Drüsenkanal sitzen. Mit dem Auftreten der ersten ist, obwohl sie auch in den Zellen lebt, keine Veränderung der Gewebe verbunden. Wo die andere Form in der Ampulle vorkommt, sind auch die Zellen in spezifischer Weise verändert. Bei *Pontoscolex* konnten wir nur eine kleine Ampulle feststellen, die der nur schwach sezernierenden Ampulle der Lumbriciden gleicht. *Diachaeta* und *Enantiodrilus* sondern Sekrete in größeren Mengen ab, wodurch die Ampulle stärker angeschwollen ist. Bei *Andiorrhinus* und *Andiodrilus*, bei denen die Bakterien zum Teil in dichten Mengen in die Zellen eingedrungen sind, konstatierten wir eine beträchtliche Anhäufung von Sekreten und weitere Vergrößerung der Ampulle. Diese Tendenz erreicht ihren Höhepunkt bei den Thamnodrilen, wo die übrigen Teile des Nephridiums fast ganz zurücktreten gegenüber der Ampulle und dem mit Bakterien besiedelten Teil des Drüsenkanals.

In diese sich klar abzeichnende Reihe läßt sich die Familie der Lumbriciden zwanglos einfügen. Sie steht, wie wir gesehen haben, etwa an ihrem Anfang. Hieraus jedoch etwaige Schlüsse über phylogenetische Zusammenhänge zwischen Lumbriciden und Glossoscolecinen ziehen zu wollen, erscheint ausgeschlossen. Während die Glossoscolecinen auf das tropische oder subtropische Südamerika beschränkt sind, fehlten die sonst so weit verbreiteten Lumbriciden dort, die ja fast durchweg Bewohner der gemäßigten und kalten Zone sind, bis sie durch die europäische Einwanderung eingeschleppt worden sind. Wir haben es hier also höchstwahrscheinlich mit einer Konvergenzerscheinung zu tun, die allerdings in dem abgeschlossenen südamerikanischen Gebiet zu zahlreichen Varianten geführt hat, so daß innerhalb der Gattungen der Glosso-

scolecinen die verschiedenen Besiedlungsformen der Bakterien, zumal wenn sie an Ort und Stelle einmal noch genauer erforscht sind, sicher als Kriterien der verwandtschaftlichen Beziehungen dienen können.

e) Die Beurteilung des Zusammenlebens.

Überblicken wir noch einmal kurz die wichtigsten Ergebnisse. Bei den Lumbriciden ist stets eine genau abgegrenzte Stelle des Nephridiums, die Ampulle, von Bakterien besiedelt. Diese bilden einen Belag auf der nach dem Lumen gewandten Oberfläche der Zellen und sind anscheinend in eine klebrige Substanz eingebettet. In den Perioden der Kokonablage wird vor allem das Lumen der Harnblase von diesen Bakterien überschwemmt, die aber weder hier noch dort je in die Zellen selbst eindringen. Sie werden vielmehr bei der Bildung des Kokons in dessen Eiweißflüssigkeit abgegeben, in der sie sich während der Dauer der embryonalen Entwicklung stark vermehren, um dann, bevor der heran-gewachsene Embryo den Kokon verläßt, wieder durch Ausführgang und Harnblase in dessen sämtliche Ampullen einzuwandern. In erfreulicher Weise konnten diese Ergebnisse durch die Untersuchungsbefunde an den Glossoscolecinen, einer tropischen Unterfamilie der Glossoscoleciden, erweitert werden. Hier fanden wir Gattungen, bei denen die Ampullen in ähnlicher Weise wie bei den Lumbriciden ausgebildet und mit Bakterien besiedelt waren. Ein bemerkenswerter Unterschied zeigte sich jedoch darin, daß die Bakterien hier auch in den Zellen leben. Man findet sie bei den Gattungen mit kleinen Ampullen weniger zahlreich im Plasma der Epithelzellen. Je größer jedoch die Ampullen werden, in um so größeren Mengen sind auch die Bakterien vorhanden. Hand in Hand damit geht auch eine starke Anhäufung von Sekreten in den Epithelzellen. Bei solchen Gattungen wird der Drüsenkanal ebenfalls besiedelt, der dann im Verein mit der gewaltigen Ampulle die übrigen Abschnitte des Nephridiums fast vollkommen verdrängt.

Die Übertragung konnte bei diesen tropischen Formen nicht untersucht werden, da von ihnen nur fixiertes Material zur Verfügung stand. Es ist jedoch mit Sicherheit anzunehmen, daß sie ebenfalls durch Infizierung der Eiweißflüssigkeit des Kokons erfolgt; denn einmal gelten nach unseren sonstigen Erfahrungen derartige Einrichtungen jeweils für die ganze systematische Einheit, und ferner kommt die sonst vor allem übliche Übertragungseinrichtung in Gestalt der Eiinfektion wohl schon deshalb nicht in Frage, weil es sich um ein Objekt mit totaler Furchung von determiniertem Charakter handelt. BUCHNER hat neuerdings (1926) darauf hingewiesen, daß solche Furchungsweise und Eiinfektion sich offenbar — von verschwindenden Ausnahmen abgesehen — ausschließen. Und weiterhin, weil Eiinfektion bei körperhöhlenbewohnenden Symbionten nach unseren bisherigen Erfahrungen dem Wirts-

organismus unüberwindliche Schwierigkeiten bereitet (Cephalopoden [PIERANTONI 1918], *Dacus* [PETRI 1909], heteroptere Wanzen [KUSKOP 1924]).

Eine andere Frage jedoch, die erörtert werden muß, ist die, ob wir dieses damit zum erstenmal klargelegte Zusammenleben Symbiose nennen können. Dafür spricht vor allem die allgemeine Verbreitung der Erscheinung. Wir haben eine ganze Reihe von Gattungen der Lumbri-ciden der verschiedensten Provenienz (Deutschland, England, Alpenländer, Spanien, Rußland, Rumänien, Ungarn, Japan, Nord- und Südamerika und Afrika) in den Kreis unserer Untersuchung stellen können, aber trotzdem keine Ausnahme gefunden! Und weiterhin begegnete uns trotz des zahlreichen untersuchten Materials unter den einzelnen Arten nie ein Exemplar ohne Bakterienbesiedlung. Parasiten und harmlosen Commensalen ist solche Ubiquität wesensfremd. Ferner spricht entschieden für eine Bejahung dieser Frage der Umstand, daß die Bakterien stets auf eine bestimmte, aufs schärfste abgegrenzte Stelle beschränkt sind und innerhalb dieser offenbar hinsichtlich ihrer Vermehrung sich für gewöhnlich in recht engen Grenzen halten. Das deutet doch alles sehr darauf hin, daß der Wirt regulativ in diese Ansiedlung der Bakterien eingreift. Eine solche regelnde Tätigkeit des Wirtes scheint auch bei der Übertragung eine Rolle zu spielen. Wie wollte man sonst erklären, daß nur in den Zeiten der Kokonablage die Ampulle besonders geschwollen ist, und daß nur dann die verkitteten Bakterien gelöst und in die Harnblase geschwemmt werden, von wo aus sie leicht in den Kokon gelangen können? Und deutet nicht die Tatsache, daß alle untersuchten Embryonen, die reif zum Ausschlüpfen aus dem Kokon waren, sämtliche Ampullen infiziert hatten, auf derart innige und wohl funktionierende Wechselbeziehungen hin, wie sie eben die moderne Symbiosenforschung in überraschender Fülle in jüngster Zeit zutage gefördert hat? Endlich muß auch noch darauf hingewiesen werden, daß weder die Nephridien irgendwie durch ihre Insassen geschädigt werden, noch die Embryonen trotz der lebhaften Vermehrung der Bakterien in der Eiweißflüssigkeit eine erkennbare Schädigung davotragen. Alles das scheint darauf hinzudeuten, daß tatsächlich ein Verhältnis vorliegt, wie wir es im Sinne BUCHNERS heute als Symbiose bezeichnen, d. h. daß jene Mikroorganismen zwecks irgendwelcher, uns zur Zeit noch unbekannter Dienste im Körper der Oligochäten angesiedelt und pfleglich behandelt werden. Wir sind uns aber dabei sehr wohl bewußt, daß ein wirklicher Beweis hierfür natürlich — wie in manchen anderen Fällen — aussteht, solange über die fraglichen physiologischen Leistungen nichts Sicheres bekannt ist. Ohne experimentelle Untersuchungen sich über diese Gedanken zu machen, erscheint hierbei besonders müßig; denn in anderen Fällen kommen uns

vielfach bei solchen Deutungsversuchen wenigstens spezielle ernährungsphysiologische Fähigkeiten des Wirtes zu Hilfe, während hier solche Fingerzeige fehlen. Um an diese Frage heranzutreten, müßten wir vor allem über die Teilvorgänge der Exkretion in den einzelnen Abschnitten des Nephridiums genauer unterrichtet sein. Bisher können wir aber nur auf Grund histologischer Beobachtungen eine verschieden geartete Tätigkeit der einzelnen Abschnitte feststellen. Durch die Untersuchungen von CUÉNOT, SCHNEIDER und MAZIARSKI wissen wir lediglich, daß der Schleifenkanal der Schleife II, die Ampulle und die erste Hälfte des Drüsenkanals Sekrete in Tropfenform ausscheiden, während der Wimperkanal und die zweite Hälfte des Drüsenkanals Sekretkörner in das Lumen abgeben, die dann in der Flüssigkeit des Lumens aufgelöst werden. Man könnte vielleicht an eine Beziehung der Bakterien zu jenen Sekrettropfen denken, etwa in dem Sinne eines Abbaus derselben. Denn es ist sehr auffällig, daß der starken Überschwemmung jener Zellen mit Bakterien zugleich eine starke Anhäufung von solchen geformten Sekreten parallel geht, und daß dann gerade die Sekrettropfen ihr bevorzugter Aufenthalt sind.

Übrigens steht die Besiedlung exkretorischer Organe durch Symbionten nicht vereinzelt da. Man wußte schon längere Zeit von *Cyclostoma elegans* DRAP, daß in ihrer allerdings anders gearteten Speicherniere („Konkrementdrüse“) normalerweise Bakterien vorkommen. Bis vor kurzem war dies nur für jene eine Art festgestellt. Nun haben die in Zürich von MEYER (1924) vorgenommenen Untersuchungen ergeben, daß sich auch in zahlreichen anderen tropischen Arten der verschiedensten Herkunft ganz die gleiche Bakterienbesiedlung findet. Und als interessantes Gegenstück zu meinen Befunden bei Oligochäten erscheint es, wenn er unter den Verwandten auch eine weitere Familie, die Annulariiden, gefunden hat, die dieselben Erscheinungen aufweist. Ja, die Parallele geht noch weiter. Genau wie bei den Glossoscolecinen eine Gattung (*Aptodrilus*) ohne Bakterien bleibt, so hat auch MEYER bisher von einer Gattung der Annulariiden feststellen können, daß sie in ihrer Speicherniere keine Bakterien hat. Vielleicht dürfte, was MEYER für diese Gattung der Annulariiden vermutet, auch für *Aptodrilus* zutreffen, nämlich daß er nicht in die Familie, der er bisher zugerechnet ist, gehört? Übrigens war es auch bei *Cyclostoma* bisher trotz eingehender Untersuchung nicht möglich, Sichereres über die Bedeutung des eigenartigen Zusammenlebens auszusagen.

In diesem Zusammenhang sind auch die Untersuchungen REICHENOWS zu erwähnen, der in den Harnblasen des medizinischen Blutegels symbiotische Organismen gefunden hat, also an einer Stelle, die mit der von uns studierten enge Beziehungen besitzt. Doch stehen über diesen Fall, der sich in die große Reihe der Symbiosen bei blutsaugenden

Tieren einfügt, nähere Angaben noch aus¹⁾. Uns muß dieses Vorkommen bei weiteren Anneliden nicht nur deshalb interessieren, weil daraus hervorgeht, daß deren Nephridien offenbar überhaupt einen beliebten Ansiedlungspunkt für eventuelle Symbionten darstellen, sondern vor allem auch, weil wir dank unserer Erfahrungen nun mit ziemlicher Sicherheit voraussagen können, wie bei *Hirudo medicinalis* wohl die Übertragung vor sich gehen wird. Handelt es sich ja auch hier um ein Kokons ablegendes Tier.

Das gleiche gilt wohl auch für *Placobdella catenigera*, die, auf Schildkröten lebend, zwar keine Infektion der Exkretionsorgane aufweist, sondern im Lumen und dem Gewebe zweier „Ösophagusdrüsen“ Symbionten ansiedelte, welche hier nach der Nahrungsaufnahme zum Teil in den Magen entleert werden, wo sie die Verflüssigung der roten Blutkörperchen beschleunigen sollen. Von der Übertragung wissen wir auch hier bisher nur, daß jüngste Würmer, die noch nie gesogen haben, bereits infizierte Ösophagusdrüsen besitzen. Daß sie irgendwie gesetzmäßig geregelt wird, steht außer Zweifel. Höchst wahrscheinlich ist es, daß auch hier der beschrittene Weg über eine Infektion der Kokonflüssigkeit und relativ späte Embryoneninfektion führt.

5. Bakteroiden.

In der Einleitung führte ich bereits kurz aus, daß wir Bakterien und Bakteroiden durchaus unterscheiden müssen. Die Bakteroiden haben schon mehrfach die Forscher beschäftigt, ohne daß man sich über ihre Natur klar werden konnte. CERFONTAINE (1890), der zum erstenmal eine Abbildung von ihnen gibt, sagt darüber: „On trouve ici représentés des amas de corpuscules bacilliformes que l'on rencontre un peu partout dans les tissus du Lombric et dans la cavité du corps. Ces corpuscules sont probablement des bacilles et cela nous explique peut-être pourquoi les Lombrics morts se décomposent si rapidement.“ Er zeichnet sie im allgemeinen als deutliche stäbchenartige Gebilde, verschieden in der Länge und Dicke, ohne jedoch Übergänge zu Körnchen zu demonstrieren. Nach ihm hat CUÉNOT (1898) sie genauer untersucht. Er spricht von Bakteroidenzellen, die von kleinen, farblosen, an den Ecken abgestutzten Kristalloiden erfüllt sind. Diese hätten mit Bakterien erstaunliche Ähnlichkeit und träten leicht aus den Zellen heraus. Er sagt dann weiter: „Les bactéroïdes mis en liberté sont immédiatement phagocytés par les amibocytes du coelome, qui les digèrent graduellement en les transformant en petites boules. C'est surtout alors que la ressemblance avec des bactéries devient extraordinaire, d'autant plus que les bactéroïdes se colorent par la méthode de GRAM et la fuchsine

¹⁾ Inzwischen konnte BUCHNER auch die alte Angabe über das konstante Vorkommen von Pilzmycelien in der Speicherniere der Molguliden bestätigen (nach mündl. Mitt.).

de ZIEL à peu près comme de vrais microbes.“ Die Ähnlichkeit mit Bakterien erscheint ihm sogar so groß, daß er eine Identität der Bakteroiden mit Tuberkelbazillen, die LORTET und DESPEIGNES im *Lumbricus* nachgewiesen haben wollen, für sehr wohl möglich hält. In seinen Abbildungen allerdings zeichnet er sie mit so scharfen Ecken, wie sie bei Bakterien kaum vorkommen dürften. Die beiden Bakteroiden, die er bei einer Vergrößerung von 1270 in einer Zeichnung wiedergibt (Abb. 24 und 25), lassen deutliche Zuspitzung und ausgeprägte Kristallflächen erkennen.

SCHNEIDER (1902) spricht in seinem Lehrbuch der vergleichenden Histologie mehrfach von Bakteroiden. Er sagt von ihnen bei der Besprechung des Bindegewebes von *Eisenia rosea* (siehe dort S. 411): „Der bemerkenswerteste Charakter der (Bindegewebs-) Stränge ist aber die Einlagerung stabförmiger, scharf begrenzter Gebilde, die als Bakteroiden bezeichnet werden und vielleicht Bakterien (CUÉNOT) vorstellen, die im Bindegewebe schmarotzen. Die Bakteroiden erscheinen gewöhnlich als schmale, glänzende, kristallähnliche Stäbchen mit stumpf ge-



Abb. 24. Bakteroiden nach CUÉNOT 1898.



Abb. 25. Bakteroiden in einer Lymphzelle nach CUÉNOT 1898.

eckten Enden. Sie liegen in Gruppen beisammen, zum Teil einander parallel, zum Teil nach verschiedenen Richtungen orientiert; Eosin färbt sie nur leicht gelblich, Toluoidin grün, Pikrinsäure gelb, Eisenhämatoxylin schwärzt sie. Gegenüber den Methoden der Bakterienfärbung verhalten sie sich wie echte Bakterien. Indessen ist weder eine Vermehrung durch Teilung sicher bekannt, noch wurden sie bis jetzt in Reinkulturen gezüchtet; auch zeigen sie keinerlei feinere Strukturen, und ihre Form ist nicht immer die geschilderte regelmäßige. Es schwankt die Größe und Dicke; oft erscheinen sie auch von abgerundeter Gestalt, und nicht selten findet man Übergänge zu Körnchen verschiedener Größe und verschiedener Form, die als Zerfallsprodukte der Stäbchen erscheinen. Die Bakteroiden liegen in hellen Räumen der Sarkstränge und man gewinnt oft den Eindruck, als wenn die schlauchartige Ausbildung der Stränge durch ihre Anwesenheit bedingt wäre. Vielleicht stellen sie eine besondere Art von Trophochondren vor.“ SCHNEIDER sagt also einmal, daß sie vielleicht Bakterien darstellen, während er ein andermal vermutet, daß sie eine Art von Trophochondren wären.

Nun hat neuerdings TROJAN (1919) die Bakteroiden, deren Bakterien-

natur er durchaus in Abrede stellt, mit der Entstehung und dem Wachstum des fibrillär-faserigen Bindegewebes in Zusammenhang gebracht. In seiner Arbeit „Bakteroiden, Mitochondrien und Chromidien“ spricht er in ausführlicher Weise über Granulationen im Bindegewebe von *Chaetopterus variopedatus* CLAP. Er will jedoch die Ergebnisse seiner Untersuchungen auch auf die Oligochäten anwenden und deren Bakteroiden mit den „Fibrochondren“ des *Chaetopterus* identifizieren, so daß ich mich etwas genauer mit seinen Ausführungen beschäftigen muß. Zunächst sei kurz das Ergebnis seiner Betrachtungen skizziert: „In alternden Bindegewebszellen scheidet sich die flüssige Substanz von der festen. Diese sammelt sich an den Zellfortsätzen in Form von Körnchenreihen, die also zunächst nur Bestandteile des Plasmas sind. Dann kommen körnige Derivate des Kernes hinzu, die nun im Verein mit den plasmatischen Körnchen wandernde Reihen bilden. Aus den allenthalben vorhandenen Lymphkanälen entnehmen die Granula neue Nahrung und wachsen. Die aus dem Kern stammenden Granula werden zu jungen Bindegewebszellkernen, sobald sie deren Größe erreicht haben. Die übrigen Granula teilen sich wiederholt, bis sie sich auflösend Bindegewebsfibrillen bilden.“ TROJANS Betrachtungen gründen sich nur auf Untersuchungen an einem marinen Polychäten. Gleichwohl will er die Ergebnisse für alle Anneliden verallgemeinern. Er geht sogar noch weiter. In einem zusammenfassenden Schlußkapitel unterzieht er SCHNEIDERS Lehrbuch einer eingehenden Prüfung, da „von allen Autoren nur K. C. SCHNEIDER den in Frage stehenden Strukturen die genügende Aufmerksamkeit geschenkt hat“. Und wo von SCHNEIDER „das Auftreten von Granulationen gemeldet wird“, wo dieser Bilder mit körnigem Bindegewebe zeichnet oder von Bakteroidenzellen spricht, glaubt TROJAN eine Stütze für seine Fibrochondrentheorie zu finden. Unter anderen Beispielen führt er auch die von SCHNEIDER beschriebenen Bakteroidenzellen im Fettgewebe der Periplaneta an, von denen SCHNEIDER sagt: „Falls die Bakteroiden sich nicht als Bakterien erweisen sollten, würden sie sehr bemerkenswerte Chondren noch unbekannter Funktion repräsentieren, deren Vermehrung ein weiterer Beweis für die individuelle organisierte Natur aller Chondren wäre“. SCHNEIDER ist also hier vorsichtig und läßt die Frage durchaus offen, ob es Bakterien oder Chondren sind. TROJAN aber sagt, daß er (SCHNEIDER) auch kaum dafür zu haben ist, in den geformten Einschlüssen der Fettzellen der Blattiden Bakterien zu sehen, sondern glaubt wieder Chondren einer unbekannteren Funktion vor sich zu haben. Diese „Chondren“ möchte nun TROJAN auch wieder im Sinne seiner Fibrochondrentheorie in Anspruch nehmen. An dieser Stelle befindet sich TROJAN aber zweifellos im Irrtum, denn in diesem Fall hat sich einwandfrei zeigen lassen, daß diese „Chondren“ echte Bakterien sind, deren Über-

tragung durch Infektion der Eizellen vollkommen klargestellt ist (MERCIER 1907, BUCHNER 1912, FRÄNKEL 1921). Es ist deshalb auch durchaus berechtigt, seine Schlußfolgerungen über die Natur der Bakteroiden bei Oligochäten kritisch nachzuprüfen, zumal er ja diese Gebilde nicht selbst untersucht hat und nur entsprechende Bilder und Angaben anderer Autoren in seinem Sinne deutet.

Zuvor lasse ich jedoch meine eigenen Beobachtungen folgen. Die schon S. 589 zitierte Beschreibung der Bakteroiden durch SCHNEIDER kann ich voll bestätigen. Man findet die Bakteroiden überall im Bindegewebe, und zwar sind sie im Peritoneum von besonderer Größe. Bei meinen Untersuchungen habe ich keinen Oligochäten gefunden, der keine Bakteroiden hatte. Allerdings wechselt ihre Menge je nach der untersuchten Art oder Gattung. So zeigen die Thamnodrilen sie in ganz ungewöhnlichen Mengen, während z. B. *Sparganophilus* nur sehr wenige hat, so daß man längere Zeit suchen muß, bis man überhaupt welche findet. Auch ihre Größe ist außerordentlich wechselnd, sowohl bei dem einzelnen Tier (*Lumbricus* z. B.) wie auch unter den Gattungen. Bei den Thamnodrilen wachsen sie zu erstaunlicher Größe heran (siehe Abb. 19, wo am Rand zwei Bakteroiden zum Vergleich eingezeichnet sind), bei *Sparganophilus* sind sie unverhältnismäßig klein. Hier ist auch die Dicke fast der Länge gleich. Andererseits sind sie bei *Onychochaeta* sehr schlank, fast nadelförmig. Die Größe der Oligochäten steht keineswegs in proportionalem Verhältnis zur Größe ihrer Bakteroiden. *Eisenia foetida* ist nicht viel größer als *Eophila oculata*, trotzdem hat jene bei weitem größere Bakteroiden. Und einer der größten Oligochäten, *Microchaetus microchaetus*, der ungefähr 1 m lang wird, hat nur kleine und dünne Bakteroiden und auch nur sehr wenige.

Die Bakteroiden sitzen in der Regel in den Zellen des Bindegewebes. Zwischen den Muskelfasern findet man sie oft mit kleinen Körnern von wechselnder Größe zusammen, während sie in dem Peritoneum fast nur als deutliche Stäbchen von allerdings wechselnder Länge liegen. Oft zeigen die Schnitte, daß die Bakteroiden nur mit einem Teil noch in der Zelle stecken, der andere Teil ragt frei ins Zölom. Häufig trifft man sie auch frei in der Leibeshöhle. Sogar im Lumen der Harnblase sind sie bei den Thamnodrilen nicht selten. Wahrscheinlich sind sie dann von den Nephridialzellen aus der Leibeshöhle aufgenommen und von hier in den Kanal abgegeben worden.

In der Regel sind die Bakteroiden von scharfen Kanten begrenzt. Ihre Enden sind stumpf geeckt, wie SCHNEIDER zutreffend sagt, manchmal regelmäßig, manchmal unregelmäßig. Niemals findet man Formen, die an Querteilungsstadien erinnern. Wohl aber begegnet man manchmal Bildern, die man als Ausdruck einer Längsteilung deuten möchte (Abb. 26), in deren Folge dann die gar nicht selten vorkommenden

Sargdeckelformen auftreten würden. Noch deutlicher als auf Schnitten zeigen sie ihre Formen bei Beobachtung in frischem Zustande. Es genügt dafür, ein Stückchen vom Peritoneum auf einen Objektträger zu legen und unter dem Deckglas zu zerquetschen. Dann werden sie aus dem Gewebe herausgedrückt und schwimmen nun passiv umher. Bekommt man sie hierbei im optischen Querschnitt zu sehen, so kann man deutlich erkennen, daß dieser durchaus quadratisch ist. Bei Lebendbeobachtung zeigt es sich auch, daß das ganze Gebilde gleichmäßig lichtbrechend ist und absolut scharfe und parallele Längskanten besitzt.

Durch die Fixierung mit Alkohol oder mit den Gemischen nach ZENKER, BOUIN, FLEMMING und TELLYESNICZKY werden ihre scharfen Formen nicht geändert. Wohl aber zeigte sich nach Fixierung nach

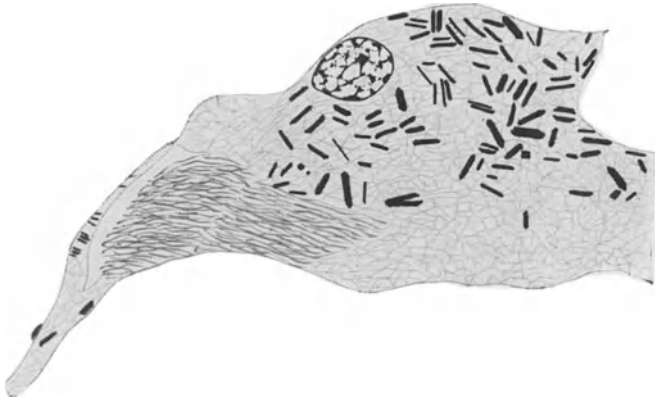


Abb. 26. *Octolasion cyaneum*. Dissepiment mit Bakteroiden. $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 8.

BOUIN, dessen Gemisch unter anderem bekanntlich 5 vH. Eisessig enthält, daß die kleinen Körnchen, die man z. B. nach Behandlung mit TELLYESNICZKYScher Flüssigkeit sehr gut sah, verschwunden waren. Diese Beobachtung veranlaßte mich, das Verhalten der großen Bakteroiden in reiner Essigsäure zu untersuchen. Es wurde dazu ein Stück des Peritoneums mit möglichst wenig Wasser unter das Deckgläschen gebracht. Setzte man nun vorsichtig vom Rande her Eisessig zu, so konnte man sehen, wie die Bakteroiden schnell kleiner wurden und verschwanden.

Was aber den Zerfall der Stäbchen zu Körnchen verschiedener Größe und Form anbelangt, so kann ich diese Beobachtung SCHNEIDERS zunächst bestätigen. Man findet Übergänge zu Körnchen kleinster Größe, die Zerfallsprodukte der Stäbchen sein könnten. Und jene runden Gebilde, die SCHNEIDER in Abb. 391 zeichnet, und wie sie ähnlich auch von mir beobachtet wurden, können sehr wohl deformierte Bak-

teroiden darstellen. Sie sind aber nicht mehr gleichmäßig gefärbt, wie die Bakteroiden, erscheinen vielmehr wie eine dichte Ansammlung kleiner Granula. Und ob sie wirklich durch Bakteroidenzerfall entstanden sind, ließ sich nicht eindeutig feststellen, ja, es wird sogar manchmal zweifelhaft, wenn man so reinen Ansammlungen von stäbchenförmigen Bakteroiden begegnet, wie sie Abb. 26 oder Abb. 27 zeigen, in deren Nähe keinerlei kleine Körnchen oder auch nur rundliche Bakteroiden sind. Die deformierten Bakteroiden werden nach SCHNEIDERS und auch nach meinen Beobachtungen von Nephridialzellen aufgenommen und vielleicht aufgelöst.

Aus dem Vorhergesagten geht wohl einwandfrei hervor, daß die Bakteroiden nichts mit Bakterien zu tun haben. Es wäre auch erstaunlich, wenn in einer Tiergruppe Bakterien in einer solchen Menge und Regelmäßigkeit vorkommen, wie hier die Bakteroiden, und dann nicht in irgendeiner Weise auf die Nachkommen übertragen würden. Denn ich konnte mich mit Sicherheit überzeugen, daß eine direkte Übertragung der Bakteroiden auf die Nachkommen bei den Lumbriciden unterbleibt. Sie sind weder in der Eiweißflüssigkeit des Kokons noch in den jüngeren Embryonen zu finden! Sie tauchen frühestens im Embryo auf, wenn in die ersten Nephridien die Ampullenbakterien eingewandert sind. Manchmal sind sie auch noch nicht vorhanden, wenn der größte Teil der Nephridien mit Bakterien besiedelt ist. Also werden sie jedesmal im Embryo neu gebildet.



Abb. 27. *Thamnodrillus tenkatei*. Bakteroidenhaufen aus dem Peritoneum. $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 8.

Sind die Bakteroiden dann aber ähnliche Gebilde, wie sie TROJAN beim *Chaetopterus* als Fibrochondren bezeichnet hat? Die topographischen Beziehungen zu kleinen und kleinsten Körnchen, die man bei Fixierung mit TELLYESNICZKY oder mit reinem Alkohol ähnlich findet, wie TROJAN sie bei *Chaetopterus* beobachtet hat, könnten ja vielleicht daran denken lassen, und ihre reihenweise Anordnung entspräche dann den Bildern, die TROJAN bei *Chaetopterus* davon gibt. Auch ein Zerfall der großen Bakteroiden muß nach den Bildern, die uns *Lumbricus* geliefert hat, als sehr wohl möglich erscheinen. Gegen eine Identität spricht jedoch vor allem der kristalline Charakter der eigentlichen Lumbricidenbakteroiden, der ja den *Chaetopterus*-Fibrochondren abgeht. Alles, was wir an den Bakteroiden der Oligochäten feststellen können, ihre scharf ausgeprägten Ecken, ihre parallelen Kanten, ihr quadratischer Querschnitt, ihre gleichmäßig starke Lichtbrechung und ihre Auflösung in Eisessig, bekundet entschieden Kristallnatur. Und wenn TROJAN sagt: „Die Vermutung CUÉNOTS, daß seine Bakteroiden eine Spezialität des *Lumbricus* seien, trifft in Wirklichkeit nicht zu“,

so muß ich mich auf Seite CUÉNOTS stellen und ihn nur soweit korrigieren, als es sich um eine nicht nur *Lumbricus*, sondern allen Oligochäten eigene Spezialität handelt. Andererseits kann ich TROJAN nur beistimmen, wenn er betont, daß es bei *Chaetopterus* keine kristallinen Bakteroiden gäbe. Ich habe mich an Hand von Schnitten durch *Chaetopterus varipedatus* CLAP. und *Chaetopterus norwegicus* SARS selbst davon überzeugen können. Wie TROJAN zu der Behauptung kommt, auch K. C. SCHNEIDER habe bei *Nereis* und *Sigalion* ganz die gleichen Gebilde gefunden wie bei *Lumbricus*, ist mir unklar geblieben; denn niemals hat SCHNEIDER, soweit ich sehe, bei der Besprechung dieser beiden Polychäten etwas von Bakteroiden erwähnt, während er bei *Eisenia* eigens betont, daß sie „den bemerkenswertesten Charakter“ der Bindegewebsstränge darstellen. Die Bakteroiden der Oligochäten mit den Fibrochondren des *Chaetopterus* ohne weiteres zu identifizieren, scheint mir jedenfalls nicht zugänglich. Andererseits liegt es mir fern, mich über oder gar gegen die Theorie TROJANS über die Entstehung des fibrillären Bindegewebes bei *Chaetopterus* zu äußern, deren Nachprüfung ja nicht im Rahmen meiner Untersuchungen lag.

Es ergibt sich also: *Die Bakteroiden der Oligochäten sind weder Bakterien noch Fibrochondren, sondern in Kristallform auftretende Stoffwechselprodukte von noch unbekannter Zusammensetzung* und in ihrer Form, Größe und Menge jeweils durchaus spezifisch für die einzelnen Arten. Ein Zerfall derselben in reihenbildende Körnchen, aus denen das fibrilläre Bindegewebe hervorgehen könnte, erscheint höchst unwahrscheinlich; dagegen spricht alles dafür, daß sie nach erfolgter Deformierung von den Zellen des Nephridialgewebes aufgenommen und aufgelöst werden, also überflüssige Endprodukte des Oligochätenstoffwechsels darstellen.

6. *Microscolex phosphoreus*.

Schon in der Einleitung erwähnte ich, daß die Symbioserforschung sich neuerdings mit dem Problem des Leuchtens bei dem Oligochäten *Microscolex phosphoreus* beschäftigt hat. Es handelt sich hier um eine Untersuchung PIERANTONIS, der 1924 eine Abhandlung „La fosforescenza e la simbiosi in *Microscolex phosphoreus*“ veröffentlichte, von der ich nachstehend einen kurzen Auszug gebe.

Die Anwesenheit dieser Würmer in der Gartenerde verrät sich dadurch, daß, wenn man mit einem Stock etwa Furchen zieht, an verschiedenen Stellen leuchtende Punkte auftauchen, die bis zu 1 Minute hell bleiben. Diese rühren von Schleimspuren des leuchtenden Oligochäten her. Trifft man die 1—3 cm großen Tiere selber an, so strahlen sie auf verschiedene Reize hin ebenfalls ein Licht aus, das heller als die Schleimspuren ist. Die Leuchterscheinung geht einmal von dem

Schleim aus, der auf die Reizung hin vom ganzen Körper ausgeschieden wird, anderseits aber leuchten auch innere Körperteile des Tieres. Das Leuchten außerhalb des Tieres dauert längere Zeit an, während die Lichterscheinung im Innern unter dem Einfluß des mechanischen Reizes nur einige Sekunden anhält. Hier ist der Sitz des stärksten Leuchtens am Hinterende, dann folgt in der Intensität das Kopfende und dann die peritoneale Umhüllung der Zölomabschnitte. Hier treten wieder, wie man unter dem Binokular erkennt, die Dissepimente und das Hüllgewebe des Nervensystems stärker hervor. Auch zwischen den Strängen der Längs- und Quermuskulatur sind leuchtende Stellen, also überall dort, wo Bindegewebe vorkommt.

Im Winter trifft man die Tiere in tieferen Schichten an. Dann kann man sie nicht durch mechanische sondern nur durch chemische Reize zum Leuchten bringen. Wohl aber leuchten noch die Schleimspuren in der Erde. PIERANTONI deutet dies dahin, daß die Leuchtpunkte, die im Winter noch in der Erde vorhanden sind, Reste von Schleim aus dem Sommer und Herbst sind. Und das stark abgeschwächte Leuchten der Würmer führt er auf ihren Ruhezustand im Winter zurück. Denn die Tiere leben in kurzer Zeit auf und leuchten dann auch kräftig, wenn man chemische Mittel anwendet, vor allem solche, die, wenn sie mehrfach angewandt werden, gewöhnlich den Tod des Tieres herbeiführen.

Bringt man Würmer, die durch mechanische Reize zum Leuchten gebracht wurden, in Wasser, so erlöscht das Leuchten langsam. Dann kann man sehr schön erkennen, wie das Leuchten an den Körperenden und an etwa vorhandenen Wundflächen länger anhält.

In schwacher Ammoniaklösung werden die Würmer bald bewegungslos. Leuchteten sie vorher nicht, so erscheint das Licht zunächst in der Schwanzregion, dann am Kopfende. Und nun erst greift es auf die übrigen Körperteile über. Dann ist der Wurm ausgestreckt und bewegungslos und sieht wie ein kleiner weißlich-grünlich erglühender Stab aus. Dieses Leuchten dauert dann etwa $\frac{1}{2}$ Stunde. Wenn man statt Ammoniak Alkohol verwendet, so dauert die Wirkung etwas länger, in stark verdünntem Alkohol etwa 1 Stunde, aber sie ist weniger intensiv. Dabei handelt es sich immer um ein inneres Leuchten ohne leuchtende Absonderungen.

Anders wirken Salze und Säuren. Kochsalz verhindert augenblicklich das Leuchten des Tieres wie auch das des Schleimes. Leuchtende Tiere, in Seewasser getaucht, verlöschen unmittelbar; in Ammoniakwasser gebracht, leuchten sie wieder auf. Der Schleim reagiert in dieser Beziehung genau wie das ganze Tier. Angesäuertes Wasser wirkt wie Salzwasser. In gewöhnlichem Wasser verlieren die Tiere das Leuchten. Anders ist es jedoch mit den Schleimspuren. Läßt man sie längere Zeit in einer Glasschale herumkriechen und gießt dann nach Entfernung

der Tiere Brunnenwasser oder destilliertes Wasser hinein, so erscheinen Myriaden von leuchtenden Punkten oder Strichen für die Dauer von etwa $\frac{1}{4}$ Stunde.

Die Ursache des Leuchtens sieht PIERANTONI in Bakterien, die er zwischen den Muskeln, im Peritoneum und besonders im Hüllgewebe des Bauchmarks gefunden hat, also an allen Stellen, an denen er auch das Leuchten beobachtet hatte. Sehr häufig sind sie in frei in der Leibeshöhle flottierenden Zellen, sowie in den Eiern und an deren Oberfläche.

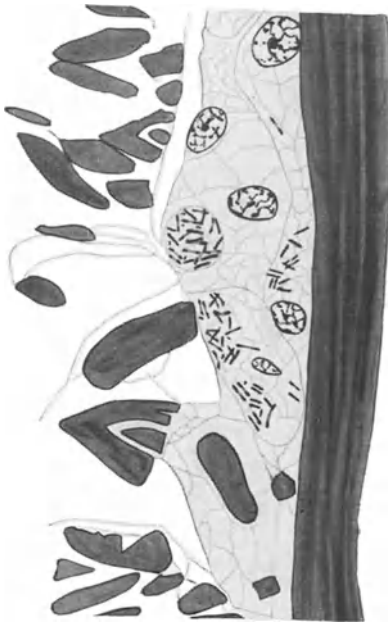


Abb. 28. *Microscoclex phosphoreus*. Bindegewebe zwischen den Muskellagen mit Leuchtbakterien.
 $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 12.

Meist kommen sie gruppenweise vor, seltener isoliert. Ihre regelmäßige Form ist stäbchenartig, selten sind Kugeln oder Körnchen. Die normale stäbchenartige Form kommt hauptsächlich im Peritoneum vor, während zwischen den Muskeln häufiger sich die kürzeren und körnigen Formen finden. In frischem Schleim findet man kokken- und stäbchenförmige Organismen. Kulturversuche in Agar oder Bouillon gelangen leicht. Es wuchsen Kolonien, die zwar nicht leuchteten, aber doch morphologisch und in ihrer Färbbarkeit den Bakterien des Wurmes glichen.

Der Verfasser hatte die Liebesswürdigkeit, eine Anzahl fixierter *Microscoclex phosphoreus* Herrn Professor BUCHNER zu übersenden, so daß sich mir die willkommene Gelegenheit bot, aus eigener Anschauung das interessante Objekt kennen

zu lernen. Sie mußte mir um so wertvoller sein, als ja PIERANTONI keinen Unterschied zwischen den von ihm gefundenen Leuchtbakterien und den Bakteroiden machte. Nachdem ich bei sämtlichen von mir untersuchten Oligochäten Bakteroiden in typisch kristalloider Ausbildung gefunden hatte, wäre es erstaunlich gewesen, wenn sie hier fehlen würden. Die mit Eisenhämatoxylin gefärbten Schnittserien ergaben zunächst, daß hier wirklich auch echte Bakteroiden mit Kristallflächen und scharfen Ecken vorkommen, ganz wie bei anderen Oligochäten. Außerdem aber fand auch ich Gebilde, die wesentlich anders aussahen. Sie waren zwar auch deutlich stäbchenförmig, jedoch häufig leicht gebogen und stets an den Ecken leicht gerundet. Was sie aber hauptsächlich von

den Bakteroiden unterschied, war ihre deutlich erkennbare stärkere polare Färbbarkeit. Wo sie in größeren Mengen in einer Zelle liegen, erkennt man deutlich, daß im Gegensatz zu den Bakteroiden hinsichtlich ihrer Länge und Dicke nur geringe Unterschiede bestehen (Abb. 28 u. 29). Sie machen also ganz den Eindruck von wirklichen Bakterien. Und da sie die einzigen Gebilde im *Microscolex* sind, die häufiger auftreten und wie Bakterien aussehen, da sie ferner überall an den Stellen vorkommen, die PIERANTONI als leuchtend beschrieben hat, und da nie bei anderen Oligochäten derartige Körperchen in den Bindegewebszellen gefunden wurden, so liegt die Annahme nahe, daß wir in ihnen die Bakterien vor uns haben, die das Leuchten des *Microscolex* verursachen.



Abb. 29. *Microscolex phosphoreus*. Peritonealzellen mit Bakterien (links) und Bakteroiden (rechts). $\frac{1}{12}$ Imm. Ok. 12.

Wenn PIERANTONI mitteilt, daß eine Infektion der Eier stattfindet, so kann es sich hierbei wohl nur um die echten Bakterien handeln. Denn bei den Lumbriciden konnten wir ja feststellen, daß die Bakteroiden erst relativ spät im Embryo neu gebildet werden. Aus der Darstellung PIERANTONIS geht aber hervor, daß er die echten Bakterien und die Bakteroiden des *Microscolex* nicht auseinandergelassen hat, ja, er identifiziert die von ihm für leuchtend gehaltenen Gebilde mit den Bakteroiden, die aus anderen Oligochäten seit CUÉNOT mehrfach beschrieben wurden. Seine Abbildungen dürften sich mindestens zum Teil tatsächlich auf Bakteroiden beziehen. Nach unseren Erfahrungen ist eine solche Identifizierung keineswegs gestattet, und die nach alledem höchstwahrscheinlich das Leuchten dieses Wurmes bedingenden Stäbchen, die wir oben genauer beschrieben, haben mit den Bakteroiden nichts gemein.

Literaturverzeichnis.

1. Buchner, P.: Studien an intrazellulären Symbionten. Nr. 1: Die intrazellulären Symbionten der Hemipteren. Arch. f. Protistenkunde **26**. 1912. —
2. Ders.: Tier und Pflanze in intrazellulärer Symbiose. Berlin 1921. —
3. Ders.: Tierisches Leuchten und Symbiose. Berlin 1926. —
4. Cerfontaine, P.: Recherches sur le système cutané et sur le système musculaire du Lombric terrestre. Brüssel 1890. —
5. Cuénot, L.: Etudes physiologiques sur les Oligochètes. Arch. de biol. **15**. 1898. —
6. Fränkel, H.: Die Symbionten der Blattiden im Fettgewebe und Ei. Zeitschr. f. wiss. Zool. **129**. 1921. —
7. Kuskop, M.: Bakteriensymbiosen bei Wanzen. Arch. f. Protistenkunde **47**. 1924. —
8. Maziarski, J.: Recherches cytologiques sur les organes segmentaires des vers de terre. Poln. Arch. biol.

med. Wiss. 2. 1905. — 9. **Meisenheimer, J.:** Die Exkretionsorgane der wirbellosen Tiere. *Ergebn. u. Fortschr. d. Zool.* 2. 1910. — 10. **Meyer, K. F.:** The „Bacterial Symbiosis“ in the Concretion Deposits of Certain Operculate Land Mollusks of the Families Cyclostomatidae and Annulariidae. Diss. Zürich 1924. — 11. **Mercier, L.:** Recherches sur les bactéroïdes des Blattides. *Arch. f. Protistenkunde.* 9. 1907. — 12. **Michaelsen, W.:** Oligochaeta. *Tierreich*, Lief. 10. Berlin 1900. — 13. **Petri:** Ricerche sopra i batteri intestinali della *Mosca olearia*. *Mem. d. Reale staz. patol. veg.* Roma 1909. — 14. **Pierantoni, U.:** La fosforescenza e la simbiosi in *Microscolex phosphoreus*. *Boll. d. soc. naturalisti Napoli* 36. 1924. — Ders.: Gli organi simbiotici e la luminescenza batterica dei Cephalopodi. *Pubbl. d. staz. zool. Napoli* 2. 1918. — 17. **Reichenow, E.:** Intrazelluläre Symbionten bei blutsaugenden Milben und Egel. *Arch. f. Protistenkunde* 45. 1922. — 18. **Schneider, K. C.:** Lehrbuch der vergleichenden Histologie der Tiere. Jena. 1902. — 19. **Trojan, E.:** Bakteroiden, Mitochondrien und Chromidien. *Arch. f. mikroskop. Anat.* 93. 1919. — 20. **Vejdovsky, Fr.:** Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen. Prag 1888—92.

Lebenslauf.

Verfasser, Johannes Heinrich Albert Knop, preußischer Staatsangehöriger, evang. Konfession, wurde geboren am 31. Juli 1891 in Körlin (Persante) als Sohn des Sattlermeisters Albert Knop, besuchte von Ostern 1897 bis Herbst 1905 die gehobene Bürgerschule dortselbst. Vom Herbst 1905—1911 war er Schüler der Präparandenanstalt zu Belgard und des Seminars in Köslin. Bis zum Ausbruch des Krieges war er als Lehrer tätig in Buchwalde Kreis Bütow und in Ramelow, Kreis Kolberg-Körlin. Hier erwarb er sich im Herbst 1913 das Zeugnis der Befähigung zur endgültigen Anstellung als Volksschullehrer. Im Weltkrieg trat er als Kriegsfreiwilliger im Fußartillerie-Regiment Nr. 2 ein und machte den Krieg bis zum Ende — als Leutnant der Reserve dieses Regiments — an der Front mit. Nach dem Kriege studierte er zuerst in Hamburg und nach bestandener Ergänzungsprüfung im Frühjahr 1923 in Greifswald.

Seine akademischen Lehrer waren in Hamburg:

Lohmann, Hentschel, Winkler, Irmscher, Klebahn, Pfeffer, Passarge, Schott, A. Schulz, Lütgens, Gürich, Cassirer, Petersen, Stern, Werner, Walter, Rabe, Paneth.

In Greifswald:

Buchner, Just, Buder, Leick, Braun, Jaekel, Krüger, Mauz, Schwarz, Pichler, Jacoby, Schulze-Soelde.