

(Aus dem Zoologischen Institut Breslau.)

STUDIEN AN SYMBIOSEN
ZWISCHEN KÄFERN UND MIKROORGANISMEN.

I. DIE SYMBIOSE DER DONACIINEN (COLEOPT. CHRYSOMEL.).

Von

HANS-JÜRGEN STAMMER.

Mit 16 Textabbildungen (32 Einzelbildern).

(Eingegangen am 12. Februar 1935.)

| | Seite |
|--|-------|
| Einführung | 585 |
| Biologie der Donaciinen | 587 |
| Die symbiontischen Einrichtungen der Donaciinen | 589 |
| Die Imago | 589 |
| Die Übertragung der Symbionten auf die Eier und die larvalen symbiontischen Einrichtungen | 592 |
| Die Infektion der MALPIGHISCHEN Gefäße und das Verhalten des Symbionten in der Puppenlarve und Puppe | 597 |
| Der Formwandel der Symbionten | 602 |
| Vergleich mit bisher bekannten Symbiosen | 604 |
| Zusammenfassung | 606 |
| Literaturverzeichnis | 607 |

Einführung.

Symbiosen mit Mikroorganismen finden wir im Tierreich bei weitem am häufigsten unter den Insekten. In dieser so ungeheuer formenreichen Tiergruppe waren es bisher die Rhynchoten, die sich durch die außerordentliche Mannigfaltigkeit der symbiontischen Einrichtungen auszeichneten, die gewissermaßen das Dorado des Symbioseforschers darstellten. Besitzen doch die allermeisten Angehörigen dieser Insektenordnung intrazelluläre Symbionten; erreicht weiter die Vielgestaltigkeit und die Verwicklung ihrer Symbiosen die höchste Entfaltung unter den Zikaden, bei denen wir Formen mit viererlei Symbionten in nicht weniger als 13 verschiedenen Organen antreffen.

Eine zweite Insektenordnung reiht sich nach den jüngsten Untersuchungen nun aber zumindestens ebenbürtig hinsichtlich der Mannigfaltigkeit der symbiontischen Einrichtungen den Rhynchoten an: die Coleopteren. Zwar wird bei den Käfern die Organisationshöhe der Zikadeneinrichtungen sicher nicht erreicht; vielfach sind die Coleopteren-symbiosen noch ganz an den Darm und seine Anhänge gebunden, stehen also auf verhältnismäßig primitiver Stufe. Doch ist die Mannigfaltigkeit dieser Einrichtungen, ihre starke Abwandlungsmöglichkeit schon nach unseren jetzigen Kenntnissen äußerst groß. Alsdann kommen zu diesen

primitiven Symbiosen eine große Zahl höher entwickelter, in denen die Symbionten eigene Organe im Wirtsorganismus bewohnen, so daß wir die Coleopteren den Rhynchoten als durchaus ebenbürtig an die Seite stellen können. Die Zahl der Arten, die eine Symbiose besitzen, dürfte bei den Coleopteren sogar bei weitem größer sein — besitzen ja schon allein die Rüsselkäfer, die zumeist symbiontenführend sind, über 30000 Arten.

Unter dem angeführten gemeinsamen Obertitel sollen nun diese symbiontischen Einrichtungen der Coleopteren verschiedenster Familien eine eingehendere Darstellung erfahren, soweit sie bisher unbekannt blieben. Je nach der Häufigkeit der Objekte und damit des Materiales wird diese Darstellung bald den gesamten Symbioseablauf während des Individuallebens umfassen können, bald aber auch nur unvollständig bleiben müssen. Als erste Coleopterengruppe wähle ich die Donaciinen, über deren Symbiose ich schon auf dem 10. Internationalen Zoologentag in Padua berichtete, ohne bisher eine ausführliche Darstellung folgen zu lassen.

Doch bevor ich über diese selbst berichte, seien ganz kurz die bisher bei den Coleopteren genauer bekannten Symbiosen erwähnt. Dabei können wir die eigentlichen Pilzzüchter, die Pilze in ihren Gangsystemen kultivieren, außer acht lassen; es sind das die Holzbrütenden Ipiden, die Platypodiden und die Lymexyloniden. Einfachere Endosymbiosen kennen wir bei den Anobiiden, Cerambyciden, Cleoninen und Lagriiden. Stets bewohnen die Symbionten — extra- oder intrazellulär — den Darmtraktus oder besondere ektodermale Einstülpungen und werden durch Beschmierapparate auf die Schale des abgelegten Eies übertragen. Bei den Anobiiden sind es Saccharomyceten, die einen Kranz von Blindsäcken am Anfang des Mitteldarmes der Larve und der Imago intrazellulär besiedeln. Das Weibchen besitzt am Legeapparat 2 Taschenpaare, Intersegmentalsäcke und Vaginaltaschen, die mit Symbionten erfüllt sind. In ähnlicher Weise besiedeln bei den Cerambyciden hefeartige Organismen zahlreiche Blindsäcke am Anfange des Mitteldarmes. Doch besitzen hier nur die Larven diese Blindsäcke, den Imagines fehlen sie. Die Weibchen bergen die Symbionten wieder in einem Paar von Intersegmentaltaschen am Legeapparat, zu denen sich noch symbiontengefüllte Hauteinfaltungen gesellen können; die Männchen sind symbiontenfrei. Nur ein Teil der Cerambyciden besitzt eine Symbiose (nach im Druck befindlichen Untersuchungen SCHOMANNs die *Spondyliini*, *Asemini*, *Saphanini*, *Necydalini*, *Trichomesitini*, *Tillomorphini* und die meisten *Lepturini*), der größere Teil der Familie hat keine symbiontischen Einrichtungen. Ganz ähnlich verhält sich weiterhin die Rüsselkäferunterfamilie der *Cleoninae*. Alle bisher untersuchten Larven tragen am Anfang des Mitteldarmes 4 meist umfangreiche oft vielfach gelappte Säcke, deren Zellen symbiontengefüllt sind. Die Imagines sind symbiontenfrei bis auf die hier besonders muskulösen Intersegmentalspritzen der Weibchen. Die Symbionten selbst sind keine Saccharomyceten, sondern, wie in allen noch weiter zu besprechenden Fällen, Bakterien. Hinsichtlich der Übertragungsweise verhalten sich auch die Lagriiden den besprochenen Gruppen ähnlich. Wieder birgt nur das Weibchen die symbiontischen Bakterien in 2 Taschenpaaren am Geschlechtsapparat, in Intersegmentaltaschen und in Legeapparattaschen, die in der Form und Ausbildung bei den verschiedenen Arten außerordentlich mannigfaltig entwickelt sind. Sehr eigenartig ist dagegen der Sitz der Symbionten in der Larve in 3 mit Chitin ausgekleideten Säckchen, die in den letzten beiden Thorakalsegmenten und im ersten Abdominalsegment liegen. Diese Säckchen entstehen als Hypodermiseinfaltungen während der späten Embryonalentwicklung.

Nicht ganz so zahlreich wie diese einfacheren Endosymbiosen finden wir bei den Käfern solche einer höheren Entwicklungsstufe, wo die Symbionten eigene, im Innern des Tieres liegende Organe, Mycetome, bewohnen. Unter den Cucujiden besitzt die Gattung *Oryzaephilus* 4 im Fettkörper eingebettete Mycetome von kompliziertem Bau, erfüllt mit sehr polymorphen Bakterien. Bei den Lyctiden sehen wir 2 ähnlich gebaute, auch aus Syncytien bestehende Mycetome, die hier jedoch 2 verschiedene Symbionten bergen, einen stärker färbbaren in den außen liegenden und einen schwächer färbbaren in den zentralen Syncytien. In beiden Fällen erfolgt die Übertragung durch Infektion der nahezu reifen Eier. Die Organe der Larve und Imago sind prinzipiell gleich gebaut. Außerordentlich mannigfaltig und erst verhältnismäßig wenig erforscht ist der Bau der Mycetome der Curculioniden (mit Ausnahme der Cleoninen). Bei den Larven finden sich die Mycetome meist als massive, den Darm am Übergang vom Vorder- in den Mitteldarm umziehende Gebilde, die einheitlich sein oder in verschiedene Teile zerfallen können. In anderen Fällen bildet das Mycetom eine unpaare, unter dem Darm an der gleichen Stelle liegende Masse oder ist als Syncytium in die Falte der vorderen Darmvalvula eingelassen. Seltener liegt das Mycetom, aus einem Syncytium oder auch aus verstreuten Zellnestern bestehend, zwischen den Schlingen des Mitteldarmes. Bei den Apioninen sind häufig 2 MALPIGHISCHE Gefäße zu keulenförmigen Mycetomen umgebildet, doch können die Symbionten auch in Zellnestern, die ins Fettgewebe unregelmäßig eingestreut sind, oder in Zellen des Darmfaserblattes liegen oder auf eine umfangreiche Zellmasse im Abdomen beschränkt sein. Nur selten werden diese so mannigfachen Mycetome in die Imago übernommen, zumeist erleiden sie einen weitgehenden Umbau und vielfach auch Abbau. Alle am Anfang des Mitteldarmes liegenden Mycetome werden mit einer Ausnahme, wo sie bestehen bleiben, aufgelockert und in der Imago über den Anfangsteil des Mitteldarmes verteilt. Im Laufe des imaginalen Lebens wird die Zahl der Mycetocyten durch Übertritt in den Darm allmählich mehr oder weniger vermindert. Alle bei den Larven in den Schlingen des Mitteldarmes liegenden Mycetome werden bereits in der alten Larve völlig abgebaut. In die Imago übernommen werden dagegen die keulenförmigen umgebildeten MALPIGHISCHEN Gefäße und die große abdominale Zellmasse der Apioninen, während die in dem Darmfaserblatt liegenden Bakterien der Larve in einzelne Zellen der MALPIGHISCHEN Gefäße übernommen werden. Die Infektion der Eier erfolgt bereits auf einem denkbar frühen Stadium. Es werden die Urgeschlechtszellen beider Geschlechter infiziert. In den jungen Hoden degenerieren die Symbionten, während sie in den Ovarien sich erheblich vermehren, so daß die Eier mit ihnen infiziert sind. Bei einem Teil der untersuchten Curculioniden konnte bisher keine Symbiose nachgewiesen werden.

Das sind unsere bisherigen Kenntnisse über Symbiosen bei Coleopteren, abgesehen von den neuen von mir in letzter Zeit berichteten Fällen, die in weiteren Studien genauer dargestellt dieser Arbeit folgen sollen. Erwähnt mag noch werden, daß Angaben über eine Bakteriensymbiose bei Buprestiden und bei Tenebrioniden (*Tribolium*, *Hypophloeus*) nicht zutreffend sind. In beiden Familien sind bisher keine Symbionten sicher nachgewiesen worden.

Biologie der Donaciinen.

Die Donaciinen sind eine Tribus der Familie *Chrysomelidae*. In Mitteleuropa kennen wir 3 Gattungen, *Donacia* mit ungefähr 20 Arten, *Macrolea* mit 2 und *Plateumaris* mit 6 Arten. Die Imagines leben alle von Blättern von Sumpf- oder Wasserpflanzen; meist ist jede Art streng an eine Wirtspflanze gebunden.

Die Biologie dieser Tiere ist außerordentlich interessant. Die Imagines legen im Frühjahr und Sommer — Zeit und Dauer der Eiablage variiert bei den einzelnen Arten — ihre Eier an die Pflanzen, von denen sie sich nähren, gewöhnlich dicht unter der Wasseroberfläche ab. Vielfach werden die Eier zwischen zwei Blättern oder in Blattscheiden verborgen; sie können auch in das Pflanzengewebe eingesenkt werden. Bald sind sie unregelmäßig an der Pflanze verteilt, bald in regelmäßigen Reihen angeordnet. Die jungen schlüpfenden Larven lassen sich auf den Boden des Gewässers fallen und kriechen dann an die feinsten Wurzeln der Nährpflanze. Die zur Atmung notwendige Luft entnehmen sie den luftgefüllten Interzellularen der Wurzeln, die sie mit ihren dolchartig umgebildeten letzten Stigmen anbohren. Als Nahrung dient ihnen der Saft der Wurzeln, die sie zerbeißen und wohl hauptsächlich aussaugen. Nie findet man größere Pflanzenreste im Darmtraktus vor.

Die Entwicklung der Tiere dauert 2 Jahre, wie ich aus den Größenverhältnissen der nebeneinander gefangenen Larven schließen konnte, und wie Herr GOECKE (Krefeld) mir aus seinen Zuchtversuchen bestätigte. Die bisher meist anzutreffende Angabe, daß die Larve in einem Sommer heranwächst, ist falsch. Der Larvenzustand dauert also ungefähr 1—1½ Jahre. Mit dem Wachstum wandern die Larven allmählich an die stärkeren Teile der Wurzeln; bei manchen Arten finden sich die größeren Larven auch zwischen den Blattspreiten. Hier scheinen sie von dem von den Pflanzen abgeschiedenen Schleim zu leben. Am Ende des 2. Sommers schreiten die Tiere zur Verpuppung. Hierzu fertigen die Larven einen aus einem gleichmäßigen bräunlichen Sekret bestehenden Kokon an. Das Sekret wird, wie ich weiter unten noch genauer ausführen werde, von 2 MALPIGHIEN Gefäßen geliefert. Der Kokon ist wesentlich größer als die Larve und ist mit Luft gefüllt. An der Seite, an der jeder Kokon an der Wurzel oder dem Stengel der Wasserpflanze befestigt ist, wird seine Wand durch 1 oder 2 Löcher unterbrochen, durch die eine Verbindung zu den lufthaltigen Interzellularen der Pflanze besteht. In dem Kokon verharrt die Larve noch einige Zeit, bevor sie sich zur Puppe umbildet. Die Dauer des Puppenzustandes ist meist sehr kurz. Im Herbst bereits schlüpft die Imago. Doch verläßt sie den Kokon in den allermeisten Fällen nicht, sondern überwintert in ihm. Erst im Frühjahr oder Sommer des nächsten Jahres kommt sie aus ihm heraus, indem sie einen kreisförmigen Deckel von ihm absprengt. Die Imagines, teils träge, teils besonders bei Sonnenschein äußerst flüchtige Tiere, leben meist oberhalb der Wasseroberfläche auf den Pflanzen. Manche Arten aber verbleiben ihr ganzes Leben unter Wasser. Hierher gehören besonders die *Macrolea*-Arten, deren Imagines mittels der eigenartig umgebildeten Fühler die von der Pflanze aufsteigenden Sauerstoffbläschen aufsaugen und so ihre Atemluft gewinnen.

Das Material für die vorliegende Untersuchung sammelte ich in der weiteren Umgebung von Breslau. Eier erhielt ich in Mengen von in Aquarien gehaltenen Exemplaren der *Donacia semicuprea* oder ich holte sie im Freien an *Nymphaea alba*, an deren Blätter *Donacia crassipes* die Eier ablegt. Eine Reihe von Larven und Imagines verdanke ich weiterhin Herrn H. GOECKE (Krefeld), dem ich auch hier meinen besten Dank aussprechen möchte.

Die symbiontischen Einrichtungen der Donaciinen.

Die Imago.

Der Sitz der Symbionten in der Imago ist ein recht ungewöhnlicher: sie sind vollständig auf die MALPIGHISCHEN Gefäße beschränkt. Wie alle Chrysomeliden besitzen die Donaciinen 6 MALPIGHISCHE Gefäße.

Diese sind jedoch nicht gleichartig gestaltet; 4 von ihnen münden gemeinsam in eine kleine harnblasenartige Anschwellung an der Grenze von Mittel- und Enddarm, schon im Bereiche des Enddarmes liegend. Sie führen von hier vielfach gewunden bis an den Anfang des Mitteldarmes und wenden sich dann zurück-

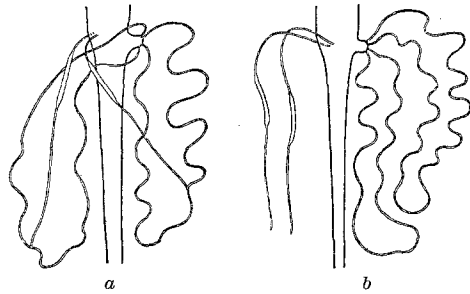


Abb. 1. Schema des Verlaufes der MALPIGHISCHEN Gefäße bei a *Donacia* und b *Plateumaris*.

laufend wieder dem Enddarm zu; hier vereinigen sich je 2 von ihnen, eine Schlinge bildend. Im Gegensatz zu allen andern Chrysomeliden liegen diese Schlingen frei in der Leibeshöhle, dem Enddarm zwar dicht angeschmiegt, aber nicht unter seiner Tunica propria, zwischen der Muscularis und dem Darmepithel eingebettet. Ich führte schon an anderer Stelle diese abweichenden Verhältnisse auf die aquatile Lebensweise der Tiere zurück. Die beiden restlichen Gefäße münden ganz unabhängig von den 4 ersten in den Enddarm, der Harnblase ungefähr gegenüberliegend, voneinander um ein Viertel des Darmumfangs getrennt. Sie sind wesentlich kürzer als die 4 Gefäße und umziehen in zahlreichen Schlingen nur den Enddarm. Bei den *Donacia*-Arten enden sie dann blind; bei den *Plateumaris*-Arten gehen die Enden in die beiden von je 2 langen Gefäßen gebildeten Schlingen über (Abb. 1).

Diese beiden kurzen Gefäße geben nun auch den Symbionten ihren Wohnsitz, der beim Männchen und Weibchen verschieden stark entwickelt ist. Beim Weibchen schwellen sie in einiger Entfernung von ihrer Einmündung plötzlich auf das Dreifache ihrer Dicke an, um nach kürzerem oder längerem Verlauf ebenso schnell wieder abzuschwellen und die normale Gestalt wieder anzunehmen. Diese Anschwellung der

MALPIGHISCHEN Gefäße ist bei allen untersuchten Arten hellorangerot gefärbt und fällt beim Präparieren der Tiere sofort auf. Sie bildet den Wohnsitz zahlloser Bakterien. Ihre Länge ist bei den einzelnen Arten verschieden und ist auch innerhalb der einzelnen Art gewissen Schwankungen unterworfen; sie variiert oft sogar bei den beiden Organen des gleichen Tieres. Dieses symbiontische Organ ist nun je nach seiner Länge ent-

weder U-förmig (z. B. bei *Donacia semicuprea*, *Plateumaris rustica*) oder in den meisten Fällen S-förmig in Schlingen gelegt (Abb. 2 und 3).

Bei den meisten von mir untersuchten Arten besitzt nur das Weibchen diese Organe; dem Männchen

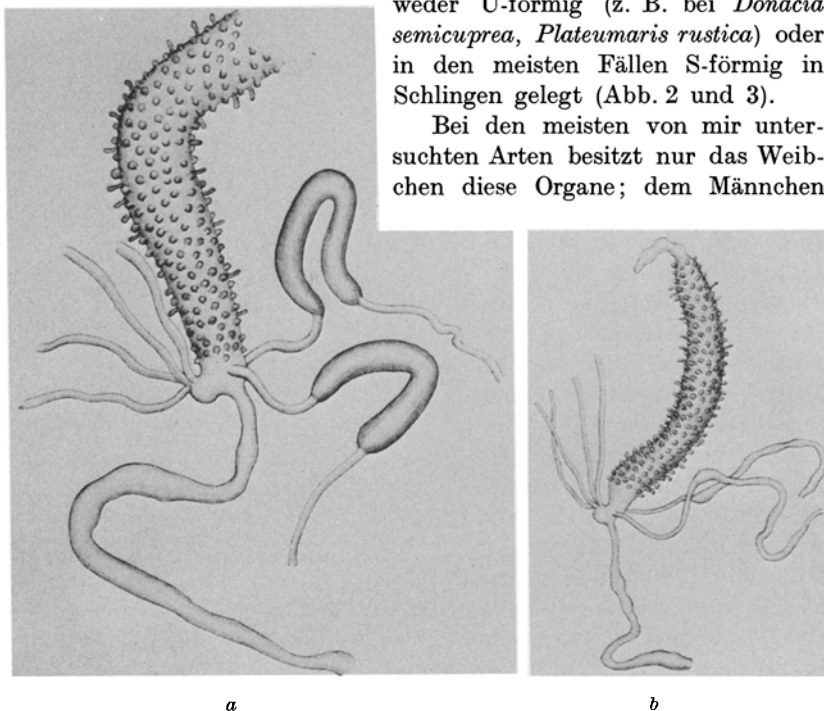


Abb. 2. *Donacia semicuprea*. Darmtraktus und MALPIGHISCHE Gefäße, a vom Weibchen, b vom Männchen.

fehlen sie völlig. Vielfach ist allerdings an der gleichen Stelle der MALPIGHISCHEN Gefäße eine leichte Erweiterung zu erkennen, doch ist diese völlig bakterienfrei. Bei 1 *Plateumaris*- und 3 *Donacia*-Arten besitzen aber auch die Männchen Organe; diese sind jedoch außerordentlich klein und unauffällig. Aus der folgenden Tabelle ist die Größe der Organe bei beiden Geschlechtern und ihr Fehlen oder Vorhandensein beim Männchen der von mir untersuchten Arten zu ersehen.

Aus der Tabelle geht hervor, daß die *Donacia*-Arten, die im weiblichen Geschlecht die längsten Organe haben, auch beim Männchen Organe aufweisen. (*Donacia tomentosa* hatte ich nur als ♂ zur Verfügung; das einzige ♀, das ich besaß, verendete vor der Präparation und war zur Messung ungeeignet.) Alle Arten, deren durchschnittliche Organlänge

beim Weibchen unter 6 mm liegt, sind im männlichen Geschlecht symbiontenfrei. Abweichend hiervon verhält sich *Plateumaris sericea*, deren

Organe beim Weibchen nur 3—3,8 mm lang sind, die aber trotzdem auch als Männchen Organe besitzt. Doch ist gerade bei dieser Art eine gewisse Unregelmäßigkeit fest-

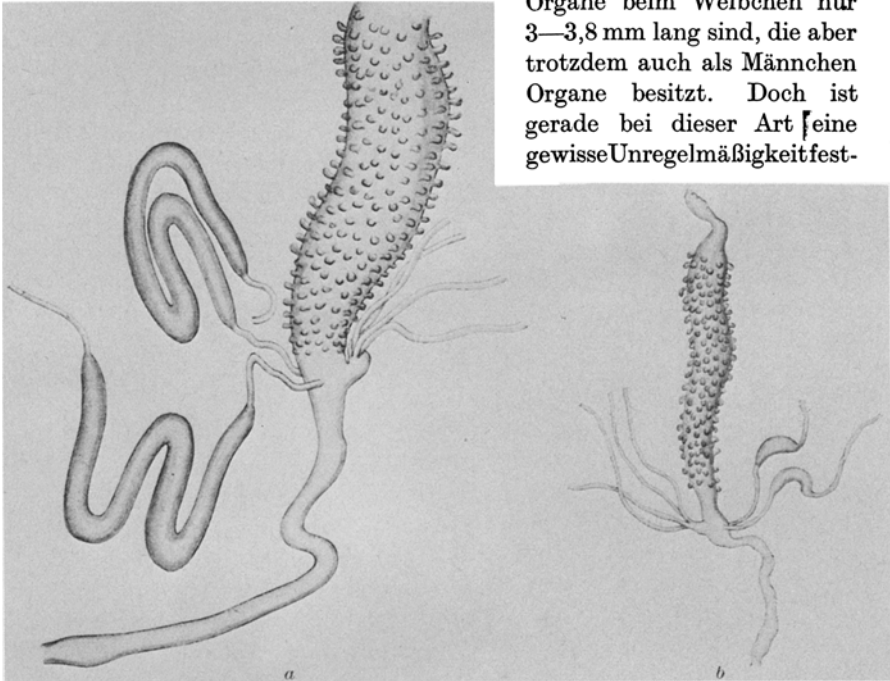


Abb. 3. Darmtraktus und MALPIGHISCHE Gefäße, a bei einem Weibchen von *Donacia crassipes*, b bei einem Männchen von *Plateumaris sericea*.

zustellen. Denn bei einzelnen Männchen fehlen die Organe bis auf bakterienlose Erweiterungen, wie wir sie auch bei den im männlichen Geschlecht symbiontenfreien *Donacia*-Arten finden, während sie bei anderen Männchen vorhanden sind (Abb. 3b).

Histologisch erweisen sich die MALPIGHISCHEN Gefäße im Bereich der symbiontischen Organe weitgehend verändert. Die Zellen sind außerordentlich vergrößert und vollständig mit Bakterien erfüllt, so daß vom Protoplasma selbst kaum etwas zu bemerken ist. Die Zellkerne liegen ganz an der Basis der Zellen (Abb. 4).

| Art | Organlänge in mm | |
|--------------------------------------|------------------|---------|
| | beim ♀ | beim ♂ |
| <i>Donacia crassipes</i> FABR. . . . | 6—7,5 | 0,7—0,8 |
| „ <i>dentata</i> HOPPE | 7 | 0,9 |
| „ <i>tomentosa</i> AHR. . . . | + | 0,8 |
| „ <i>bicolora</i> ZSCHACH. . . . | 5,7—6,3 | — |
| „ <i>simplex</i> FABR. . . . | 4,8—6,8 | — |
| „ <i>marginata</i> HOPPE | 4 —4,2 | — |
| „ <i>cinerea</i> HERBST. . . . | 3,8—5,5 | — |
| „ <i>semicuprea</i> PANZ. . . . | 3,2—4,2 | — |
| „ <i>impressa</i> PAYK. . . . | 2,5 | — |
| „ <i>vulgaris</i> ZSCHACH. . . . | 3,8—5 | — |
| <i>Plateumaris sericea</i> L. . . . | 3 —3,8 | 0,3—0,5 |
| „ <i>rustica</i> KUNZE | 2 —2,9 | — |

Die Übertragung der Symbionten auf die Eier und die larvalen symbiontischen Einrichtungen.

Schon der Umstand, daß die symbiontischen Organe sich nur oder hauptsächlich beim Weibchen finden, legt die Vermutung nahe, daß wir in ihnen die Übertragungsorgane sehen müssen, die dafür zu sorgen haben, daß die Nachkommenschaft infiziert wird. Tatsächlich fehlen

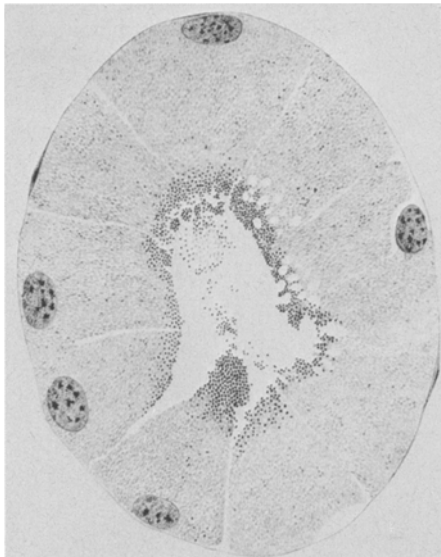


Abb. 4. *Donacia semicuprea*. Querschnitt durch den symbiontenbesetzten Teil eines MALPIGHISCHEN Gefäßes.

den Donaciinen jegliche andere Übertragungseinrichtungen am Legeapparat, wie wir sie sonst bei Insekten finden, die Symbiosen am oder im Darmtraktus besitzen in Form von Intersegmental-, Legeapparat- und Vaginaltaschen oder -spritzen oder besonderen Enddarmausackungen.

Beim legereifen Weibchen bemerken wir nun noch einige Veränderungen an den Mycetocyten der MALPIGHISCHEN Gefäße. Die ursprünglich länglichen Bakterien nehmen nach dem Lumen der Gefäße hin eine kürzere Gestalt an und werden schließlich kurz oval bis kugelförmig. In diesem Zustand färben sie sich auch intensiv. Sie treten in das Lumen der Gefäße aus (Abb. 4),

gelangen von hier in den Darm und sind im Enddarm dann in großen Mengen anzutreffen.

Die Eier der Donaciinen werden bei der Ablage von einem schaumartigen, im Wasser sofort erstarrenden Sekret umgeben. Dieses Sekret wird in der Vagina selbst gebildet; besondere Anhangsdrüsen zu seiner Abscheidung sind nicht entwickelt. In dieses Sekret wird nun ein Haufen der im Enddarm der Tiere befindlichen Bakterien abgegeben, aber nicht derart, daß sich die Bakterien gleichmäßig auf die ganze Sekretschicht verteilen, sondern so, daß sie an einer ziemlich scharf umschriebenen Stelle, auf den das Tier zuletzt verlassenden oberen Eipol abgelegt werden und hier beschränkt bleiben. Dieser Bakterienhaufen ist schon am lebenden Ei im durchfallenden Licht bei schwacher Vergrößerung als weißlich undurchsichtiger Fleck leicht zu erkennen (Abb. 5 und 6)¹.

¹ HENKING (1892) und FRIEDERICH (1906) haben diesen Bakterienhaufen bereits gesehen und als „eine starke Ansammlung von stark mit Hämatoxylin färbbaren Körnchen“ beschrieben und auch abgebildet.

Die das Ei umgebende Sekrethülle ist elastisch und außerordentlich dauerhaft. Ich habe noch im August die leeren Sekrethüllen der im Mai und Juni geschlüpften Eier in Mengen beim Suchen der Larven im Wasser erhalten gefunden. Die junge Larve muß sich daher beim Schlüpfen durch das Sekret hindurchfressen. Sie liegt nun vor dem Schlüpfen mit dem Kopf am oberen Eipol direkt unter dem Bakterienhaufen. Beim Hindurchfressen durch das Sekret nimmt nun die Larve gleichzeitig den gesamten Bakterienhaufen mit in sich auf (Abb. 5b). So ist in einfacher, aber außerordentlich zweckentsprechender Weise die Übertragung der Bakterien auf die Larve gewährleistet.

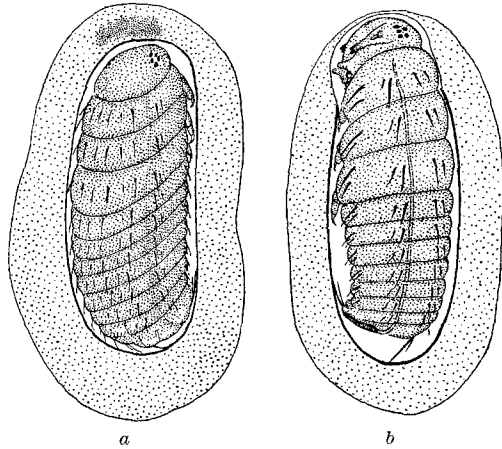


Abb. 5. *Donacia semicuprea*. a vollentwickelte Larve im Ei vor dem Durchbrechen der Sekrethülle. Der Symbiontenhaufen liegt über dem Kopf der Larve. b Larve während des Durchfressens der Sekrethülle; der Symbiontenhaufen ist gerade verzehrt.

Wo ist nun der larvale Sitz der Symbionten? HIRSCHLER untersuchte früher (1907, 1909) die Embryonalentwicklung von *Donacia crassipes* und stellte fest, daß sich am Anfang des Mitteldarmes in eigenartiger Weise 4 Blindsäcke bilden. Ich schildere hier kurz, seinen Ausführungen folgend, die Bildung dieser Blindsäcke, die ich nicht noch einmal selbst verfolgt habe. „An jungen *Donacia*-Embryonen sehen wir an dem noch flach eingestülpten Stomodäum, von seiner unteren Seite, eine aus ziemlich großen, hell gefärbten Zellen zusammengesetzte Anhäufung liegen. Ein Teil dieser Zellmasse lockert sich auf und seine Elemente gehen in den Dotter über, während ein anderer, nämlich dieser, welcher am blinden Stomodäalende liegt, auf seiner früheren Stelle beharrt und auch nach

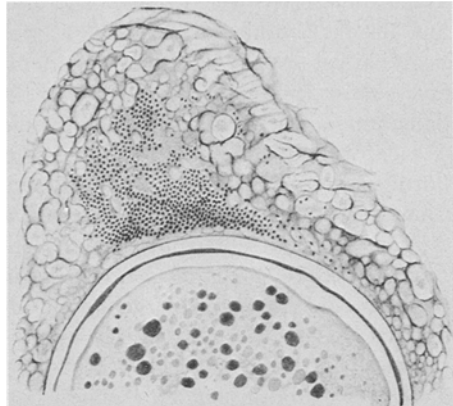


Abb. 6. *Donacia semicuprea*. Längsschnitt durch den oberen Pol eines eben abgelegten Eies mit dem Symbiontenhaufen im Sekret.

vorgeschrittenem Längenwachstum der Mundeinstülpung immer am Ende dieser anzutreffen ist. Gleichzeitig mit dem Längenwachstum des Stomodäums verändert die ihm anliegende Zellmasse allmählich ihre Gestalt; von einer unpaarigen geht sie in einen paarig gebauten Körper über, welcher aus 2 zu beiden Seiten des Stomodäalendes gelegenen Zellanhäufungen, sowie aus einer medianen, diese verbindenden dünnen Zellschicht besteht. Im Laufe der weiteren Entwicklung ziehen sich beide seitlich gelegenen Zellanhäufungen in die Länge aus und nehmen eine spindelförmige Form an, wobei sie eine kurze Strecke hinter das blinde Stomodäalende ragen. Auf diesem Stadium sind sie samt Stomodäum von außen mit splanchnischem Mesoderm bedeckt. Eine jede dieser spindelartigen Zellanhäufungen durchschnürt sich nächstens der Länge nach in zwei ungleiche Zellmassen, welche miteinander durch eine Kommissur in Verbindung bleiben. Wir treffen nun auf diesem Stadium zu jeder Seite des Stomodäums 2 Zellmassen eine kleinere, abgerundete, welche sich dem blinden Ende anschmiegt, und eine größere, eiförmige, welche mehr nach hinten zu liegen kommt. Wie schon früher gesagt wurde, verbindet beide primär spindelartig ausgezogene Partien des Suboesophagalkörpers eine mediane Zellschicht. Diese beharrt nun auch weiter und verbindet jetzt die dem Stomodäalende zu beiden Seiten angeschmiegteten Zellenmassen. Alle 4 Zellenmassen sind also durch eine Zellschicht verbunden, welche uns das Mitteldarmepithel darstellt, wobei ich nur kurz andeuten will, daß es bei *Donacia* durchweg entodermaler Herkunft ist. Alle 4 Zellenmassen, welche jetzt wie Auftreibungen aussehen, bekommen auf älteren Stadien je ein Lumen, welches durch einschichtiges Epithel begrenzt ist und einstweilen mit dem Mitteldarm nicht kommuniziert; erst später treten die Lumina aller 4 blasigen Gebilde mit dem Mitteldarmlumen in Verbindung. An noch älteren Stadien finden wir nur 4 sackförmige, in den Mitteldarm einmündende Gebilde, die bald ein körniges Gerinnsel abzuschneiden beginnen und dadurch ihren drüsigen Charakter zutage legen. Kurz gesagt, wir haben bei *Donacia*-Embryonen 2 Paare von Mitteldarmdrüsen. Solche Verhältnisse weisen auch junge Larven 3 Tage nach der Entschlüpfung auf; ob diese Drüsen dauernd bleiben oder nur vorübergehende Organe darstellen, mag einstweilen unentschieden bleiben, denn es stehen mir ältere Larven nicht zur Verfügung“ (HIRSCHLER 1909, S. 767—769). HIRSCHLER hält weiterhin diese 4 Darmblindsäcke für leberartige Mitteldarmdrüsen; er homologisiert sie mit den gleichen Organen bei Crustaceen. In Wahrheit sind sie die Wohnsitze der Symbionten in der Larve.

Präpariert man eine junge geschlüpfte Larve, so findet man sogleich die von HIRSCHLER beschriebenen Blindsäcke; zwei sind etwas kleiner als die beiden anderen; alle liegen bereits kranzartig um den Anfang des Mitteldarmes herum angeordnet (Abb. 7). Untersucht man

die Blindsäcke von schlüpfreifen, noch im Ei befindlichen Larven auf Schnitten, so stellt man fest, daß sie noch uninfiziert sind, daß sie noch keine Bakterien enthalten. Die sie aufbauenden Zellen sind ziemlich klein; sie besitzen einen großen Kern und stark vakuolisiertes Plasma (Abb. 8a). Untersucht man dagegen die Blindsäcke einer geschlüpften Larve, so bietet sich ein ganz anderes Bild. Die Blindsackzellen sind stark aufgequollen, ihr Plasma ist erfüllt von den kugelig ovalen, stark färbbaren Bakterien, die beim Durchfressen der Sekretschicht des Eies aufgenommen wurden. Diese Aufnahme der Bakterien in die Zellen der Blindsäcke (Abb. 8b) erfolgt außerordentlich schnell. In einem zeitlich genau verfolgten Fall waren die Zellen innerhalb 45 Min. fast so stark infiziert, wie es Abb. 8b zeigt. Ob die Blindsackzellen die Bakterien nach Art der Phagozyten aufnehmen, konnte mit Sicherheit nicht entschieden werden.

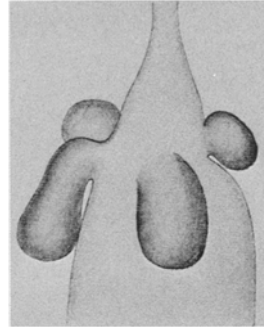


Abb. 7. *Donacia semicuprea*. Die ungleich großen Blindsäcke einer eben geschlüpften Larve.

Mit dem Wachstum der Larven wachsen die 4 Blindsäcke gewaltig



Abb. 8. *Donacia semicuprea*. Anfang des Mitteldarmes mit 2 Blindsäcken im Längsschnitt von a einer Larve direkt vor dem Schlüpfen, b kurz nach dem Schlüpfen.

heran. In der erwachsenen Larve sind es außerordentlich umfangreiche Gebilde geworden (Abb. 9). Sie stellen dann 4 ungleich große, breite, sehr flache, etwas gefaltet-gelappte Säcke dar, die einen großen Teil des Thorax und der ersten Abdominalsäcke einnehmen. Mit dem

Darm stehen sie nur durch einen dünnen Kanal in Verbindung. Bei allen untersuchten Larven der verschiedenen *Donacia*-Arten war Bau und Aussehen der Säcke der gleiche (*Donacia semicuprea*, *crassipes*, *vulgaris*, *dentata*). Dagegen zeigten

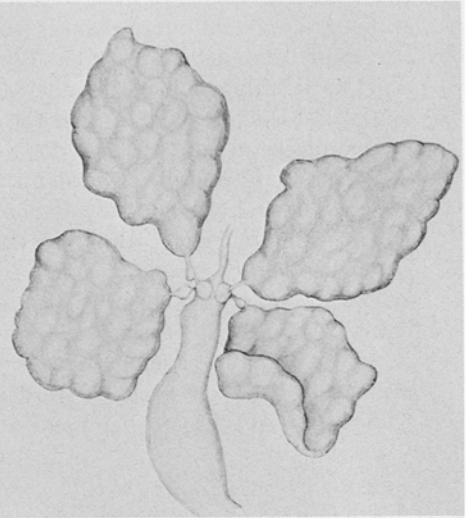


Abb. 10. *Plateumaris sericea*.
Die 4 Mitteldarmblindsäcke einer älteren Larve.

Abb. 9. *Donacia semicuprea*. Darmtraktus einer erwachsenen Larve mit den 4 großen symbiontengefüllten Blindsäcken. Die dunkel gehaltenen Anfangsteile der 2 größeren MALPIGHISCHEN Gefäße sind gleichfalls mit Symbionten infiziert.

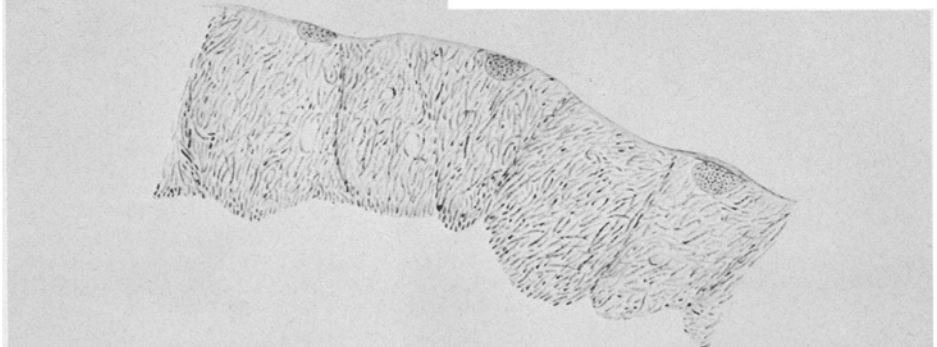


Abb. 11. *Donacia semicuprea*. Querschnitt durch die Wandung eines Mitteldarmblindsackes.

sich einige kleine Unterschiede bei den Larven von *Plateumaris sericea* (die ich neben einigen *Donacia*-Larven Herrn H. GOECKE verdanke).

Hier zeigten die Blindsäcke stärkere Lappungen und Buckelungen als bei den *Donacia*-Arten. Außerdem war an der Einmündung der Kanäle in den Mitteldarm stets eine kleine Ausbauchung des Mitteldarmes festzustellen (Abb. 10).

Histologisch gleichen die Zellen der Mitteldarmblindsäcke weitgehend den schon geschilderten der Organe der MALPIGHISCHEN Gefäße in der Imago. Die Kerne liegen an der Zellbasis. Die Zellen sind vollständig erfüllt von Bakterienmassen, die hier lange, mehr oder weniger parallel laufende Fäden darstellen. Die Zellgrenzen sind oft nur schwer erkennbar (Abb. 11).

Die Infektion der MALPIGHISCHEN Gefäße und das Verhalten der Symbionten in der Puppenlarve und Puppe.

Es liegt nahe, anzunehmen, daß die Besiedlung der MALPIGHISCHEN Gefäße erst in der Puppe erfolgt, und zwar gleichzeitig mit der Rückbildung der larvalen Mitteldarmblindsäcke, die der Imago ja fehlen. Das ist jedoch nicht der Fall. Bei frisch geschlüpften Larven und solchen bis zu 4 mm Größe sind die MALPIGHISCHEN Gefäße allerdings noch stets symbiontenfrei. Aber dann erfolgt früher oder später ihre Infektion. Eine ganz bestimmte Zeit oder Größe der Larve scheint für diese Infektion nicht festgesetzt zu sein; meist dürfte sie bei 4—6 mm Größe der Larve erfolgen; selten fand ich über 7 mm große Larven mit vollständig symbiontenfreien Gefäßen und nie ganz erwachsene ohne jede Symbionten. Durch einzelne aus den Mitteldarmblindsäcken herabwandernde Bakterien werden die gleichen MALPIGHISCHEN Gefäße infiziert, die in der Imago die Organe besitzen, aber es wird eine Region besiedelt, die dem Mitteldarm etwas näher liegt als die der Imago. Dabei ist besonders eigenartig, daß auch die Gefäße männlicher Larven infiziert werden selbst bei den Arten, deren männliche Imagines symbiontenfrei sind. Mit der Größe der Larven nimmt auch die Zahl und Größe der mit Bakterien besiedelten Zellen zu. In Abb. 9 ist die besiedelte Zone der Gefäße durch dunklere Tönung gekennzeichnet. Auf Schnitten ist erkennbar, daß die Zellen bereits stark mit Bakterien erfüllt sind, jedoch bei weitem nicht in dem Maße wie in den imaginalen Organen. Die Symbionten liegen einzeln oder zu wenigen vereint in Vakuolen eingeschlossen im Plasma der nur mäßig vergrößerten Zellen. Nur der allererste dünne Anfangsteil der Gefäße in einer Länge von ungefähr 1 mm ist unbesiedelt. Unmittelbar an diesen unbesiedelten Anfangsteil schließen sich die symbiontegefüllten Zellen an (Abb. 12a).

Die beiden symbiontenbesetzten MALPIGHISCHEN Gefäße weisen aber noch eine weitere Eigentümlichkeit auf. Sie sind bei der erwachsenen Larve doppelt so dick wie die übrigen 4 Gefäße. Ihre Kerne besitzen zahlreiche Verzweigungen und Fortsätze (Abb. 12c). Das Zellplasma ist von Vakuolen durchsetzt und das Lumen der Gefäße ist von großen

Sekretschollen erfüllt. Die beiden gesondert mündenden MALPIGHISCHEN Gefäße sind Drüsenorgane; sie liefern das zum Kokonbau nötige Sekret. Ebenso unvermittelt, wie die symbiontengerfüllte Zone am Anfang der Gefäße beginnt, geht sie auch in die Sekretzellen über. Es stoßen die Mycetocyten mit ihren rundlichen Kernen unmittelbar an die mit lappigen Kernen versehenen Sekretzellen an (Abb. 12b).



Abb. 12. *Donacia semicuprea*. Längsschnitt durch den symbiontengerfüllten Teil der MALPIGHISCHEN Gefäße einer Larve, *a* am Beginn des Gefäßes mit dem Übergang der nicht-infizierten Anfangszellen zu den infizierten, *b* am Ende des infizierten Teiles mit dem Übergang zu den Sekretzellen, *c* Schnitt durch eine sekretorische Zelle aus dem Endteil des Gefäßes mit stark verzweigtem Kern.

In der Literatur sind hier und da Angaben zu finden, daß das Sekret des Kokons der *Donacia*-Puppen von den MALPIGHISCHEN Gefäßen gebildet wird; doch hier fehlen noch genauere Angaben. Der einzige, der sich eingehender über den Kokonbau äußert, ist BÖVING in seiner Arbeit über die *Donaci*enlarven. Aber gerade er glaubt, daß das Sekret zum kleineren Teile aus den Hautdrüsen, zum größeren durch 4 umfangreiche Speicheldrüsen ausgeschieden werde. Seine 4 Speicheldrüsen sind jedoch die 4 symbiontengerfüllten Mitteldarmblindsäcke, die mit der Bildung des Kokons nicht das Geringste zu tun haben.

Wenn eine Larve zur Verpuppung schreiten will, so ist das schon äußerlich an ihr zu erkennen. Sie ist kürzer und gedrungen, die Cuticula

erscheint überall straff gespannt, sie ist glänzend und weiß. Der Darm solcher Tiere ist von dem aus den 2 MALPIGHISCHEN Gefäßen ausgetretenen Kokonsekret erfüllt. Bei einigen Tieren, die während des Kokonbaues gestorben waren, fand ich den Mittel- und Enddarm vollständig erfüllt von dem nach dem Tode erhärteten Sekret. Es ist keinem Beobachter bisher gelungen, den Bau des Kokons selbst zu beobachten, da die Larven nur unter völlig ungestörten Verhältnissen zu diesem Bau schreiten. Nach der Anfertigung des Kokons ruht die Larve noch geraume Zeit, bis sie sich in die Puppe umwandelt. Solche im Kokon ruhende Larven nenne ich „Puppenlarven“.

In den Puppenlarven vollziehen sich nun die stärksten Umwandlungen: In ihnen entstehen die ganzen pupalen Organe, die in sehr vielen Punkten bereits denen der imaginalen entsprechen. Verfolgen wir zunächst das Schicksal des Darmes und der Mitteldarmblindsäcke in einer solchen Puppenlarve. Schon bei der erwachsenen Larve, die kurz vor dem Kokonbau steht, kann man feststellen, daß die Mitteldarmblindsäcke um ein geringes an Größe abgenommen haben. Die Rückbildung der Säcke wird bei der Puppenlarve ganz langsam und stetig weitergeführt. Gleichzeitig setzt die Bildung des neuen imaginalen Darmes ein. Die larvalen Darmzellen werden ins Innere des Darmes abgestoßen, das Darmlumen ist mit Zelltrümmern erfüllt. Die Blindsäcke haben allmählich schon ein Drittel ihrer ursprünglichen Größe eingebüßt. Zwischen den Zelltrümmern im Darm lassen sich nun zu dieser Zeit stets außerordentlich große Mengen von Bakterien nachweisen; es sind kleine lebhaft bewegliche Stäbchen. Man könnte zunächst glauben, daß es sich um Symbionten handelt, die aus den sich rückbildenden Blindsäcken auswandern. Das ist jedoch nicht der Fall; ein derartiges Auswandern habe ich niemals feststellen können. Färberisches Verhalten, Größe und Aussehen der Darmbakterien ist grundverschieden von dem der Symbionten. Es handelt sich vielmehr um normale Darmbakterien, die in dem Augenblick, wo weder der gerade abgestoßene larvale Darm noch der sich bildende imaginale Darm funktionsfähig ist, außerordentlich stark wuchern. Kurze Zeit darauf beginnt bereits der imaginale Darm seine Tätigkeit. Die Zellreste des larvalen Darmes werden zum Teil resorbiert, alle unverdaulichen Reste werden in den Enddarm abgegeben, dessen Endteil zu einer großen mit bräunlich-zähflüssigem Kot gefüllten Blase anschwillt, die bei der Häutung zur Puppe mit abgestoßen wird. Der Mitteldarm der Larve ist zu dieser Zeit von einer Flüssigkeit erfüllt; er enthält keine Bakterien mehr, auch in der Kotmenge sind diese in größerer Zahl nicht nachzuweisen. Die Blindsäcke sind auf die Hälfte ihrer ursprünglichen Größe zusammengefallen.

Die Rückbildung der Mitteldarmblindsäcke ist recht eigenartig. Sie schrumpfen zunächst mehr und mehr in sich zusammen, so daß im

Innern kaum noch ein Lumen zu erkennen ist. Die Symbionten in ihren Zellen sind lange, fädige Gebilde, die zusehends degenerieren. Sie bestehen aus stärker färbaren Partien, die mit sich kaum färbenden abwechseln. Die stärker färbaren Teile sind in ihrer Form außerordentlich unregelmäßig, bald kugelig, bald eckig (Abb. 16a). Diese Fäden treten aus den Blindsackzellen aus und liegen zentral im zusammengesunkenen Blindsack (Abb. 13a). Hier beginnen sie zu zerfallen, die schwächer färbaren Teile lösen sich auf, die stärker färbaren treten zu unregelmäßigen Schollen zusammen. Bisweilen werden sie im Anfang auch kugelig aufgetrieben (Abb. 13a). In diesem Zustand werden die Blindsäcke in die Puppe übernommen. Trotzdem bis zu diesem

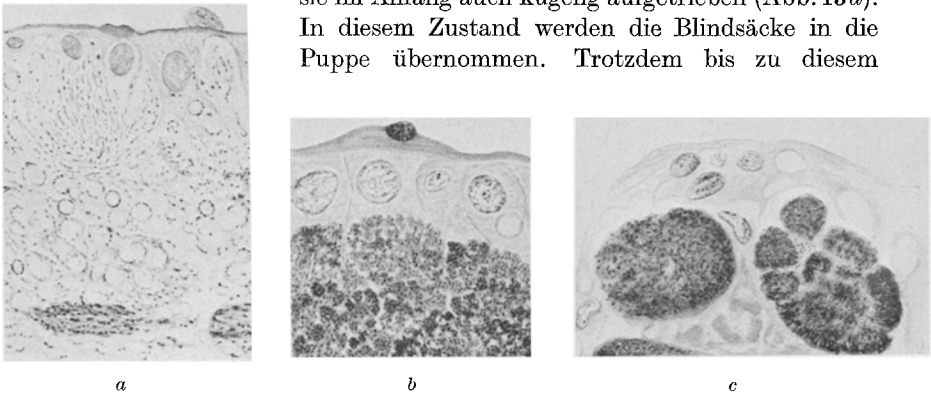


Abb. 13. *Donacia semicuprea*. Die Rückbildung und Histolyse der larvalen Blindsäcke, a Ausstoßung der degenerierenden Symbionten ins Innere des Sackes bei einer Puppenlarve, b und c Auflösung der Symbionten und der Säcke in der Puppe.

Zeitpunkt die Verbindung mit dem Mitteldarm noch vorhanden ist, treten niemals Symbionten oder Symbiontenbruchstücke in den Mitteldarm über. In der Puppe schreitet die Rückbildung und Auflösung der Säcke weiter vor. Die Bakterienreste bilden eine mehr oder weniger homogene Masse, die von den Kernen und Plasmaresten der ehemaligen Blindsackzellen umgeben ist. Umhüllt wird dieser Blindsackrest noch von der hier durch die Verkleinerung der Säcke deutlich hervortretenden Muskulatur (Abb. 13b). Schließlich lösen sich Muskulatur und Zellreste auf; die Bakterienreste zerfallen in Schollen, die resorbiert werden (Abb. 13c). Der ganze Vorgang der Rückbildung ist ein rein histolytischer. Phagozytose habe ich nie bei ihm feststellen können.

Gleichzeitig mit der Rückbildung und dem Zusammensinken der Blindsäcke vollzieht sich in der Puppenlarve aber auch die Bildung der imaginalen Symbiontenorgane. Wie wir oben gesehen haben, sind bei älteren Larven in beiden Geschlechtern die Anfangsteile der beiden Gefäße, die das Kokonsekret liefern, mit Symbionten besetzt. Nach der Kokonbildung sind diese Gefäße, die vorher prall mit Sekret gefüllt waren, stark zusammengefallen, und ihr Lumen enthält nur noch Sekretreste und Zelltrümmer. Bei den weiblichen Larven vermehrt

sich zu dieser Zeit die Zahl der Symbionten außerordentlich, auch die Zahl der befallenen Zellen wird größer. Wohl durch Vermehrung der Zellzahl des nicht infizierten Anfangsteiles der Gefäße wird die symbiontengefüllte Zone weiter distalwärts in das Gefäß verlagert. Ein Umladen der Symbionten in andere Zellen habe ich nicht beobachten können. Bei der Puppenlarve, die unmittelbar vor der Verwandlung in die Puppe steht, ist im wesentlichen bereits das imaginale Organ gebildet.

Auch bei den männlichen Larven sind die Gefäße infiziert. Bei den Arten nun, deren Männchen als Imagines symbiontenfrei sind, degenerieren die Symbionten in der Puppenlarve. Diese Degeneration, die recht schnell erfolgen muß — ich habe

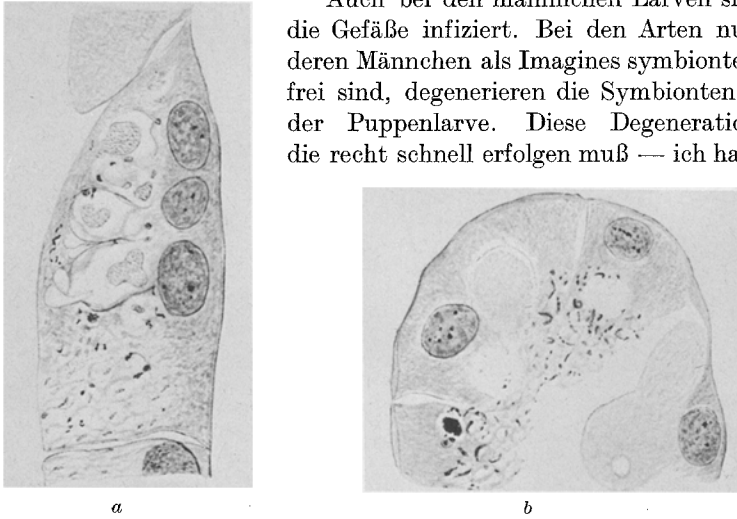


Abb. 14. *Donacia vulgaris*. Degeneration und Auflösung der Symbionten in den MALPIGHISCHEN Gefäßen einer männlichen Puppenlarve.

sie nur bei einem Exemplar von *Donacia vulgaris* auf Schnitten deutlich erfassen können —, vollzieht sich ganz ähnlich wie in den Mitteldarmblindsäcken. Zum Teil sind die Bakterien in den Zellen stark aufgetrieben (Abb. 14a). Zum Teil zerfallen sie wieder in größere oder kleinere unregelmäßig geformte Stücke, die sich stark färben und hier und da zu größeren Brocken zusammenfließen (Abb. 14b). Dieser Bakterienschutt wird dann in das Lumen der Gefäße ausgestoßen.

Bildet sich endlich aus der Puppenlarve die Puppe, so sind in ihr die symbiontischen Verhältnisse nahezu die gleichen wie in der Imago. Die Blindsäcke sind bis auf kleine im Fettgewebe liegende Reste, die keine Verbindung mit dem Darm mehr besitzen, geschwunden. Sie werden dann noch, wie ich es oben schon schilderte, völlig resorbiert. Bei den männlichen Puppen sind die MALPIGHISCHEN Gefäße frei von Symbionten, sofern sie bei der Imago auch symbiontenlos sind. Bei den weiblichen Puppen sind die Organe wie bei der Imago ausgebildet, nur sind die einzelnen Zellen noch geringer besiedelt, daher ist das Organ dünner und unauffälliger als bei der Imago; doch ist auch die Färbung bereits die gleiche.

Der Formwandel der Symbionten.

Über den zweiten Partner der Symbiose, die Bakterien, habe ich bisher nur wenig gesagt. Sie zeigen entsprechend den verschiedenen Alters- und Entwicklungsstufen ihres Wirtes ganz außerordentlich verschiedene Formen. Ein solcher Formwechsel der Symbionten, der im

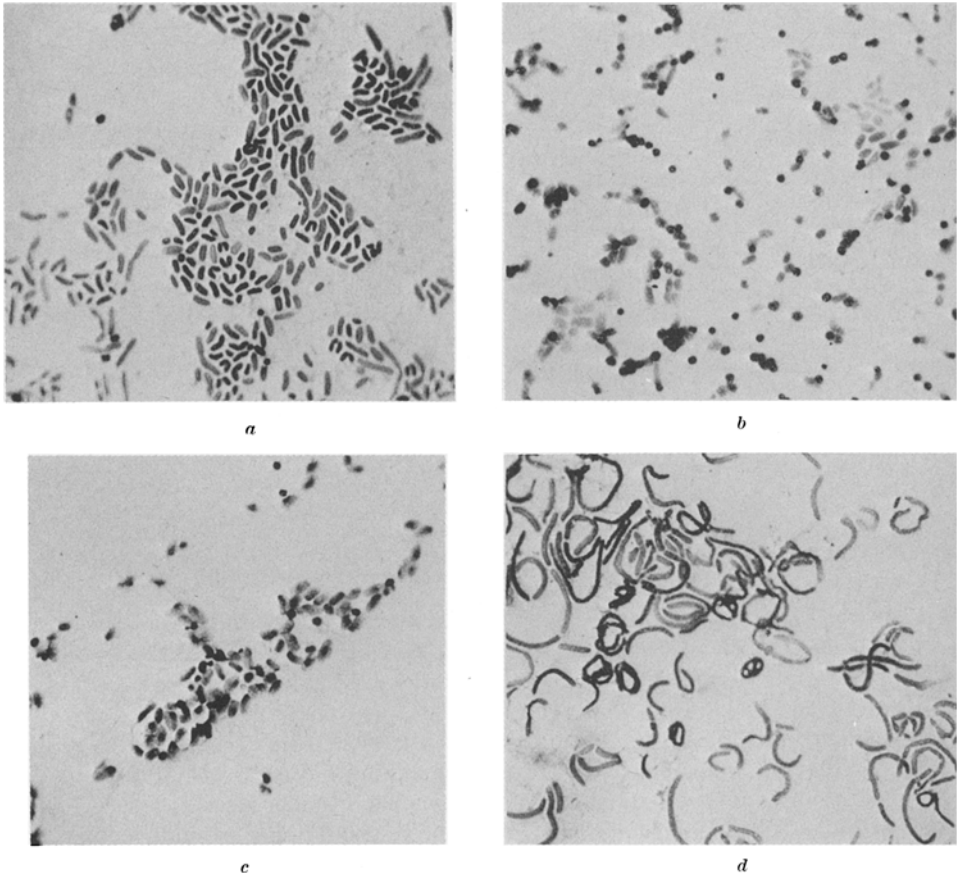


Abb. 15. *Donacia semicuprea*. Symbiontenausstrich aus *a* dem Organ eines mittelalten Weibchens, *b* dem Organ eines legerreifen Weibchens, *c* den Blindsäcken einer seit 12 Stunden geschlüpften Larve, *d* den Blindsäcken einer 4 mm großen Larve.

Zusammenhang mit der Entwicklung des Wirtes steht, ist in den letzten Jahren in zahlreichen Fällen aufgedeckt worden. Bei den Donaciinen ist er besonders stark ausgeprägt.

In den Organen der MALPIGHISCHEN Gefäße sind die Bakterien breite, gedrungene Stäbchen von durchschnittlich 3—4 μ Länge und 0,75—1 μ Breite. Ihre Form ist oft unregelmäßig; bald sind sie breiter,

nahezu flächig, sich schwach färbend, bald gedrungener und schmal, sich intensiv färbend (Abb. 15a). Wie ich schon oben schilderte, entstehen im legereifen Weibchen aus diesen Stäbchen die Übertragungsformen, kurz-ovale bis kugelige Gebilde, die in Mengen im Lumen der MALPIGHISCHEN Gefäße und im Enddarm zu finden sind. Sie werden

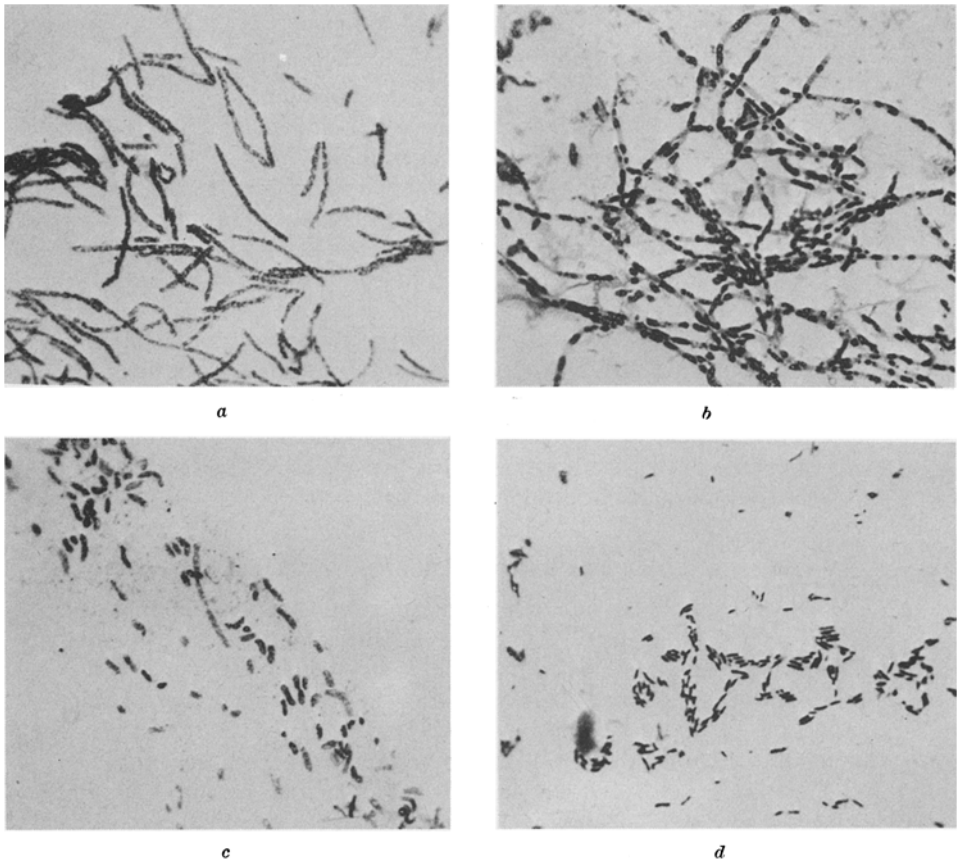


Abb. 16. *Donacia semicuprea*. Symbiontenausstriche aus *a* den Blindsäcken einer 7,5 mm großen (erwachsenen) Larve, *b* den Blindsäcken einer Puppenlarve, *c* dem Organ einer Puppe, *d* und Darmbakterien einer Puppenlarve.

in das das Ei umgebende Sekret abgelagert und von der schlüpfenden Larve aufgenommen. In den Zellen der Blindsäcke beginnen sie alsbald zu längeren Schläuchen auszuwachsen. Abb. 15c zeigt einen Ausstrich der Blindsäcke einer Larve, die ungefähr 12 Stunden geschlüpft war. Deutlich ist bei einzelnen Bakterien das Auswachsen zu breiten Stäbchen zu erkennen. Mit dem Wachstum der Larven nehmen auch die Stäbchen mehr und mehr an Länge zu. Abb. 15d zeigt Bakterien aus

den Blindsäcken einer 4 mm großen Larve; es sind längere, ganz gleichmäßig sich färbende Schläuche. In älteren Larven werden sie weiterhin länger (Abb. 16a); sie sind dann erfüllt von kleinen Körnchen, die sich stärker färben. Diese Schläuche fallen dann bei der Puppenlarve der Auflösung anheim, wie ich es oben schon genauer schilderte. Abb. 16b zeigt einen Ausstrich aus den Blindsäcken einer Puppenlarve, die gerade den Kokon gebildet hat. Der Zerfall der Schläuche in stark gefärbte, ganz unregelmäßig geformte und schwach sich färbende Partien ist deutlich zu sehen.

Die Symbionten in den MALPIGHISCHEN Gefäßen der Larven sind gleichfalls längere Schläuche, ähnlich denen in den Blindsäcken jüngerer Larven. Sie zerfallen bei der Ausbildung der Imaginalorgane in der jüngeren Puppe in kürzere Stäbchen, die denen der Imago gleichen. Einen solchen Ausstrich mit einzelnen langen Schläuchen und zahlreichen kürzeren Stäbchen aus einer jungen Puppe zeigt Abb. 16c. In Abb. 16d sind die schon früher geschilderten Darmbakterien wiedergegeben, die zur Zeit der Abstoßung des larvalen Darmepithels in Mengen in der Puppenlarve auftreten. Sie haben mit den Symbionten nichts zu tun; Form und färberisches Verhalten ist bei ihnen vollkommen anders.

Bei allen untersuchten Donaciinen ist sowohl die Gestalt und Färbbarkeit wie der Formwechsel der Symbionten der gleiche. Auch hinsichtlich der Größe bestehen keine nennenswerte Unterschiede.

Vergleich mit bisher bekannten Symbiosen.

Wenn wir die Symbiose der Donaciinen mit anderen Symbiosen, besonders bei Coleopteren, vergleichen, so lassen sich neben zahlreichen Ähnlichkeiten ebenso viele Eigengesetzlichkeiten und bisher unbekannte Züge aufweisen. Das zeigt schon der imaginale Sitz der Symbionten und ihre Übertragung. Die Besiedelung der MALPIGHISCHEN Gefäße mit Symbionten ist schon in einzelnen Fällen bekannt. So werden sie z. B. bei den Ixodiden und den Apioninen beschrieben. Bei den Apioninen sind entweder einzelne Zellen der imaginalen Gefäße von Bakterien bewohnt (*Aspidapion aeneum* und *Perapion violaceum*), oder 2 Gefäße sind sowohl in der Larve wie in der Imago zu kleinen keuligen Mycetomen umgebaut. Aber in allen diesen Fällen stellen die MALPIGHISCHEN Gefäße den eigentlichen Wohnsitz der Symbionten dar, die durch Infektion jugendlicher Eizellen übertragen werden. Bei den Donaciinen sind die symbiontischen Organe dagegen nur Übertragungsorgane, oder besser Bildungsorgane der Übertragungsformen, denn die eigentliche Übertragung und Abgabe der Symbionten vollzieht ja der Enddarm. Sie fehlen daher auch im männlichen Geschlecht oder sind zum mindesten nur gering entwickelt. Daß das Männchen symbiontenlos wird, ist schon von einer Anzahl von Fällen bekannt, z. B. bei den

Lagriiden, den Cleoninen und den Cerambyciden. Wir können die Organe der Donaciinenweibchen am besten in Parallele stellen zu den Ausstülpungen verschiedenster Art, die wir am Mitteldarm zahlreicher Tephritiden unter den Trypetiden finden. Allerdings haben diese Fliegen außerdem noch besondere bakteriengefüllte Übertragungsrinnen am Enddarm entwickelt.

Die Vereinigung des abgelegten Eies mit den Symbionten erfolgt bei nahezu allen Insektensymbiosen, bei denen die Symbionten den Darmtraktus oder dessen Anhänge bewohnen. Handelt es sich bei den Symbionten um Bakterien, so dringen diese in den meisten Fällen früher oder später durch die Mikropyle in das Ei ein und infizieren den Embryo (Hemipteren, Trypetiden, Lagriiden). Der andere Weg der Aufnahme der Symbionten in die Larve besteht darin, daß das Tier beim Schlüpfen einen Teil der Eischale mitsamt den Symbionten aufrißt. Das geschieht sofern die Symbionten Hefen sind (Anobiiden, Cerambyciden), gelegentlich aber auch bei Bakterien (Cleoninen). Diese zweite Aufnahmeweise der Symbionten stellen wir auch bei den Donaciinen fest. Hier ist sie aber auch ganz besonders vervollkommenet. Die Symbionten gelangen eingelagert in ein das Ei umgebendes Sekret nur an eine eng umschriebene Stelle am oberen Eipol, und diese ganze Symbiontenmasse wird dann von der schlüpfenden Larve aufgenommen.

Blindsäcke am Beginn des Mitteldarmes sind besonders bei den Larven bevorzugte Wohnsitze der Symbionten; wir finden solche z. B. bei den Anobiiden, Cerambyciden, Cleoninen und Trypetiden. Bemerkenswert ist, daß diese Blindsäcke schon vor der Aufnahme der Symbionten während der Embryonalentwicklung angelegt werden. Ob sie nun primär vorhanden waren oder ob sie sich erst infolge der Erwerbung von Symbionten ausgebildet haben und dann später vorausschauend angelegt wurden, läßt sich natürlich nicht sicher entscheiden. Für das letztere scheint mir die Tatsache zu sprechen, daß bei allen anderen Chrysomeliden, die keine Symbiose besitzen, derartige Blindsäcke fehlen. Auch in anderen Gruppen werden solche Mitteldarmblindsäcke bereits vor der Besiedelung angelegt; auch hier läßt sich ihre erste Entstehungsweise nicht klären (Anobiiden, Cerambyciden, Cleoninen). Sicher dagegen werden bei den Trypetiden schon ursprünglich vorhandene Blindsäcke sekundär als Symbiontenwohnsitz benutzt. Mir scheinen beide Möglichkeiten — schon vorhandene Blindsäcke werden besiedelt oder infolge der Erwerbung der Symbiose werden erst solche gebildet — bei den verschiedenen Insektengruppen verwirklicht zu sein.

Ein recht eigenartiger und isoliert stehender Vorgang ist die Einschmelzung der Blindsäcke. Eine in dieser Form erfolgende Beseitigung der Symbionten ist sonst noch nicht bekannt. Sofern in anderen Gruppen den Imagines die Mitteldarmblindsäcke fehlen, werden diese während

der Verpuppung in den Darm ausgestoßen und hier die Symbionten entweder aufgelöst oder aber den sich bildenden Übertragungsorganen zugeleitet. Der Einschmelzung bei den Donaciinen vergleichbare Vorgänge finden sich eigentlich nur bei den Mycetomen der Pediculidenmännchen und mancher Curculioniden. Bei den Männchen der Pediculiden degenerieren die Symbionten in den Mycetomen völlig. Bei den Rüsselkäfern, die als Larven die Mycetome zwischen den Schlingen des Darmes führen, werden diese schon in den älteren Larven durch Phagocytose beseitigt. Eine Auflösung so umfangreicher Symbiontenwohnstätten auf histolytischem Wege, wie ich sie hier bei den Donaciinen beschrieb, ist also ein in der Symbiose neuartiger Vorgang.

Warum führen nun die Donaciinen Symbionten? Diese Frage können wir heute noch nicht genauer beantworten, wenn auch durch die Versuche von ASCHNER, RIES und KOCH in einzelnen Fällen gezeigt worden ist, daß die Symbionten lebensnotwendige vitaminähnliche Stoffe für ihre Wirte liefern. Aber wir können die Symbiose der Donaciinen in Parallele stellen zu denen der pflanzensaftsaugenden Homopteren und Hemipteren. Wie ich schon anfangs ausführte, sind die Donaciinenlarven reine Pflanzensaftsauger, die aus zerkleinerten Wurzelstücken den Saft auspressen und aufnehmen oder ihn aus Wunden aussaugen. Alle Autoren, die sich mit der Biologie der Donaciinen beschäftigten, betonen, daß sie niemals feste Nahrungsbestandteile im Darm der Larven gefunden haben; auch ich kann diese Beobachtung nur bestätigen.

Zurückschauend stellen wir fest, daß uns die Symbiose der Donaciinen neben bekannten Zügen zahlreiche neue Möglichkeiten der Einordnung des symbiontischen Organismus in den Wirt und seinen Lebenszyklus offenbart. Die außerordentliche Plastizität des Tierkörpers, die für das Zustandekommen der so mannigfachen symbiontischen Erscheinungen notwendig ist, tritt uns hier besonders auffällig entgegen.

Zusammenfassung.

1. Alle untersuchten Donaciinen besitzen eine Bakteriensymbiose. Bei den Weibchen finden sich an 2 der 6 MALPIGHISCHEN Gefäße starke hellorangerot gefärbte in U- oder S-förmige Schlingen gelegte Anschwellungen: die Wohnsitze der Symbionten. Die Zellen der Gefäße sind hier stark vergrößert und mit Bakterien völlig erfüllt.

2. Den Männchen fehlen die symbiontischen Organe vielfach ganz. Bei den Arten, deren Weibchen sehr stark entwickelte Organe zeigen, weisen die Männchen sie nur in rudimentärem Zustand auf.

3. Die symbiontischen Organe der Weibchen sind Bildungsorgane der Übertragungsformen der Bakterien. Diese treten in den Enddarm über. Das Ei wird bei der Ablage mit einem schaumig erstarrenden

Sekret umgeben. In dieses Sekret wird an einer eng umschriebenen Stelle am oberen Eipol ein Haufen Symbionten abgelagert.

4. Die im Sekret liegende Symbiontenmasse wird von der schlüpfenden Larve vollkommen aufgefressen. Der larvale Sitz der Symbionten sind 4 sehr stark heranwachsende Blindsäcke am Anfange des Mitteldarmes. Sie werden bereits beim Embryo angelegt, werden aber erst während des Schlüpfens infiziert. Später sind ihre Zellen vollkommen von den Bakterien erfüllt. Die Infektion der beiden MALPIGHISCHEN Gefäße erfolgt bei mittelalten Larven beider Geschlechter.

5. Zur Verpuppung bilden die Larven aus dem Sekret der gleichen Gefäße, die die Symbionten beherbergen, einen Kokon. In den im Kokon ruhenden Larven vollzieht sich die Umwandlung der larvalen symbiontischen Einrichtungen in die imaginalen. Die 4 Blindsäcke werden auf histolytischem Weg beseitigt; ihre letzten Reste lösen sich in der Puppe auf. Die Organe der MALPIGHISCHEN Gefäße werden in der weiblichen Larve gebildet; sofern das Männchen keine Symbionten besitzt, degenerieren die Bakterien in den MALPIGHISCHEN Gefäßen, ihre Reste werden ausgestoßen.

6. Die symbiontischen Bakterien erfahren während des Lebensablaufes ihres Wirtes einen gesetzmäßigen, außerordentlich starken Formwandel.

7. Neben zahlreichen Ähnlichkeiten zu den bisher bekannten Symbiosen weist die Symbiose der Donaciinen ebenso viele Eigengesetzlichkeiten auf: insbesondere der Sitz der Organe der Imago in den MALPIGHISCHEN Gefäßen, die außerordentlich zweckmäßige Art der Übertragung der Symbionten auf das Ei und die besondere Art der Rückbildung der larvalen Blindsäcke. Die Donaciinensymbiose läßt sich in Parallele stellen zu der der Homopteren und Hemipteren. Beide Tiergruppen leben ausschließlich von Pflanzensäften.

Literaturverzeichnis.

- Aschner, M.:** Experimentelle Untersuchungen über die Symbiose der Kleiderlaus. *Naturwiss.* **20**, 501—505 (1932). — **Aschner, M. u. E. Ries:** Das Verhalten der Kleiderlaus bei Ausschaltung ihrer Symbionten. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **26**, 529—590 (1933). — **Böving, A. G.:** Natural History of the larvae of *Donaciinae*. *Internat. Rev. d. Hydrobiol.* **I. s. Suppl. 3**, 1—108 (1910). — **Breitsprecher, E.:** Beiträge zur Kenntnis der Anobiidensymbiose. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **11**, 495—538 (1928). — **Buchner, P.:** Tier und Pflanze in Symbiose, 2. Aufl., 900 S. 1930. — Symbiontengestalt und Wirtsorganismus. *Arch. ital. Zool.* **16**, 1380—1387 (1931). — Studien an intrazellulären Symbionten. VII. Die symbiontischen Einrichtungen der Rüsselkäfer. *Z. Morph. u. Ökol. Tiere* **26**, 709—777 (1933). — **Deibel, J.:** Beiträge zur Kenntnis von *Donacia* und *Macrolea* unter besonderer Berücksichtigung der Atmung. *Zool. Jb., Abt. Anat.* **31**, 107—160 (1910). — **Gambetta, L.:** Ricerche sulla simbiosi ereditaria di alcuni coleotteri xilofagi. *Ric. Morf. e Biol. anim.* **1**

(1928). — **Heitz, E.:** Über intrazelluläre Symbiose bei holzfressenden Käferlarven. I. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 7, 279—305 (1927). — **Hirsehler, J.:** Über leberartige Mitteldarmdrüsen und ihre embryonale Entwicklung bei *Donacia* (Coleoptera). Zool. Anz. 31, 766—770 (1907). — Die Embryonalentwicklung von *Donacia crassipes*. Z. Zool. 92, 627—744 (1909). — **Kiefer, H.:** Der Einfluß von Kälte und Hunger auf die Symbionten der Anobiiden- und Cerambycidenlarven. Zbl. Bakter. II. Abt. 86, 260—268 (1932). — **Koch, A.:** Die Symbiose von *Oryzaephilus surinamensis* L. (Cucujidae, Coleoptera). Z. Morph. u. Ökol. Tiere 23, 389—424 (1931). — Über das Verhalten symbiontenfreier Sitodreparlarven. Biol. Zbl. 53, 199—203 (1933). — Über künstlich symbiontenfrei gemachte Insekten. Verh. dtsh. zool. Ges. 1933, 143—150. — **Ries, R.:** Die Symbiose der Läuse und Federlinge. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 20, 233—367 (1931). — Endosymbiose und Parasitismus. Z. Parasitenkde 6, 339—349 (1933). — **Scheinert, W.:** Symbiose und Embryonalentwicklung bei Rüsselkäfern. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 27, 76—128 (1933). — **Stammer, H. J.:** Die Symbiose der Lagriiden (Coleoptera). Z. Morph. u. Ökol. Tiere 15, 1—34 (1929). — Die Bakteriensymbiose der Trypetiden (Diptera). Z. Morph. u. Ökol. Tiere 15, 481—523 (1929). — Die Bakteriensymbiose der Donaciinen (Chrysomelidae, Coleoptera). Arch. ital. Zool. 16, 1397—1406 (1931). — Neue Symbiosen bei Coleopteren. Verh. dtsh. zool. Ges. 1933, 150—155. — Bau und Bedeutung der MALPIGHISCHEN Gefäße der Coleopteren. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 29, 196—217 (1934). — **Friederichs, K.:** Untersuchung über die Entstehung der Keimblätter und die Bildung des Mitteldarms bei Käfern. Abh. Leop.-Carol. Akad. Naturf. 85, 259—398 (1906). — **Henking, H.:** Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten. Z. Zool. 54, 1—275 (1892).
