



Det här verket har digitaliserats vid Göteborgs universitetsbibliotek och är fritt att använda. Alla tryckta texter är OCR-tolkade till maskinläsbar text. Det betyder att du kan söka och kopiera texten från dokumentet. Vissa äldre dokument med dåligt tryck kan vara svåra att OCR-tolka korrekt vilket medför att den OCR-tolkade texten kan innehålla fel och därför bör man visuellt jämföra med verkets bilder för att avgöra vad som är riktigt.

This work has been digitized at Gothenburg University Library and is free to use. All printed texts have been OCR-processed and converted to machine readable text. This means that you can search and copy text from the document. Some early printed books are hard to OCR-process correctly and the text may contain errors, so one should always visually compare it with the images to determine what is correct.



KUNGL. LANTBRUKSSTYRELSEN.

Meddelanden från Statens undersöknings- och försöksanstalt för sötvattensfisket. N:r 9.
(Mitteilungen der Anstalt für Binnenfischerei bei Drottningholm, Stockholm.)

UNTERSUCHUNGEN

ÜBER

DIE URSACHE DER IN SCHWEDEN

GENGEGENWÄRTIG VORKOMMENDEN

KREBSPEST

VON

ORVAR NYBELIN



FÖRTECKNING ÖVER KUNGL. LANTBRUKSSTYRELSENS FISKERIPUBLIKATIONER.

(Meddelanden från Kungl. Lantbruksstyrelsen.)

1891. *Alexander Krüger*. Berättelse till Kgl. Lantbruksstyrelsen för åren 1889—1890 från fiskeriagenturen i Berlin. Nr 4.
- *) 1893. *Filip Trybom*. Ringsjön i Malmöhus län, dess naturförhållanden och fiske. Nr 13.
1895. *Filip Trybom*. Lyngern jämte Sundsjön, Stensjön och St. Svansjön i Älvsborgs och Hallands län. Nr 20. Pris kr. 0:30.
1895. *Filip Trybom*. Sjöarna Noen och Valen i Jönköpings län. Nr 26.
- *) 1896. *Filip Trybom*. Sjön Bunn i Jönköpings län. Nr 31.
1897. *Filip Trybom*. Berättelse om en för fiskeristudier till Tyskland och Österrike sommaren 1896 företagen resa. Nr 40. Pris kr. 0:30.
- *) 1898. *Einar Lönnberg*. Undersökningar rörande Öresunds djurliv. Nr 43. Pris kr. 0:50.
1899. *Einar Lönnberg*. Fortsatta undersökningar rörande Öresunds djurliv. Nr 49. Pris kr. 0:25.
- *) 1899. *Filip Trybom*. Sjön Nömmen i Jönköpings län. Nr 50. Pris kr. 0:50.
- *) 1899. *Rudolf Lundberg*. Om svenska insjöfiskarnas utbredning. Nr 58. Pris kr. 1:—.
1900. *Einar Lönnberg*. Om de kaspiska fiskerierna. Nr 61. Pris kr. 0:50.
1901. *Filip Trybom*. Bexhedasjön, Norrasjön och Näsbyssjön i Jönköpings län. Nr 76. Pris kr. 0:50.
1902. *Einar Lönnberg*. Undersökningar rörande Skeldervikens och angränsande Kattgatt-områdes djurliv. Nr 80. Pris kr. 0:50.
1904. *Alf Wollebæk*. Om Mörrums- och Ätraåarnas laxfiske. Nr 94. Pris kr. 0:20.
1905. *Thorsten Ekman*. Undersökningar över flodpärlmusslans förekomst och levnadsförhållanden i Ljusnan och dess tillflöden inom Härjedalen. Nr 110. Pris kr. 0:20.
1906. *Carl Schmidt*. Studier över fiskvägar m. m. Reseberättelse. Nr 119. Pris kr. 0:75.
1907. *O. Nordqvist*. Undersökning av kräftor från sjön Rottnen. Nr 128. Pris kr. 0:25.
1908. *Thorsten Ekman*. Vassbuksfisket i Finland och Estland. Reseberättelse. Nr 136. Pris kr. 0:25.
1910. *Carl Schmidt*. Studier över fiskvägar, fiskodlingsanstalter m. m. Reseberättelse. Nr 150. Pris kr. 0:50.
1910. *Filip Trybom*. Undersökningar rörande svenska laxförande vattendrag. I Viskan. Nr 156, pris kr. 1:—.
1910. *Thorsten Ekman* och *Carl Schmidt*. Undersökningar rörande svenska laxförande vattendrag. II. Motala ström. Nr 157. Pris kr. 0:30.
1911. *O. Nordqvist*, *Th. Ekman* och *C. Schmidt*. Undersökningar rörande svenska laxförande vattendrag. III. Dalälven. Nr 163. Pris kr. 1:—.
1914. *Ivar Arwidsson*. Spridda studier över vanliga kräftan. Nr 192. Pris kr. 0:30.
1915. Fiskeribyran. Undersökningar rörande Sveriges fiskerier, fiskar och fiskevatten. Nr 195. Pris kr. 0:50.

*) Upplagan slut.

KUNGL. LANTBRUKSSTYRELSEN.

Meddelanden från Statens undersöknings- och försöksanstalt för sötvattensfisket. N:r 9.
(Mitteilungen der Anstalt für Binnenfischerei bei Drottningholm, Stockholm.)

UNTERSUCHUNGEN

ÜBER

DIE URSACHE DER IN SCHWEDEN
GEGENWÄRTIG VORKOMMENDEN

KREBSPEST

VON

ORVAR NYBELIN



INHALTSÜBERSICHT.

	Seite
Vorwort	3
I. Frühere Untersuchungen über die Ursache der Krebspest	4
II. Eigene Untersuchungen.	
1. Bakteriologische Vorversuche	7
Zusammenfassung	17
2. Untersuchungen über in der Natur erkrankte Krebse	17
3. Experimentelle Untersuchungen über <i>Aphanomyces astaci</i> SCHIKORA	20
III. Bemerkungen zu früheren Auffassungen über die Ursache der Krebspest in Mitteleuropa	27
Svensk resumé	29
Schriftenverzeichnis	29

Seit einer Reihe von Jahren bin ich, von der K. Landwirtschaftsdirektion beauftragt, mit Untersuchungen über die in Schweden jetzt vorkommende, als Krebspest allgemein bezeichnete Seuche beschäftigt. Diese Untersuchungen mussten leider aus verschiedenen Gründen ab und zu abgebrochen und beiseite geschoben werden und sind noch nicht in allen Punkten abgeschlossen. Da aber der erste Abschnitt derselben, nämlich die Untersuchungen über die Ursache der Seuche, bereits seit einiger Zeit zu Ende geführt ist, habe ich es als geboten angesehen, die wichtigsten Ergebnisse schon jetzt zu veröffentlichen.*

Als diese meine Untersuchungen schon abgeschlossen und ihre Ergebnisse zum Teil zusammengefasst vorlagen, erschien eine überaus wertvolle Arbeit von SCHÄPERCLAUS (1935) über das gleiche Thema. Trotzdem in meiner Darstellung hierdurch vieles überflüssig gemacht wurde, haben wir doch die Probleme von so verschiedenen Ausgangspunkten her behandelt, dass ich es für berechtigt erachte, meine Ergebnisse im ursprünglich geplanten Umfange zu veröffentlichen.

Da ich mich früher mit mykologischen Untersuchungen nie beschäftigte, und es sowohl für allzu zeitraubend als auch für die Zuverlässigkeit der Ergebnisse dieser für die Praxis so überaus wichtigen Frage weniger angebracht ansah, ein für mich neues Wissenschaftsgebiet zu betreten, habe ich den zweiten Abschnitt dieser Untersuchungen, die Morphologie und Biologie des als Krankheitserreger festgestellten *Aphanomyces*-Pilzes, einem Pilzspezialisten, Herrn Fil. lic. E. RENNERFELT, überlassen, der diese Fragen unter meiner Leitung und zum Teil in meinem Laboratorium bearbeitet hat. Seine Ergebnisse liegen schon im Manuskript vor und werden in diesen »Mitteilungen« demnächst erscheinen.

In einer künftigen Arbeit beabsichtige ich, die Ansteckungs- und Verbreitungsmöglichkeiten, sowie die damit zusammenhängenden praktischen Folgerungen über Vorbeugung und Bekämpfung der Krankheit eingehender zu behandeln.

* Vorläufige Berichte hierüber sind schon in der schwedischen Fischereizeitung »Ny Svensk Fiskeritidskrift« (NYBELIN 1931 und 1934), sowie in der »Fischereizeitung« (NYBELIN 1935 a) veröffentlicht worden.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, allen Jenen zu danken, die meine Untersuchungen in dieser oder jener Richtung gefördert haben: den Mitgliedern des Städt. Gesundheitsamtes zu Göteborg für den zur Verfügung gestellten Arbeitsplatz im Bakt. Laboratorium, dem Vorstand dieses Laboratoriums, Herrn Med. Dr. A. WASSÉN und seinen Assistenten, die meine Arbeit stets bereitwilligst mit Rat und Tat unterstützten, dem inzwischen verstorbenen Leiter der Aquarienanlage des Seefahrtsmuseums zu Göteborg, Herrn Dr. H.J. ÖSTERGREN, für die leihweise Beistellung der nötigen Versuchsaquarien, dem Vorstand der Staatl. Veterinär bakteriologischen Anstalt zu Stockholm, Herrn Professor S. WALL, für die Überlassung von als Vergleichsmaterial wertvollen Bakterienstämmen, allen jenen Fischereibeamten, die durch Einsenden von pestkranken Krebsen aus verseuchten Gewässern das nötige Untersuchungsmaterial lieferten, und schliesslich meinem Freund, Herrn Dr. Phil. ERICH FURREG, Wien, der, wie so oft früher, die sprachliche Durchsicht auch des vorliegenden Manuskripts besorgte.

I. FRÜHERE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE URSACHE DER KREBSPEST.

Das seuchenartige Krebssterben, das sich seit den Siebzigerjahren des vorigen Jahrhunderts von Frankreich aus ostwärts über fast ganz Europa verbreitet hat und allgemein Krebspest benannt wurde, erweckte natürlich bald ein reges Interesse für seine Ursache. Da zu dieser Zeit die normale Parasitenfauna des Krebses noch wenig erforscht und demzufolge so gut wie unbekannt war, entdeckte man immer wieder neue epizoisch oder parasitisch lebende Organismen, welche der Reihe nach als Krebspesterreger angesprochen wurden, sich aber bei näherer Prüfung an grösserem Material als mehr oder weniger harmlose Schmarotzer erwiesen, die höchstens bei einzelnen Individuen Krankheit oder Tod verursachen können. Ausser tierischen Organismen wurden auch pflanzliche Parasiten als Erreger verdächtigt; so vor allem von dem berühmten Helminthologen RUDOLF LEUCKART und unabhängig von ihm auch von O. HARZ in München, welche in befallenen Krebsen Saprolegniaceen fanden, die von ihnen als primäre Krankheitserreger gedeutet wurden. In den Neunzigerjahren wurde von mehreren Seiten versucht, das Krebssterben auf die Wirksamkeit krebspathogener Bakterien zurückzuführen, eine wissenschaftlich fundierte diesbezügliche Theorie wurde aber erst vom Begründer der modernen Fischpathologie, BRUNO HOFER in München, aufgestellt, der

im Jahre 1898 aus pestkranken Krebsen einen Spaltpilz reinzüchtete, den er als Erreger der Krankheit betrachtete und deshalb mit dem Namen *Bacterium pestis astaci* belegte. Durch zahlreiche Beobachtungen und Experimente erbrachte HOFER anscheinend völlig bindende Beweise für die Richtigkeit seiner Ansicht.

Wenige Jahre später legte F. SCHIKORA (1903) eine von dieser ganz abweichende Erklärung der Krankheitsursache vor. Er meinte nämlich, die Erkrankung sei auf die Anwesenheit eines streng parasitären Fadenpilzes, *Aphanomyces astaci*, zurückzuführen, der die weichen Hautpartien der Krebse, und zwar besonders jene der Gelenke angreift, und der sich von dort aus bis zur darunterliegenden Muskulatur verbreitet. Gegenüber dem als primären Krankheitserreger betrachteten *Aphanomyces*-Pilz werden jene Bakterien, die man in kranken und toten Krebsen findet, als erst sekundär, also nachdem die Widerstandskraft der Krebse durch die Einwirkung des Pilzes vermindert ist, eingedrungen angesehen.

Zwischen den Vertretern dieser beiden Ansichten entstand natürlich ein heftiger Streit, in welchem HOFER, im grossen und ganzen mit Fug und Recht, die Zuverlässigkeit seiner eigenen Untersuchungen gegenüber jenen von SCHIKORA hervorhob, die in vielen Hinsichten als lose Mutmassungen und unbewiesene Behauptungen erschienen. HOFERS Ansicht scheint, wohl zum Teil wegen seiner grossen Autorität, unter den Fischereibiologen eine fast allgemeine Anerkennung gefunden zu haben; doch trat in der jüngsten Zeit SCHÄPERCLAUS für die Ansicht SCHIKORAS ein, wenigstens in Bezug auf die von ihm in den letzten zehn Jahren untersuchten Krebssterben. Auf eine nähere Erörterung der Streitfrage komme ich am Schluss meiner Darstellung zurück.

Auch in Schweden wurden Untersuchungen über die Ursache der Krebspest ausgeführt; nach KLARIN (1928) führe ich hier einige Daten hierüber an. Schon im Jahre 1907 wurden vom Fischereiinspektor Dr. F. TRYBOM einige aus Finnland stammende, verdächtige Krebse dem damaligen Schlachthofdirektor in Malmö, A. M. BERGMAN, übersandt. In seinem der K. Landwirtschaftsdirektion übergebenen Bericht erwähnt BERGMAN, dass er in den untersuchten Krebsen einen Spaltpilz gefunden habe, der dem HOFERSCHEN Krebspestbazillus ähnlich sei; er fasste die Ergebnisse der Untersuchung dahin zusammen, dass die eingesandten Krebse an einer ansteckenden Krankheit litten, die als Krebspest bezeichnet werden könne. Als im folgenden Jahre die Krebsbestände der schwedischen Seen Mälaren und Hjälmaren verheert wurden, sandte man Material an die bakteriologische Abteilung des Veterinärinstituts zu Stockholm ein, dessen Vorstand, Prof. J. SVENSSON, in seinem Gutachten mitteilte, dass der

HOFERSCHE Krebspestbazillus nachgewiesen wurde. Im darauffolgenden Jahre führte BERGMAN eine Untersuchung an Krebsen aus, die im Fluss Svartån, wo die Seuche den Krebsbestand vernichtet hatte, in Kasten ausgesetzt wurden und die ein paar Wochen nach dem Aussetzen gestorben waren. In seinem vorläufigen Bericht an die K. Landwirtschaftsdirektion werden die gefundenen Bakterien nicht beschrieben, es wird aber erwähnt, dass die Krankheit auf gesunde Krebse, die in einem Aquarium zusammen mit den toten gehalten wurden, übertragen werden konnte. Mit aus diesen erkrankten Krebsen gewonnenem Material konnte die Krankheit durch Einspritzen auf gesunde Krebse übergeführt werden, es gelang dies aber nicht, wenn das Material vor der Einimpfung durch ein Bakterienfilter filtriert worden war. Auch erwähnt BERGMAN, dass er bei seinen vorbereitenden Untersuchungen im Darm gesunder Krebse Bakterien nachgewiesen hatte, die für Krebse pathogen waren und die dem HOFERSCHEN Krebspestbakterium ähnelten. Stämme derselben, die er teils aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, teils von HOFER selbst erhalten hatte, erwiesen sich als miteinander nicht identisch.

Die von BERGMAN geplanten Untersuchungen wurden nie zum Abschluss gebracht. Im Jahre 1923 begann ich unter seiner Leitung bakteriologische Untersuchungen an Krebsen, die aber bald unterbrochen und wegen BERGMANS kurz danach erfolgtem Ableben nie wieder aufgenommen wurden. Aus unseren Diskussionen über die Ursache der Krebspest ging jedoch klar hervor, dass er SCHIKORAS *Aphanomyces*-Theorie bestimmt ablehnte.

Als die Krebsseuche nach dreijährigem Stillstand im Jahre 1926 wieder aufflackerte, wurde die Frage nach ihrer Ätiologie neuerlich brennend. Die Staatl. Veterinär bakteriologische Anstalt zu Stockholm erhielt Material eingesandt, das im Jahre 1926 vom Assistenten S. H. NYSTEDT, 1927 vom Laborator E. KLARIN bearbeitet wurde; die Ergebnisse dieser Untersuchungen veröffentlichte KLARIN im Jahre 1928. In der folgenden Darstellung komme ich darauf etwas eingehender zurück, hier sei nur bemerkt, dass von den genannten Forschern ausser *coli*-Bakterien, die als sekundäre Eindringlinge angesehen werden, zwei verschiedene Bakterienarten, als *B. proteus* und *B. paratyphi* bezeichnet, angetroffen wurden, von welchen das erstgenannte als mit HOFERS *B. pestis astaci* identisch oder zumindest nahe verwandt betrachtet wird, und von welchen behauptet wird, es sei nicht ausgeschlossen, dass sie, jedes für sich oder beide zusammen, Seuchen von derartig bösartigem Charakter hervorrufen können, dass diese als Krebspest angesprochen werden. Als Ursache der schwedischen Krebssterben in den Jahren 1926—27 wird allerdings die als *B. proteus* bezeichnete Art in erster Linie als verdächtig angesehen. Es muss aber KLARINS ausdrückliche

Hervorhebung betont werden, dass die genannten Ergebnisse nicht als endgültig anzusehen seien, dass ferner bakteriologische Untersuchungen an gesunden Krebsen in grösserem Masstabe ausgeführt werden müssen und endlich, dass er wegen der laufenden Arbeiten in der Anstalt den Krebspestuntersuchungen nur eine sehr knapp bemessene Zeit widmen konnte.

II. EIGENE UNTERSUCHUNGEN.

1. Bakteriologische Vorversuche.

Obwohl ich fest davon überzeugt war, dass die in Schweden vorkommende, derzeit wieder aufflackernde Krebsseuche eine von Bakterien hervorgerufene Krankheit sei, schien es mir erwünscht, sie einer allseitigeren, auch unter Berücksichtigung fischereibiologischer Gesichtspunkte vorgenommenen Untersuchung zu unterwerfen. Dieser Wunsch wurde natürlich dadurch nicht vermindert, dass nach den eben kurz besprochenen, von KLARIN veröffentlichten Untersuchungen zwei verschiedene Bakterienarten in ätiologische Beziehung zur Krankheit gebracht wurden, es schien mir dies vielmehr darauf zu deuten, dass das letzte Wort hinsichtlich der Ursache unserer Krebssterben noch nicht gesprochen war. Erst im Spätherbst 1929, in welchem Jahre die Seuche wiederum einen sehr bösartigen Charakter angenommen und sich über weite, bis dahin verschonte Gebiete verbreitet hatte, wurde ich damit beauftragt, eine Untersuchung über die Krebspest, und zwar vor allem im Hinblick auf ihre Ursache, vorzunehmen. Da den schwedischen Fischereibiologen zu dieser Zeit noch kein Laboratorium zur Verfügung stand, wurden die Untersuchungen im Bakt. Laboratorium des Städt. Gesundheitsamtes zu Göteborg begonnen.

Im Jahre 1929 wurde unter anderen Seen auch der grosse See Åsunden in Östergötland von der Seuche erreicht; in weniger als vier Monaten wurde sein Krebsbestand bis auf den letzten Rest vernichtet. Zur Zeit als ich meine Untersuchungen beginnen konnte, war weder von hier noch von anderen in diesem Jahre verseuchten Seen Material von kranken oder eben verendeten Krebsen mehr zu beschaffen; ich entschloss mich deshalb, zu versuchen, gesunde Krebse mit Wasser bzw. Bodenmaterial aus dem Åsunden zu infizieren.

Als Ausgangsmaterial benutzte ich Krebse, die aus einem bis dahin wie auch noch bis heute von der Krebsseuche verschonten Gewässersystem bei Hällefors in Västmanland stammten, und die Versuchsanordnungen waren

die folgenden: Aquarien aus gestrichenem Zinkblech mit einer Glaswand, die ich aus der Aquarienanlage des Seefahrtsmuseums zu Göteborg geliehen hatte, wurden, das eine mit Leitungswasser samt Bodenmaterial, das zweite mit Leitungswasser + 1 Liter durch Bakterienfilter filtriertem Wasser aus dem Åsunden gefüllt, wonach gesunde Krebse eingesetzt wurden. Zwecks Durchlüftung wurde Sauerstoff aus einem Sauerstoffbehälter ins Wasser eingepresst. Die Krebse wurden mit Mohrrüben gefüttert. Als Kontrolle wurden zwei ähnliche Aquarien eingerichtet, von welchen das eine nur mit Leitungswasser, das zweite mit Wasser samt Bodenmaterial aus dem in der Nähe von Göteborg gelegenen See Delsjön, in welchem Krebse nicht vorkommen und auch nie vorgekommen sind, angefüllt wurden. Um jedes Überführen von Material aus den Åsunden-Aquarien zu vermeiden, wurden die Kontrollaquarien in einer ganz anderen Abteilung des Kellergeschosses des Laboratoriumgebäudes aufgestellt, bei der täglichen Besichtigung der Aquarien die Kontrollen stets zuerst besucht, und alle übrigen Vorsichtsmassregeln zur Verhinderung der Verbreitung eines eventuellen Ansteckungsstoffes, wie Desinfektion der Hände, Wechseln der Röcke u. s. w. nach jedem Besuche in den verschiedenen Abteilungen peinlichst beachtet.

Nach wenigen Tagen fingen die Krebse an, krank zu werden; sie gingen mit stark gestreckten Beinen umher, nicht selten wurden Krämpfe beobachtet, sowie eine stark erhöhte Reizbarkeit, die sich in zuckenden Bewegungen bei leiser Berührung äusserte. Sie wurden immer schlapper und gingen einer nach dem anderen ein. Dies trat aber nicht nur in den Aquarien mit Material aus dem Åsunden, sondern auch in den Kontrollaquarien ein.

Die kranken bzw. toten Krebse wurden bakteriologisch untersucht, und zwar in der Weise, dass der Rückenschild über dem Herzen nach vorherigem Abwaschen mit Jodalkohol und mässiger Abbrennung mit einem sterilen Instrument durchstochen wurde, wonach einige Tropfen Blut mittels steriler Pasteurpipette aus dem Inneren ausgesaugt wurden. Mit dem so gewonnenen Material wurden teils Agarplatten verschiedener Zusammensetzung, teils sterile Bouillonröhrchen geimpft. Da es zu weit führen würde, die Ergebnisse in allen Details anzuführen (es wurden zwischen 50 und 60 Krebse bakteriologisch untersucht), begnüge ich mich hier mit einigen zusammenfassenden Bemerkungen. Fast alle Abimpfungen aus deutlich erkrankten, aber noch nicht im Sterben liegenden Krebsen blieben steril, während die aus sterbenden Krebsen oft, die aus eben verendeten Individuen fast stets positiv ausfielen. Auch von hie und da auftretenden Luftverunreinigungen (Kokken u. s. w.) abgesehen, war die erbeutete Bakterienflora eine sehr bunte, in welcher *coli*-Bakterien, *Pseudomonas fluorescens*, typische, auf den Platten schwärmende *proteus*-Formen, verschiedene Kapsel-

bildner (*lactis aerogenes*-Typus) und andere nicht näher untersuchte Arten zu verzeichnen sind. Ziemlich regelmässig traten aber zwei Typen auf, die ich bald als mit den von KLARIN als *proteus* bzw. *paratyphi* benannten identisch betrachtete. Da sie von ihm in ätiologische Beziehung zu den pestartigen Krebssterben in den Jahren 1926—27 gesetzt worden waren und das erstere sogar als mit HOFERS *B. pestis astaci* übereinstimmend betrachtet wurde, widmete ich diesen beiden Typen eine nähere Aufmerksamkeit. Ausser den aus den obengenannten Aquarienversuchen stammenden Krebsen untersuchte ich eine Anzahl für besondere Versuche nicht benutzte Exemplare, nämlich alle jene aus Hällefors stammenden Krebse, die in den ersten Tagen nach ihrer Ankunft in Göteborg teils an Sauerstoffmangel, teils anderer ungünstiger Bedingungen wegen starben, ohne jemals in Berührung mit Krebspestmaterial irgend welcher Art gekommen zu sein. Der bakteriologische Befund war bei diesen Exemplaren genau dergleiche wie bei den eben besprochenen Versuchstieren, es kamen sogar die von KLARIN als *proteus* bzw. *paratyphi* bezeichneten Typen prozentuell häufiger vor, was aber damit zusammenhängt, dass die Versuchstiere oft schon im Zustand deutlicher Erkrankung, die gehälterten dagegen meistens erst kurz nach dem Tode untersucht wurden. Im Blut gesunder Krebse habe ich dagegen niemals Bakterien gefunden, wohl aber im Darm sowie in den Leberschläuchen, und zwar, wenn auch selten, sowohl *proteus*-ähnliche als auch *paratyphus*-ähnliche Typen.

Mit Rücksicht auf die bakteriologischen Befunde der durch Sauerstoffmangel, durch ungeeignete Hälterung und aus ähnlichen Ursachen verendeten Krebse, sowie jener aus den Kontrollaquarien, die alle mit Krebspestmaterial in irgend einer Form niemals in Berührung gewesen waren, scheint es mir nicht wahrscheinlich, dass die ähnlichen, bei den Versuchstieren gefundenen Spaltpilze in einem ursächlichen Zusammenhang mit dem Erkrankten und Absterben derselben stehen. Das Sterben sowohl in den Aquarien mit Material aus dem Åsunden als auch in den Kontrollaquarien hatte wahrscheinlich eine andere Ursache, wobei meines Erachtens in erster Linie an eine Vergiftung durch die Metallteile, ev. durch die Anstrichfarbe der benutzten Aquarien zu denken wäre. Es scheinen mir nämlich die gesteigerte Reizbarkeit und die damit zusammenhängenden Krampfstände verschiedener Art am ehesten Anzeichen einer Vergiftung zu sein. Meine heute mehrjährigen Erfahrungen bezüglich der Hälterung von Krebsen, auch in Aquarien ohne Wasserzufuhr, gehen alle dahin, dass Krebse in Glas- bzw. Porzellanwannen monate-, ja jahrelang ohne Schwierigkeit gehalten werden können, während sie in Aquarien mit Metallrahmen (solche aus rostfreiem Stahl habe ich zwar nicht geprüft) sehr bald zu Grunde gehen,

was übrigens mit den Erfahrungen in Bezug auf andere Krebstiere (Daphnien) sehr gut im Einklang steht.

Da mir durch die eben geschilderten Untersuchungen ein verhältnismässig reiches Material an Bakterien jener Typen zur Verfügung stand, die von früheren schwedischen Untersuchern in ursächlichen Zusammenhang mit den grossen schwedischen Krebssterben gebracht wurden, bot sich eine gute Gelegenheit, dieselben einer näheren Prüfung zu unterziehen.

Das grösste Interesse erweckten natürlich jene Stämme, die mit der Beschreibung von *B. pestis astaci* grosse Übereinstimmungen aufwiesen. Insgesamt wurden 14 Stämme isoliert, von welchen 9 aus Krebsen stammten, die mit Wasser oder Bodenmaterial aus dem See Åsunden nie in Berührung gekommen waren und somit als »gesund« bezeichnet werden können, auch wenn sie aus anderen Ursachen als Krebspest geschwächt oder gestorben waren. Die wichtigsten Eigenschaften dieses Spaltpilzes sind: Gramnegative, bewegliche, kurze Stäbchen mit abgerundeten Enden; Kolonien auf gewöhnlichem Agar grau, leicht irisierend, nicht schwärmend, auf Endo-Agar zuerst blass graurot, später rötlich mit grauer Randzone; geronnenes Pferdeserum und Gelatine werden verflüssigt, in Gelatinestichkulturen fingerförmige Verflüssigung längs des ganzen Stichkanals; Dextrose wird unter starker Säurebildung vergärt, Gas wird nicht oder nur in unbedeutender Menge gebildet, Lactose bleibt unverändert. In den genannten Eigenschaften stimmten also diese Bakterien mit der Beschreibung jener, die von KLARIN als *B. proteus* bezeichnet und von ihm als mit *B. pestis astaci* identisch oder nahe verwandt angesehen wurden, überein. Um der Identität sicher zu sein, erbat ich mir aus der Staatl. Veterinär bakteriologischen Anstalt Abimpfungen von den von NYSTEDT und KLARIN isolierten *proteus*-Stämmen und erhielt drei Stämme, als »Proteus Nystedt«, »Proteus Klarin« und »Proteus Gävle« bezeichnet. Sie erwiesen sich, wie erwartet, in ihren Kultureigenschaften als mit den von mir reingezüchteten völlig übereinstimmend. Eine Agglutinationsprüfung zeigte ausserdem, dass der Stamm »Proteus Klarin« mit zwei Stämmen aus »gesunden« Krebsen und einem Stamm aus den Åsunden-Krebsen, und dass »Proteus Gävle« mit vier Stämmen aus »gesunden« Krebsen identisch war, während keiner der von mir isolierten Stämme von einem mit »Proteus Nystedt« hergestellten Kaninchenserum agglutiniert werden konnte. Schon KLARIN fand, dass ein mit dem von NYSTEDT isolierten Stamm hergestelltes Kaninchenserum den von ihm selbst reingezüchteten Stamm nicht agglutinierte. Dass die von NYSTEDT, KLARIN und mir gefundenen Bakterien einer und derselben Art angehören, ist also sicher. Ob die von SVENSSON und BERGMAN etwa 20

Jahre früher in Krebsen gefundenen und als *B. pestis astaci* bezeichneten Spaltpilze auch derselben Art zugehörten, ist heute unmöglich zu entscheiden, da ihre Stämme nicht mehr vorhanden sind; es erscheint mir aber als sehr wahrscheinlich.

Hinsichtlich der Benennung will ich nur bemerken, dass ich für diese Bakterien den Namen *B. proteus* oder *Proteus vulgaris* nicht ohne Verwahrung anerkennen kann. Sie unterscheiden sich nämlich vom typischen *Proteus vulgaris*, von dem ich einige aus menschlichem Harn isolierte Stämme von Dr. WASSÉN erhielt, und den ich auch in ein paar Fällen aus Krebsen reingezüchtet habe, dadurch, dass die Kolonien auf Agarplatten nicht schwärmen, während das Schwärmen für die echten *Proteus*-Kolonien sehr charakteristisch ist. Des ferneren ist zu bemerken, dass die von mir untersuchten *Proteus*-Stämme in Gelatinestichkulturen die Gelatine nicht fingerförmig sondern stratiform verflüssigen. Die *proteus*-ähnlichen, nicht schwärmenden Bakterien, die man immer wieder in Krebsen findet, gehören also wahrscheinlich einer besonderen Art an; welchen Namen sie in dem Falle zu tragen hat, kann ich nicht angeben. Ob sie mit HOFERS *B. pestis astaci* identisch ist, was mir sehr wohl möglich scheint, kann wohl nie mehr festgestellt werden, da der HOFERSche Krebspestbazillus anscheinend nicht mehr vorhanden ist, wenigstens habe ich weder aus der Biol. Versuchsanstalt zu München noch aus Pribrams Mikrobiologischer Sammlung zu Wien Material beschaffen können, und auch KLARINS Bemühungen, aus Deutschland Material von HOFERS Originalstämmen zu erhalten, blieben erfolglos.

Von *paratyphus*-ähnlichen Bakterien isolierte ich während der oben besprochenen Untersuchungen 22 Stämme, und zwar aus »gesunden« Versuchskrebsen (vgl. oben) 13 Stämme, aus Åsunden-Krebsen 6 Stämme, aus dem Darm eines frisch abgetöteten gesunden Krebses 1 Stamm und aus dem Wasser eines Hälteraquariums 2 Stämme. Sie können folgendermassen charakterisiert werden: Gramnegative, lebhaft bewegliche Stäbchen, die auf gewöhnlichem Agar graue, leicht irisierende, auf Endo-Agar blasse oder schwach rötliche Kolonien bilden; geronnenes Pferdeserum und Gelatine werden nicht verändert; Dextrose, Maltose und Mannit werden unter Gas- und Säurebildung, Lactose dagegen nicht vergärt; bildet Indol, meistens nur schwach. Als Vergleichsmaterial erhielt ich aus der Staatl. Veterinär-bakteriologischen Anstalt fünf dort isolierte Stämme, die als »Paratyphus Gävle«, »Paratyphus Finnland«, »Paratyphus Södertälje«, »Paratyphus 34/28« und »Paratyphus 35/28« bezeichnet waren. Eine Agglutinationsprüfung ergab, dass »Parat. Gävle« und »Parat. Finnland« sowohl unter einander als auch mit einem Stamm aus »gesunden« Krebsen und zwei Stämmen aus Åsunden-Krebsen identisch waren. »Parat. 34/28« war mit einem,

»Parat. 35/28« mit drei Stämmen aus »gesunden« Krebsen, der letztere ausserdem mit drei Stämmen aus Äsunden-Krebsen und einem der aus dem Wasser der Hälteraquarien isolierten Stämme identisch, während ein mit dem Stamm »Parat. Södertälje« hergestelltes Serum nur den homologen, aber keinen der von mir reingezüchteten Stämme agglutinierte.

Auch hinsichtlich der Benennung dieser Bakterien bin ich einer anderen Meinung als KLARIN; sie erinnern zwar in ihren Kultureigenschaften sehr an die *paratyphus*-Bakterien, sind aber in agglutinatorischer Hinsicht von diesen ganz verschieden. Von KLARIN wurde ein Kaninchenantiserum mit einem aus Krebsen des Seesystems Magelungen-Drevviken reingezüchteten Stamm, wohl derselbe, der später als »Parat. Södertälje« bezeichnet wurde, hergestellt. Das Serum agglutinierte jedoch weder einen aus finnischen Krebsen isolierten Stamm, wohl denselben den ich unter der Bezeichnung »Parat. Finland« später erhielt, noch Stämme von *Paratyphus* Gärtner, *Paratyphus* Aërtryck oder einen *Paratyphus* A-Stamm unbekannter Herkunft. Da ich zufällig in einem Laboratorium arbeitete, dessen Chef, Dr. A. Wassén, mit Untersuchungen über die Agglutinationsverhältnisse der Spaltpilze der *typhus-paratyphus*-Gruppe beschäftigt war, hatte ich Gelegenheit, 32 aus Krebsen bzw. aus Krebsaquarien isolierte Stämme gegen Antisera sämtlicher bis jetzt bekannten *paratyphus*-Typen zu prüfen; diese Prüfung fiel in allen Fällen völlig negativ aus. Die aus Krebsen stammenden *paratyphus*-ähnlichen Bakterien können somit nicht als *Paratyphus* bezeichnet werden. Dies ist nicht nur von theoretischem Interesse, sondern auch von praktischer Bedeutung. In vielen der von der Krebspest heimgesuchten Gegenden hatte die Bevölkerung grosse Angst davor, dass die Krebspest auch die menschliche Gesundheit bedrohen könnte, was natürlich nicht der Fall ist; diese Angst war selbstverständlich an jenen Orten besonders erklärlich, wo man aus den Gutachten den Bescheid erhielt, dass die Krebspest durch *paratyphus*-Bakterien verursacht sei. Mit welchem Namen die in Rede stehenden Bakterien bezeichnet werden sollen, kann ich jedoch nicht mit Bestimmtheit sagen; bis auf weiteres nenne ich sie *B. paracoli*, da sie anscheinend am ehesten mit dem *B. paracoli* (Day) übereinstimmen, das aber Indol nicht bildet. Vielleicht handelt es sich auch in diesem Falle um eine mehr oder weniger streng an Krebse gebundene, selbständige Art. Unter den zahlreichen von mir in den letzten Jahren sowohl aus kranken als auch aus gesunden Fischen isolierten Bakterien, bin ich niemals weder auf diese noch auf die *proteus*-ähnlichen Krebsbakterien gestossen, während sie in Krebsen immer wieder zum Vorschein kommen, was mir dafür zu sprechen scheint, dass sie wahrscheinlich zur normalen Bakterienflora des Krebses gehören.

Aus den eben geschilderten Untersuchungen ging also hervor, dass die meisten der von den Veterinärbakteriologen aus pestkranken Krebsen isolierten Stämme mit solchen aus nicht pestkranken Krebsen identisch waren. Auch wenn die Möglichkeit natürlich nicht absolut ausgeschlossen ist, dass die Pathogenität sonst identischer Stämme eine verschiedene sein könnte, so scheint es mir unter den eben angeführten Umständen kaum berechtigt, sie als primäre Krankheitserreger zu betrachten, und dies um so weniger, als die von KLARIN erwähnten Infektionsversuche gar nicht für die Pathogenität der untersuchten »*proteus*«-Stämme beweisend sind. Da ich diese Infektionsversuche etwas näher besprechen möchte, führe ich hier KLARINS Darstellung in Übersetzung an (Klarin 1928, p. 67):

»Der von NYSTEDT gefundene Spaltpilz erwies sich als äusserst pathogen bei Einimpfung an Krebsen, und unten wird das Resultat einer der Impfungsserien NYSTEDTS angegeben.

Einspritzung einer 24 Std. alten Bouillonkultur des Stammes NYSTEDTS.

Infektionsdosis	Gestorben innerhalb	Bakteriol. Untersuchung
0.4 ccm	15 Min.	Steril
0.3 »	» »	»
0.2 »	24 Std.	<i>B. proteus</i>
0.05 »	» »	» »
0.025 »	» »	» »

Drei Kontrollkrebse, ein jeder mit 0,3 ccm physiologischer Kochsalzlösung geimpft, blieben gesund.

Auch der von mir reingezüchtete Stamm besass Pathogenität für Krebse. Wie früher erwähnt, waren bei diesen Impfungen keine ausgeprägten Krampfsymptome zu beobachten, weder bei Krebsen, die wenige Minuten nach der Impfung, noch solchen, die erst mehrere Tage nach derselben starben. Es ist aber möglich, dass rasch vorübergehende Krampfsymptome bei Krebsen mit langsamerem Krankheitsverlauf übersehen werden konnten, weil es nicht möglich war, sie nach der Impfung ununterbrochen zu beobachten.»

Hierzu möchte ich zuerst bemerken, dass, wenn eine 24-stündige Bouillonkultur als Impfmateriale verwendet wird, das Einspritzen von physiol. NaCl-Lösung gar keine Kontrolle in anderem Sinne ist, als um zu beweisen, dass die Volumenvergrößerung der Körperflüssigkeit dem Versuchstier nicht schadet. Um eine wahre Kontrolle zu haben, hätte man selbstverständlich sterile Bouillon in entsprechenden Dosen einspritzen müssen. Spritzt man einem gesunden Krebs etwa 0,3 ccm sterile Bouillon ein, so wird man

finden, dass er in etwa 5—10 Minuten auf den Rücken fällt und wie tot daliegt. Diesen Versuch habe ich zu wiederholten Malen und stets mit dem gleichen Erfolg gemacht. Nach etwa einer halben Stunde kann der Krebs aber durch leises Berühren wieder geweckt werden und erholt sich rasch. Diese Reaktion ist offenbar als eine Chokwirkung des parenteral eingeführten, artfremden Eiweisses zu betrachten. Wird eine 24-stündige Bouillonkultur als Impfmateriale benutzt, so kommt wahrscheinlich eine toxische Wirkung der Bakteriengifte hinzu und der Krebs erholt sich nicht mehr. Das Einspritzen grösserer Dosen einer Bouillonkultur, wie es NYSTEDT machte, beweist also meines Erachtens höchstens eine Toxizität, nicht aber eine Pathogenität der benutzten Bakterien.

Ferner beweist überhaupt eine Einspritzung von Bakterien in den Körper des Krebses mit darauffolgendem Verenden desselben durchaus nicht, dass die eingespritzten Bakterien für Krebse pathogen sind. Schon HOFER bemerkt hierüber (1904, p. 331 f.): »Der Krebs erweist sich gegen zahlreiche Bakterien des Wassers im Allgemeinen überaus hingällig. Ich habe davon ca. 20 der gewöhnlich im Wasser verbreiteten Arten, z. B. *Bac. fluorescens liquefaciens*, *Bac. vulgatus*, mehrere Arten von *Micrococci* etc. in ihrer Einwirkung auf Krebse untersucht und gefunden, dass sie fast ausnahmslos eine mehr oder minder grosse Schädlichkeit für Krebse besitzen, während sie sich Fischen gegenüber vielfach völlig indifferent verhalten. Alle diese Bakterien töteten die Krebse unter verschiedenen Erscheinungen, wobei die Krebse zumeist allmählich matter und matter wurden, bis sie abstarben. Keine einzige der bisher untersuchten Bakterienarten löste aber die für die Krebspest so charakteristischen Krampferscheinungen aus. Diese Wirkung hat allein das Bakterium *pestis Astaci*.» HOFER führt diese Widerstandlosigkeit der Krebse teils auf das offene Blutgefässsystem, teils auf die »in ganz unzureichender Menge vorhandenen baktericiden Stoffe im Blute« zurück. BERGMAN (1909) fand, dass Krebse, denen ein paar Tröpfchen einer Aufschwemmung von *Vibrio anguillarum* eingespritzt worden waren, nach 10—48 Stunden starben.

Meine eigenen Erfahrungen stimmen mit jenen von HOFER und BERGMAN völlig überein; nur wenn mit sehr schwachen Dosen alter Kulturen gearbeitet wurde, haben einzelne Krebse die Impfung überstanden. Dagegen ist es mir noch nicht gelungen, durch Aufschwemmung von »*proteus*«- oder »*paracoli*«-Bakterien in Glaswannen, wo gesunde Krebse gehalten wurden, diese zum Absterben zu bringen, wenn nur dafür gesorgt wurde, dass nicht Sauerstoffmangel eintrat.

Für die Beurteilung der Frage, wie sich die Krebse gegenüber Bakterien verhalten, schien es mir von Wichtigkeit, zu wissen, ob Krebse, gleich den

höheren Tieren, Antikörper bilden können. Meine ersten Bemühungen in dieser Richtung blieben aber alle erfolglos, da ich als Antigen Aufschwemmungen von lebenden Bakterien benutzte, welche die Impftiere in kurzer Zeit zu Grunde richteten. Nachdem ich bei meinen Studien über die Agglutininbildung bei Fischen (vgl. NYBELIN 1935 b) festgestellt hatte, teils dass als Antigen inaktivierte Aufschwemmungen benutzt werden können, teils dass eine hohe Temperatur die Agglutininbildung in hohem Masse begünstigt, waren die Voraussetzungen vorhanden, das Problem mit Aussicht auf besseren Erfolg in Angriff zu nehmen. Es wurden vier gesunde Krebse mit je 0,2 ccm einer bei + 56° C inaktivierten Aufschwemmung in 0,85 % NaCl-Lösung von *Vibrio anguillarum* (Stamm Aal V) und fünf andere Krebse mit je 0,2 ccm einer ebenso behandelten Aufschwemmung von Bakterien des *paracoli*-Typus (Stamm 15) geimpft (alle meine Stämme der aus Krebsen isolierten *proteus*-ähnlichen Bakterien waren zu dieser Zeit leider eingegangen); die geimpften Krebse wurden, zusammen mit nicht behandelten als Kontrolle, auf zwei Glaswannen mit stehendem Wasser und Durchlüftung verteilt, die im Laboratorium, also bei Zimmertemperatur (etwa + 18 bis + 21° C), zur Aufstellung kamen. Die geimpften Tiere zeigten nach der Impfung keine äusserlich bemerkbare Reaktion. Nach 24 Tagen wurden zwei mit *V. anguillarum* und zwei mit *paracoli* geimpften sowie zwei Kontrolltieren das Blut steril entnommen. Die nach dem Gerinnen des Blutes vorgenommene Agglutinationsprüfung mit den Stämmen Aal V und *paracoli* 15 fiel sowohl für die Sera der Impftiere als auch für jene der Kontrolltiere völlig negativ aus (Anfangsverdünnung 1: 20; positive Kontrollen mit Kaninchenantisera für beide Stämme positiv!). Agglutinine waren also nicht gebildet worden.

Um zu erfahren ob die Versuchstiere eine Immunität irgend einer anderen Art erworben hätten, wurden zwei mit Aal V geimpften und zwei Kontrollkrebse je 0,2 ccm einer frisch hergestellten Aufschwemmung des Stammes Aal V in 0,85 % NaCl-Lösung (etwa 2—3 Milliarden pro ccm) eingespritzt. An allen vier Tieren traten nach 15 Min. Krämpfe auf, nach 30 Min. konnten nur noch immer schwächer werdende Zuckungen der Gliedmassen beobachtet werden, die bei den zwei geimpften und bei einem der Kontrolltiere nach 2 Stunden, beim zweiten Kontrolltier nach 3 Stunden ganz aufhörten. Die geimpften Krebse erwiesen sich also gar nicht widerstandsfähiger als die Kontrolltiere indem sie sogar rascher eingingen als diese. Wegen des rapiden Verlaufes der Reaktion ist wohl auch hier am ehesten an eine Chokwirkung zu denken, aus welchem Grunde dieser Versuch für die Beurteilung der Immunitätsfrage nichts beweist.

Die drei übrigen mit inaktiviertem *paracoli*-Material geimpften, sowie

drei Kontrollkrebse wurden mit nur je 0,1 cem einer schwächeren Aufschwemmung des Stammes 15 (etwa 1 Milliarde pro cem; der Stamm war seit 5 Jahren auf Agar gezüchtet worden) geimpft. Nach 15 bzw. 30 Minuten keine Reaktion, nach 45 Min. schwache Krämpfe bei einem Impftier und einem Kontrolltier, nach 1 Stunde zwei Impftiere, zwei Kontrolltiere beeinflusst, nach 1 $\frac{1}{2}$ Std. nur eines der Kontrolltiere in seitlicher Lage, alle übrigen anscheinend unbeeinflusst. Nach 24 Std. alle Tiere anscheinend normal, nach 48 Std. sämtliche Tiere beeinflusst, eine mehr oder weniger stark ausgesprochene seitliche Lage einnehmend. Nach 70 Std. ein Impfkrebs, nach 72 Std. ein zweiter Impfkrebs, nach 76 Std. ein Kontrollkrebs eingegangen. Am folgenden Tage ein zweiter Kontrollkrebs in Rückenlage, blieb krank, starb aber erst 25 Tage nach der Impfung. Ein Impftier und ein Kontrolltier blieben gesund. Mit steril entnommenem Material der nach 70 bzw. 72 Std. verendeten Krebse wurden Wassén-Gläser (vgl. NYBELIN 1935 b, p. 32 ff.) geimpft und mit Kaninchenantiserum des Stammes 15 versehen. Die Reaktion fiel in beiden Fällen positiv aus, was dafür spricht, dass die genannten Bakterien in den vorher mit inaktiviertem Material desselben Stammes behandelten Krebsen fortleben konnten und auch aller Wahrscheinlichkeit nach den Tod der betreffenden Krebse verursacht hatten. In diesem Falle sind wir also wohl berechtigt, die Schlussfolgerung zu ziehen, nichts spreche dafür, dass Krebse irgend eine Immunität gegen eingepflichte Bakterien erwerben können.

Die natürlichen Abwehrmittel der Krebse gegen Bakterien bestehen also nur in dem von der Chitinbekleidung und den Schleimhäuten gelieferten passiven Schutz, sowie in der Phagozytose, die in Fällen von lokalen Läsionen einen sehr wirksamen aktiven Schutz gegen Eindringlinge bietet; ein Gegenstück zu dem effektivsten Schutzmittel der höheren Tiere, der Antikörperbildung, scheint ihnen dagegen vollkommen zu fehlen. Da das Blutgefäßsystem des Krebses ein offenes ist, d. h. keine Kapillaren besitzt, so entsteht bei jeder parenteralen Einspritzung von in einer Flüssigkeit aufgeschwemmten Bakterien sofort ein septikämischer Zustand, gegen welchen die Phagozytose recht machtlos bleibt, wenn die Menge der eingespritzten Bakterien nicht eine sehr geringe ist, oder wenn diese aus irgend einer Ursache geschwächt und träge sind. Hieraus folgt aber auch, dass ein Einspritzen grösserer Mengen lebender Bakterien fast stets den Tod des Impftieres herbeiführen muss. Aus diesem Umstand zu schliessen, dass die betreffenden Bakterien für den Krebs pathogen sind, scheint mir kaum berechtigt; alle diesbezüglichen Prüfungen der vermuteten Pathogenität eines Spaltpilzes sind folglich an und für sich wertlos. Mit Rücksicht auf den oben erwähnten Versuch mit Einspritzung einer kräftigen Aufschwem-

mung von *Vibrio anguillarum*, wo die Impftiere schon nach 15 Min. Krämpfe zeigten, um innerhalb 2—3 Std. zu sterben, muss man wahrscheinlich auch damit rechnen, dass eine kräftige Bakterienaufschwemmung schon in ihrer Eigenschaft als artfremdes Eiweiss eine Chokwirkung auslöst, wozu sich vielleicht auch eine toxische Einwirkung auf das Nervensystem gesellen kann.

Zusammenfassung. Meine oben erwähnten Versuche, mittels Wasser bzw. Bodenmaterial aus dem verseuchten See Åsunden an gesunden Krebsen Krebspest hervorzurufen, müssen in Anbetracht des gleichzeitigen und gleichartigen Absterbens der Kontrolltiere als misslungen angesehen werden. Durch diese Versuche sowie durch andere, im Zusammenhang damit vorgenommene Untersuchungen konnte jedoch festgestellt werden, erstens dass Krebse, die an Sauerstoffmangel, Vergiftung, ungeeigneter Hälterung oder aus anderen Ursachen eingehen, im Blute stets eine bunte Bakterienflora beherbergen und zweitens, dass einige dieser Spaltpilze mit jenen identisch sind, die von anderen schwedischen Forschern in den Jahren 1926—28 aus pestkranken Krebsen isoliert und für Krankheitserreger gehalten wurden. Eine dieser Arten wies grosse Übereinstimmung mit den Beschreibungen von HOFERS Krebspestbakterium auf. Hieraus kann mit grösster Wahrscheinlichkeit geschlossen werden, dass die genannten Bakterien in keinem ursächlichen Zusammenhange mit der gegenwärtig in Schweden auftretenden Krebspest stehen können, sondern nur als sekundäre Eindringlinge angesehen werden müssen.

2. Untersuchungen über in der Natur erkrankte Krebse.

Nach dem negativen Resultat der geschilderten bakteriologischen Untersuchungen interessierte es mich natürlich sehr, eine entsprechende Untersuchung an Material aus unzweifelhaft verseuchten Orten vorzunehmen. Aber erst im August 1930, als der reiche Krebsbestand des Sees Erken in Uppland in wenigen Monaten ganz vernichtet wurde, erhielt ich die erste Gelegenheit, in der Natur erkrankte bzw. verendete Krebse zu untersuchen. Auf weiten Strecken waren hier am Boden nahe dem Ufer massenhaft in mehr oder weniger fortgeschrittener Verwesung befindliche Krebsleichen zu beobachten. An anderen Uferstellen konnte man Krebse finden, die bei vollem Sonnenlicht aus ihren Schlupfwinkeln herausgekommen waren und entweder langsam umherkrochen oder knapp an der Wasserlinie ganz still dasassen. Schon mit blossem Auge waren an diesen kranken wie auch an den toten Krebsen, soweit diese noch nicht allzu stark in Fäulnis überge-

gangen waren, hie und da an den weichen Hautstellen gelbliche bis bräunliche Flecke zu erblicken. Unter dem Mikroskop erwiesen sich diese verfärbten Hautstücke als mit einem dichten Geflecht von Fadenpilzschläuchen durchsetzt, also ganz so wie SCHIKORA und SCHÄPERCLAUS das Aussehen und Vorkommen von *Aphanomyces astaci* SCHIKORA beschrieben haben und wie es mir Dr. SCHÄPERCLAUS bei meinem Besuche in der Landesanstalt für Fischerei, Berlin—Friedrichshagen, im April 1930 an der Hand von Dauerpräparaten und vortrefflichen Mikrophotographien gezeigt hatte. Diese Beobachtungen schufen für meine Untersuchungen über die Ursache des Krebssterbens eine ganz neue Lage; ich verstand, dass man am Ende doch mit der von SCHIKORA aufgestellten Theorie rechnen und ihr eine gründliche, vorurteilsfreie Prüfung widmen müsse.

Da weitere Untersuchungen, vor allem eine bakteriologische, an Ort und Stelle nicht vorgenommen werden konnten, suchte ich 40 anscheinend noch muntere, aber mit den oben beschriebenen bräunlichen Flecken behaftete Krebse aus, die nach Göteborg mitgebracht und in ein grosses Waschbecken mit fliessendem Wasser eingesetzt wurden. Von diesen 40 Krebsen starben 35 innerhalb 17 Tagen und die übrigen 5 gingen innerhalb eines Monats ein. Mit Material aus dem Blute der meisten Exemplare wurden in der oben besprochenen Weise Kulturen angelegt; einige von ihnen blieben steril, in den übrigen Fällen kam, ganz wie bei den früher untersuchten Krebsen, eine ganze Reihe verschiedenartiger Bakterien zum Vorschein, u. a. die oben als mit HOFERS Krebspestbakterium identisch vermuteten, sowie die als *paracoli* bezeichneten Arten, und zwar zum Teil in denselben Agglutinationstypen, die ich früher gefunden hatte, zum Teil auch in anderen, in einem Falle z. B. ein Stamm, der mit dem Serum »Proteus Nystedt« bis zur Titergrenze agglutiniert werden konnte. Ein in allen erkrankten Krebsen konstant vorkommendes Bakterium konnte aber nicht nachgewiesen werden, was ja sehr dafür sprach, dass der bei allen Exemplaren gefundene *Aphanomyces*-Pilz doch am Ende der primäre Krankheitserreger sei.

Durch liebenswürdige Vermittlung des Fischereiinstructors in der Provinz Östergötland, Herrn M. TIDEMAN, erhielt ich bald darauf weiteres, sehr wertvolles Untersuchungsmaterial aus vier Seen des Stromgebietes Stångån, wo sich die Krebspest, von Åsunden aus, im Jahre 1930 weiter verbreitet hatte. Diesen Krebsen fehlten die gelblichbraunen Flecke, statt dessen konnte man bei genauerem Nachsehen an den weichen Hautpartien matte Flecke beobachten, die, mit einem spitzen Gegenstand, z. B. einer feinen Pinzette berührt, viel leichter durchstochen werden konnten als die normale, in frischem Zustande spiegelnde Chitinhaut.* Das mikroskopische

* Vgl. hierzu SCHÄPERCLAUS 1927 und 1935 p. 355.

Bild dieser matten Flecke war jedoch mit jenem der gelblichbraunen der Erken-Krebse völlig übereinstimmend, also ein dichtes Geflecht von sich kreuzenden Myzelschläuchen. Die verschiedenartige Farbe der angegriffenen Hautpartien beruht also nicht auf verschiedenartigen Parasiten, sondern ist unzweifelhaft auf verschiedene Reaktion (Narbenbildung) bei Krebsen verschiedener Herkunft zurückzuführen. Der bakteriologische Befund dieser Krebse, 40 an Zahl, wich nicht von jenem der früher untersuchten Krebse ab.

Da ich mich bei dieser Gelegenheit erinnerte, dass LEUCKART über das Vorkommen von Myzelfäden auch in den inneren Organen kranker Krebse berichtet hatte, wurden von den verschiedenen Organen eines der schwer erkrankten Krebse Quetschpräparate gemacht und mit Methylenblau gefärbt. Leber, Niere, Gonade, Darmwand, Herz, Muskulatur und Kiemen zeigten keine Spur von Pilzfäden, in den Gehirn- und Bauchganglien-Präparaten kamen sie dagegen massenhaft vor. Dieser Befund hat sich bei wiederholten Untersuchungen bestätigt, nur in vereinzelt Fällen sind nennenswerte Mengen von Myzelfäden in der Muskulatur gefunden worden, und dann nur in engem Zusammenhange mit darüber liegenden Herden in der Haut. Es scheint somit, als ob *Aphanomyces* zur Gruppe der dermo-neurotropen Krankheitserreger gehöre, d. h. jenen, die sich ausschliesslich oder vorzugsweise in den Derivaten des äusseren Keimblattes, also in der Haut und dem Zentralnervensystem, niederlassen. In allen Fällen, wo keine Pilzherde an den weichen Hautpartien kranker Krebse aufgefunden werden konnten, habe ich doch das Myzel bei der Untersuchung des Gehirns oder der Bauchganglienreihe nachweisen können.

Nach wiederholten Beobachtungen bin ich zu der Ansicht gekommen, dass sich die Entwicklung des von mir gefundenen *Aphanomyces*, der wohl ohne Bedenken mit *Aphanomyces astaci* SCHIKORA identifiziert werden kann, etwa folgendermassen gestaltet: Die keimenden Myzelfäden durchdringen die weichen Chitinhäute des Krebses und bilden darin ein dichtes Geflecht von sich verzweigenden Fäden. Ein Teil derselben sucht den nächstliegenden Abschnitt des zentralen Nervensystems, sei es das Gehirn oder ein Bauchganglion, auf. Wenn sich diese vegetativen Fäden eine Zeitlang vermehrt haben, treten besondere Fäden wieder aus dem Körper durch die Haut aus und entwickeln sich zu Sporangien; in Fällen, wo das Gehirn der Sitz des vegetativen Myzels ist, wachsen die sporangienbildenden Schläuche dem Sehnerven entlang, um durch die Chitinbedeckung des Auges auszutreten. Nach dem Erscheinen der letzten Arbeit von SCHÄPERCLAUS (1935) ist die Veröffentlichung von diese Verhältnisse veranschaulichenden Figuren überflüssig geworden; ich begnüge mich also damit, auf das von

SCHÄPERCLAUS beigebrachte hervorragende Bildmaterial zu verweisen, das in allen Hinsichten mit meinen eigenen Befunden genau übereinstimmt. Auf die Art und Weise, in welcher die primäre Infektion stattfindet, gehe ich in diesem Zusammenhange nicht weiter ein, da es mir für die ätiologische Bedeutung des *Aphanomyces*-Pilzes von nebensächlicher Bedeutung scheint; die Frage wird später im Zusammenhange mit Untersuchungen über die Ansteckungs- und Verbreitungsfähigkeit behandelt werden.

Das Auffinden des *Aphanomyces*-Pilzes beschränkt sich aber nicht auf die hier erwähnten fünf Fälle aus dem Jahre 1930. Aus allen von der Krebspest angegriffenen Flusssystemen Schwedens habe ich in den Jahren 1931—35 Material bekommen und habe stets an allen deutlich erkrankten und toten Krebsen das Vorkommen des Pilzes feststellen können. Auch habe ich ihn zu wiederholten Malen an aus Finnland eingeführten, bei der Ankunft erkrankten oder toten Krebsen gefunden.

3. Experimentelle Untersuchungen über *Aphanomyces astaci*.

Schon mit Material aus den Erken-Krebsen wurden in Göteborg Versuche gemacht, den *Aphanomyces*-Pilz auf Substraten verschiedener Zusammensetzung reinzuzüchten, was jedoch gewissen, unten näher zu besprechenden Schwierigkeiten begegnete.

In Ermangelung besseren Impfmateriales nahm ich indessen Impfungen mit nicht sterilem Material derart vor, dass an einer der weichen Hautpartien an der Unterseite des Schwanzes gesunder Krebse mittels eines Skalpell ein kleiner Einschnitt gemacht wurde, durch welchen ein wenige mm² grosses, von Pilzfäden reichlich durchwachsendes Hautstück eines kranken Krebses unter die Haut eingeführt wurde, wonach die geimpften Krebse in eine Glaswanne mit fliessendem Leitungswasser eingesetzt wurden. Diese Operation wird von den Krebsen gut vertragen. In den meisten Fällen starben aber die geimpften Krebse gewöhnlich 7—12 Tage nach der Operation und bei der Untersuchung der toten Krebse erwiesen sich die um die Impfstelle herum gelegenen Hautpartien, sowie die zu den angegriffenen Segmenten gehörenden Bauchganglien als mit *Aphanomyces*-Myzel reichlich durchsetzt. Rein theoretisch beweisen natürlich diese Versuche keineswegs, dass die geimpften Krebse durch die Anwesenheit und Wirksamkeit des Pilzes allein zu Grunde gegangen sind; es können auch die mit den Impfstücken eingeführten Bakterien den Tod der Krebse verursacht haben. So war es übrigens sicherlich bei einem Impfkrebs der Fall, der schon am dritten Tage nach der Impfung verendete und in dessen

Blut schon bei direkter Beobachtung eine Überfülle beweglicher Bakterien nachgewiesen werden konnte. In einigen anderen Fällen blieben die Krebse nach der Impfung gesund und bei der Untersuchung dieser Versuchstiere erwies es sich, dass das Impfmateriale durch Leukozyten ganz abgekapselt war, von Myzelfäden war keine Spur zu entdecken. Da auch in diesen Fällen bei der Impfung Bakterien mit hineingekommen waren, so hätten auch diese Impftiere oder wenigstens einige derselben erkranken und absterben müssen, wenn die Bakterien aus dem toten Krebs, welchem das Impfmateriale entnommen wurde, für Krebse pathogen gewesen wären.

Mit Pilzmateriale aus den zuerst geimpften Krebsen wurden neue gesunde Krebse geimpft, und zwar mit dem gleichen Erfolg. In dieser Weise konnte der Pilz durch mehrere Passagen am Leben erhalten und weitergezüchtet werden. Aus vielen der toten Impftiere wurden Bakterienkulturen angelegt, wobei im grossen und ganzen dieselben Typen wie bei den früheren Untersuchungen gefunden wurden. Es scheint mir aber bemerkenswert, dass in einigen näher untersuchten Fällen z. B. »*proteus*«-Stämme aus den geimpften Tieren anderen Agglutinationstypen angehörten als jene, die in dem Krebs gefunden wurden, von welchem das Impfmateriale genommen worden war. Die in den toten Impfkrebsen gefundenen Bakterien stammten also, wenigstens in vielen Fällen, wahrscheinlich nicht vom Impfmateriale, sondern von den geimpften Krebsen selbst, ev. auch aus dem umgebenden Wasser.

Bezüglich dieser nicht steril ausgeführten Impfungen ist endlich noch zu bemerken, dass sie ganz ähnlich ausfielen, gleichgültig ob das Impfmateriale aus infizierten Hautstücken oder aus verpilzten Gehirnen bestand, was also alle ev. vorhandenen Zweifel über die Artidentität des in der Haut und im Zentralnervensystem gefundenen Pilzmateriales beseitigt.

Weder durch die eindeutigen Befunde bei allen aus verseuchten Gewässern untersuchten kranken und toten Krebsen, noch durch die damit gut im Einklang stehenden Ergebnisse der eben geschilderten, nicht steril ausgeführten Impfversuche war aber der absolut bindende Beweis dafür erbracht, dass der gefundene *Aphanomyces*-Pilz in den erwähnten Fällen der primäre Krankheitserreger gewesen sein muss. Solange man den vermuteten Erreger nicht in Reinkultur gebracht und mit Materiale aus Reinkulturen das typische Krankheitsbild hervorgerufen hatte, bestand noch die theoretische Möglichkeit, ein anderes, unbekanntes Virus sei die primäre Krankheitsursache.*

* Ich kann also meinem hochgeschätzten Kollegen Dr. SCHÄPERCLAUS durchaus nicht beistimmen, wenn er gegen mich polemisch sagt: »Bei einem Krankheitserreger, der mikroskopisch einwandfrei bestimmt werden kann, ist ein solches Verfahren nicht

Wie gesagt machte ich auch schon in Göteborg im Jahre 1930 mit Material aus den Erken-Krebsen Versuche, den *Aphanomyces*-Pilz auf Substraten verschiedener Zusammensetzung reinzuzüchten. Aber erst als die Untersuchungs- und Versuchsanstalt für Binnenfischerei im Jahre 1932 fertiggebaut war, konnte diese Arbeit wieder aufgenommen und in grösserem Umfange weitergeführt werden.

Aus in reines Wasser übergeführten infizierten Hautstücken wuchsen lange Myzelfäden aus, das Wasser wurde aber bald von allerlei, den Hautstücken anhaftenden Bakterien verunreinigt. Dasselbe war auch stets der Fall, wenn sie auf festes Nährsubstrat übergeführt wurden. Es galt also, in irgend einer Weise die Vermehrung der Bakterien zu verhindern, ohne dadurch den Pilz zu schädigen. Alle von mir versuchten Methoden, z. B. mit schwacher Erhitzung, mit raschem Abwaschen in schwacher Sublimatlösung, mit pH-Erniedrigung des Substrates u. a. m. misslangen; sofern sie die Bakterien töteten, töteten sie auch den Pilz.

Von diesen physikalisch-chemischen Methoden ging ich deshalb zu einer biologischen über. Auf Grund der Annahme, dass die Krebse in der Phagocytose ein Mittel besässen, eine nicht allzu grosse Menge von Bakterien unschädlich zu machen, ohne dabei einem krankheitserregenden Pilz schaden zu können, wurden in sterilem Wasser gespülte, pilzinfizierte Hautstücke in die Schwanzmuskulatur gesunder Krebse eingeführt und nach einem oder ein paar Tagen unter sterilen Kautelen wieder herausgenommen. Es zeigte sich dabei, dass die Impfstücke von grossen Mengen weisser Blutkörperchen umgeben waren. Beim Herausnehmen und Überführen der Impfstücke in festes Nährsubstrat (3 % Agar) wurden oft vereinzelte Bakterien frei, sie bildeten aber in diesem Falle nur scharf begrenzte, fixierte Kolonien. Aus einigen der so behandelten Impfstücke sprossden Myzelschläuche hervor, die in gewissen Fällen an den vorhandenen spärlichen Bakterienkolonien vorüber ins sterile Substrat hinauswuchsen. Durch Abschneiden ihrer Spitze und durch abermaliges Überführen der-

nötig und allein erst recht nicht beweisend». Sein Hinweis auf die *Branchiomyces*-Krankheit bei Fischen scheint mir übrigens weniger glücklich, da diese mit der *Aphanomyces*-Krankheit der Krebse nicht völlig analog ist. Handelt es sich doch im ersteren Falle um einen Parasiten, der sich in den Kiemen, also in einem Organ von vitalster Bedeutung, niederlässt und es bis zur offensichtlichen Funktionsunfähigkeit zerstört. Im Falle *Aphanomyces* handelt es sich dagegen um einen Hautparasiten, der eher mit den Saprolegniaceen der Fische verglichen werden kann, von welchen man wohl mit Recht behauptet, dass sie Fische erst befallen und zu Grunde richten, wenn diese aus irgend einer anderen Ursache geschwächt oder verletzt sind. Auch wenn SCHÄPERCLAUS und mir, die wir soviel mit der Krebspest gearbeitet haben, die eindeutigen klinischen Befunde genügen, so ist die Sache meines Erachtens dadurch nicht einwandfrei bewiesen, vor allem nicht jenen, die SCHIKORAS *Aphanomyces*-Theorie entscheidend ablehnen und noch an die HOFERSche Bakterientheorie unbedingt glauben (vgl. SCHÄPERCLAUS 1935, p. 344).

selben auf neue Agarplatten gelang es, mehrere bakterienfreie Pilzkulturen zu erhalten. Als aber Stücke dieser Kulturen gesunden Krebsen steril eingimpft wurden, hörte der Zuwachs des Pilzes auf und die geimpften Krebse blieben gesund! Diese reingezüchteten Pilze waren also an und für sich nicht pathogen. Es lag dann die Annahme nahe, es gäbe ein anderes Virus, dessen Anwesenheit entweder für das Wachstum des Pilzes notwendig wäre, also eine Art von Symbiose ergäbe, oder das allein als primärer Krankheitserreger auftreten könnte. In erster Linie wäre dabei an ein ultravisibles Virus zu denken. Um diese Möglichkeit zu prüfen, wurde ein pestkranker Krebs in einem Mörser zerrieben, der so entstandene Brei mit physiol. NaCl-Lösung verdünnt und durch ein Berkefeldfilter filtriert, wonach das erhaltene Filtrat in gesunde Krebse eingespritzt wurde, von welchen einige nicht weiter behandelt, andere zugleich mit der Einspritzung auch mit Reinkulturen der Pilze steril geimpft wurden. Die eingepfhten Pilze starben jedoch alle ab und sämtliche Versuchstiere blieben gesund.

Es war aber auch die Möglichkeit denkbar, dass die in Reinkultur erhaltenen Pilze nicht der Art *Aphanomyces astaci* angehörten, sondern nur banale Wasserfadenpilze, also sekundäre Ansiedler der erkrankten Krebse seien, die durch den kurzen Aufenthalt im Krebskörper nicht zu Grunde gegangen waren, während sich der wahre Krankheitserreger *Aphanomyces* wegen ungeeigneter Zusammensetzung des Substrats oder aus anderen Ursachen nicht hatte entwickeln können. Von der früher gemachten Beobachtung ausgehend, dass beim Einimpfen von *Aphanomyces*-Material nicht nur die nächsten Hautpartien, sondern auch die den Segmenten zugehörigen Bauchganglien angegriffen werden, wurden gesunde Krebse mit *Aphanomyces*-haltigen Hautstücken wie früher geimpft, wobei darauf geachtet wurde, dass das Impfstück in der Schwanzmuskulatur möglichst lateral zu liegen kam. Die geimpften Krebse wurden dann in Glaswannen mit fließendem Leitungswasser so lange gehalten, bis sich die ersten Krankheitssymptome in Form von stelzendem Gang, seitlicher Lage u. s. w. zeigten. Dann wurden unter sterilen Vorsichtsmaßnahmen *nicht* die Impfstücke, sondern die benachbarten Ganglien der Bauchganglienreihe herauspräpariert und in 3 % Agar übergeführt. Bei mikroskopischer Betrachtung wurden Pilzfäden beobachtet, die aber ihr Wachstum bald einstellten. Aus dem Gedanken heraus, es sei dies darauf zurückzuführen, dass der für das parasitische Leben in Krebsen spezialisierte *Aphanomyces* die spezifischen Eiweißstoffe des Krebses benötigt, um gut gedeihen zu können, wurden in oben beschriebener Weise infizierte Bauchganglien in steril entnommenes, geronnenes Krebsblut übergeführt. Nun entstand ein üppiger Pilzwuchs! Als Nähr-

substrat hatte aber das geronnene Krebsblut mehrere Nachteile. Um die Vorteile des festen Substrats beizubehalten, wurde deshalb der 3 % Agar vor dem Erstarren, also bei etwa $+45^{\circ}$ C, mit steril entnommemen Krebsblut, etwa im Verhältnis 1 Teil Krebsblut zu 3 Teilen Agar, gemischt. In diesem Substrat erhielt ich aus den Ganglien ziemlich rasch auswachsende Myzelschläuche, die ohne Schwierigkeit weitergezüchtet werden konnten. Wenn eine Agarkultur in 3—4 Tagen keine Spur von Bakterienkolonien aufwies, wurde sie als bakterienfrei betrachtet. Alle Pilzkulturen wurden bei Zimmertemperatur gehalten.

Mit Material aus diesen Reinkulturen wurden nun 8 gesunde Krebse geimpft, nachdem die Impfstelle vorher mit Jodalkohol gründlich gereinigt worden war. Trotzdem die früher erwähnten Impfungen, wo die Pilze nicht weiter wuchsen, als Kontrolle dafür dienen konnte, dass der Eingriff an und für sich die Versuchstiere nicht im Geringsten schädigte, wurden doch bei dieser Gelegenheit 4 Krebse in ähnlicher Weise mit gleichgrossen Agarstücken geimpft, die aus dem unbewachsenen Teil derselben Agarplatte herausgeschnitten waren. Die Versuchstiere sowie die Kontrolltiere wurden, natürlich auf verschiedene Wannen verteilt, in fliessendem Leitungswasser bei etwa $+7^{\circ}$ C gehalten. Sämtliche mit Pilzmaterial geimpften Krebse wurden um die Impfstelle herum von Pilzwuchs sehr stark befallen und starben alle innerhalb von 40—60 Tagen, während die Kontrolltiere gesund blieben; als sie nach 3 Monaten getötet und untersucht wurden, waren keine Myzelfäden, weder an der Impfstelle noch anderswo, zu entdecken. Bezüglich der näheren Umstände bei diesem Versuche verweise ich auf p. 26.

Wenn auch dieser letzte Versuch in hohem Masse die Annahme stützte, dass die aus den Ganglien pestkranker Krebse reingezüchteten Pilze für Krebse pathogen sind, so muss natürlich zugegeben werden, dass die Art und Weise der Übertragung der Krankheit eine künstliche war, die sehr von der natürlichen Übertragungsweise abweicht. Es wurde deshalb folgender Versuch angestellt: Zwei gleichgrosse Glaswannen wurden mit Leitungswasser gefüllt und mit Durchlüftung versehen, wonach in jede Wanne drei gesunde Krebse eingesetzt wurden. In die eine Wanne wurde nun die Hälfte einer in der oben beschriebenen Weise hergestellten Reinkultur gebracht, deren andere Hälfte in ein steriles Bouillonröhrchen zwecks Sterilitätsprüfung übergeführt wurde; die Bouillonkultur blieb steril. Um eine Verunreinigung durch Fäulnisbakterien zu verhindern, wurden die Krebse nicht gefüttert. In der Wanne mit der Reinkultur zeigten alle drei Krebse bald typische Krankheitssymptome und starben nach 28 bzw. 33 und 37 Tagen. Alle wiesen bei der Untersuchung verpilzte Hautflecke auf,

ganz wie aus verseuchten Gewässern stammende tote Krebse. An einem Exemplar war unter anderem auch das Gehirn angegriffen und die Augen waren mit einem dichten Pelz von Sporangien-schläuchen überzogen. Bald darauf wurde ein zweiter Versuch folgendermassen angestellt: Eine in der oben beschriebenen Weise hergestellte Reinkultur wurde halbiert, die eine Hälfte wiederum geteilt und zwecks Sterilitätsprüfung auf eine Agar- bzw. eine Gelatineplatte übergeführt, die zweite Hälfte in eine Glaswanne mit Leitungswasser und Durchlüftung, aber ohne Krebse, gelegt; erst am folgenden Tage wurden drei gesunde Krebse eingesetzt. Als weitere Kontrolle wurden zwei ähnlich eingerichtete Glaswannen mit Reinkulturen zweier jener Pilze versehen, mit welchen die Impfversuche negativ ausgefallen waren. Sie hatten sich inzwischen als nicht zur Gattung *Aphanomyces* gehörig erwiesen, indem ältere Myzelschläuche Querwände bildeten! Die Kulturen auf Agar- bzw. Gelatine blieben steril, und durch später ausgeführte Beimpfung mit bakterienhaltigem Wasser wurde festgestellt dass die benutzten Substrate tadellos waren. In der Wanne mit *Aphanomyces*-Material erkrankten wiederum alle drei Krebse in typischer Weise; zwei derselben starben nach 21 Tagen und wiesen typische Pilzflecke auf. Der dritte war offenbar nur an der äussersten Spitze eines der Schreitfüsse angegriffen worden, die Glieder desselben fielen, von Myzelfäden durchwuchert, eins nach dem anderen, innerhalb mehrerer Tagen ab, und der Krebs verendete erst nach 57 Tagen. Im Kontrollversuch ohne jeden Zusatz von Pilzkulturen starben die drei Krebse, ohne irgendwelche Krankheitssymptome gezeigt zu haben, erst nach 108—120 Tagen, offenbar aus Nahrungsmangel, indem sowohl Leber als auch Muskulatur stark zusammengeschrumpft waren; irgend eine Spur einer Pilzinfektion konnte auch bei genauester Untersuchung nicht entdeckt werden. Das gleiche war auch bei den beiden mit »falschen« Pilzen vorgenommenen Versuchen der Fall; die Krebse dieser Versuche starben, ohne Krankheitssymptome gezeigt zu haben, aus Nahrungsmangel nach 63—110 Tagen und erwiesen sich durchwegs bei der Untersuchung als von Pilzinfektionen jeder Art völlig frei.

Es ist noch hinzuzufügen, dass ähnliche Versuche wie diese ersten, hier näher erwähnten, zu wiederholten Malen sowohl von mir als auch von meinem Mitarbeiter Dr. RENNERFELT ausgeführt wurden, und zwar stets mit dem gleichen positiven Ausgang. Ferner ist anzuführen, dass in den Hältern unseres Laboratoriums während dieser vier Jahre niemals ein Fall von *Aphanomyces*-Infektion vorgekommen ist, was sowohl für die Gesundheit des Ausgangsmateriales als auch für die Reinheit unseres Leitungswassers in Bezug auf *Aphanomyces*-Keime zeugt. Ich fühle mich also berichtigt zu sagen, dass durch meine Untersuchungen »der noch fehlende

Beweis dafür geführt wurde, dass der von SCHIKORA als *Aphanomyces* bezeichnete Pilz als Krankheitserreger bei Krebsen auftreten kann». Zwar muss ich SCHÄPERCLAUS recht geben, wenn er (1935, p. 346) sagt, dass ich »durchaus nicht die Forderungen HOFERS erfüllt» habe. »HOFER hat nämlich gefordert, dass Infektionsversuche mit Reinkulturen des *Aphanomyces* an bakterienfreien Krebsen in bakterienfreiem Wasser allein als beweiskräftig angesehen werden dürften.» Wie schon HOFER selbst und auch SCHÄPERCLAUS zugeben, »sind derartige Forderung nicht zu erfüllen», wenigstens nicht wörtlich. Wenn aber mit einwandfreiem Ausgangsmaterial Parallelversuche ausgeführt werden, die sich nur darin unterscheiden, dass dem einen Versuche nur eine aus *Aphanomyces*-infizierten Ganglien pestkranker Krebse gewonnene Reinkultur hinzugefügt wird, und die Versuchstiere in diesem Versuche in typischer Weise erkranken und nach dem Tode dieselben krankhaften Veränderungen in Form von *Aphanomyces*-Herden wie in verseuchten Gewässern verendete Krebse aufweisen, während die Kontrolltiere nicht erkranken, dann sind meiner Meinung nach alle Bedingungen für einen wissenschaftlich bindenden Beweis und damit auch die tatsächlichen Forderungen HOFERS erfüllt.

Wenn ich somit den *Aphanomyces* als den primären Krankheitserreger in allen von mir untersuchten Fällen von Krebspest betrachte und die in sterbenden und eben verendeten Krebsen gefundenen Bakterien als sekundäre Eindringlinge vom Darm bzw. der Leber, wohl auch vom umgebenden Wasser her ansehe, die erst eindringen können, nachdem die Widerstandskraft der Krebse durch die Wirksamkeit des Pilzes verringert oder aufgehoben ist, so bin ich doch keineswegs der Meinung, dass diese Bakterien für den Krankheitsverlauf ohne Bedeutung wären. Ich bin vielmehr der Ansicht, dass sie von ausschlaggebender Bedeutung dafür sind, ob der Verlauf ein rapider oder ein langsamer wird. Besonders lehrreich scheint mir in dieser Hinsicht der oben erwähnte Versuch zu sein, wo Krebse mit Reinkulturen des *Aphanomyces*-Pilzes steril geimpft und in fliessendem, bakterienarmem Leitungswasser bei etwa + 7° C gehalten wurden. Diese Krebse gingen ja erst nach 40—60 Tagen ein, nachdem nicht nur die Gegend um die Impfstelle herum, sondern auch der grössere Teil des Schwanzes derart stark verpilzt worden war, wie ich es weder früher noch später beobachtet habe. Dies scheint mir dafür zu sprechen, dass der Pilz unter für Bakterieninfektionen ungünstigen Verhältnissen (reines Wasser, niedrige Temperatur) an und für sich dem befallenen Krebs auffallend wenig schadet, und dass wir kaum berechtigt sind anzunehmen, dass der Tod der mit *Aphanomyces* infizierten Krebse durch eine toxische Wirkung des Pilzes hervorgerufen wird. Wichtig für das Verständnis der Rolle,

welche die Bakterien bei einem *Aphanomyces*-Befall spielen, ist aber der Umstand, dass nicht eine bestimmte, sondern mehrere, wahrscheinlich wohl die meisten der durch Zufall anwesenden Bakterienarten dazu beitragen können, die letzten Phasen der Krankheit zu beschleunigen. Von einem besonderen Krebspestbakterium kann also auch in dieser Bedeutung nicht gesprochen werden.

III. BEMERKUNGEN ZU FRÜHEREN AUFFASSUNGEN ÜBER DIE URSACHE DER KREBSPEST IN MITTELEUROPA.

Wenn ich in der voranstehenden Darstellung über die Ursache der Krebspest, die sich auf die gegenwärtigen Verhältnisse in Schweden (und Finnland) gründet, ohne weiteres von »Krebspest« gesprochen und der Auffassung von *Aphanomyces astaci* als primären Krankheitserreger die Auffassung HOFERS gegenübergestellt habe, so geschah dies, weil ich der Überzeugung bin, dass das seit den Siebzigerjahren über fast ganz Europa sich kontinuierlich verbreitende grosse Krebssterben doch am Ende eine einheitliche, von einem und demselben Erreger verursachte Krankheit gewesen sein muss. Hiemit will ich natürlich nicht gesagt haben, dass nicht auch andere Organismen als Krankheitserreger bei Krebsen vorkommen, die zu lokalen Krebssterben Veranlassung geben können; solche Erreger gibt es ja mehrere (vgl. z. B. SCHÄPERCLAUS 1927), und dass unter ihnen primär krankheitserregende Bakterien vorkommen könnten, ist natürlich a priori nicht zu verneinen.

Auch SCHÄPERCLAUS (1935) hält es nunmehr für wahrscheinlich, dass das grosse Krebssterben im vergangenen Jahrhundert von *Aphanomyces* hervorgerufen wurde, und ich muss allen von ihm für diese Auffassung herangezogenen Gesichtspunkten unbedingt beistimmen. Zu diesen Gesichtspunkten möchte ich aber einige kritische Bemerkungen über HOFERS Untersuchungen anführen, die es meines Erachtens noch wahrscheinlicher machen, dass nicht das HOFERSche Krebspestbakterium, sondern die schon in den Achtzigerjahren des vorigen Jahrhunderts beobachteten Pilze für das grosse Krebssterben verantwortlich gemacht werden müssen.

HOFER gründete seine Auffassung von der Pathogenität des von ihm als *B. pestis astaci* bezeichneten Spaltpilzes teils auf Impfversuche, teils auf die Fütterung mit infiziertem Fischfleisch, teils auf ein örtliches Zusammenleben mit den Bakterien durch Aufschwemmung derselben im Wasser, was alles Erkrankung und Tod seiner Versuchskrebse herbeiführte. Nach

den oben vorgebrachten Auseinandersetzungen ist die erste Methode für die Beurteilung der Pathogenität durchaus nicht beweisend, ebenso wenig der Eintritt der Krampfstände (nach HOFER eine für sein Krebspestbakterium allein symptomatische Erscheinung), die ich ja aber auch nach Einspritzung von *Vibrio anguillarum*- und *paracoli*-Material beobachten konnte. Die beiden übrigen Versuchsmethoden scheinen dagegen auf den ersten Anblick völlig überzeugend zu sein, wenn es darauf ankommt zu beweisen, dass der in Rede stehende Spaltpilz als primärer Krankheitserreger auftreten kann. Es ist nur lebhaft zu bedauern, dass fast nichts über die Versuchsanordnungen HOFERS mitgeteilt wird. Wenn HOFER (1904, p. 349) SCHIKORA den Vorwurf macht, dass er »eine Grundregel bei allen Untersuchungen über Krankheitserreger unbeachtet gelassen hat, indem er weder mit Reinkulturen seines *Aphanomyces*-pilzes noch mit Reinkulturen der von ihm beobachteten Bakterien gearbeitet hat«, so hätte SCHIKORA meines Erachtens HOFER vorwerfen können, dass er eine andere Grundregel bei allen experimentellen Untersuchungen unbeachtet liess, indem er keine Kontrollversuche anstellte oder wenigstens, soweit ich sehen kann, keine derartigen Versuche erwähnt. Es besteht somit wenigstens die theoretische Möglichkeit, dass das Resultat der von HOFER durchgeführten Versuche durch irgend einen ihm unbekanntem Faktor seitens der Versuchsanordnungen beeinflusst werden konnte, z. B. Vergiftung von den benutzten Aquarien aus, wie in meinen Versuchen mit dem Åsunden-Material, Sauerstoffmangel durch einen allzu starken Bakteriengehalt des Wassers oder das Benutzen eines schon infizierten Ausgangsmaterials (ich denke da besonders an die oben erwähnten, verborgenen *Aphanomyces*-Infektion, wo nur das zentrale Nervensystem angegriffen ist, während die Krebse äusserlich völlig gesund erscheinen).

Das alles sind natürlich nur Vermutungen, deren Berechtigung heute weder bewiesen noch widerlegt werden kann. Meines Erachtens müssen aber auch diese Gesichtspunkte mit berücksichtigt werden, wenn man sich ein klares Bild von der seit mehr als 30 Jahren bestehenden Streitfrage machen will.

SVENSK RESUMÉ.

Föreliggande arbete behandlar resultaten av de undersökningar över kräftpestens orsak, vilka sedan en följd av år på K. Lantbruksstyrelsens uppdrag utförts av mig. Då huvudresultaten redan finnas publicerade i tvenne uppsatser i Ny Svensk Fiskeritidskrift för åren 1931 och 1934 (se litteraturförteckningen) kan jag i detta sammanhang inskränka mig till att hänvisa till nämnda uppsatser.

SCHRIFTENVERZEICHNIS.

1909. *Bergman, A.*, Die rote Beulenkrankheit des Aals. Ber. D. K. Bayer. Biolog. Versuchsstation in München. Bd II. Stuttgart.
1904. *Hofer, B.*, Handbuch der Fischkrankheiten. München.
1928. *Klarin, E.*, Bidrag till kännedomen om kräftpest i Sverige. Skand. Veterinärtidskr. f. Bakteriologi, Patologi etc. Uppsala.
1931. *Nybelin, O.*, Undersökningar över kräftpestens orsak. Ny Svensk Fiskeritidskrift 1931, Göteborg.
1934. — — Nya undersökningar över kräftpestens orsak. Ibid. 1934.
1935. a — — Über die Ursache der Krebspest in Schweden. Fischerei-Zeitung, Bd 38, Nr 2. Neudamm.
1935. b — — Untersuchungen über den bei Fischen krankheitsserregenden Spaltpilz *Vibrio anguillarum*. Mitteil. d. Anst. f. Binnenfischerei bei Drottningholm. Nr 8. Stockholm.
1927. *Schäperclaus, W.*, Krebssterben und Krebskrankheiten in der Mark. Mitteil. d. Fischerei-Vereine f. d. Prov. Brandenburg usw., Bd. 19.
1935. — — Die Ursache der pestartigen Krebssterben. Zeitschr. f. Fischerei, Bd. XXXIII, Heft 2. Neudamm und Berlin. (Ausführliches Schriftenverzeichnis).
1903. *Schikora, F.*, Über die Krebspest und ihren Erreger. Fischerei-Zeitung, Bd. 6, Nr 23. Neudamm.



- *) 1917. *Gunnar Alm.* Undersökningar rörande Hjälmarens naturförhållanden och fiske. Nr 204. Pris kr. 1:—.
1918. *Nils Rosén.* Undersökningar över laxen och laxfisket i Norrbottens län. Nr 208. Pris kr. 1:—.
1918. *Ivar Arwidsson.* Från sjön Öjaren. Nr 210. Pris kr. 0:50.
1918. *Nils Rosén.* Om laxöringen i övre Norrland. Nr 212. Pris kr. 0:60.
1918. *Nils Rosén.* Om laxen och laxfisket i Västerbottens län. Nr 214. Pris kr. 1:50.
- *) 1919. *Gunnar Alm.* Mörrumsåns lax och laxöring. Nr 216.
1919. *Gunnar Alm.* Fiskeribiologiska undersökningar i sjöarna Toften, Testen och Teen (Nerike). Nr 218. Pris kr. 1:75.
- *) 1920. *Ivar Arwidsson.* Kräftstammen i en källklar sjö i Södermanland. Nr 222. Pris kr. 1:25.
1920. *Nils Rosén.* Om Norrbottens saltsjöområdes fiskar och fiske. Nr 225. Pris kr. 4:25.
1920. *Gunnar Alm.* Resultaten av fiskinplanteringar i Sverige. Nr 226. Pris kr. 3:75.
- *) 1920. *Ivar Arwidsson.* Om kräftpesten i Sverige. Anteckningar under åren 1907—1919. Nr 229. Pris kr. 4:—.
1921. *David Nilsson.* Några insjöfiskars ålder och tillväxt i Bottniska viken och Mälaren. Nr 231. Pris kr. 1:60.
- *) 1921. *G. Alm, T. Freidenfelt m. fl.* Klotentjärnarna. Fiskerivetenskapliga undersökningar utförda på uppdrag av Kungl. Lantbruksstyrelsen. Nr 232.
1922. *T. Freidenfelt.* Undersökningar över gösens tillväxt särskilt i Hjälmarens. Nr 235. Pris kr. 2:—.
- *) 1922. *Gunnar Alm.* Bottenfaunan och fiskens biologi i Yxtasjön m. m. Nr 236. Pris kr. 4:—.
1922. *Christian Hessle.* Om Gotlands kustfiske. Nr 238. Pris kr. 1:75.
1922. *Gunnar Alm.* Fiskeristudier i mellersta Europa. Nr 239. Pris kr. 2:—.
1923. *K. A. Andersson, Chr. Hessle, A. Molander, O. Nybelin.* Fiskeribiologiska undersökningar i Östersjön och Bottniska viken. Nr 243. Pris kr. 3:50.
- *) 1923. *Gunnar Alm.* Virkesflottningens inverkan på fisket. Nr 244. Pris kr. 3:—.
1923. *O. A. Sundberg.* Insjöfiske i Gästrikland. Nr 245. Pris kr. 1:50.
1924. *Christian Hessle.* Bottenboniteringar i inre Östersjön. Nr 250. Pris kr. 2:—.
- *) 1924. *Gunnar Alm.* Laxen och laxfiskets växlingar i Mörrumsån och andra Östersjöälvar. Nr 252. Pris kr. 3:50.
1924. *Ivar Arwidsson.* Några mjärdfisken i Svealand. Nr 253. Pris kr. 1:50.
1927. *Christian Hessle.* Sprat and Sprat-Fishery on the Baltic coast of Sweden. Nr 262. Pris kr. 0:75.
1927. *Gunnar Alm.* Undersökningar över Mälarens bottenfauna. Nr 263. Pris kr. 0:75.
1927. *Ivar Arwidsson.* Halländska laxfisken. Nr 266. Pris kr. 2:25.
1927. *Gunnar Alm.* Fiskeristudier i Förenta Staterna och Canada. Berättelse över en studieresa till Nordamerika under år 1926. Nr 267. Pris kr. 2:25
1927. *Osc. Nordqvist och Gunnar Alm.* Uppfödning av laxyngel. Redogörelse över försök vid Kälarnes fiskodlingsanstalt. Nr 268. Pris kr. 1:25.

*) Upplagan slut.

1929. *Christian Hessle*. Strömmingsrökning, anläggning och drift av mindre rökerier. Nr 274. Pris kr. 0:75.
1929. *Gunnar Alm*. Handledning i fiskevård och fiskodling. Nr 275. Pris kr. 0:75.
1929. *Gunnar Alm*. Undersökning över laxöringen i Vättern och övre Motala ström. Nr 276. Pris kr. 1:50.
1929. *Sten Vallin*. Sjön Ymsen i Skaraborgs län. Nr 277. Pris kr. 1:—.
1929. *Christian Hessle*. De senare årens fiskmärkningar vid Svenska Österajökusten. Nr 278. Pris kr. 0:75.

NY SERIE.

MEDDELANDEN FRÅN STATENS UNDERSÖKNINGS- OCH FÖRSÖKSANSTALT FÖR SÖTVATTENSFISKET.

1933. *Gunnar Alm*. Statens undersöknings- och försöksanstalt för sötvattensfisket. Dess tillkomst, utrustning och verksamhet. Nr 1. Pris kr. 0:75.
1934. *Gunnar Alm*. Vätterns röding, fiskeribiologiska undersökningar. Nr 2. Pris kr. 0:75.
1934. *Christian Hessle*. Märkningsförsök med gädda i Östergötlands skärgård åren 1928 och 1930. Nr 3. Pris kr. 0:50.
1935. *Gottfrid Arvidsson*. Märkning av laxöring i Vättern. Nr 4. Pris kr. 0:75.
1935. *Sten Vallin*. Cellulosafabrikerna och fisket. Experimentella undersökningar. Nr 5. Pris kr. 0:75.
1935. *Gunnar Alm*. Plötsliga temperaturväxlingars inverkan på fiskar. Nr 6. Pris kr. 0:75.
1935. *Christian Hessle*. Gotlands havslaxöring. Nr 7. Pris kr. 0:75.
1935. *Orvar Nybelin*. Untersuchungen über den bei Fischen krankheitsserregenden Spaltpilz *Vibrio Anguillarum*. Nr 8. Pris kr. 1:25.

Pris 75 öre.