

BEITRAG ZUR KARYOTYPANALYSE
DER LAUFKÄFERGATTUNG CARABUS L. (COLEOPTERA)

FRIEDRICH WEBER

Zoologisches Institut der Universität Münster

Eingegangen am 3. Februar 1966

Abstract. In 23 species of the genus of *Carabus* L. the male meiotic and/or male mitotic chromosomes and partly female chromosomes have been studied. All species have 26 autosomes (2n). Males are heterogametic (XY-type). In pachytene the heteropyknotic heterosomes are paired closely. Towards diakinesis X and Y pairing becomes less close. In 21 species three rather long chromosomes were found in male mitosis. One of them is the X-chromosome. In some other species Y, distinguished by its small size, was recognizable too. By treating the living tissues with hypotonic solutions the kinetochores became partly visible. In most of the species the long autosomes are acro-, the X-chromosomes metacentric. In contrast to the uniformity of the karyotype in the genus intraspecific inequality of homologous chromosomes was found frequently.

Einleitung

Die Kenntnis des Karyotyps kann bei Insekten eine erhebliche taxonomische Bedeutung haben und Rückschlüsse auf die Evolution der Rassen und Arten ermöglichen (WHITE, 1954, 1957; SMITH, 1960). Es schien deshalb von Interesse, eine größere Anzahl der formenreichen, zur geographischen Rassenbildung neigenden Arten der Gattung *Carabus* L. (*sensu lato*), die schon mehrfach zu Evolutionsstudien verwendet wurde, karyologisch genauer zu studieren.

Verschiedene Autoren hatten bisher bereits 17 *Carabus*-Arten besonders im Hinblick auf die Anzahl der Autosomen und den Typ der Geschlechtsbestimmung untersucht (Tabelle 1). Die vorliegende Arbeit bezweckte zunächst, mit geeigneten Methoden den Feinbau der Mitosechromosomen genauer zu studieren. Dabei ergaben sich für einige Arten von den Befunden der Autoren abweichende Chromosomenzahlen. Ich bestimmte deshalb auch von allen mir zugänglichen Arten (insgesamt 23, davon zehn bisher noch nicht untersuchte) die Anzahl der Autosomen sowie den Typ der Geschlechtsbestimmung.

Material und Methode

Die untersuchten Arten sind in der Tabelle 2 aufgeführt. Die Nomenklatur der Untergattungen, Arten und Unterarten richtet sich nach BREUNING (1932—1936). *C. purpurascens* betrachte ich aber als eigene Art (nach HENSELER, 1940).

Mit Hilfe der Quetschmethode (Feulgenfärbung, vgl. HEITZ, 1936) untersuchte ich vor allem Meiosestadien der Spermatogenese. Eine gute Darstellung der Mitosechromosomen gelang durch Austrocknung von Zellsuspensionen. Nach Fixation in

Tabelle 1. Die von früheren Autoren untersuchten *Carabus*-Arten

Autor	Untersuchte Art	Autosomen (n)	Geschlechts- chromo- somen
CARNOY, 1885 (nach MAKINO, 1951)	<i>coriaceus</i>	11	XY
SMITH, 1953	<i>serratus</i>	12	XY
KARPPINEN, 1956	<i>granulatus</i>	13	XO
	<i>cancellatus</i>	13	XO
	<i>nemoralis</i>	13 oder 14	XO
	<i>glabratus</i>	12	XO
BOUX, 1962	<i>nemoralis</i>	13	XY
	<i>problematicus</i>	13	XY
	<i>purpurascens</i>	13	XY
BOUX, 1963	<i>monticola</i>	13	XY
	<i>macrocephalus</i>	13	XY
PUISSÉGUR und BOUX, 1963	<i>intricatus</i>	13	XY
	<i>solieri</i>	13	XO
	<i>lineatus</i>	13	XY
	<i>splendens</i>	14	XO
	<i>auronitens</i>	14	XO
	<i>hispanus</i>	13	XY
	<i>rutilans</i>	14	XO

Alkohol-Eiessig (3:1) und Nachbehandlung mit 50% Essigsäure konnten die distalen Spermatogonienmitosen führenden Abschnitte der Hodenschläuche durch mehrmaliges Aufsaugen in eine enge Pipette leicht mazeriert werden. Die Suspensionen ließ ich bei 30—35° C auf Objekträgern austrocknen. Anschließend gelangten diese für 1 bis 2 Tage in Orcein-Essigsäure (DARLINGTON und LACOUR, 1963). Nach 1/3-stündiger Differenzierung in 50% Essigsäure wurden die Präparate in Orcein-Essigsäure-Milchsäure (VOSA, 1961) eingebettet. Nach 2 bis 3 Tagen hatten die Chromosomen dann eine optimale Ausfärbung erreicht.

Das so behandelte Hodengewebe zeigte stäbchen- bis kugelförmige Chromosomen. Wurde es vor der Fixation weiterhin in hypotonische (4- bzw. 6fach verdünnte) alkalische Insekten-Ringerlösung gegeben, waren die Mitosechromosomen z.T. stärker gestreckt und ließen deutlich die Kinetochorenregion erkennen (Abb. 2b, 4c, 7c).

Mit Hilfe der Suspensionsmethode konnten besonders gut Spermatogonienmitosen dargestellt werden. Pro Tier gewann ich bis zu 70 auszählbare Mitoseplatten. Andere teilungsaktive Gewebe der Imagines, z.B. das Follikel epithel der Ovarien, ließen sich hingegen weniger leicht mazerieren.

Alle Photos sind, wenn nicht anders angegeben, nach Orceinfärbung mit Phasenkontrastoptik aufgenommen und auf 2000mal vergrößert.

Befunde

1. Anzahl der Chromosomen in der Mitose

Die ♂♂ der 22 untersuchten Arten besaßen $2n = 28$ Chromosomen. Bei 21 Arten fielen 3, bei einer Art (*C. nitens*) 2 Chromosomen durch erhebliche Größe auf (Abb. 1—7). Bei Vorliegen von drei großen Chromo-

Tabelle 2. Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten *Carabus*-Arten. Nomenklatur nach BREUNING (1932—1936)

Untergattung	Art und Untergattung	Fundort	n (♂)	n (♀)	Untersuchte Stadien
<i>Carabus</i> L.	<i>arcensis arcensis</i> HERBST	Westfalen	3		Mitose
	<i>clathratus clathratus</i> L.	Emsland	3		Mitose
	<i>granulatus granulatus</i> L.	Westfalen	2	1	Mitose
	<i>cancellatus cancellatus</i> ILL.	Westfalen	4		Mitose, Meiose
	<i>nemoralis nemoralis</i> MÜLL.	Westfalen	2		Mitose, Meiose
<i>Oreocarabus</i> GEH.	<i>glabratus glabratus</i> PAYK.	Westfalen	3		Mitose, Meiose
	<i>hortensis hortensis</i> L.	Osttirol	3		Mitose, Meiose
	<i>carinthiacus</i> STURM.	Osttirol	1		Mitose
	<i>silvestris silvestris</i> PANZ.	Thüringer Wald, Harz	5		Mitose
	<i>alpestris alpestris</i> STURM.	Osttirol	2		Mitose
	<i>alpestris hoppei</i> GERM.	Tirol	1		Mitose
<i>Mesocarabus</i> THOMS.	<i>problematicus gallicus</i> GEH.	Westfalen	2		Mitose, Meiose
<i>Hemicarabus</i> GEH.	<i>nitens</i> L.	Emsland	3		Mitose, Meiose
<i>Sphodristo- carabus</i> GEH.	<i>pyrenaicus pyrenaicus</i> GEH.	Zentralpyre- näen	4		Mitose, Meiose
<i>Tribax</i> THOMS.	<i>intricatus intricatus</i> L.	Kärnten	1		Meiose
	<i>hispanus</i> FABR.	Cevennen	3		Mitose, Meiose
	<i>irregularis irregularis</i> FABR.	Kärnten, Westfalen	4	1	Mitose, Meiose
	<i>depressus bonellii</i> DEJ.	Osttirol	7		Mitose, Meiose
	<i>creutzeri kircheri</i> GERM.	Kärnten	4	1	Mitose, Meiose
<i>Procustes</i> BON.	<i>coriaceus coriaceus</i> L.	Westfalen	3		Mitose, Meiose
	<i>violaceus germari</i> STURM.	Osttirol	1		Mitose
	<i>purpurascens purpurascens</i> FABR.	Westfalen, Cevennen	5		Mitose
<i>Coptolabus</i> SOL.	<i>splendens splendens</i> OL.	Ostpyrenäen	2		Mitose, Meiose
	<i>auronitens auronitens</i> FABR.	Westfalen	6		Mitose, Meiose

somen waren zwei einander homolog und stellten somit Autosomen dar. Sie werden im folgenden als $A_{1,2}$ bezeichnet. Das dritte große Chromosom weicht morphologisch deutlich von den A-Chromosomen ab (s. S. 471) und ist ein Heterochromosom. Bei einigen Tieren war als weiteres Heterochromosom ein sehr kleines, unpaares Chromosom sichtbar (Abb. 2 a u. b, 3, 5 a—c).

In Übereinstimmung mit den früheren Autoren (Tabelle 1) sind also die ♂♂ der *Carabus*-Arten heterogametisch (wie allgemein bei den Coleopteren: WHITE, 1957). Da weiterhin bei den ♂♂ die Zahl der Mitosechromosomen ganzzahlig ist, liegt der XY-Typ der Geschlechtsbestimmung vor. Die Anzahl der Autosomen beträgt bei allen Arten $2n = 26$.

Die z. T. abweichenden Befunde von CARNOY (1885), KARPPINEN (1956) sowie PUISSÉGUR und BOUX (1963) sind zu korrigieren.

Die Ergebnisse wurden durch Untersuchungen an einigen ♀♀ (Tabelle 2) bestätigt, die in der Mitoseplatte vier große Chromosomen besitzen (A_1 , A_2 , X_1 und X_2). Es fehlt ihnen das sehr kleine Heterosom der ♂♂, das somit das Y-Chromosom darstellt (Abb. 2c).

2. Die Chromosomen der Meiose

Die Meiosestadien, die ich im Hodengewebe von 15 Arten fand, zeigten jeweils 14 Bivalente. Bei *C. depressus* konnte ich das Verhalten

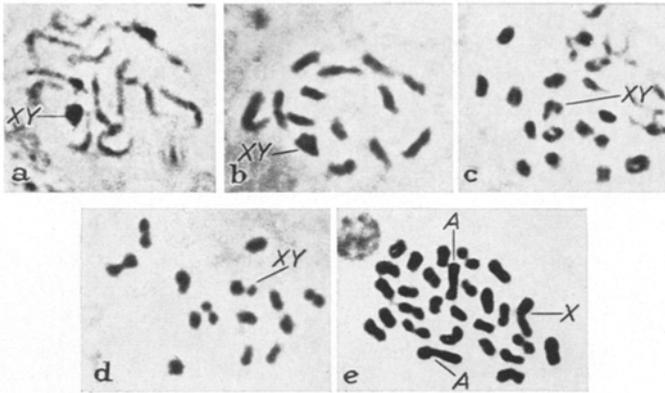


Abb. 1a—e. *C. depressus* ♂. a früheres, b späteres Pachytän, c spätes Diplotän, d Diakinese, e Mitose. a—d Feulgenfärbung

der Heterosomen in den einzelnen Meiosestadien genauer untersuchen. Im frühen Pachytän sind 13 Bivalente lang gestreckt, ein Bivalent ist hingegen heteropyknotisch. Seine keilförmige Gestalt ist durch enge Paarung der zwei ungleich großen Heterosomen verständlich (Abb. 1a). Auch im späteren Pachytän sowie im Diplotän wurden Bivalente gefunden, deren Form auf die Paarung der Geschlechtschromosomen hinweist (Abb. 1b u. c). In der Diakinese ist die Paarung der Heterosomen lockerer: ein Chromosomenpaar zeigt deutlich ungleich große, z. T. relativ weit voneinander entfernte Paarlinge (Abb. 1d).

Bei *C. coriaceus* und *cancellatus* wurde je einmal eine feulgenpositive Anaphase-I-Brücke gefunden. Möglicherweise entstand diese durch Verklebung zwischen Chromatiden im Anschluß an terminale Deletionen. Die Entstehung durch Crossing-over zwischen inversen Chromosomensegmenten ist unwahrscheinlich, da im Pachytän keine Paarungsschleifen gefunden wurden (vgl. JOHN und LEWIS, 1965).

Die Meiosebefunde bestätigen das Vorliegen des XY-Typs der Geschlechtsbestimmung und für die Autosomen die Zahl $2n = 26$.

3. Feinanalyse der Mitosechromosomen

Die Feinanalyse beschränkte sich im wesentlichen zunächst auf die drei großen Chromosomen und ermöglichte in vielen Fällen die Unterscheidung zwischen dem X-Chromosom und den großen A-Chromosomen. Das X-Chromosom einiger Arten war allein schon durch eine Größendifferenz von A_1 und A_2 zu unterscheiden (Abb. 2, 7 a). In vielen Fällen gelang die Unterscheidung auch durch Lokalisation der Kinetochoren.

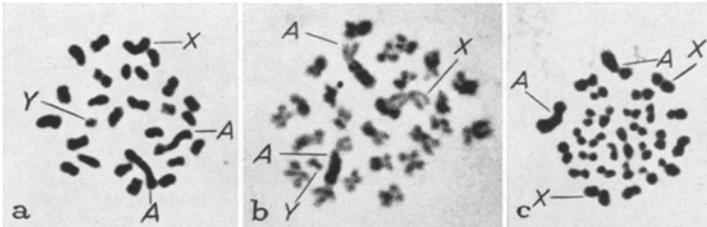


Abb. 2a—c. *C. irregularis*. a—b ♂, c ♀. In b sind die Chromosomen stark gestreckt und lassen z.T. gut die Kinetochorenregion erkennen

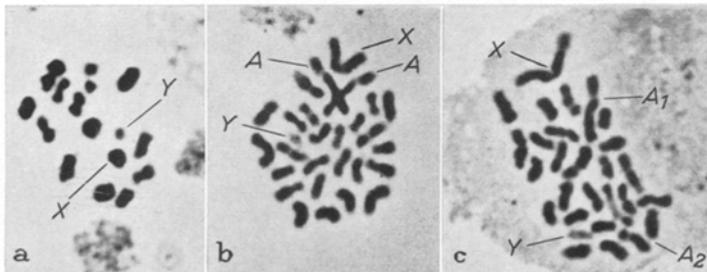


Abb. 3a—c. *C. cancellatus* ♂. a Diakinese, b—c Mitose. In c sind die homologen A-Chromosomen anisomorph

Die großen Chromosomen waren meist von stabförmiger Gestalt und wiesen oft eine leichte Einschnürung auf, in der sie auch eingeknickt sein konnten. Bei stärkerer Streckung, durch welche die Chromatidenspalte sichtbar wurde, erwies sich die Einschnür- bzw. Knickstelle als die Kinetochorenregion (Abb. 2b, 4c, 7c).

Von einigen Arten konnte die Kinetochorenregion der A- und/oder X-Chromosomen sicher bestimmt werden. Bei 15 von 17 Arten waren die A-Chromosomen akrozentrisch, das X-Chromosom war hingegen in 13 von 15 Fällen fast metazentrisch.

X und $A_{1,2}$ einiger Arten unterschieden sich ferner deutlich durch die Verteilung heterochromatischer Abschnitte. Der nur leicht submedian gelegene Kinetochor des X-Chromosoms von *C. nemoralis* war von zwei ungleich großen Heterochromatinabschnitten eingefasst. Der größere

davon lag in dem längeren Arm (Abb. 6a). Auf vergleichbaren Stadien war hingegen ein Arm der A-Chromosomen hetero-, der andere homogen euchromatisch.

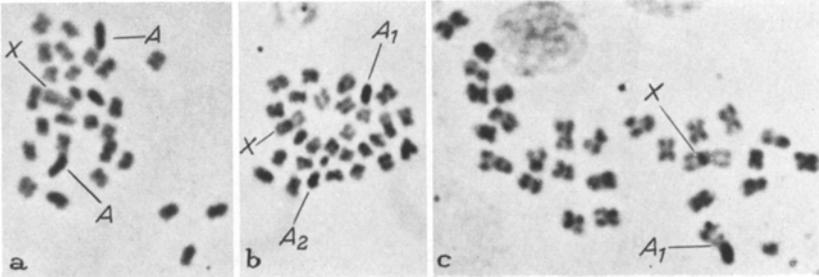


Abb. 4a—c. *C. auronitens* ♂. Mitosen, in a sind die A-Chromosomen isomorph, in b und c anisomorph, in b ist bei einem A-Chromosom auch der kürzere Arm heterochromatisch, in c ist ein A-Chromosom so stark verkürzt, das es von den übrigen Autosomen nicht zu unterscheiden ist

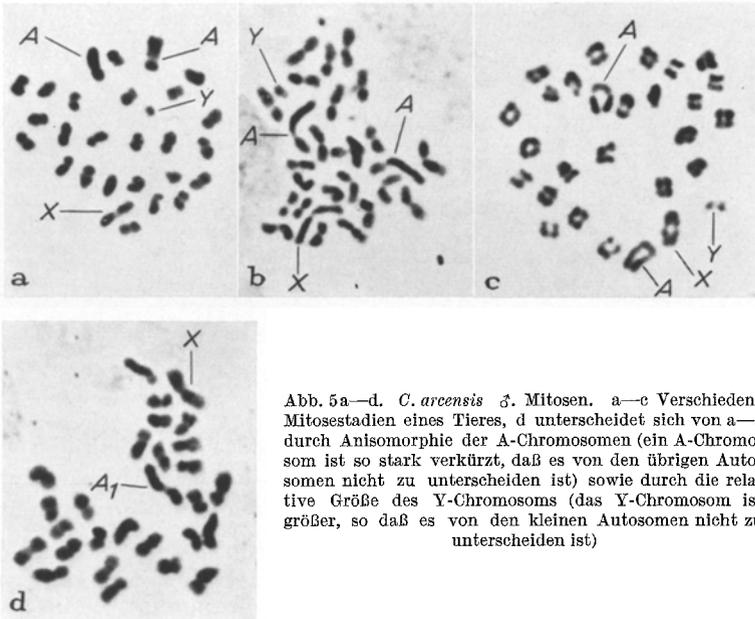


Abb. 5a—d. *C. arcensis* ♂. Mitosen. a—c Verschiedene Mitosestadien eines Tieres, d unterscheidet sich von a—c durch Anisomorphie der A-Chromosomen (ein A-Chromosom ist so stark verkürzt, daß es von den übrigen Autosomen nicht zu unterscheiden ist) sowie durch die relative Größe des Y-Chromosoms (das Y-Chromosom ist größer, so daß es von den kleinen Autosomen nicht zu unterscheiden ist)

Auch bei *C. auronitens* war gewöhnlich ein Arm der A-Chromosomen heterochromatisch, während das X-Chromosom mit Ausnahme kinetochornaher Abschnitte euchromatisch war (Abb. 4a—c). Das A-Chromosom von *C. glabratus* bestand aus zwei stark anfärbaren terminalen Knöpfen, die durch eine weite, fast achromatische Kinetochorregion getrennt waren (Abb. 7b). Bei *C. irregularis* und *creutzeri* war im ge-

streckten Zustand der längere Arm des A-Chromosoms weitgehend hetero-, der kürzere euchromatisch. Das X-Chromosom war im gleichen Streckungszustand homogen euchromatisch (Abb. 2 b, 7 c).

4. Anisomorphie homologer Chromosomen

Die Unterscheidung zwischen Autosomen und X-Chromosomen wurde in einigen Fällen durch eine auffällige Anisomorphie der homologen A_1 -

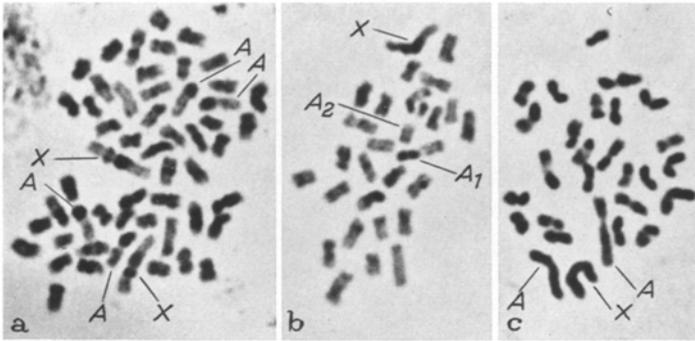


Abb. 6. a u. b *C. nemoralis* ♂, Mitosen mit Chromosomen unterschiedlichen Streckungsgrades. a zeigt 2, nicht ganz vollständige Mitoseplatten. In b sind die A-Chromosomen anisomorph (bei A_2 ist der heterochromatische Arm verkürzt). c *C. silvestris* ♂, Mitose

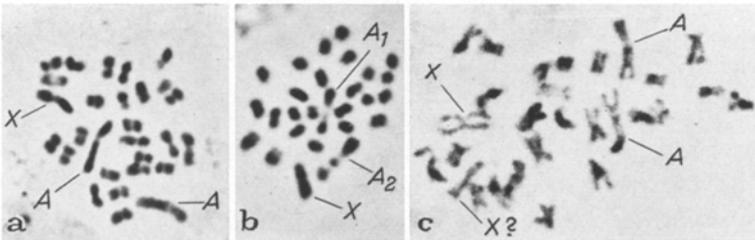


Abb. 7 a—c. Mitosen. a *C. pyrenaeus* ♂, b *C. glabratus* ♂ (Anisomorphie der A-Chromosomen, A_2 mit einem verkürzten Arm), c *C. creutzeri* ♀ (starke Streckung der Chromosomen). c Feulgenfärbung

und A_2 -Chromosomen erschwert. Von den insgesamt 71 Tieren, die Mitosen lieferten, besaßen 10 (d. h. 14 %) in allen Mitoseplatten deutlich anisomorphe A-Chromosomen. In 9 Fällen war dabei ein A-Chromosom verkürzt (Abb. 3 c, 6 b, 7 b), bei je einem *C. arcensis* und *C. auronitens* so stark, daß es nicht mehr von den übrigen, kleinen Autosomen zu unterscheiden war (Abb. 4 c, 5 d). Die Verkürzungen müssen wohl als Folge von Deletionen gedeutet werden. Bei einem weiteren *C. auronitens* lag keine Verkürzung, sondern eine Heterochromatisierung des normalerweise euchromatischen Armes vor (Abb. 4 b). Über das Verhalten der anisomorphen homologen Chromosomen in der Meiose konnte keine Klarheit gewonnen werden.

Auch das Y-Chromosom trat bei einigen Arten anisomorph auf. Bei je zwei Tieren von *C. arcensis* und *silvestris* war es außerordentlich klein und deshalb leicht von den übrigen Chromosomen zu unterscheiden. Bei je einem Tier der beiden Arten war das Y-Chromosom jedoch nicht von den kleinen Autosomen zu trennen. Offensichtlich war es hier größer als bei den zuvor erwähnten Tieren (Abb. 5).

Diskussion

Die meisten der untersuchten Arten unterscheiden sich voneinander durch relative Größe, Kinetochorenlage sowie Heterochromatinverteilung der X- und A-Chromosomen. Zwischen den Vertretern der einzelnen (morphologisch z.T. nicht eindeutig geschiedenen) Untergattungen ergeben sich jedoch keine sicheren Unterschiede. Insgesamt gesehen ist der Karyotyp der 22 genauer untersuchten Arten, die acht verschiedenen Untergattungen angehören, sehr einheitlich. Dies erstreckt sich nicht nur auf die Chromosomenzahl und den Typ der Geschlechtsbestimmung, sondern auch auf die Größe der Chromosomen. So sind außer bei der Untergattung *Hemicarabus* überall bei den ♂♂ drei größere Chromosomen zu finden (X, A₁, A₂). Bei der überwiegenden Anzahl der Arten ist ferner das X-Chromosom angenähert metazentrisch, das A-Chromosom hingegen akrozentrisch.

Dieser Einheitlichkeit des Karyotyps der Gattung steht eine auffällig häufige und z.T. erhebliche intraspezifische Anisomorphie homologer Chromosomen gegenüber. Vermutlich entstanden die meisten der beobachteten anomalen A-Chromosomen durch (homozygot letal wirkende) Deletionen. Diese scheiden also als Mittel der Karyotypveränderung bei der Rassen- und Artbildung aus, deuten jedoch auf häufig stattfindende Chromosomenbrüche, die vermutlich auch die Ursache der Entstehung der Anaphase-I-Brücken sind.

Die Einheitlichkeit des Karyotyps der Gattung *Carabus* macht wahrscheinlich, daß bei der Rassen- und Artbildung der Caraben die zur Entstehung eines Chromosomenpolymorphismus führenden Mechanismen des Chromosomenumbaus (zentrische Fusionen, Dissoziationen, Translokationen, perizentrische Inversionen — WHITE, 1957) nicht aufgetreten sind. Als Möglichkeit des Chromosomenumbaus bleiben lediglich die parazentrischen Inversionen, die bei vielen Insektengruppen als wichtige Voraussetzung für Adaptation und Speziation erkannt wurden (DA CUNHA, 1960). Inversionen setzen nun Bruchereignisse voraus, die bei den *Carabus*-Arten tatsächlich relativ häufig aufzutreten scheinen. Ein direkter Nachweis parazentrischer Inversionen liegt aber noch nicht vor.

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. B. RENSCH danke ich herzlich für die Anregung zu dieser Arbeit.

Zusammenfassung

1. 22 Arten der Gattung *Carabus* wurden karyologisch an Hand von Spermatogonienmitosen und Meiosen der Spermatogenese untersucht. Von einer weiteren Art liegen nur Meiosestadien vor. Die Mitosechromosomen der ♀♀ konnten bei drei Arten dargestellt werden.

2. Alle untersuchten Arten besitzen $2n = 26$ Autosomen. Die ♂♂ sind heterogametisch (XY-Typ).

3. Im Pachytän sind die heteropyknotischen und positiv heterochromatischen Geschlechtschromosomen eng gepaart. Im Diplotän, besonders in der Diakinese wird die Paarung loser, so daß die ungleich großen Paarlinge deutlich erkannt werden können.

4. Bei 21 von 22 Arten treten in den Mitoseplatten der ♂♂ 3 große Chromosomen auf, von denen eines das X-Chromosom ist. Bei einigen männlichen Tieren war auch das Y-Chromosom auf Grund geringer Größe erkennbar.

5. Durch hypotonische Behandlung vor der Fixation konnten die Chromosomen teilweise erheblich gestreckt werden, so daß die Kinetochorenregion sichtbar wurde. Die großen Autosomen erwiesen sich bei den meisten der untersuchten Arten als akrozentrisch, die X-Chromosomen als metazentrisch.

6. Der Einheitlichkeit des Karyotyps der Gattung steht eine auffällig häufige intraspezifische Anisomorphie homologer Chromosomen gegenüber. Bei 10 von insgesamt 71 untersuchten Tieren verschiedener Arten (14%) traten heterozygot anomale, z.T. erheblich verkürzte Chromosomen auf.

Literatur

- BOUX, G.: Analyse chromosomique de trois espèces de Carabes. Bull. biol. France et Belg. **96**, 693—707 (1962); — Formule chromosomiale Coléoptères Carabidae: *Archicarabus monticola* DEJ. et *Hadrocarabus macrocephalus* DEJ. Arch. Zool. exp. **102**, Notes et Rev. **1**, 94—104 (1963).
- BREUNING, S.: Monographie der Gattung *Carabus*. Troppau: Reitter 1932—1936.
- DA CUNHA, A. B.: Chromosomal variation and adaptation in insects. Ann. Rev. Entomol. **5**, 85—106 (1960).
- DARLINGTON, C. D., u. L. F. LACOUR: Methoden der Chromosomenuntersuchung. Stuttgart: Franckh 1963.
- HEITZ, E.: Die Nukleal-Quetschmethode. Ber. dtsh. bot. Ges. **53**, 870—878 (1936).
- HENSELER, K.: *Carabus violaceus* und *purpurascens* F. in Deutschland. Entomol. Bl. **36**, 152—157 (1940).
- JOHN, B., and K. R. LEWIS: The meiotic system. Protoplasmatologia **6**, F, 1 (1965).
- KARPPINEN, E.: Über die Chromosomenverhältnisse der Spermatogenese bei einigen *Carabus*-Arten (Col., Carabidae). Ann. entomol. fennicae **22**, 72—78 (1956).

- MAKINO, S.: Chromosome numbers in animals, 2. ed. Ames: Iowa State College Press 1951.
- PUISSÉGUR, C., et G. BOUX: Garniture chromosomique chez les genres *Chaetocarabus* THOMS. et *Chrysocarabus* THOMS. (Coleopt. Carab.). Compt. rend. **256**, 3189—3192 (1963).
- SMITH, S. G.: Chromosome numbers in Coleoptera. Heredity **7**, 31—48 (1953); — Cytogenetics of insects. Ann. Rev. Entomol. **5**, 69—84 (1960).
- VOSA, C. G.: A modified aceto-orcein method for pollen mother cells. Caryologia (Firenze) **14**, 107—110 (1961).
- WHITE, M. J. D.: Animal cytology and evolution, 2. ed. Cambridge: University Press 1954; — Cytogenetics and systematic entomology. Ann. Rev. Entomol. **2**, 71—90 (1957).

Dr. F. WEBER
Zoologisches Institut der Universität
44 Münster, Badestr. 9