

## Die Cytogenetik zweier norddeutscher Populationen von *Nosopsyllus fasciatus* Bosc (*Aphaniptera*)\*

KLAUS BAYREUTHER

Institut für Allgemeine Genetik der Universität Hohenheim

Eingegangen am 11. März 1969 / Angenommen am 18. März 1969

### *Cytogenetics of two North-German Populations of Nosopsyllus fasciatus Bosc (Aphaniptera)*

**Abstract.** Specimens of the populations Hamburg and Wilhelmshaven of the rat flea *N. fasciatus* exhibit variation of the chromosome number in the range of  $2n = 20-23$  and  $2n = 20-27$  respectively, resulting from individual differences in the number of supernumerary chromosomes beyond the basic chromosome complement of  $2n = 20$ . The supernumerary chromosomes are mostly euchromatic and partly or completely homologous to each other and to the 10. pair of the basic complement. The numerical variation in the population Wilhelmshaven is produced by recurrent mitotic non-disjunction of the supernumerary chromosomes in anaphase II of spermatogenesis. Constant mitotic non-disjunction and preferential segregation of the supernumerary chromosomes towards the pronucleus leads to their accumulation in the population. — A multiple sex-chromosome mechanism of the type  $X_1 X_2 Y_1 Y_2$  (male):  $X_1 X_1 X_2 X_2$  (female) has been demonstrated for the population Wilhelmshaven of *N. fasciatus*. The  $X_1 X_2 Y_1 Y_2$ -chain of four is restricted to the male meiosis, in oogenesis two sex bivalents ( $X_1 X_1$  and  $X_2 X_2$ ) are formed. — The cytogenetic data presented do not support the concept of a closer phylogenetic relationship between the *Aphaniptera* and *Nematocera*, but do not preclude the possibility of a kinship of *Aphaniptera* and *Neomecoptera*. (Zusammenfassung see p. 44).

### I. Einleitung

Die Chromosomencytologie der Flöhe (*Aphaniptera*) ist im Gegensatz zu der der meisten anderen Insektenordnungen bisher kaum bearbeitet worden. Es liegen fünf kurze unvollständige Untersuchungen der Spermatogenese, der Oogenese und der Furchungsteilungen für eine kleine Zahl von Arten vor (Karnkowska, 1932 a, b; Kichijo, 1941; Bayreuther, 1954, 1957). Die Arbeiten haben einen beschränkten Wert. Sie sind alle an einem kleinen Material ausgeführt und berücksichtigen somit mögliche Chromosomenzahlenvariabilität und Chromosomenformenvariabilität nicht, wie sie in dieser Arbeit für *Nosopsyllus fasciatus* Bosc aufgezeigt wird und auch für *Xenopsylla cheopis* (Bayreuther, unveröff.) aufgefunden

\* Teil einer Habilitationsschrift zur Erlangung der *venia legendi* für das Fachgebiet Genetik und Virologie an der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Hohenheim. — Diese Arbeit wurde in der Abteilung Bauer des Max-Planck-Instituts für Meeresbiologie in Wilhelmshaven begonnen.

wurde und die für Wildpopulationen von anderen Floharten daher auch erwartet werden kann. Somit sind die in den obengenannten Arbeiten gemachten Angaben über Chromosomengrundzahlen und Geschlechtschromosomenmechanismen bis zu einer Überprüfung an größerem Material als ungesichert anzusehen. Weiterhin ist das Material teilweise mit veralteten Methoden bearbeitet worden (Karnkowska, 1932a, b; Kichijo, 1941) oder teilweise taxonomisch falsch beschrieben worden (Bayreuther, 1954) (s. Material und Methoden).

Bei diesem Stand erschien eine sorgfältige cytogenetische Analyse der *Aphaniptera* wünschenswert. Mit der Beschreibung eines großen Materials der Spermatogenese und Oogenese von 2 Populationen des nordischen Rattenflohes *Nosopsyllus fasciatus* Bosc wird eine Reihe vergleichender cytogenetischer Untersuchungen der *Aphaniptera* begonnen. Solche Untersuchungen sind von Wert für die Abrundung der Kenntnisse im Bereich der vergleichenden Cytogenetik der Insekten. Von der Kenntnis der Chromosomencytologie der Aphaniptera könnte vielleicht ein Beitrag zur Klärung der phylogenetischen Verwandtschaftsbeziehungen der Flöhe zu den anderen Insektenordnungen erwartet werden.

## II. Material und Methoden

Es wurden 2 Populationen des nordischen Rattenflohes *Nosopsyllus fasciatus* Bosc untersucht. Eine stammt aus dem Bernhard-Nocht-Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg. Das Ausgangsmaterial für diese Population wurde im Jahre 1950 in einem kleinen Biotop in Schleswig-Holstein gesammelt, die genaue Herkunft konnte nicht mehr ermittelt werden. Diese Population wird in dieser Arbeit die Hamburger Population genannt. Herrn Prof. Dr. F. Weyer danke ich für das Material. Die zweite, die Wilhelmshavener Population, setzt sich aus der Nachkommenschaft von Imagines zusammen, die von Wildmäusen aus der näheren Umgebung des Max-Planck-Instituts für Meeresbiologie, Wilhelmshaven, abgesammelt wurden. In einer früheren Arbeit (Bayreuther, 1954) wurde *N. fasciatus* fälschlicherweise als *Leptopsylla segnis* beschrieben. Weiterhin ist zu berichten, daß die in dieser Arbeit (Bayreuther, 1954) beschriebenen Tiere mit übereinstimmenden cytogenetischen Merkmalen ( $X_1 X_2 Y - 2 X_1 2 X_2$ -Geschlechtschromosomenmechanismus,  $2n = 17$  Chromosomen im Männchen und  $2n = 18$  Chromosomen im Weibchen) nicht 2 Arten, *Nosopsyllus fasciatus* Bosc und *Xenopsylla cheopis* Rothsch. zuzuordnen sind, sondern alle der Species *Xenopsylla cheopis* Rothsch. Herrn Prof. Dr. F. Peus und Herrn Prof. Dr. F. Weyer danke ich für die Bestimmung des Flohmaterials.

Massenzuchten der beiden Populationen von *N. fasciatus* wurden in 80 cm hohen und  $30 \times 40$  cm weiten Batteriegläsern gehalten. Als Blutspender für die Imagines dienen Goldhamster. Die Larven leben im Bodenbelag der Batteriegläser, der aus Zellstoff und Sägemehl besteht. Sie werden mit getrocknetem, pulverisiertem Schweineblut gefüttert.

Für kontrollierte Aufzuchtversuche und für die Untersuchung der Reifeteilungen im Ei wurde eine große Anzahl Eier bekannten Alters benötigt. Um diese zu erhalten, wurden weibliche und männliche Imagines vor dem Schlüpfen aus den Kokons herauspräpariert und in Glasröhren mit Gazeboden zufallsgemäß paarweise zusammengegeben. Innerhalb von 2 Std kopulierten ungefähr 95% der Paare.

48 Std nach der Kopulation wurden die befruchteten Weibchen in den Glasröhren Hamstern zum Blutsaugen für 2 Std angesetzt. Weitere Blutmahlzeiten erfolgten in Intervallen von 48 Std. Nach jeder Blutmahlzeit wurden die Glasröhren mit dem Gazeboden nach unten auf Blutpulver in Petrischalen bei hoher Luftfeuchtigkeit gesetzt. Die Weibchen beginnen 24—48 Std nach dem ersten Blutsaugen mit der Eiablage in das Blutpulver und legen nach weiteren Blutmahlzeiten 8—10 Eier pro Weibchen pro 24 Std ab. Beim Anheben der Glasröhren fällt das Blutpulver mit den Eiern durch die Poren der Gaze. Die Imagines bleiben in den Röhren zurück. Die Eier können unter der Präparierlupe aus dem Blutpulver ausgelesen werden. Die kontrollierte Aufzucht vom Eistadium über Larvenstadium, Vorpuppenstadium, Puppenstadium zum Imagostadium erfolgt in Petrischalen in einem Gemisch von Sägemehl und Blutpulver bei hoher Luftfeuchtigkeit. Unter diesen Bedingungen dauert die Entwicklung einer Generation der Wilhelmshavener Population 30—35 Tage. Die Embryonalentwicklung dauert 4—6 Tage, für die 3 Larvenstadien werden 13—15 Tage benötigt. Die gesamte Kokonzzeit, Vorpuppenstadium und Puppenstadium erstreckt sich über 7—8 Tage. Die Entwicklung der Hamburger Population erfordert unter den gleichen Bedingungen 50—54 Tage. Die Hamburger Population kann nur mit Mühe im Labor vermehrt werden.

Für die Wilhelmshavener Population wurde die Spermatogenese und Oogenese, für die Hamburger Population die Spermatogenese untersucht. Die Teilungen der Spermatogonien liegen am Anfang des 3. Larvenstadiums, in den folgenden Tagen laufen in den Spermatocyten die meiotischen Prophasestadien ab. Die beiden Reifeteilungen treten am Ende des 3. Larvenstadiums auf. Die Hoden wurden in Alkohol-Eisessig fixiert und zu Orcein-Milchsäure-Essigsäure-Quetschpräparaten verarbeitet.

*N. fasciatus* hat panoistische Eiröhren ohne Nährzellen mit ausschließlich folliculärer Eibildung. Die Teilungen der primären und sekundären Oogonien und die 1. Wachstumsphase der Oocyten können im 3. Larvenstadium, die 2. Wachstumsphase im Präpuppenstadium und Puppenstadium analysiert werden. Die Ovarien wurden in Alkohol-Eisessig fixiert und in Orcein-Milchsäure-Essigsäure gequetscht oder nach Fixierung in Bouin-Allen zu Feulgen-Quetsch- oder Schnittpräparaten verarbeitet.

Die Reifeteilungen im Ei laufen innerhalb 60—70 min nach der Ablage der Eier ab. Die Eier wurden in Alkohol-Eisessig fixiert und kurz in Karmin-Essigsäure gefärbt. Danach wird das Chorion in 40% Essigsäure angestochen. Der Quellungsdruck des Dotters sprengt das Chorion, das Ei tritt aus dem Chorion aus. Die Eier werden 3 Tage in Orcein-Milchsäure-Essigsäure gefärbt und darin gequetscht.

### III. Ergebnisse

#### 1. Die Spermatogenese der Hamburger Population

Die Hamburger Population von *N. fasciatus* hat keine einheitliche Chromosomenzahl. Die Spermatogonienmetaphasen zeigen  $2n=20-23$  Chromosomen mit submedianen Kinetochoren. Das relative Längenverhältnis des kürzesten zum längsten Element des Chromosomenbestandes ist ungefähr 1:1,9. Die Spermatogonienteilungen zeigen keine Besonderheiten.

Der Chromosomenformwechsel in den meiotischen Prophasestadien der Spermatocyten zeigt nicht den klassischen Ablauf vom Orthopteren-typ. Auf ein Leptotänstadium (Abb. 1a) folgt ein Zygotänstadium

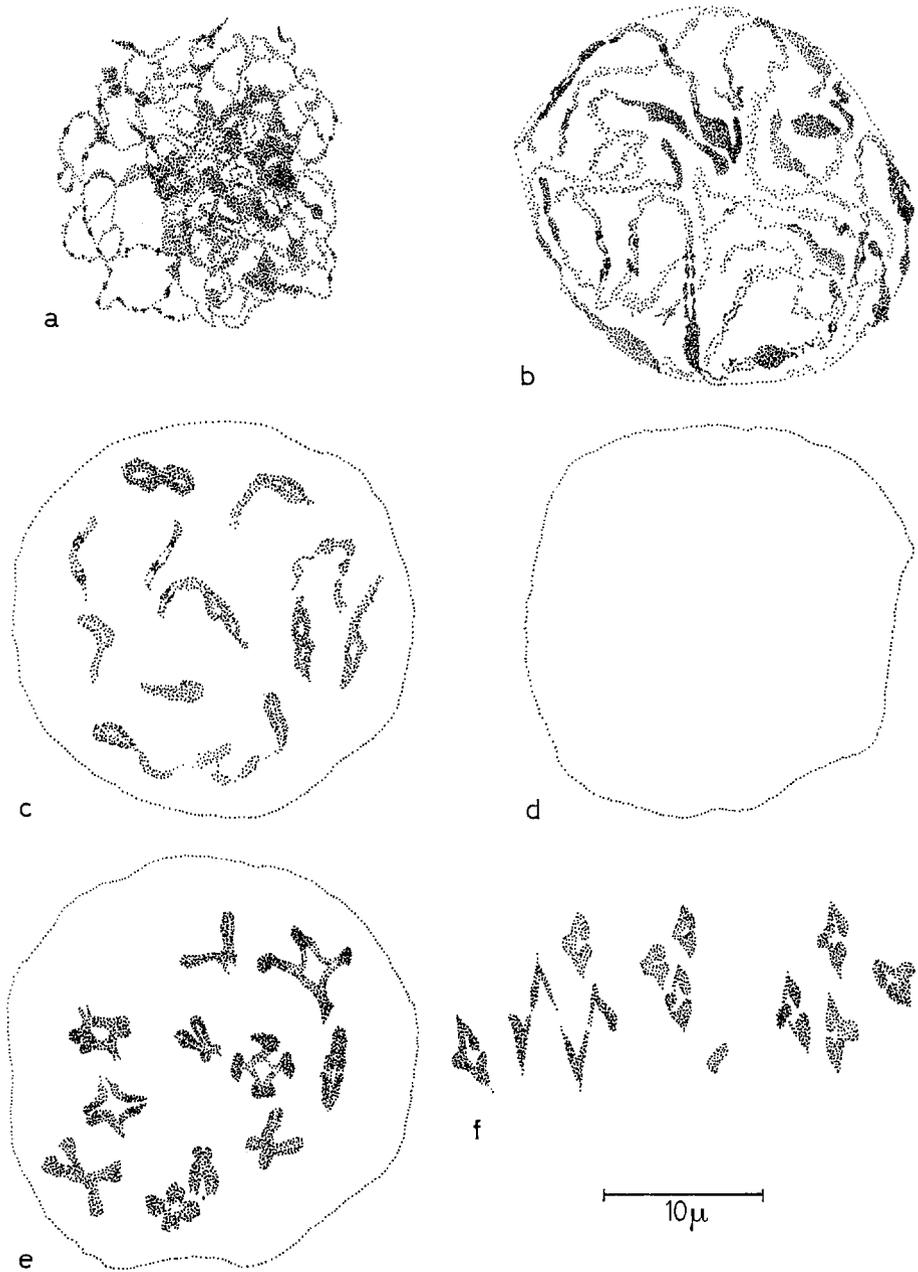


Abb. 1a—f. *N. fasciatus*, Hamburger Population. Prämeiotische Stadien der Spermatocyten. a Leptotän, b Zygotän, c frühes Pachytän, d spätes Pachytän, e Diakinese, f Prometaphase I

(Abb. 1 b), in dem sich die Chromosomen analysieren lassen. Im frühen Pachytän sind nur die heterochromatischen Abschnitte erhalten, die euchromatischen Abschnitte sind schon weitgehend entspiralisiert (Abb. 1 c). Die heterochromatischen Bereiche entspiralisieren sich dann und im späten Pachytän erscheinen die Spermatocytenkerne vollkommen leer und enthalten weder Chromocentren noch Nukleolen (Abb. 1 d). Das Diplotän ist undeutlich ausgebildet. Danach erscheinen die Chromosomen in klarer Diakineseanordnung (Abb. 1 e), durchlaufen ein Prometaphasestadium mit geringer Prometaphasestreckung (Abb. 1 f) und treten in die Metaphase I ein (Abb. 2 a). Für eine quantitative Untersuchung über die Spindeleinordnung der Viererkette in der Prometaphase reichte das Material nicht aus, doch scheint eine anfänglich unregelmäßige Spindeleinordnung allmählich durch eine reguläre disjunktionelle Zickzackanordnung abgelöst zu werden.

Bis zum Pachytän sind die Zellen gleichen Entwicklungsstadiums innerhalb eines Hodens gleich groß. Danach wachsen die Spermatocyten zu 3 verschiedenen Größenklassen heran. In der Metaphase I zeigen die Spermatocyten der 3 Größenklassen den gleichen Chromosomenbestand, weiterhin stimmt die Größe der Chromosomen innerhalb eines Tieres in den 3 Spermatocytenklassen überein. Auch in der Spermatogenese der Wilhelmshavener Population von *N. fasciatus* und bei *Xenopsylla cheopis* (Bayreuther, unveröff.) wurden 3 Größenklassen der Spermatocyten gefunden. Es scheint also bei den Flöhen ein rhythmisches Zellwachstum der Spermatocyten vorzuliegen, das ohne Veränderung der Chromosomenzahl erfolgt, wie es für das Spermatocytenwachstum der Pentatomide *Arvelius albopunctatus* beschrieben ist (Schrader und Leuchtenberger, 1950).

Entsprechend der interindividuellen Chromosomenzahlenvariabilität in den Spermatogonien hatten von 35 in der Metaphase I untersuchten Tieren der Hamburger Population von *N. fasciatus*:

4 Tiere 1 Viererkette, 8 Bivalente,

7 Tiere 1 Viererkette, 8 Bivalente, 1 Univalent,

10 Tiere 1 Viererkette, 9 Bivalente,

14 Tiere 1 Viererkette, 9 Bivalente, 1 Univalent.

4 Dyaden sind stets zu einer Viererkette vereint, die vermutlich durch eine reziproke Translokation zwischen 2 Nichthomologen entstanden ist, wobei die Brüche wahrscheinlich nahe den Kinetochoren erfolgt sind. Die Viererkette tritt bei allen 35 untersuchten Tieren der Hamburger Population auf. Pro Tier wurden 50 Zellen ausgewertet. Sämtliche 1750 Zellen hatten ohne Ausnahme die Viererkette. Sie ist in der Metaphase I normalerweise in Zickzack-Form eingeordnet (Abb. 2 a, b). Daneben enthalten alle Zellen ein Bivalent, das stets in der Terminalisation des Chiasmas nachhinkt und dadurch in der Metaphase I kürzer er-



Abb. 2a—f. *N. fasciatus*, Hamburger Population. RT I der Spermatocyten. a Metaphase I mit 1 Viererkette, 9 Bivalenten und 1 Univalent. b Metaphase I mit 1 Viererkette, 9 Bivalenten und 1 Univalent. Ein Paar Homologe ist nicht gepaart. c Frühe Anaphase I. d Mittlere Anaphase I. e Späte Anaphase I. f Telophase I

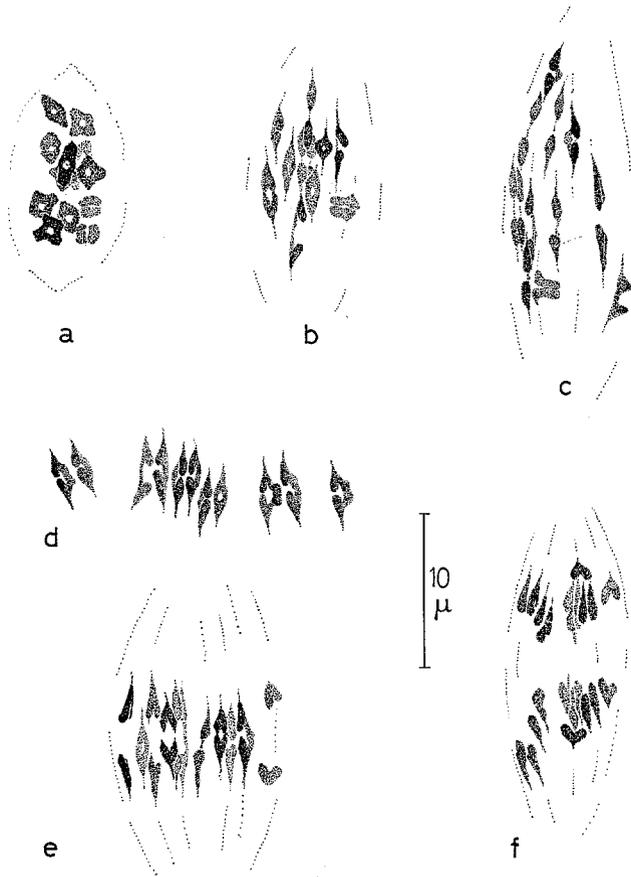


Abb. 3 a—f. *N. fasciatus*, Hamburger Population. RT II der Spermatocyten. a Umordnung der Dyaden, b frühe Prometaphasestreckung, c maximale Prometaphasestreckung, d Metaphase, e frühe Anaphase, f späte Anaphase

scheint (Abb. 2a, b). Die anderen monochiasmatischen Bivalente sind nicht voneinander zu unterscheiden. In einzelnen Fällen bleibt ein Homologenpaar in einzelnen Spermatocyten eines Hodens ungepaart (Abb. 2b).

In der Anaphase I wandern je 2 der 4 Elemente der Viererkette zu einem Pol, und zwar bei normaler Disjunktion stets das 1. und 3. Element zu einem, das 2. und 4. zum anderen Pol. Meistens gehen sie gleichzeitig mit den anderen Autosomen, nur selten trennen sich die Elemente der Viererkette verspätet (Abb. 2d). Die Homologen des Bivalentes, das in der Metaphase I verzögerte Terminalisation des Chiasmas zeigt (Abb. 2a, b), lösen sich erst in der mittleren Anaphase I voneinander (Abb. 2c).

Die Schenkel, die chiasmatisch vereint waren, sind dann in die Chromatiden aufgespalten (Abb. 2c, d). Die Chromatiden sind zunächst gleichlang (Abb. 2d), durch verschieden starke Kontraktion nehmen sie in der Ana-Telophase I oft verschiedene Länge an (Abb. 2e, f). Fragmente wurden in der Anaphase I nicht beobachtet. Somit ist die Brückenbildung (Abb. 2c) und das verspätete Lösen des Chiasmas sicherlich nicht auf Strukturheterozygotie zurückzuführen. Die Dyaden werden verspätet in die Telophasegruppen einbezogen (Abb. 2f). Sie zeigen in der Telophase I einen deutlichen Chromatidenspalt (Abb. 2f).

Ein Interkinese-Ruhekern-Stadium wird nicht durchlaufen. Die Spindel für die RT II wird im rechten Winkel zur Spindel der ersten meiotischen Teilung angelegt. Die Dyaden ordnen sich um (Abb. 3a), dann setzt eine Prometaphasestreckung ein (Abb. 3b, c), ihr Maximum zeigt Abb. 3c. Die Chromatiden sind dann nur noch über kurze Bereiche miteinander vereint, die Dyaden sind über die gesamte Länge der Spindel verteilt. Nach maximaler Prometaphasestreckung ordnen sich die Chromosomen wieder in der Metaphaseebene ein (Abb. 3d). Darauf trennen sich die Chromatiden und wandern polwärts (Abb. 3e, f).

## 2. Die Spermatogenese der Wilhelmshavener Population

Der Ablauf der beiden Reifeteilungen in der Spermatogenese der Wilhelmshavener Population von *N. fasciatus* gleicht in allen Einzel-

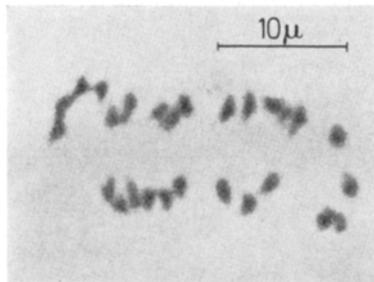


Abb. 4. *N. fasciatus*, Wilhelmshavener Population. Anaphase II der Spermatogenese. Ein Chromosom zeigt mitotisches non-disjunction. Vergr. 1600×

heiten dem der Hamburger Population, so daß auf eine Beschreibung verzichtet werden kann. In der Anaphase II der Spermatogenese der Wilhelmshavener Population tritt in ungefähr 40% der Zellen mitotisches non-disjunction eines oder mehrerer Chromosomen auf (Abb. 4).

Die Wilhelmshavener Population von *N. fasciatus* ist durch eine noch größere interindividuelle Chromosomenzahlenvariabilität gekenn-

zeichnet. Es wurden die Chromosomenzahlen von 95 Tieren ermittelt; pro Tier wurden 50 Zellen in der Metaphase I ausgezählt. Davon hatten:

- 18 Tiere 1 Viererkette, 8 Bivalente,
- 22 Tiere 1 Viererkette, 8 Bivalente, 1 Univalent,
- 19 Tiere 1 Viererkette, 9 Bivalente,
- 15 Tiere 1 Viererkette, 9 Bivalente, 1 Univalent,
- 6 Tiere 1 Viererkette, 10 Bivalente,
- 11 Tiere 1 Viererkette, 10 Bivalente, 1 Univalent,
- 2 Tiere 1 Viererkette, 11 Bivalente,
- 2 Tiere 1 Viererkette, 11 Bivalente, 1 Univalent.

Alle Tiere der Wilhelmshavener Population zeigen die Viererkette in der Metaphase I, normalerweise in Zickzack-Einordnung und ein Autosomenbivalent mit einem spät terminalisierenden Chiasma (Abb. 5 a—f). Im Gegensatz zu der Hamburger Population, bei der Tiere mit 1 Viererkette und 9 Bivalenten und 1 Viererkette, 9 Bivalenten und 1 Univalent vorherrschen, überwiegen also in der Wilhelmshavener Population die Tiere mit 1 Viererkette und 8 Bivalenten und 1 Viererkette, 8 Bivalenten und 1 Univalent.

Einen Einblick in die Natur der Chromosomenzahlenvariabilität in der Wilhelmshavener Population erbrachten die Ergebnisse von kontrollierten Paarungs- und Aufzuchtversuchen. Weibliche und männliche Imagines wurden aus Kokons herauspräpariert und in Glasröhren mit Gazeboden zufallsgemäß paarweise zusammengegeben. Innerhalb von 2 Std hatten die Imagines in 47 von 50 Fällen (94%) kopuliert. Nach einer Blutmahlzeit am Goldhamster beginnen die Weibchen mit der Ablage der Eier (s. Material und Methode). Für die Aufzuchtexperimente wurden 713 Eier gesammelt und in Massenkulturen zu Imagines aufgezogen. Aus den 713 Eiern entwickelten sich 630 Imagines (88,3%). Das Geschlechtsverhältnis war 307 Weibchen: 323 Männchen, also ungefähr 1:1. Diese Ergebnisse machen es wahrscheinlich, daß keine selektive Befruchtung zwischen Flöhen mit gleicher Chromosomenzahl erfolgt, und daß innerhalb der Population Kreuzungen zwischen Flöhen mit verschiedener Chromosomenzahl normalerweise stattfinden. Diese Kreuzungen dürften in den meisten Fällen zu einer lebensfähigen  $F_1$  führen, da die Absterberate von 11,7% bei kontrollierter Aufzucht vom Ei bis zur Imago nicht ausreicht, um alle  $F_1$ -Tiere von Eltern mit ungleicher Chromosomenzahl zu selektieren. Es wären somit bei bestimmten Kreuzungen, z. B. 10 Bivalente (Weibchen) mal 1 Viererkette und 10 Bivalente (Männchen) oder 10 Bivalente (Weibchen) mal 1 Viererkette, 11 Bivalente und 1 Univalent (Männchen)<sup>1</sup>  $F_1$ -Tiere in der Population zu er-

<sup>1</sup> Die Weibchen sind homozygot für die beiden nichttranslozierten Dyaden der Viererkette des Männchens, zeigen also zwei Bivalente an der Stelle der Viererkette, s. Beschreibung der Oogenese und Diskussion.

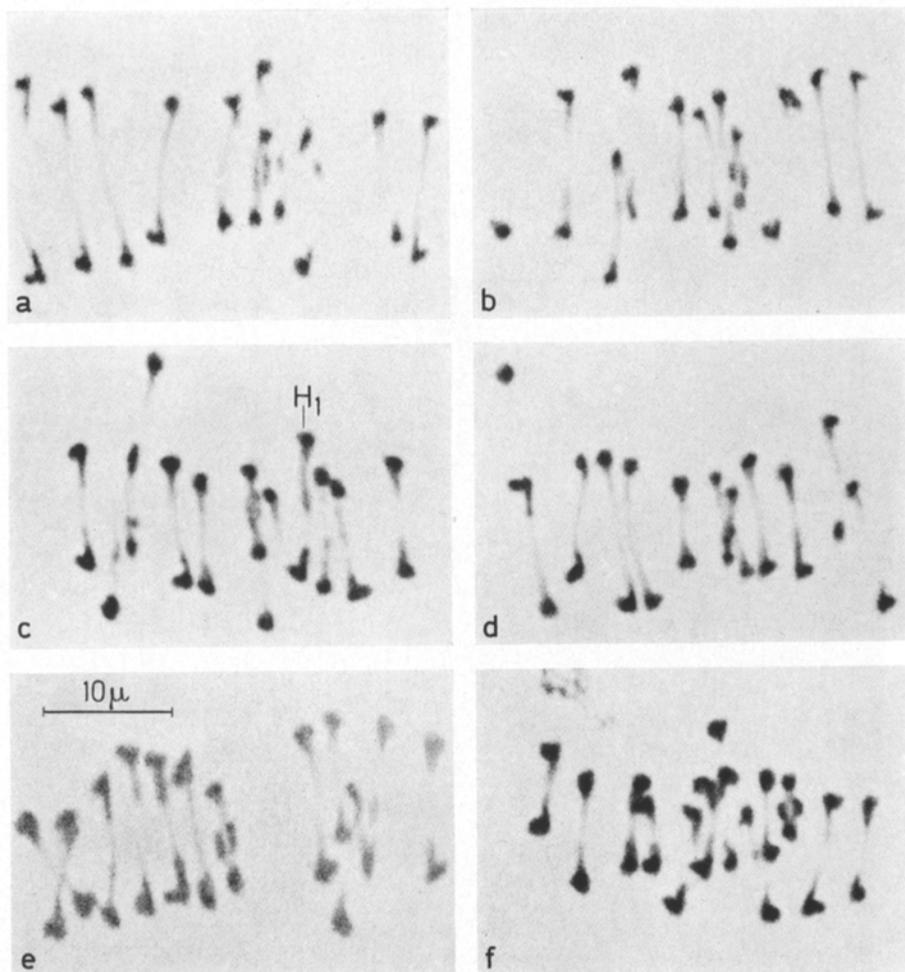


Abb. 5a—f. *N. fasciatus*, Wilhelmshavener Population. RT I der Spermatocyten. Metaphase I mit a 1 Viererkette und 8 Bivalenten, b 1 Viererkette, 8 Bivalenten und 1 Univalent. c 1 Viererkette und 9 Bivalenten, davon 1 heteromorphes Bivalent ( $H_1$ ), d 1 Viererkette, 9 Bivalenten und 1 Univalent. e 1 Viererkette und 10 Bivalenten und f 1 Viererkette, 10 Bivalenten und 1 Univalent, 3 Dyaden bilden ein Autosomentrivalent. Vergr. 1600 $\times$

warten, die bei Ungleichwertigkeit der Überzähligen 1 bzw. 2 Univalentenpaare, bei Gleichwertigkeit der Überzähligen aber 1 bzw. 2 Bivalente enthalten. Abb. 6 gibt einen Überblick über das Auftreten von Univalenten in der Wilhelmshavener Population. Es wurden 78 Tiere aus kontrollierten Aufzuchten ausgewertet, pro Tier 50 Zellen in der

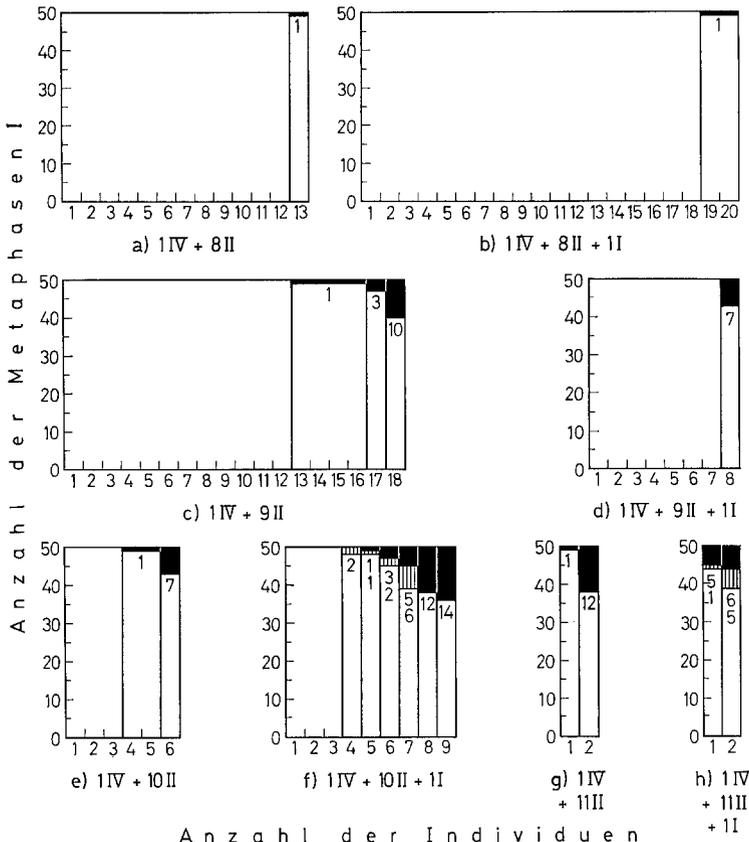


Abb. 6. Überblick über das Auftreten von Univalentenpaaren in der Wilhelmshavener Population von *N. fasciatus*. Es wurden 78 Tiere ausgewertet. Die Abszissenzahlen der Blockdiagramme zeigen die Anzahl der untersuchten Tiere der 8 Chromosomenklassen an, die Ordinatenzahlen, die Anzahl der untersuchten Zellen. Die Ordinatenlänge der schwarz gezeichneten Blockbereiche und die darunter stehende Zahl geben die Zahl der Zellen mit 1 Univalentenpaar, die Ordinatenlänge der senkrecht gestrichelten Blockbereiche und die darunter stehende Zahl geben die Zahl der Zellen mit 2 Univalentenpaaren pro Individuum an

Metaphase I der Spermatogenese. Danach treten in den Chromosomenzahlenklassen mit 1 Viererkette und 8 Bivalenten, 1 Viererkette, 8 Bivalenten und 1 Univalent, 1 Viererkette und 9 Bivalenten, 1 Viererkette, 9 Bivalenten und 1 Univalent, 1 Viererkette und 10 Bivalenten und 1 Viererkette und 11 Bivalenten Tiere auf, die in einzelnen Zellen ein Univalentenpaar zeigen (Abb. 7a). In den Chromosomenzahlenklassen mit 1 Viererkette, 10 Bivalenten und 1 Univalent und 1 Viererkette, 11 Bivalenten und 1 Univalent haben Tiere Zellen mit 1 Paar Univalenten

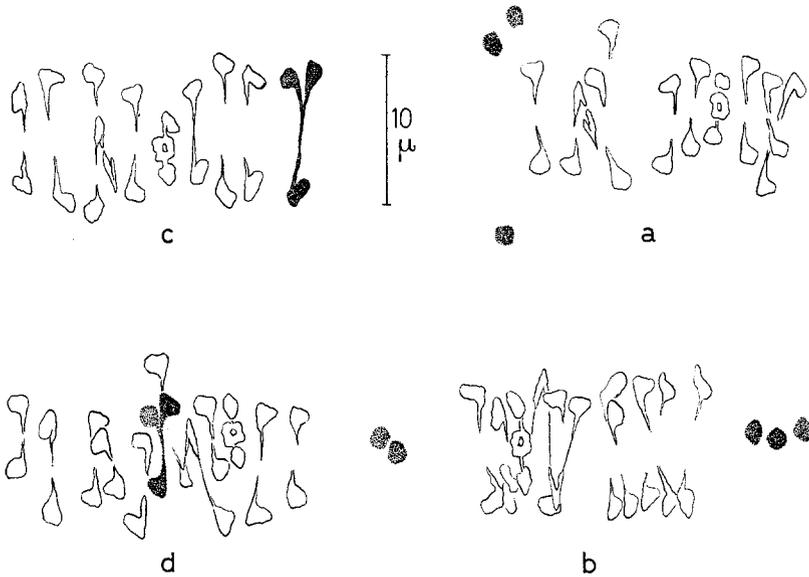


Abb. 7 a—d. *N. fasciatus*, Wilhelmshavener Population. RT I der Spermatocyten. a Metaphase I aus einem Tier mit 1 Viererkette, 9 Bivalenten und 1 Univalent. In der abgebildeten Zelle sind 3 Univalente nicht gepaart. b Metaphase I aus einem Tier mit 1 Viererkette, 11 Bivalenten und 1 Univalent. In der abgebildeten Zelle sind 5 Univalente nicht gepaart. c Metaphase I aus einem Tier mit 1 Viererkette, 8 Bivalenten und 1 Univalent. Univalent mit 1 Bivalent zu einem Autosomentrivalent vereint. d Metaphase I aus einem Tier mit 1 Viererkette, 10 Bivalenten und 1 Univalent. Ein Bivalent mit dem Univalent zu einem Autosomentrivalent vereint

und 2 Paar Univalenten (Abb. 7 a, b). Zellen mit 1 Paar Univalenten und 2 Paar Univalenten können nebeneinander in den Spermatocyten eines Hodens enthalten sein. Die Höchstzahl der in einem Individuum gefundenen Zellen mit 1 Univalentenpaar betrug 14 (28%), in den anderen 36 Zellen (72%) dieses Tieres bildeten die beiden Dyaden ein Bivalent. Die Höchstzahl der in einem Individuum gefundenen Zellen mit 2 Univalentenpaaren betrug 6 (12%), in weiteren 5 Zellen (10%) des gleichen Tieres lag ein Univalentenpaar vor, in den restlichen 39 Zellen (78%) waren die Dyaden zu Tetraden vereint. Somit tritt unter den 78 untersuchten Tieren keines auf, das in 100% der Zellen 1 oder 2 Paar Univalente enthält. Das Fehlen dieser Tiere macht es wahrscheinlich, daß die Chromosomen oberhalb der Grundzahl  $2n = 20$  teilweise oder ganz homolog sind und paarweise zu Bivalenten zusammentreten können. In einzelnen Fällen treten in Tieren mit 1 Viererkette, sowie 8, 9, 10 und 11 Bivalenten und einem zusätzlichen Univalent Autosomentrivalente auf, die durch Einbeziehung eines 3. Homologen in 1 Bivalent durch ein

laterales Chiasma entstanden sind. Von 39 Tieren dieser Chromosomenzahlenklassen wurden je 50 Zellen auf das Vorhandensein des Autosomentrivalentes untersucht. Von 1950 analysierten Zellen zeigten 29 Zellen das Autosomentrivalent, also ungefähr 1,5%. Bei den Tieren mit 1 Viererkette, 9 Bivalenten und 1 Univalent, 1 Viererkette, 10 Bivalenten und 1 Univalent (Abb. 7d) und 1 Viererkette, 11 Bivalenten und 1 Univalent ist die Natur der 3 Chromosomen, die das Autosomentrivalent aufbauen, ungeklärt. Von besonderem Interesse ist das Auftreten von Autosomentrivalenten in Tieren mit 1 Viererkette, 8 Bivalenten und 1 Univalent (Abb. 7c). Es bestärkt die Vorstellung, daß die bis zu 7 überzähligen Chromosomen der WilhelmsHAVENER Population von *N. fasciatus* untereinander und mit einem Chromosomenpaar des Grundsatzes von  $2n = 20$  teilweise oder ganz homolog sind.

Einen cytologischen Beweis für diese Annahme erbrachte die Analyse der Pachytänchromosomen in den Oocyten von *N. fasciatus*. Diese Untersuchungen ergaben, daß in Oocytenkernen mit 11 Homologenpaaren (11 Pachytäne aus 10 Tieren) stets 2 der 11, bei Tieren mit 12 Homologenpaaren in den Oocytenkernen (9 Pachytäne aus 9 Tieren) stets 3 der 12 Homologenpaare im Pachytänstadium den gleichen Bau und die gleiche Länge haben und daß sie weiterhin in der Länge und Lage der heterochromatischen Chromosomenabschnitte übereinstimmen. Sie stellen die 2 bzw. 3 kürzesten der 11 bzw. 12 Homologenpaare dar. Das Paarungsverhalten und der strukturell gleichartige Bau machen es wahrscheinlich, daß die überzähligen Chromosomen mit dem kürzesten 10. Chromosomenpaar des Grundsatzes teilweise oder ganz homolog sind. Gleich den normalen Chromosomen des diploiden Grundbestandes sind die überzähligen Chromosomen im Pachytänstadium in den Oocyten überwiegend euchromatisch (Bayreuther, 1957).

Die anderen Autosomenbivalente sind monochiasmatisch und nicht voneinander zu unterscheiden. In 13 von 78 untersuchten Tieren traten 4 verschiedene Typen von heteromorphen Bivalenten auf, die vermutlich durch Chromosomenmutationen entstanden sind. Bei Typ  $H_1$ , der in 8 Tieren vorkam, ist der Arm zwischen Chiasma und Kinetochor des einen Homologen ungefähr doppelt so lang wie normal (Abb. 8a, 5c). Bei einem Tier trat dieses Homologe in homozygoter Form auf (Typ  $H_2$  Abb. 8b). Bei 2 Tieren hatte der chiasmafrie Arm eines Homologen ungefähr die doppelte Länge wie normal (Typ  $H_3$  Abb. 8c). Bei Typ  $H_4$  fehlt dem einen Homologen im Bivalent der chiasmafrie Arm fast vollständig (2 Tiere) (Abb. 8d). Ob es sich bei den 4 heteromorphen Bivalententypen (Typ  $H_1, H_2, H_3, H_4$ ) um die heteromorphen Formen eines oder mehrerer Bivalente handelt, ist ungeklärt. Die heteromorphen Bivalente neigen dazu, heteropyknotisch zu werden. Innerhalb eines Tieres können in der Metaphase I alle Übergänge vom normal in die Spindel eingeordneten heteromorphen Bivalent bis zum total heteropyknotischen Bivalent auftreten (Abb. 9b—d). In einzelnen Fällen werden in Zellen mit einem verklumpten heteromorphen Bivalent auch andere normale Bivalente heteropyknotisch. Sie haben eine wollig

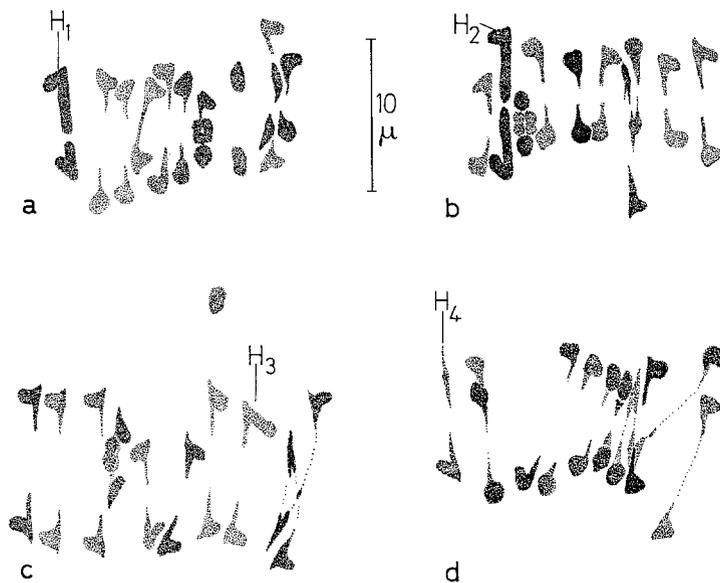


Abb. 8a—d. *N. fasciatus*, Wilhelmshavener Population. RT I der Spermatocyten mit 4 Typen heteromorpher Bivalente (Typ  $H_1$ , Typ  $H_2$ , Typ  $H_3$ , Typ  $H_4$ )

aussehende Oberfläche und nehmen an der Einordnung in die Spindel nicht teil (Abb. 9d).

Bei der Untersuchung der Tiere mit heteromorphen Bivalenten fiel die hohe Zahl der Zellen auf, in denen die Viererkette Abweichungen von der normalen Einordnung zeigte (Abb. 9b—d). Um statistisch zu sichern, daß Fehlorientierungen der Viererkette in Tieren mit heteromorphen Bivalenten häufiger auftreten als in Tieren ohne heteromorphe Bivalente, wurden 78 Tiere ausgewertet, pro Tier 50 Zellen. Von den 78 Tieren, die untersucht wurden, waren 13 mit heteromorphen Bivalenten. In den 3250 analysierten Zellen der 65 Tiere ohne heteromorphe Bivalente zeigten 3138 Zellen die Viererkette in normaler Disjunktionseinordnung, in 112 Zellen zeigte die Viererkette Fehlorientierung (Abb. 9a), das sind 3,06%. In den 650 analysierten Zellen der 13 Tiere mit heteromorphen Bivalenten zeigten 600 Zellen die Viererkette in Disjunktionseinordnung, 50 Zellen in Fehlorientierung (8,03%) (Abb. 9b, c, d). Nach der  $\chi^2$ -Methode ist der Unterschied zwischen diesen beiden Untersuchungsreihen gesichert.  $\chi^2=24,33$ ,  $n=1$ . Die Übereinstimmungswahrscheinlichkeit der beiden Reihen  $p=<0,001=0,1\%$ . Somit ist es statistisch gesichert, daß in Tieren mit heteromorphen Bivalenten Fehlorientierungen der Viererkette häufiger auftreten, als in Tieren ohne heteromorphe Bivalente.

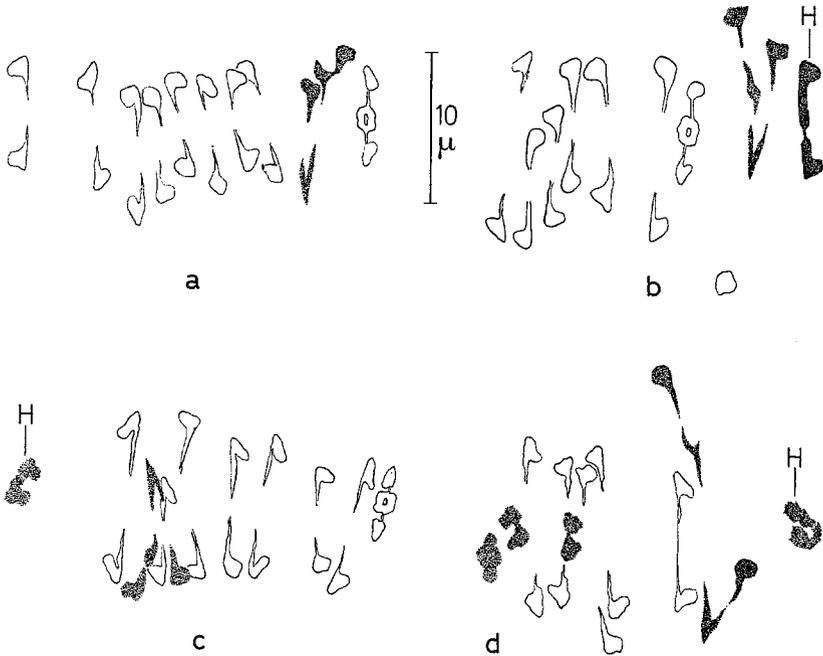


Abb. 9a—d. *N. fasciatus*, Wilhelmshavener Population. RT I der Spermatocyten mit Fehlorientierung der Viererkette. Fehlorientierung der Viererkette in einer Zelle a ohne heteromorphes Bivalent, b mit heteromorphem Bivalent (*H*), c mit heteropyknotischem heteromorphem Bivalent (*H*), d mit verklumptem heteromorphem Bivalent (*H*) und 3 weiteren heteropyknotischen Bivalenten

### 3. Die Oogenese der Wilhelmshavener Population

Die Eibildung der Wilhelmshavener Population von *N. fasciatus* ist bereits an anderer Stelle beschrieben worden. In den Teilungen der sekundären Oogonien von *N. fasciatus* tritt regelmäßig extrachromosomales DNS-haltiges Material auf. Es wird in der späten Interphase der sekundären Oogonien an den heterochromatischen Chromosomenabschnitten gebildet oder gesammelt, in den Teilungen der sekundären Oogonien ungefähr mengengleich auf beide Telophasehälften verteilt und in die Oocytenkerne einbezogen. Im Verlaufe der 1. Wachstumsphase der Oocyten wird die Extra-DNS stark aufgelockert und ist cytochemisch und lichtmikroskopisch nicht mehr nachzuweisen (Bayreuther, 1957).

Die Untersuchungen der Reifeteilungen im Ei sind methodisch schwierig und werden weiterhin dadurch erschwert, daß die Chromosomen in der RT I im Ei durch extrachromosomales DNS-haltiges Material oft vollkommen zugedeckt sind. Von 112 Metaphasen I waren nur 21 Metaphasen I mehr oder weniger frei davon und konnten analysiert werden. Die 21 untersuchten Eier stammen von verschiedenen Weibchen. Es traten an Metaphasen I auf:

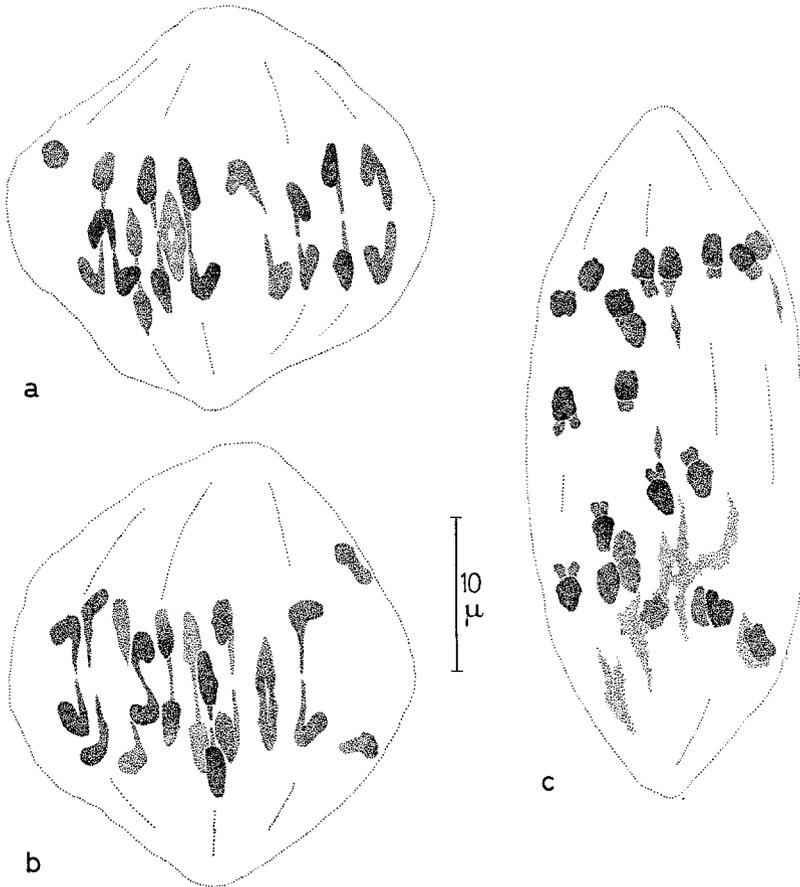


Abb. 10a—c. *N. fasciatus*, Wilhelmshavener Population. RT der Oocyten. a Metaphase I mit 10 Bivalenten und 1 Univalent. b Metaphase I mit 11 Bivalenten, davon 1 Paar Univalente nicht gepaart. c Anaphase I mit extrachromosomalem, feulgenpositivem Material in der Spindel

- 5 mit 10 Bivalenten,
- 7 mit 10 Bivalenten und 1 Univalent (Abb. 9a),
- 4 mit 11 Bivalenten (Abb. 9b),
- 2 mit 11 Bivalenten und 1 Univalent,
- 2 mit 12 Bivalenten,
- und 1 mit 12 Bivalenten und 1 Univalent.

In allen 21 Metaphasen I fehlte die Viererkette, die in den Spermatocyten I in 100% der Zellen vorhanden ist. Weiterhin fehlt das Bivalent, das in der Terminalisation des Chiasmas in der Anaphase I der Spermatogenese nachhinkt. Die monochiasmatischen Bivalente sind nicht voneinander

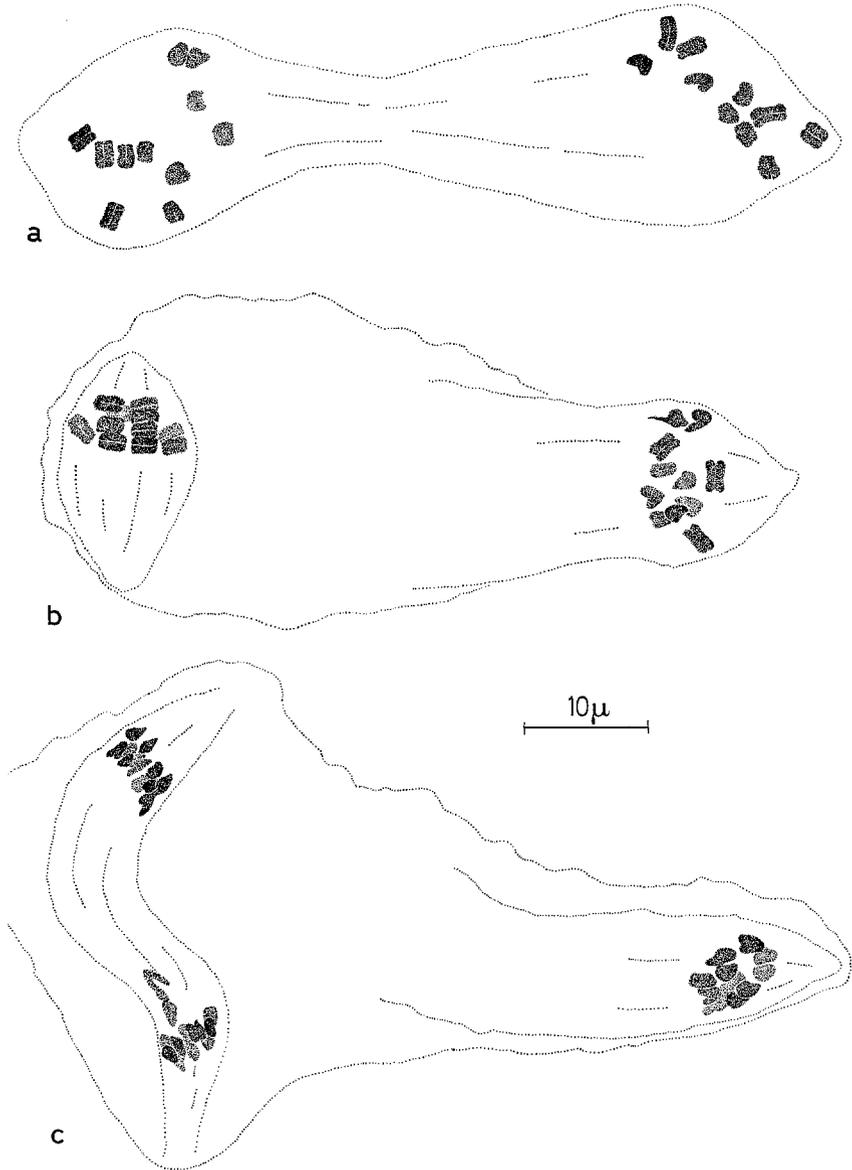


Abb. 11 a—c. *N. fasciatus*, Wilhelmshavener Population. RT I und RT II der Oocyten. a Telophase I, b Metaphase II, c Anaphase II

zu unterscheiden. Ein Bivalent ist stets in beiden Armen chiasmatisch vereint (Abb. 10 a, b). Das extrachromosomale DNS-haltige Material löst sich in der Anaphase I von den Chromosomen und liegt in von Ei zu

Ei variierender Menge innerhalb der Spindel (Abb. 10c). Bis zur späten Anaphase I ist es lichtmikroskopisch und cytochemisch nicht mehr nachzuweisen.

Ein Interkinese-Ruhekern-Stadium wird nicht durchlaufen. Die Dyaden der inneren Telophasegruppe ordnen sich direkt zur Metaphasegruppe II um (Abb. 11b). Die Mehrzahl der Chromosomen teilen sich synchron und wandern in der Anaphase II auf gleicher Höhe polwärts (Abb. 11c). Häufig kann mitotisches non-disjunction eines oder mehrerer Chromosomen beobachtet werden. In ungefähr 70% der Zellen führt eine unipolare Segregation zu einer Einbeziehung der ungeteilten Chromatiden eines oder mehrerer Chromosomen in die Telophasegruppe, die später den Pronukleus bildet (Abb. 11c). Die periphere Dyadengruppe macht keine geordnete Teilung durch, da in der RT II keine Spindel um sie aufgebaut wird (Abb. 11b, c).

#### IV. Diskussion

##### *1. Die Natur und Entstehungsweise der interindividuellen Chromosomenzahlenvariabilität bei Nosopsyllus fasciatus*

Die niedrigsten Chromosomenzahlen, die in den Keimzellen der Wilhelmshavener und der Hamburger Population von *N. fasciatus* gefunden wurden, waren  $2n = 20$  Chromosomen. Dieser Chromosomenbestand kann somit als der diploide Chromosomengrundsatz von *N. fasciatus* angesehen werden.

Einen Einblick in die Natur und die mögliche Entstehungsweise der Chromosomenzahlenvariabilität in der Wilhelmshavener Population von *N. fasciatus* ( $2n = 20-27$  Chromosomen) erbrachten die Ergebnisse der kontrollierten Paarungs- und Aufzuchtversuche und die cytologische Analyse des daraus resultierenden Materials. Die Resultate der Paarungsexperimente zeigen, daß keine selektive Befruchtung zwischen Flöhen mit gleicher Chromosomenzahl erfolgt und machen es wahrscheinlich, daß innerhalb der Population Kreuzungen zwischen Flöhen mit verschiedenen Chromosomenzahlen normalerweise stattfinden. Diese nichtselektiven Kombinationen dürften in den meisten Fällen zu einer lebensfähigen  $F_1$  führen. Die gefundene Absterberate bei kontrollierter Aufzucht vom Ei bis zur Imago ist zu niedrig, um alle  $F_1$ -Tiere von Elterntieren mit ungleicher Chromosomenzahl zu selektieren. Die nichtselektive Befruchtung zwischen Tieren mit verschiedener Chromosomenzahl und die niedrige Absterberate der daraus resultierenden  $F_1$  schließen die Möglichkeit aus, die Chromosomenzahlenvariabilität in der Wilhelmshavener Population von *N. fasciatus* durch das Vorhandensein von Subspezies oder Rassen mit verschiedenen Zahlen normaler Chromosomen zu erklären. Subspezies oder Rassen hybridisieren im allgemeinen

mit einer niedrigen Häufigkeit und Kreuzungen dieser Art sind im allgemeinen teilweise oder ganz steril (White, 1954). Die Chromosomenzahlenvariabilität kann auch nicht auf strukturelle Umbauten im Zuge evolutionärer Veränderungen des normalen Karyotypes zurückgeführt werden, da alle Chromosomen in Tieren mit hohen und niedrigen Chromosomenzahlen submediocentrisch und von vergleichbarer Größe sind und — abgesehen von den heteromorphen Bivalenten — keine strukturellen Chromosomenmutationen erkennen lassen. Die Ergebnisse der kontrollierten Paarungs- und Aufzuchtversuche deuten darauf hin, daß die Chromosomenzahlenvariabilität in der Wilhelmshavener Population von *N. fasciatus* nicht durch eine Zahlenvariabilität normaler Chromosomen, sondern durch eine Zahlenvariabilität von überzähligen Chromosomen bedingt ist. Einen Einblick in die Natur der überzähligen Chromosomen ergaben die Kreuzungen von Tieren mit ungleichen Chromosomenzahlen und die cytologische Analyse der  $F_1$ -Tiere. Die cytologische Analyse der Metaphase I der Spermatogenese hat ergeben, daß unter den untersuchten  $F_1$ -Tieren, die von Kreuzungen von Elterntieren mit ungleichen Chromosomenzahlen stammen, keines auftritt, das in 100% der Zellen 1 oder 2 Paare Univalente enthält. Diese Daten machen es wahrscheinlich, daß die Chromosomen oberhalb der Grundzahl von  $2n = 20$  Chromosomen teilweise oder ganz miteinander homolog sind und paarweise Bivalente bilden können. Für die Homologie der überzähligen Chromosomen spricht weiterhin das Auftreten von einzelnen Trivalenten, die vermutlich durch Einbeziehung eines dritten Homologen in ein Bivalent durch ein laterales Chiasma entstanden sind. Von besonderem Interesse ist das Auftreten von Trivalenten in Tieren mit 1 Viererkette, 8 Bivalenten und 1 Univalent. Dieser Befund macht es wahrscheinlich, daß die bis zu 7 überzähligen Chromosomen, die miteinander teilweise oder ganz homolog zu sein scheinen, gleichzeitig teilweise oder ganz homolog sind mit einem Chromosomenpaar des Grundbestandes von  $2n = 20$  Chromosomen. Die Annahme wird bestärkt durch die Ergebnisse der detaillierten Analyse der Pachytänchromosomen in den Oocyten (Bayreuther, 1957). Diese Untersuchungen ergaben, daß in Oocytenkernen mit 11 Homologenpaaren stets 2 der 11, bei Tieren mit 12 Homologenpaaren in den Oocytenkernen stets 3 der 12 Homologenpaare im Pachytänstadium den gleichen Bau und die gleiche Länge haben und daß sie weiterhin in der Länge und Lage der heterochromatischen Chromosomenabschnitte übereinstimmen. Sie stellen die 2 bzw. 3 kürzesten der 11 bzw. 12 Homologenpaare dar. Das Paarungsverhalten und der strukturell gleichartige Bau machen es wahrscheinlich, daß die überzähligen Chromosomen mit dem kürzesten 10. Chromosomenpaar des Grundsatzes teilweise oder ganz homolog sind. Gleich den normalen Chromosomen des diploiden Grundbestandes sind die überzähligen

Chromosomen im Pachytänstadium in den Oocyten überwiegend euchromatisch.

Das Verhalten der überzähligen Chromosomen in der Reifeteilung I der Spermatogenese und Oogenese zeigt keine Besonderheiten. Als Bivalente sind sie stets beiden Polen zugeordnet und werden normal auf die Pole verteilt. Die Verteilung der Univalenten erfolgt zufallsgemäß. In der Anaphase II der Spermatogenese wurde häufig non-disjunction eines oder mehrerer Chromosomen beobachtet. In der Anaphase-Telophase II der Oogenese führt eine unipolare Segregation in ungefähr 70% der Zellen zu einer Einbeziehung der ungeteilten Dyaden von einem oder mehreren Chromosomen in die Telophasegruppe, die später den Pronukleus bildet. Die Natur der Chromosomen, die in der Anaphase II der Spermatogenese in ungefähr 40% der Zellen non-disjunction und die in der Anaphase II der Oogenese in ungefähr 70% der Zellen non-disjunction und gerichtete Verteilung zeigen, ist cytologisch bisher nicht geklärt. Ein Vergleich der Häufigkeit der gerichteten Segregation in der RT II der Oogenese (ungefähr 70%) und der Absterberate während der kontrollierten Aufzucht (11,7%) macht es wahrscheinlich, daß es sich bei den Chromosomen mit dem abweichenden Teilungsverhalten um die überzähligen Chromosomen handelt. Es kann somit angenommen werden, daß die interindividuelle Chromosomenzahlenvariabilität in der Wilhelmshavener Population von *N. fasciatus* durch das abweichende Teilungsverhalten der überzähligen Chromosomen in den Reifeteilungen II der Spermatogenese und Oogenese bedingt ist. In der männlichen Meiose führt das abweichende Teilungsverhalten der überzähligen Chromosomen zu keiner Verminderung oder Vermehrung der Zahl der überzähligen Chromosomen, in der weiblichen Meiose dagegen führt die unipolare Verteilung zu einer Anreicherung der überzähligen Chromosomen in der Wilhelmshavener Population. Die verschiedenen Mittelwerte der überzähligen Chromosomen in der Wilhelmshavener und der Hamburger Population, für die eine gleiche Natur und Entstehungsweise der interindividuellen Chromosomenzahlenvariabilität angenommen werden kann, deuten darauf hin, daß die überzähligen Chromosomen einen adaptiven Charakter haben und daß Tiere mit verschiedenen Zahlen von überzähligen Chromosomen einen selektiven Vorteil unter verschiedenen natürlichen Bedingungen besitzen.

Chromosomenuntersuchungen somatischer Zellen von *N. fasciatus* liegen im Augenblick nicht vor, so daß keine Aussagen über das Vorhandensein der überzähligen Chromosomen im Soma gemacht werden können. Solche Untersuchungen sind notwendig, um die Natur der überzähligen Chromosomen zu bestimmen. Das Auffinden der überzähligen Chromosomen in Keimbahn und Soma würde den ersten Fall einer Polysomie euchromatischer großer Chromosomen in Wildpopulationen

von Tieren darstellen. Ihre Begrenzung auf die Keimzellen würde die erste Beschreibung eines neuen Types überzähliger Chromosomen im Tierreich bedeuten, für das euchromatische überzählige Chromosomen bisher nicht bekannt sind (Battaglia, 1964). Im Pflanzenreich sind neben den über 600 Pflanzenarten mit heterochromatischen überzähligen Chromosomen nur 13 Arten mit euchromatischen überzähligen Chromosomen registriert worden (Battaglia, 1964). Gleich den überzähligen Chromosomen bei *N. fasciatus* zeigen diese euchromatischen überzähligen Chromosomen der Pflanzen morphologische Übereinstimmung und meiotische Paarung mit Chromosomen des normalen Komplements (Lewis, 1954).

Die genetischen Effekte euchromatischer überzähliger Chromosomen im Tierreich sind bisher nicht untersucht worden. Auf Grund ihres euchromatischen Baues können von ihnen stärkere genetische Effekte quantitativer und qualitativer Art erwartet werden. Im Gegensatz zu den heterochromatischen überzähligen Chromosomen könnte ihnen auch eine große Bedeutung für die Evolution der Arten zufallen, da sie ein durch Mutationen und Rekombinationen zu variierendes zusätzliches Reservoir genetischer Faktoren für die Evolution der Karyotypen der Arten darstellen.

## *2. Der multiple Geschlechtschromosomenmechanismus von Nosopsyllus fasciatus*

Bei allen untersuchten Tieren der Hamburger und Wilhelmshavener Population der verschiedenen Chromosomenzahlenklassen sind in der Metaphase I der Spermatogenese 4 Dyaden stets in einer Viererkette vereint. In beiden Populationen tritt die Viererkette regelmäßig in allen analysierten Spermatozyten I der Tiere mit der diploiden Grundzahl von  $2n=20$  Chromosomen auf (Hamburger Population 4 Tiere mit 200 Zellen, Wilhelmshavener Population 18 Tiere mit 900 Zellen), so daß mit Sicherheit angenommen werden kann, daß die 4 Dyaden der Viererkonfiguration in Tieren ohne und mit überzähligen Chromosomen stets die 4 gleichen Chromosomen des normalen diploiden Grundbestandes darstellen. Für diese Vorstellung sprechen weiterhin die übereinstimmenden morphologischen Charakteristika der die Viererkette aufbauenden 4 Dyaden in allen Tieren verschiedener Chromosomenzahlenklassen in beiden Populationen. Die morphologische Konvergenz der Viererkette in den beiden Populationen macht es wahrscheinlich, daß die Viererketten der beiden Populationen miteinander homolog sind und einen gemeinsamen älteren Ursprung haben.

Die Untersuchungen der Reifeteilungen im Ei sind methodisch schwierig. Deshalb konnten nur 21 Metaphasen I in Oocyten der Wilhelmshavener Population mit Sicherheit analysiert werden. Die unter-

suchten 21 Oocyten stammten von 21 verschiedenen Weibchen. In allen 21 Metaphasen I der Oocyten fehlte die Viererkette, die in den Spermatozyten I in 100% der Zellen vorhanden ist. Somit liegt in der Wilhelmshavener Population von *N. fasciatus* ein multipler Geschlechtschromosomenmechanismus vom Typ  $X_1X_2Y_1Y_2$  (Männchen):  $X_1X_1X_2X_2$  (Weibchen) vor, wobei die Viererkette nur in der Meiose des Männchens vorkommt. Die Weibchen weisen 2 Bivalente an seiner Stelle auf.

Diese Viererkette als meiotische Paarungskonfiguration muß auf einer reziproken Translokation ganzer Schenkel zwischen 2 Chromosomen beruhen, so daß an Stelle der normalen Schenkelkombination 1·2 3·4 etwa die Kombination 2·3 4·1 entstanden ist. Da die Translokationsheterozygotie auf die Männchen beschränkt ist, muß einer der beteiligten Schenkel nahe der Translokationsstelle bzw. durch Crossing-over von ihr nicht trennbar, den männlichkeitsbestimmenden M-Faktor enthalten. Das Chromosom, das diesen Faktor enthält, ist damit ein genetisches Y-Chromosom, das sich strukturell von seinem den m-Faktor tragenden Partner nur durch die Zugehörigkeit zu dem Translokationskomplex unterscheidet. Dieser Translokationskomplex kann infolge seiner Koppelung mit dem M-Faktor nicht in die für den m-Faktor homozygoten Weibchen gelangen.

Ein Weg, die Entstehungsweise komplexer Geschlechtschromosomenmechanismen zu verstehen, ist ein Vergleich mit den einfachen Geschlechtschromosomenmechanismen, die in verwandten Arten oder Genera auftreten. Zwei Prozesse scheinen zu existieren, wodurch komplexe Geschlechtschromosomenmechanismen entstehen können. Erstens durch Fragmentierung von ursprünglich einzelnen X oder Y Chromosomen in zwei oder mehr Elemente (White, 1940). Dieser Prozeß in der Evolution multipler Geschlechtschromosomenmechanismen ist aber auf Arten mit holokinetischen Chromosomen beschränkt und scheidet deswegen für die Flöhe mit monokinetischen Chromosomen aus. Zweitens durch Einbeziehung von einem oder mehreren Paaren von Autosomen in den Geschlechtschromosomenmechanismus, als ein Resultat von Translokationen.

Für die Flohart *Ctenocephalus canis* beschreibt Kichijo (1942) in den Furchungsteilungen eines Eies  $2n = 14$  Chromosomen mit einem unpaaren metacentrischen Chromosom, welches der Autor als das X-Chromosom eines XY-Geschlechtschromosomenmechanismus ansieht. Ohne eine Analyse eines großen Materials von Keimzellen scheint ein derartiger Schluß nicht berechtigt, auch im Hinblick auf die bei *N. fasciatus* und *Xenopsylla cheopis* (Bayreuther, unveröff.) gefundene Heteromorphie der Autosomen. Auch die Angaben Karnkowskas (1932a, b) für *Leptopsylla musculi* mit einem Chromosomenbestand von  $2n = 22$  Chromosomen ohne morphologisch differenzierte Geschlechtschromo-

somen in der männlichen Meiose müssen erst an einem größeren Material mit modernen Methoden bestätigt werden. Das Fehlen gesicherter Angaben über das Vorkommen einfacher Geschlechtschromosomenmechanismen bei Flöhen macht es im Augenblick unmöglich, den Ursprung des multiplen Geschlechtschromosomenmechanismus vom Typ  $X_1 X_2 Y$  (Männchen):  $X_1 X_1 X_2 X_2$  (Weibchen) bei der Flohart *Xenopsylla cheopis* und vom Typ  $X_1 X_2 Y_1 Y_2$  (Männchen):  $X_1 X_1 X_2 X_2$  (Weibchen) bei der Flohart *Nosopsyllus fasciatus* zu erklären.  $X_1 X_2 Y$  (Männchen):  $X_1 X_1 X_2 X_2$  (Weibchen)-Mechanismen können durch Einbeziehung eines Autosomenpaares in einen XO (Männchen): XX (Weibchen) Bestand entstehen, wie z. B. in einer Sektion der *Mantoidea* (Hughes-Schrader, 1950), ebenfalls durch Einbeziehung eines Autosomenpaares in einen XY (Männchen): XX (Weibchen)-Mechanismus, wie z. B. in *Drosophila miranda* (Dobzhansky, 1935 b) und *Drosophila americana americana* (Stone and Patterson, 1947; Cooper, 1946). Somit könnten der  $X_1 X_2 Y$  (Männchen):  $X_1 X_1 X_2 X_2$  (Weibchen)-Mechanismus bei der Flohart *Xenopsylla cheopis* durch strukturelle Umbauten unter Einbeziehung eines Autosomenpaares sowohl aus einem XY als aus einem XO-Mechanismus entstanden sein.

Der  $X_1 X_2 Y_1 Y_2$  (Männchen):  $X_1 X_1 X_2 X_2$  (Weibchen) Geschlechtschromosomenmechanismus bei der Flohart *N. fasciatus* und dem Käfer *Cyrskylus volkameriae* (F.) (Virkki, 1968) und der  $X_1 X_2 X_3 Y_1 Y_2 Y_3$  (Weibchen):  $X_1 X_1 X_2 X_2 X_3 X_3$  (Männchen)-Mechanismus in einer süddeutschen Population des Calanoiden *Diaptomus castor* (Matschek, 1909; Heberer, 1932) stellen die komplexesten Geschlechtschromosomenmechanismen monokinetischer Chromosomen im Tierreich dar. Die Viererkette in der männlichen Meiose von *N. fasciatus* und von *Cyrskylus volkameriae* (Virkki, 1968) ist vermutlich durch eine reziproke Translokation ganzer Schenkel zwischen einem morphologisch nicht differenzierten oder einem XY-Geschlechtschromosomenpaar und einem Autosomenpaar entstanden, der Sechsering in der weiblichen Meiose von *Diaptomus castor* durch 2 Translokationen ganzer Schenkel zwischen 3 Chromosomen, von denen eines 1 Geschlechtschromosomenpaar vor Beginn des Umbaus war, hervorgegangen. Im Gegensatz zum Pflanzenreich, wo für viele Arten stabile komplexheterozygote Formen bekannt sind und wo z. B. für den nordamerikanischen Subgenus *Euoenothea* eine direkte Korrelation zwischen dem Grad der Komplexheterozygotie und der Evolution der Rassen besteht (Cleland, 1949), sind komplexheterozygote Formen höheren Grades stabiler Natur im Tierreich nicht gefunden. Der Sechsering in der weiblichen Meiose des Calanoiden *Diaptomus castor* war auf die Individuen einer süddeutschen Population beschränkt (Heberer, 1932). Für *N. fasciatus* ist die Viererkette in der männlichen Meiose bisher nur in 2 norddeutschen Populationen nach-

gewiesen worden. Untersuchungen weiterer Populationen müssen unternommen werden, bevor entschieden werden kann, ob der multiple Geschlechtschromosomenmechanismus von *N. fasciatus* und *Cyrsyllus volkameriae* (Virkki, 1968) stabilisiert ist oder nur einen Zustand eines vorübergehenden Polymorphismus des Karyotypes in den untersuchten Populationen darstellt.

### 3. Vergleichende cytogenetische Betrachtungen zur Frage der Phylogenie der Flöhe

Für eine lange Zeit wurde angenommen, daß die Aphaniptera niederen Dipteren, den Nematocera, phylogenetisch nahestehen. Crampton (1931) und Tillyard (1935) konnten aber zeigen, daß eine derartige Abstammung auf Grund der anatomischen Unterschiede der Imagines dieser beiden Ordnungen nicht wahrscheinlich ist. Die vielleicht am besten begründete phylogenetische Position der Aphaniptera ist von Hinton (1958) vorgeschlagen. Er stellt die *Aphaniptera* auf Grund des übereinstimmenden Baues der Larven und des gemeinsamen panoistischen Ovarotyps, der sonst bei keiner weiteren Ordnung des panorpoiden Komplexes vorkommt, *Boreus*-artigen Formen der Ordnung *Neomecoptera* nahe.

Die phylogenetischen Beziehungen der *Aphaniptera* zu den anderen Ordnungen des panorpoiden Komplexes werden durch die Ergebnisse der cytogenetischen Untersuchungen nicht geklärt. Die bisher vorliegenden cytologischen Befunde liefern keinen Beweis für eine nähere phylogenetische Beziehung zwischen den *Aphaniptera* und *Nematocera*. Die hohen Chromosomenzahlen, das Vorhandensein des diffusen prämeiotischen Stadiums und die komplexen Geschlechtschromosomenmechanismen trennen die *Aphaniptera* deutlich von den *Nematocera*.

Die Frage der phylogenetischen Beziehung zwischen *Aphaniptera* und *Neomecoptera* kann vom cytologischen Gesichtspunkt noch nicht diskutiert werden, da die Chromosomencytologie beider Gruppen noch zu wenig bearbeitet worden ist. Für die Flöhe liegen bisher nur gesicherte Ergebnisse für *N. fasciatus* mit  $2n = 20-27$  Chromosomen und einem  $X_1 X_1 X_2 X_2 - X_1 X_2 Y_1 Y_2$  Geschlechtschromosomenmechanismus und für *Xenopsylla cheopis* mit  $2n = 18$  Chromosomen im Weibchen und  $2n = 17$  Chromosomen im Männchen und einem  $X_1 X_1 X_2 X_2 - X_1 X_2 Y$  Geschlechtschromosomenmechanismus vor.

Für die *Neomecoptera* liegt nur eine cytologische Untersuchung von *Boreus brumalis* Fitch vor (Cooper, 1951). Danach haben die Weibchen  $2n = 26$  Chromosomen mit einem  $X_1 X_1 X_2 X_2$  Geschlechtschromosomenmechanismus, die Männchen  $2n = 25$  Chromosomen mit einem  $X_1 X_2 Y$  Geschlechtschromosomenmechanismus.

Somit sind weitere vergleichende cytologische Untersuchungen in den Ordnungen *Neomecoptera* und *Aphaniptera* notwendig, um mehr Kennt-

nisse über die Evolution der cytologischen Charakteristika, wie z.B. Chromosomenzahl, komplexer Geschlechtschromosomenmechanismus, in den beiden Ordnungen zu sammeln, bevor phylogenetische Betrachtungen angestellt werden können, die Aussicht auf eine gewisse Gültigkeit haben.

### Zusammenfassung

1. Die Hamburger Population von *Nosopsyllus fasciatus* Bosc (*Aphaniptera*) zeigt in den Spermatogonienmetaphasen  $2n = 20-23$  acrocentrische Chromosomen, die Wilhelmshavener Population von *Nosopsyllus fasciatus* Bosc in den Spermatogonien- und Oogonienmetaphasen  $2n = 20-27$  Chromosomen.

2. Entsprechend der interindividuellen Chromosomenzahlenvariabilität in den Spermatogonien treten in der Metaphase I der Spermatocyten in der Hamburger Population Tiere mit 1 Viererkette und 8 Bivalenten, 1 Viererkette, 8 Bivalenten und 1 Univalent, 1 Viererkette und 9 Bivalenten und 1 Viererkette, 9 Bivalenten und 1 Univalent auf. In der Wilhelmshavener Population sind wegen der noch größeren interindividuellen Chromosomenzahlenvariabilität daneben Tiere mit 1 Viererkette und 10 Bivalenten, 1 Viererkette, 10 Bivalenten und 1 Univalent, 1 Viererkette und 11 Bivalenten und 1 Viererkette, 11 Bivalenten und 1 Univalent in der Metaphase I der Spermatogenese vorhanden.

3. Ergebnisse von kontrollierten Paarungs- und Aufzuchtversuchen deuten darauf hin, daß die Chromosomenzahlenvariabilität in der Wilhelmshavener Population von *N. fasciatus* auf einer Zahlenvariabilität von überzähligen Chromosomen oberhalb der diploiden Grundzahl von  $2n = 20$  Chromosomen beruht. Die cytologische Analyse des  $F_1$ -Materials von Kreuzungen von Tieren mit ungleichen Chromosomenzahlen machen es wahrscheinlich, daß die Chromosomen oberhalb der diploiden Grundzahl von  $2n = 20$  Chromosomen teilweise oder ganz miteinander homolog sind und paarweise echte Bivalente bilden. Das Auftreten von Trivalenten in Tieren mit 1 Viererkette, 8 Bivalenten und 1 Univalent deuten darauf hin, daß die bis zu 7 überzähligen Chromosomen gleichzeitig auch teilweise oder ganz homolog sind mit einem Chromosomenpaar des diploiden Grundbestandes. Ergebnisse einer detaillierten Pachytänanalyse in den Oocyten weisen auf eine Homologie der überzähligen Chromosomen mit dem kürzesten 10. Chromosom des diploiden Grundsatzes hin (Bayreuther, 1957). Die überzähligen Chromosomen sind überwiegend euchromatisch.

4. Mitotisches non-disjunction der überzähligen Chromosomen in der Anaphase II der Spermatogenese führt zu einer Zahlenvariabilität, häufiges mitotisches non-disjunction und die unipolare Verteilung zu einer

Einbeziehung der ungetrennten Chromatiden in den Pronukleus und damit zu einer Anreicherung der überzähligen Chromosomen in der Wilhelmshavener Population.

5. In der Wilhelmshavener Population von *N. fasciatus* liegt ein multipler Geschlechtschromosomenmechanismus vom Typ  $X_1 X_2 Y_1 Y_2$  (Männchen):  $X_1 X_1 X_2 X_2$  (Weibchen) vor. Die Viererkette kommt nur in der männlichen Meiose vor, in der Metaphase I der Oocyten treten 2 Geschlechtsbivalente ( $X_1 X_1$  und  $X_2 X_2$ ) auf.

6. Die cytogenetischen Befunde sprechen gegen eine nähere phylogenetische Beziehung zwischen den Aphaniptera und Nematocera. Sie widersprechen nicht den neueren Vorstellungen von einer näheren phylogenetischen Verwandtschaft zwischen den Aphaniptera und Neomecoptera.

### Literatur

- Battaglia, E.: Cytogenetics of B-chromosomes. *Caryologia* (Firenze) **17**, 245—299 (1964).
- Bayreuther, K.: Die Chromosomen der Flöhe (*Aphaniptera*). *Naturwissenschaften* **41**, 309 (1954).
- Extrachromosomales DNS-haltiges Material in der Oogenese der Flöhe. *Z. Naturforschg.* **12b**, 458—461 (1957).
- Cleland, R. E.: Phylogenetic relationships in *Oenothera*. *Proceed. VIII. Int. Congr. Genetics*, 173—188 (1949).
- Cooper, K. W.: The mechanism of non-random segregation of sex chromosomes in male *Drosophila miranda*. *Genetics* **31**, 181—194 (1946).
- Compound sex chromosomes with anaphasic precocity in the male mecopteran *Boreus brumalis* Fitch. *J. Morph.* **89**, 37—57 (1951).
- Crampton, G. C.: A phylogenetic study of the posterior meta-thoracic and basal abdominal structure of insects, with particular reference to the *Holometabola*. *J. N.Y. entomol. Soc.* **39**, 323—347 (1931).
- Dobzhansky, Th.: *Drosophila miranda*, a new species. *Genetics* **20**, 377—391 (1935).
- Heberer, G.: Die Spermatogenese der Copepoden II. *Z. Zool.* **142**, 141—253 (1932).
- Hinton, H. E.: The phylogeny of the panorpoid orders. *Amer. Rev. Entom.* **3**, 181—206 (1958).
- Hughes-Schrader, S.: The chromosomes of mantids (*Orthoptera, Mantoidea*) in relation to taxonomy. *Chromosoma* (Berl.) **4**, 1—55 (1950).
- Karnkowska, Z.: Les chromosomes dans la spermatogénèse de la puce. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **110**, 670—671 (1932a).
- Les chromosomes de la puce (*Leptopsylla musculi* Dugès). *Soc. vaud. Sci. natur.* **57**, 591 (1932b).
- Kichijo, H.: A note on the chromosomes of the flea, *Ctenocephalus canis* (*Aphaniptera*). *Jap. J. Genet.* **17**, 122—123 (1941).
- Lewis, H.: Quantitative variation in wild genotypes of *Clarkia*. *J. H. B. S. Symp. Gen. Popul. Structure, Pavia* **15**, 114—125 (1954).
- Matschek, H.: Über Eireifung und Eiablage bei den Copepoden. *Arch. Zellforsch.* **5**, 37—111 (1909).

- Schrader, F., and C. Leuchtenberger: A cytochemical analysis of the functional interrelationship of various cell structures in *Arvelius albopunctatus* (de Geer). *Exp. Cell Res.* **1**, 421—452 (1950).
- Stone, W. S., and J. T. Patterson: The species relationship in the *virilis* group. *Univ. Tex. Publ.* **4720**, 157—160 (1947).
- Tillyard, R. J.: The evolution of the scorpion-flies and their derivates (Order *Mecoptera*). *Ann. entomol. Soc. Amer.* **28**, 1—45 (1935).
- Virkki, N.: A chiasmate sex quadrivalent in the male of an alticid beetle, *Cyrsyllus volkammeriae* (F.). *Canad. J. Genet. Cytol.* **10**, 898—907 (1968).
- White, M. J. D.: The origin and evolution of multiple sex-chromosome mechanisms. *J. Genet.* **40**, 303—336 (1940).
- *Animal cytology and evolution*, 2nd edit. Cambridge: University Press 1954.

Privatdozent Dr. K. Bayreuther  
Institut für Allgemeine Genetik  
Universität Hohenheim  
7 Stuttgart-Hohenheim