



Title	DER EINFLUSS DER EIERBEHANDLUNG MIT ZENTRIFUGIERUNG AUF DIE VERERBUNG BEI DEM SEIDENSPINNER : I. ÜBER EXPERIMENTELLE AUSLÖSUNG DER POLYPLOIDEN MUTATION
Author(s)	KAWAGUCHI, Eisaku
Citation	Journal of the Faculty of Agriculture, Hokkaido Imperial University, 38(2), 111-133
Issue Date	1936-10-25
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/12709">https://hdl.handle.net/2115/12709</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	38(2)_p111-133.pdf



# DER EINFLUSS DER EIERBEHANDLUNG MIT ZENTRIFUGIERUNG AUF DIE VERERBUNG BEI DEM SEIDENSPINNER

## I. ÜBER EXPERIMENTELLE AUSLÖSUNG DER POLYPLOIDEN MUTATION

Von

Eisaku KAWAGUCHI

[Mit 4 Textabbildungen]

### Inhalt

Einleitung. ....	111
1. Material und Technik .....	112
2. Ergebnisse .....	113
a). Beeinflussung der Eier .....	113
b). Störung des genetischen Verhaltens .....	115
c). Häufigkeit des Auftretens der polyploiden Schmetterlinge .	117
d). Beschreibung der polyploiden Tiere .....	118
i). Triploid .....	118
ii). Tetraploid .....	119
iii). Hexaploid .....	121
e). Nachkommenschaft der polyploiden Rassen .....	121
i). F <sub>1</sub> -Generation von tetraploiden Tieren .....	121
ii). Die Rückkreuzungen von Tetraploid mit Diploid: 4n ♀ × 2n ♂ und 2n ♀ × 4n ♂ .....	122
f). Morphologische Analyse der polyploiden Tiere .....	122
3. Schluss .....	129
4. Zusammenfassung .....	131
Literatur .....	132

### Einleitung

Die zahlreichen Untersuchungen der letzten Jahre, die mit dem Problem der künstlichen Reize auf Pflanzen und Tiere sich befassen, haben ein neues Licht auf die moderne Genetik geworfen, und zwar

[Jour. Facul. Agr. Hokkaido Imp. Univ. Sapporo, Vol. XXXVIII, Pt. 2, Oct. 1936]

hat die Wirkung von Röntgen- und Radiumstrahlen, ultraviolettem Licht und Temperaturreiz einen interessanten Einfluss auf die Vererbung gezeigt. Die Zentrifugierung hat noch nicht eine so grosse Rolle für diesen Zweck gespielt. Es gibt, soviel ich weiss, nur zwei Versuche in Pflanzenreich; der eine wurde von STUBBE (1930) bei *Antirrhinum majus* berichtet, bei welchem durch die Behandlung des jungen Sprosses mit Zentrifugierung Mutation erzeugt wurde, und durch den anderen wurde von KOSTOFF (1935) bei *Nicotiana langsdorffii* gezeigt, dass man durch die Behandlung der Samen kurz vor Keimung mit Zentrifugierung verschiedene Pflanzen mit heteroploiden und verdoppelten Chromosomen erhalten kann.

Im Tierreich haben TANAKA und KAWAGUCHI (1932) bisher nur eine vorläufige Mitteilung über die Wirkung der Eierbehandlung mit Zentrifugierung beim Seidenspinner berichtet. Es ist dabei eine Anzahl von triploiden, parthenogenetisch entwickelten und von Mosaik-Tieren durch den Zentrifugierungsschock aufgetreten. Wir haben also angenommen, dass diese unerwarteten Tiere wahrscheinlich durch die Unordnung in den normalen ersten Entwicklungsvorgängen im Ei, namentlich in der Reifeteilung und Befruchtung, verursacht wurden. Die weiteren Versuche, die seitdem von mir allein fortgesetzt wurden, haben das vorher gewonnene Ergebnis bestätigt und die Auslösung der noch weiteren polyploiden Formen, nämlich der tetraploiden und der hexaploiden, gesichert. Hier seien nur diese und weitere Daten, um unsere vorläufige Arbeit zu erweitern und zu ergänzen, und auch die diesbezüglichen morphologischen Daten besprochen.

## 1. MATERIAL UND TECHNIK

Als Versuchsobjekte wurde die folgende Kombination der Genen benützt, um die mutierten Tieren zu unterscheiden:  $p^{My}/py$  ♀ ×  $p^Sy$  ♂.<sup>1)</sup> Für die weiteren Ergänzungsversuche wurden noch andere

1) Das sogenannte zweite Chromosom von 28 Chromosomen bei *Bombyx mori* besitzt folgende Gruppe Genen:  $p^S$  (Striped: gestreifte schwarze Raupenzeichnung) (Fig. 1, a, b),  $p^M$  (Moricaud: dunkel-schmutzige Raupenzeichnung) (Fig. 1, e),  $p^B$  (Black: schwarze Raupenzeichnung),  $p$  (plain: ungezeichnete Raupen) (Fig. 1, g),  $P$  (Normal: normale Raupenzeichnung) (Fig. 1, f), Gruppe multipler Allelen, in Lage 0 Einheit;  $Y$  (Yellow: gelbe Haemolymph) und  $y$  (white: weisse Haemolymph) in Lage 25.6 Einheit (TANAKA, '27). Unter diesen Genen ist nur  $p^S$  in der Homozygote von der Heterozygote äusserlich zu unterscheiden, so dass die gestreifte schwarze Farbe in der Heterozygote etwas heller als in der Homozygote ist (Fig. 1, a, b).

Kombinationen benützt, nämlich  $pY \text{♀} \times p^{My}/p^{Sy} \text{♂}$  und die reziproken. Hier wollen wir uns aber nur mit dem oben zuerst angegebenen Fall beschäftigen, weil er fast überstimmende Resultate gegeben hat. Gegebenen Falls soll auch von den anderen Kombinationen die Rede sein. Eine bis drei Stunden nach der Eiablage, nämlich während der Phasen der Reifeteilungen im Ei und der Befruchtung, wurden die Eier durch Zentrifuge behandelt.<sup>1)</sup>

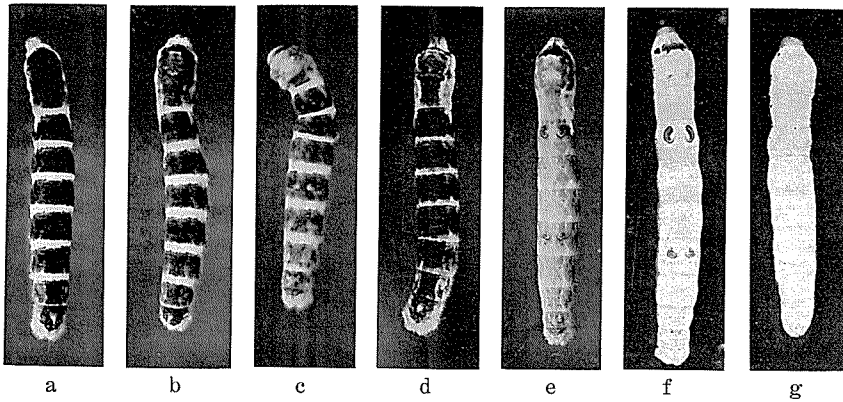


Fig. 1. a, Striped in der Homozygote ( $pSpS$ ); b, Striped in der Heterozygote ( $pSp$ ); c, Striped in der Triploide ( $pSpP$ ); d, Striped-Moricaud ( $pSpM$ ); e, Moricaud ( $pMpM$  od.  $pM$ ); f, Normal ( $PP$  od.  $Pp$ ); g, plain ( $pp$ ).

Ich benützte eine Zentrifugmaschine "Ergos" (in der Goto-Fuundo Fabrik in Tokyo verfertigt). Die Zentrifuge läuft mit einer Höchstgeschwindigkeit von 3500 Umdrehung in der Minute. Ihr Durchmesser mit horizontal gestellten Bechern beträgt 16 cm, die Becher waren 9.2 cm lang. Die Zentrifuge lief bei jedem Versuche 10 Min.

## 2. ERGEBNISSE

### a). Beeinflussung der Eier

Die Eier sind von einer so mächtigen, chitinigen Schale umschlossen, dass sie unter dem angewandten Atmosphärendruck bei unserem

1). Wie der zeitliche Verlauf der ersten Entwicklungsvorgänge im Seidenspinnerei schon von mir (1928) gegeben wurde, kommen die ersten Reifeteilung etwa eine Stunden nach und die zweite zwei Stunden nach der Eiablage zu Ende, und von diesem Zeitpunkt bis drei Stunden findet die Kopulation der Ei- und Spermakerne und noch weiter danach die erste Furchungsteilung statt.

Zentrifugierungsversuche gar nicht gequetscht wurden. Unter der Schale folgt ein dünnes homogenes Häutchen, welches unter dem Namen Membrana vitellina bekannt ist. Darunter liegt vor der Befruchtung noch ein dünnes Keimhautblastem. Das Keimhautblastem ist etwas dicker in der Umgebung des Eikernes. In der zentralen Region des Eies finden wir überwiegend Nahrungsdotterkugeln und Fettkugeln in grösseren und kleineren Formen. Zwischen diesen Dotter- und Fettkugeln liegt das Plasma als ein zartes Retikulum. Nun wurden die Eier durch die Zentrifugalkraft im Aussehen geändert, sodass sie zwei verschieden gefärbte Hälften zeigten. Nah-

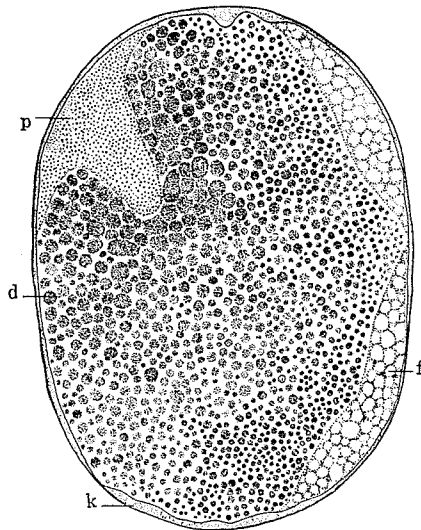


Fig. 2. Sagittalschnitt durch das Ei, 20 Stunden nach der Behandlung. d, Dotter-Zone; f, Fett-Zone; k, Keimhautblastem; p, Plasma-Zone.

rungsdottergranulen wurden nach dem äusseren Pol, Fettkugeln nach dem inneren Pol getrieben; deswegen bildeten sich zwei scharf von einander getrennte, eben begrenzte Zonen: Eine milchweisse Zone, eine klare, durchsichtige, gelbe Dottermasse, die unter den Schnittpräparaten keine Kugeln mehr zeigte. Unter den Schnittpräparaten haben wir aber noch eine Zone beobachtet, welche nach dem äussersten Pol getrieben wurde. Diese Zone ist wahrscheinlich die Masse des Plasmas, denn sie ist aus den ganz feinen Granulen entstanden. Es

ist mir bemerkenswert, dass das Keimhautblastem sehr widerstandsfähig ist. In den meisten Eiern war das Keimhautblastem nach der Behandlung fast unverändert erhalten. Aus den Schnittpräparaten des behandelten Eies konnten wir die Ausdehnung der drei Zonen, deren Volumen nicht umgerechnet wurde, ungefähr im Verhältnis von 1 Plasma-: 7 Dotter-: 2 Fett-Zone (Fig. 2) messen.

Nach der Behandlung mit Zentrifugierung geht eine Menge Eier zugrunde, doch bleibt eine geringe Zahl lebendig. Im Herbst 1933 sind ungefähr 276140 Eier mit Zentrifuge behandelt worden und 21300 (7.2%) von ihnen ausgeschlüpft. Beim Kontrollversuch 67.06%. Bei einem anderen Versuche (s105) sind 8.25% (Kontrolle 81.3%) und bei noch einem weiteren 20.49% (Kontrolle 95.79%) ausgeschlüpft. Bei den vorderen zwei wurden die Eier eine bis zwei Stunden nach der Ablage behandelt, aber bei dem letzteren wurden die Eier teilweise drei Stunden, teilweise auch eine bis zwei Stunden nach der Ablage behandelt. Daraus wissen wir, dass die Eier, je älter sie werden, desto geringer zu Schaden kommen.

#### b). Störung des genetischen Verhaltens

Im Herbst 1933 wurden Eier behandelt, die aus Weibchen mit der genetischen Konstitution  $p^{My}/pY$  gelegt und bereits von Männchen, die die Faktoren  $p^S$  und  $y$  homozygot hatten, befruchtet worden waren. Hieraus müssen wir zwei Sorten der  $F_1$ -Raupen zu gleichen Teilen erwarten, nämlich solche mit zwei übereinanderliegenden dunkel schmutzigen und schwarz gestreiften Körperfarben und weisser Haemolymphe ( $p^{My}/p^{Sy}$ ) und nur solche schwarz gestreifte Körperfarbe und gelber Haemolymphe ( $pY/p^{Sy}$ ), denn bei dem Weibchen der Schmetterlinge tritt der Faktorenaustausch nicht ein. Aus Frühlingszucht 1934 erhielten wir im Kontrollversuch ausnahmslos diese zwei Sorten von Tieren, von der ersteren 380 von der letzteren 292. Unter den 17193  $F_1$ -Raupen aus den behandelten Gelegen im derselben Zucht haben sich aber ausser den erwarteten viele unerwarteten Raupe im fünften Stadium gezeigt, wie sich aus folgender Tabelle 1 ergibt.

Wie können nun diese unerwarteten Formen (5.9%) zustande kommen? Das könnten wir erklären, wenn man annimmt, dass entweder ein Eikern mit einem Richtungskern von einer Spermie oder

ein Eikern von zwei überzähligen Spermien<sup>1)</sup> befruchtet wurde und also hier ein triploider Furchungskern entstanden ist.

Ist die Annahme richtig, so sind die folgenden Kombinationen der Genen in den triploiden Raupen möglich.

TABELLE 1.  $p^{My}/pY \text{♀} \times p^{Sy} \text{♂}$ 

Nr. der Aufzucht	Behandelt						
	Zahl der erwarteten Raupen		Zahl der unerwarteten Raupen				
s103	Moricaud Striped white ( $p^M p^{Sy}$ )	etwas hell striped Yellow ( $pp^{SY}$ )	Moricaud Striped Yellow	sehr hell Striped Yellow	dunkel Striped Yellow	dunkel Striped Moricaud white	Moricaud Yellow
	7326	6885	1166	212	182	62	943

Behandelt				Kontrolle			
Zahl der unerwarteten Raupen			Summe	Zahl der erwarteten Raupen		Zahl der unerwarteten Raupen	Summe
Moricaud white	plain Yellow	Mosaik		Striped Moricaud white ( $p^M p^{Sy}$ )	etwas hell Striped Yellow ( $pp^{SY}$ )		
75	77	265	17193	380	292		672

Ein E.K. + ein R.K. + ein S.K.

1.  $p^{My}/pY/p^{Sy}$
2.  $p^{My}/p^{My}/p^{Sy}$
3.  $pY/pY/p^{Sy}$

Ein E.K. + zwei S.K.

4.  $pY/p^{Sy}/p^{Sy}$
5.  $p^{My}/p^{Sy}/p^{Sy}$

1). Nach den übereinstimmenden Berichten fast aller Beobachter dringen bei den Insekten normal mehrere Spermakerne in ein Ei ein. Ich beobachtete auch bei einer chinesischen Seidenspinnerrasse unter 230 Eiern in zwei Stunden nach der Ablage 30 Monospermien, 84 Dispermien, 80 Trispermien, 17 Tetraspermien, 3 pentasperimen und in einzelnen Fällen je 6, 8, 11 Spermakerne in einem Ei. In den übrigen dreissig Eiern konnte ich nirgend einen finden. Da die erste Reifeteilung in diesen dreissig Eikernen nicht vollendet war, hingen die Spermakerne wahrscheinlich noch an der Mikropyle an.

Phenotypisch sollen 1 Moricaud Striped Yellow, 2 Moricaud Striped white, 3 sehr hell Striped und Yellow erscheinen, weil einfaches  $p^s$  in den Triploiden viel heller (Fig. 1, c) als in den Diploiden zu erwarten ist, 4 dunkel Striped und Yellow, 5 dunkel Striped Moricaud erscheinen, weil voraussichtlich zweifaches  $p^s$  in den Triploiden viel dunkler als in den Diploiden werden soll. Die bei der 2. Gruppe erwartete diploide Form ( $p^{My}/p^{Sy}$ ) kann man aber nicht phenotypisch unterscheiden, denn die Helligkeit von  $p^s$  wird gestört von der Dunkelheit von  $p^M$ .

Auf gleiche Entstehungsweise können wir auch weitere polyploiden Formen erwarten: tetraploide, pentaploide, hexaploide u. s. w., selbst wenn sie nach ihren Merkmalen nicht mehr von einander unterschieden werden.

Ausser diesen unerwarteten Formen treten aber noch einige in der Tabelle auf: Moricaud Yellow, Moricaud white und plain white. Von ihren Genotypen ohne Beteiligung der männlichen Gene kann man leicht ahnen, dass sie parthenogenetisch entwickelt sind.

Über die Analyse der Beziehung zwischen den genetischen Merkmalen und dem Geschlecht der polyploiden, sowie der parthenogenetisch entwickelten Tiere möchte ich im genetischen Teil der weiter erscheinenden Arbeiten ausführlich sprechen.

### c). Häufigkeit des Auftretens der polyploiden Schmetterlinge

Die Zahlenverhältnisse der unerwarteten Charaktere zu den erwarteten kann man nicht direkt als die der polyploiden Tiere betrachten. Einerseits enthalten die erwarteten Klassen noch etwas polyploide Raupen, deren Merkmale von den diploiden Raupen nicht zu unterscheiden sind. Zum Beispiel ist  $p^M$  in der Homozygote von der Heterozygote in diploid, sowie von den zwei Heterozygoten-Klassen in polyploid kaum zu unterscheiden. Andererseits ist es möglich, dass ein trisomer Zustand in den diploiden Tieren durch Nichttrennung des zweiten Chromosoms vorkommt. Sie können vermutlich auch von den normalen diploiden nicht unterschieden werden.

Als Eigentümlichkeiten polyploider Rassen sind bei dem Seidenspinner Unfruchtbarkeit und unregelmässige Eiergrösse in der triploiden Rasse und Zunahme der Eiergrösse in der tetraploiden Rasse zu nennen, wie ich später besprechen will.

Gemäss diesen Eigentümlichkeiten wurden 846 von den ersten vier unerwarteten Falterformen untersucht. Darunter waren 183 (21.6%) tetraploid, 572 (67.7%) triploid und 91 (10.7%) diploid.

Zu einer sicheren Bestätigung der Häufigkeit des Auftretens der polyploiden Schmetterlinge habe ich daher aus einem anderen Zentrifugierungsversuche 626 Männchen cytologisch untersucht. Zu der Untersuchung bediente ich mich mit Zeitsparsamkeit der Zupfmethode, die mit Karminessigsäure ausgeführt wurde. Dabei zeigten 540 (86.3%) je 28 Chromosomen in den Reifeteilungen, waren also diploid, und 75 (12%) besaßen 30–48 Chromosomen, waren also triploid, und ausserdem zeigten 11 (1.7%) annähernd 56 Chromosomen, waren also tetraploid. Nach Kreuzung mit einigen gewöhnlichen diploiden Männchen wurden 420 Weibchen in bezug auf Fruchtbarkeit und Eiergrösse untersucht. Darunter zeigten sich 347 (82.6%) diploid, 61 (14.5%) triploid und 12 (2.9%) tetraploid. Überhaupt hat sich nur ein einziges Weibchen von 17193 in dem Versuch (s103) als hexaploid gezeigt.

#### d). Beschreibung der polyploiden Tiere

Nun geben wir zunächst eine Beschreibung polyploider Formen hinsichtlich der vorläufigen zytologischen Beobachtung und der übrigen Eigentümlichkeiten.

##### i). Triploid

Durch die zytologische Untersuchung wurde die Chromosomenzahl der ersten Spermatozytenteilung bei den triploiden Seidenspinnern als sehr schwankend erwiesen, es kamen 30–48 vor, während die diploiden 28 Chromosomen in der ersten Spermatozytenteilung boten (KAWAGUCHI 1928).

Zytologisch hatte ich noch keine gute Aequatorialplatte der Reifeteilungsfiguren für die triploiden Weibchen gefunden, konnte aber aus den Prophasenfiguren annehmen, dass sie mehr als 28 Chromosomen besaßen.

Die triploiden Männchen sind ganz unfruchtbar in der Kreuzung mit den triploiden Weibchen, sogar auch mit den diploiden, trotzdem die Spermien in der Bursa copulatrix von Weibchen lebhaft sind. Wie die Männchen sind auch die triploiden Weibchen fast unfruchtbar und legen meistens die unregelmässig grösseren oder kleineren Eier ab (Fig. 3b, 4b). Bei den triploiden Männchen und Weibchen

finden wir auf den ersten Blick nirgendwo ein Vorzeichen der Intersexualität weder im Geschlechtsorgane noch in den sekundären Geschlechtsmerkmalen. Aber hierfür wäre noch eine eingehende Untersuchung erwünscht.

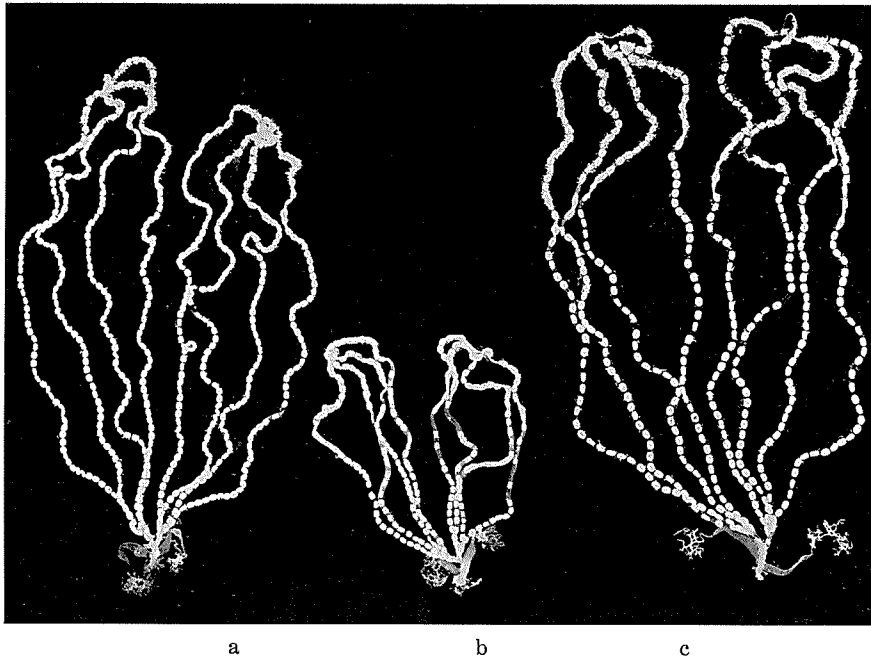


Fig. 3. Ovarien aus den polyploiden Schmetterlingen.  
a,  $2n$ ; b,  $3n$ ; c,  $4n$ .

#### ii). Tetraploid

Bei den Raupen ist es nicht leicht, nach den äusseren Merkmalen, die tetraploiden von den triploiden zu unterscheiden. Eine kleine Menge Weibchen von den unerwarteten Tieren legten gleichförmige und viel grössere Eier als die diploiden ab (Fig. 3c, 4c). Bei solchen Weibchen wurde auch aus den Reifeteilungsfiguren ihrer Ovarien-Eier festgestellt, dass sie tetraploid waren. Diese Figuren zeigten meistens 54 Bivalente und eine merkwürdige Quadrivalente, welche ein Doppelkreuz oder einen rautenförmigen Ring ergab. Diese tetraploiden Weibchen haben ausser einigen Ausnahmen meistens grosse Fruchtbarkeit gezeigt. Aus der Tabelle 7 findet man, dass der

Prozentsatz der Fruchtbarkeit 79.6% in tetraploiden Weibchen, aber 88,0% in diploiden betrug. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist es darauf zurückzuführen, dass je zwei analoge Chromosomen immer starke Tendenz für Paarung haben.

Die diploiden, triploiden und tetraploiden Eier unterscheiden sich vor allem in der Grösse, wie Fig. 3–4 zeigen.

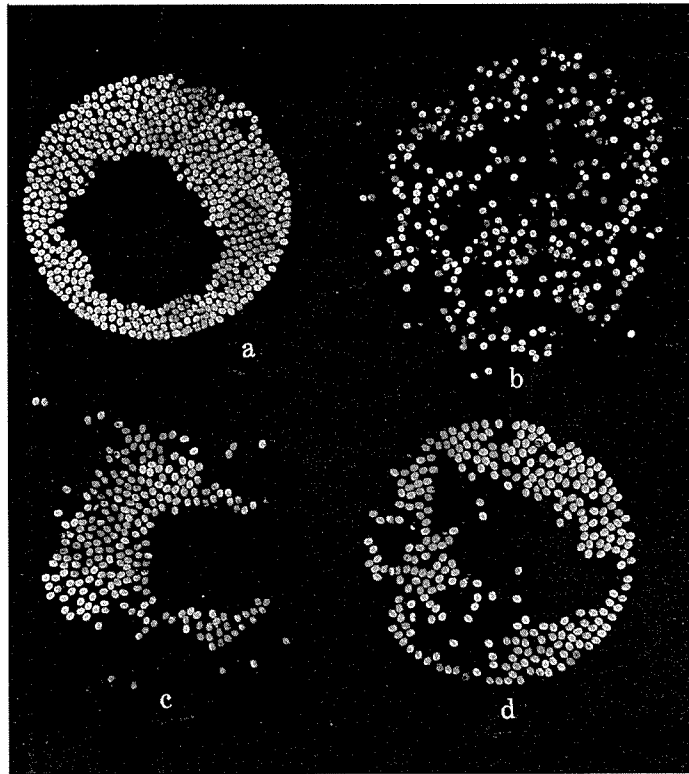


Fig. 4. Eier von den polyploiden Schmetterlingen.  
a, 2n; b, 3n; c, 4n; d, 6n.

Es ist sehr schwer, die tetraploiden Männchen von den triploiden zu unterscheiden, da sie fast keine besonderen Merkmale besitzen. Diese Männchen haben in Paarung mit tetraploiden Weibchen ziemlich wenige Fruchtbarkeit (16.58%), wie in Tabelle 2 gezeigt, und ebenso wenig in der Kreuzung mit diploiden Weibchen (18.84%) (vgl. Tabelle 3).

Die Anzahl der Chromosomen in den ersten Spermatozyten wechselt zwischen 56 und 46. Diese Fluktuationen sind abhängig von der wechselnden Anzahl der Quadrivalenten und selten von dem Austritt der Univalenten.

### iii). Hexaploid

Entsprechend meiner Erwartung hat sich ein einziges hexaploides Weibchen bei der  $F_1$ -Züchtung des ersten Versuchs (s103) ergeben. Sie ist schon mit einem diploiden Männchen gekreuzt worden und hat viel grössere Eier als die teraploiden gelegt (Fig. 4). Von 348 Eiern sind 144 ausgeschlüpft; 50 Weibchen und 59 Männchen konnten grossgezogen werden. Dieses Geschlechtsverhältnis, annähernd  $1 \text{ ♀} : 1 \text{ ♂}$ , ist nicht der Fall, bei der Rückkreuzung ( $4n \text{ ♀} \times 2n \text{ ♂}$ ), wie später erwähnt wird, bei der das Verhältnis sich immer von  $2 \text{ ♀} : 1 \text{ ♂}$  bis zu  $5 \text{ ♀} : 1 \text{ ♂}$  schwankend aufweist.

In der letzten Sommerzucht konnten noch einige hexaploide Tiere durch Behandlung von Eiern aus einer Kreuzung ( $4n \text{ ♀} \times 2n \text{ ♂}$ ) erzielt werden.

Zytologische Untersuchung von  $F_1$ , die von hexaploiden Weibchen  $\times$  diploiden Männchen stammten, hat festgestellt, dass sie alle tetraploid waren.

## e). Nachkommenschaft der polyploiden Rassen

### i). $F_1$ -Generation von tetraploiden Tieren

Erst 1935 konnte ich zu unserem Glück endlich fünf Gelege Eier von der Paarung weiblicher und männlicher tetraploider Falter dadurch gewinnen, dass ich einige Männchen, die grössere Kopfbreite hatten, den Weibchen, die grössere Eier legten, zur Kreuzung brachte. Die Fruchtbarkeit dieser  $F_1$  ist im wesentlichen geringer als die von ihren Reziproken ( $4n \text{ ♀} \times 2n \text{ ♂}$ ), wie Tabelle 2 zeigt. Die tetraploiden Männchen konnten die diploiden Weibchen nur wenig befruchten; deshalb beruht die Ursache der geringeren Fruchtbarkeit wahrscheinlich auf diesen Männchen.

Ganz normal entwickelten sich die meisten Raupen bis zur Verpuppung, deren weitere Inzucht wegen der starken Herabsetzung der Fruchtbarkeit nunmehr zweifelhaft und tatsächlich unmöglich geworden war.

Wie die Tabelle zeigt, haben wir die beiden Geschlechter im annähernd gleichen Zahlenverhältnis von 1.7:1.0.

ii). Die Rückkreuzungen:  $4n \text{ ♀} \times 2n \text{ ♂}$  und  $2n \text{ ♀} \times 4n \text{ ♂}$

Für die erste Rückkreuzung  $4n \text{ ♀} \times 2n \text{ ♂}$  wurde die Aufzucht von 62 Paaren 1933–1935 gewonnen. Darunter zeigten sich alle Tiere als triploid, wie man erwartet, und zeigten ihre Geschlechter in den sehr verschiedenen Zahlenverhältnissen von 2:1 bis 5:1.

TABELLE 2.  $F_1$  ( $4n \text{ ♀} \times 4n \text{ ♂}$ )

Nr. des Geleges	Anzahl der Eier	Zahl der im Eizugrunde gegangenen Embryonen	Zahl der ausgeschlüpften Räumchen (Fruchtbarkeit)	Raupen bis zum Stadium der 4. Häutung	
				♀	♂
351P32	241	205	36 (14.94%)	24	6
P48	121	111	10 ( 8.26%)	3	3
P49	52	17	35 (67.31%)	16	10
P54	44	29	15 (31.09%)	3	5
P60	320	287	33 (10.31%)	7	9
Gesamt	778	649	129 (16.58%)	53	33

TABELLE 3. Rückkreuzung ( $2n \text{ ♀} \times 4n \text{ ♂}$ )

Nr. der Zucht	Anzahl der Eier	Zahl der im Eizugrunde gegangenen Embryonen	Zahl der ausgeschlüpften Räumchen (Fruchtbarkeit)	Raupen bis zum Stadium der 4. Häutung	
				♀	♂
351P53	69	56	13 (18.83%)	3	4

Dagegen habe ich leider nur eine einzige letzte Rückkreuzung ( $2n \text{ ♀} \times 4n \text{ ♂}$ ) gewonnen.

Wahrscheinlich kann man hier die beiden Geschlechter im Verhältnis von 1:1 erwarten.

#### f). Morphologische Analyse der polyploiden Tiere

Nun will ich eine vergleichende Untersuchung der Zellengröße und Zellenzahl von einigen Organen bei unseren diploiden und autopolyploiden Seidenspinnern machen und dann weiter auf ihre Körpergröße und Seidenfähigkeit näher eingehen.

Erst untersuchte ich Spermatozytenzellen und Eier als die gametischen Zellen und dann die Seidendrüsenzellen als die somatischen Zellen. Dabei können natürlich nur solche Zellen miteinander verglichen werden, die völlig homolog sind, die sich im gleichen physiologischen und genetischen Zustand unter der Einwirkung gleicher Bedingungen befinden. Den gleichen Zustand kann man in solcher Arbeit schwer erhalten, aber es wird eine Analyse im möglichst gleichem Zustand durchzuführen versucht. Daher sind die Fehler gross.

TABELLE 4. Spermatozytengrösse

Erste Spermatozyten				
	Zellengrösse $M \pm 3m$	$M_{\text{Diff.}} \pm 3m_{\text{Diff.}}$	Verhältnis gefunden (erwartet)	$\Sigma$
2n	$1.64 \pm 0.087$		1.0 (1.00)	116
3n	$2.30 \pm 0.087$	(3n-2n) $0.66 \pm 0.123$	1.4 (1.31)	124
4n	$3.15 \pm 0.129$	(4n-3n) $0.85 \pm 0.156$	1.9 (1.58)	97
Zweite Spermatozyten				
2n	$0.94 \pm 0.035$		1.0 (1.00)	50
3n	$1.30 \pm 0.024$	(3n-2n) $0.36 \pm 0.043$	1.4 (1.31)	60
4n	$1.80 \pm 0.065$	(4n-3n) $0.50 \pm 0.069$	1.9 (1.58)	36
			Einheit $\text{cm}^2$	

Die Zellengrösse. Es wurden die Spermatozyten der diploiden, triploiden und tetraploiden Männchen in den Stadien der Metaphase der I. und II. Reifeteilung gemessen, denn die Zellen sind zu dieser Zeit weitgehend abgerundet. Von jedem polyploiden Hoden wurden 30-150 Zellen mit dem Zeichenapparat auf Papier entworfen (Vergrößerung 800) und mit dem Planimeter der Inhalt sämtlicher Abbildungen gemessen. Die folgende Tabelle gibt also nur die Inhaltgrösse für die 800 malige Vergrößerung zusammen.

Die Werte besagen Folgendes. Die Mittelwerte von drei Formen zeigen untereinander eine sehr bedeutende Differenz in den ersten

sowie in den zweiten Spermatozyten. Ihre Zunahme des gefundenen Verhältnisses ist etwas mehr als die erwartete und verhält sich annähernd entsprechend der Kernplasmarelation.

Zur Vergleichung der Eiergrösse benutzte ich die Eier, die von den diploiden und tetraploiden Falten abgelegt wurden. Unten gebe ich nur die Messungen der Länge und Breite.

Das Verhältnis der Eiergrössen-Zunahme von  $2n$  zu  $4n$  ist etwas weniger als nach der Kernplasmarelation zu erwarten war.

TABELLE 5. Eiergrösse

	Länge $M \pm 3m$	Breite $M \pm 3m$	$\Sigma$
$2n$	$1.23 \pm 0.136$	$1.031 \pm 0.165$	50
$4n$	$1.45 \pm 0.122$	$1.186 \pm 0.114$	50
$2n/4n$	gefunden 1/1.18 erwartet 1/1.26	1/1.15 1/1.26	
			Masse in mm.

Volumenvergrößerung der Zellen der polyploiden Formen sieht man auch bei den Seidendrüssen. Aus den genug erwachsenen Raupen des letzten Stadiums sind die Seidendrüssen herausgenommen und sofort in CARNOY'S Flüssigkeit fixiert worden. Die Seidendrüsenzellen zeigten die sechseckig längliche Gestalt; dieselben sind sehr regelmässig an einander gereiht. Es genügen zwei solcher Zellen, um die Drüse völlig zu umhüllen, so dass an der Seite der Seidendrüse eine zickzackartige Bindungslinie entsteht, die nach einer kurzen Behandlung der Drüsen mit CARNOY'S Flüssigkeit sogar mit blossen Auge beobachtet werden kann. Die Grösse der Zellen variiert natürlich je nach ihrer Stellung in der Drüse. Die Messungen wurden an der Mitte des mittleren Teils (Sammeldrüse) mit den Mikrometer gemacht. Die Breite ist nach dem Durchmesser der ganzen Drüse und die Länge nach dem Zwischenraum jeder Zellengrenze gemessen worden.

Die Masse an dem Durchschnitt dreier Zellen aus je 25 Individuen der diploiden und triploiden Tiere (vielleicht auch einiger tetraploiden mit) bringt Tabelle 6.

Die Zunahme der Seidendrüsenzellengröße von 2n zu 3n ist etwas mehr als die Erwartung nach der Kernplasmarelation, besonders in der Zunahme der Länge. Wahrscheinlich kann man vermuten, dass die Nichtübereinstimmung mit dem idealen Verhältnis nach der Erwartung bei den Spermatozyten und Seidendrüsen auf der Fixierung oder irgendwelchen äusseren Bedingungen, besonders bei den letzteren auf der Vermischung der tetraploiden Individuen, beruht.

TABELLE 6.  
Die Grösse der Seidendrüsenzellen

	Zellenlänge $M \pm 3m$	Zellenbreite $M \pm 3m$	
2n	$0.77 \pm 0.054$	$1.87 \pm 0.113$	
3n	$1.03 \pm 0.125$	$2.09 \pm 0.089$	
2n/3n	beobachtet 1.0/1.34	1.0/1.17	
	erwartet 1.0/1.14	1.0/1.14	
			Masse in mm.

TABELLE 7. Eierzahl

	Gebrütete Eier	Unbefruchtete Eier	Während der Entwicklung zugrunde gegangene Eier	Gesamt $M \pm m$	Fruchtbarkeit %
2n	421.60	10.60	47.0	$479.2 \pm 20.96$	88.0
4n	294.65	10.85	64.5	$370.0 \pm 21.34$	79.6

Für die Eiergrösse muss man den Einfluss von Dottermassen, die von Nährzellengrösse und -zahl bedingt werden, in Betracht ziehen.

Wir können jedoch sagen, dass das Verhältnis der Zellenzunahme bei Polyploidie annähernd der Kernplasmarelation entspricht.

Die Zellenzahl. Zunächst habe ich die Eierzahl an je 20 Gelegen aus den diploiden und tetraploiden Schmetterlingen in den schon erwähnten Versuchen gezählt und die Mittelwerte in folgender Tabelle gegeben.

Die Differenz der Mittelwerte der beiden Formen beträgt  $109.2 \pm 29.9$ . Also ist die Differenz 3.6 mal grösser als ihr mittlerer Fehler. Wir können demnach mit unbedingt genügender Sicherheit sagen, dass die Eierzahl der tetraploiden Schmetterlinge geringer als die der diploiden ist.

Weiter zeigen wir die Ergebnisse der Zählung an den Seidendrüsenzellen als den somatischen Zellen. Die Seidendrüsenzellenzahl variiert natürlich bei jedem Tiere, bleibt aber in derselben Raupe während ihrer ganzen Entwicklung wahrscheinlich gleich. Bei den Raupen einer chinesischen Rasse (Kokusai-Shi 101) habe ich an je 10 Tieren im zweiten Raupenstadium und in den ganz erwachsenen Raupen vergleichend die Zellen gezählt. Bei den ersteren war die Zellenzahl  $204.1 \pm 2.57$  im mittleren Teil und  $437.3 \pm 5.42$  im hinteren und bei den letzteren  $217.0 \pm 3.63$  im mittleren und  $433.2 \pm 2.08$  im hinteren Teil. Gesamtzahl des Mittelwertes  $641.4 \pm 6.0$  im zweiten Stadium und  $650.2 \pm 4.18$  im letzten Raupenstadium. Die Differenz der Mittelwerte und ihrer mittleren Fehler betrug  $8.8 \pm 7.31$ . Sie war weniger als dreimal so gross wie die mittleren Fehler. Wir können deshalb diese Differenz nicht als die Zunahme durch Zellteilung betrachten.

TABELLE 8.  
Seidendrüsenzellenzahl bei den polyploiden Tieren

	Zellenzahl im		Gesamt	$\Sigma$
	mittleren Teil, $M \pm m$	hinteren Teil $M \pm m$	$M \pm m$	
2n	$228.1 \pm 1.83$	$452.2 \pm 4.98$	$680.3 \pm 5.30$	20
3n	$160.0 \pm 2.97$	$283.9 \pm 5.68$	$443.9 \pm 6.41$	20

Nun vergleichen wir die Seidendrüsenzellenzahl an den triploiden Raupen, unter denen vielleicht auch einige tetraploide waren, aus dem Versuche (s263) mit der diploiden aus ihrem Kontrollversuch (unbehandelt).

Die Differenz der Mittelwerte der Gesamtzahlen von beiden 2n und die Differenz ihrer mittleren Fehler ist  $136,4 \pm 8.32$ . Diese Differenz kann man als eine zuverlässige betrachten, weil sie 16.3 mal so gross wie ihr Mittel-Fehler ist.

Die Ergebnisse dieser Messungen zusammenfassend, lässt sich sagen: Die Zellenzahl wird zuverlässig in den Eier- und Seidendrüsenzellen vermindert.

Körpergrösse. Das Zusammenwirken von Zellengrösse und Zellenzahl bedingt im wesentlichen die Körpergrösse. Für die Vergleichung der Einflüsse auf die Grösse der polyploiden Tiere habe ich lieber die Kopfgrösse als die Körpergrösse aufgenommen, weil die Raupenkörper unter Aussenbedingungen und Raupenstadien sich jeden Tag verschieden ändern, die Kopfgrösse aber durch die stärker chitinisierte Kopfkapsel innerhalb jedes Raupenstadiums fast gleich bleibt. Die Messung für die Kopfgrösse ist nur mit der Kopfbreite des Weibchens gemacht worden. In der folgenden Tabelle zeigen wir ausser dem Versuche s103 von der bisher erwähnten Frühlingszucht auch noch die Ergebnisse der Messungen aus einem Versuche von Herbstzucht (s263).

TABELLE 9. Kopfbreite

	$M \pm 3m$	$M_{\text{Diff.}} \pm 3m_{\text{Diff.}}$	Verhältnis gefunden (erwartet)	$\Sigma$
s103				
2n	$3.38 \pm 0.024$	$(3n-2n) 0.09 \pm 0.03$	1.000 (1.000)	220
3n	$3.47 \pm 0.018$	$(4n-3n) 0.08 \pm 0.03$	1.027 (1.143)	318
4n	$3.55 \pm 0.025$		1.051 (1.262)	145
s263				
2n	$3.23 \pm 0.021$	$(3n-2n) 0.04 \pm 0.02$	1.000 (1.000)	175
3n	$3.27 \pm 0.012$	$(4n-3n) 0.19 \pm 0.03$	1.045 (1.143)	522
4n	$3.46 \pm 0.057$		1.106 (1.262)	18

Wie die Tabelle zeigt, kann man einen ziemlich bedeutenden Unterschied zwischen Kopfbreite der polyploiden Tiere, aber nicht so gross wie der Zellengrösse-Unterschied, bemerken.

Puppengewicht. Das Puppengewicht wird natürlich durch Zusammenwirkung von Zellengrösse und Zellenzahl bedingt, ist aber auch durch Aussenbedingungen sehr veränderlich. Ungefähr kann man es doch im Vergleich benützten. Hier werden nur Weibchen fast in demselben Alter nach der Verpuppung in Milligramm gewogen, da das Puppengewicht, wie die Kopfbreite, nach dem Geschlecht verschieden ist.

Seidensekretionsfähigkeit (Seidengewicht). Das Seidengewicht ist wichtig für den praktischen Zweck. Hier wollen wir deshalb für die Seidensekretionsfähigkeit der polyploiden Raupen, und zwar nur von Weibchen, eine vorläufige Angabe machen.

TABELLE 10. Puppengewicht

	$M \pm 3m$	$M_{\text{Diff.}} \pm 3m_{\text{Diff.}}$	Verhältnis gefunden (erwartet)	$\Sigma$
s103				
2n	$1.56 \pm 0.04$	(3n-2n) $0.07 \pm 0.042$	1.00 (1.0)	26
3n	$1.63 \pm 0.01$	(4n-3n) $0.02 \pm 0.022$	1.04 (1.5)	345
4n	$1.61 \pm 0.02$		1.03 (2.0)	162
s263				
2n	$1.49 \pm 0.13$	(3n-2n) $0.01 \pm 0.016$	1.00 (1.0)	176
3n	$1.50 \pm 0.09$	(4n-3n) $0.18 \pm 0.052$	1.01 (1.5)	493
4n	$1.67 \pm 0.05$		1.12 (2.0)	18

TABELLE 11. Seidengewicht

	$M \pm 3m$	$M_{\text{Diff.}} \pm 3m_{\text{Diff.}}$	Verhältnis gefunden (erwartet)	$\Sigma$
s103				
2n	$0.188 \pm 0.018$	(3n-2n) $0.005 \pm 0.006$	1.00 (1.0)	100
3n	$0.193 \pm 0.006$	(4n-3n) $0.011 \pm 0.110$	1.02 (1.5)	318
4n	$0.182 \pm 0.009$		0.97 (2.0)	145
s263				
2n	$0.159 \pm 0.006$	(3n-2n) $0.003 \pm 0.007$	1.00 (1.0)	175
3n	$0.162 \pm 0.004$	(4n-3n) $0.012 \pm 0.084$	1.19 (1.5)	522
4n	$0.174 \pm 0.084$		1.28 (2.0)	18

Aus diesen beiden Tabellen findet man sehr wenige oder fast keine Differenzen zwischen den Puppengewichten sowie auch den Seidensekretionsfähigkeiten der polyploiden Formen. Das ist also aus dem Grunde, dass die Zellenzahl des Puppenkörpers sowie die Seidendrüsenzellenzahl in triploiden und auch in tetraploiden Formen atark herabgesetzt ist.

### 3. SCHLUSS

Im Pflanzenreiche wurden in den letzten Jahren die naturgemäss aufgetretenen polyploiden Rassen bei vielen Gattungen untersucht und in einigen Pflanzen sogar experimentell erzeugt. Im Tierreiche wurden sie aber nicht nur künstlich, ausser durch die Artbastardierung (FEDERLEY, '32), selten hergestellt, sondern auch in der Natur sehr spärlich gefunden.

Im folgenden wollen wir nun eine Übersicht über diese Fälle nur im Tierreich gewinnen.

Als ein sehr klassisches Beispiel haben wir bei *Ascaris megalocephala univalens* ( $2n = 2$ ) eine tetraploide Rasse *bivalens* ( $2n = 4$ ). Übersichtstabellen von HARVEY ('16) und WILSON ('25) zeigen uns einige ähnliche Beispiele: Eine Art, *Cypris fuscata*, von *C. reptans* und *C. incongruens* besaßen die tetraploide Chromosomenzahl (WOLTERECK, '98, MÜLLER-CALÉ, '13, SCHLEIP, '90). In *Ophriotrocha puerilis* (KORSCHOLT, '95, SCHREINERS, '06, GREGOIRE u. DETON, '06, DEHORNE, '10, 11) und *Helix pomatia* (vom RATH, '92, GODLEWSKY, '97, PROWAZEK, '02, BOLLES LEE, '96, '11, MURRAY, '98, ANCEL, '02) wurde auch eine tetraploide Rasse gefunden. In der Natur sind die tetraploiden Formen oft bei den rein oder fakultativ parthenogenetisch entwickelten Tieren bekannt. Die rein parthenogenetische Rasse von einer Phylopoden *Artemia salina* aus Capo d'Istria (ARTOM, '11, '12, '21), wie auch die von den Psychiden *Solenobia triquetrella* und *pineti* (SEILER, '23) sind tetraploid. Bei der obligatorischen Parthenogenese ist die polyploide sehr selten aufgetreten (*Bombyx mori*, SATO, '31).

Im Vergleich mit den tetraploiden Fällen wurden aber die Triploide und Hexaploide noch viel spärlicher gefunden.

Sie findet man auch oft bei den parthenogenetischen Rassen: die Triploide bei der von *Trichoniscus privisorius* (VANDEL, '27) und die Hexaploide bei der von *Daphnia pulex* (SCHRADER, '26, BENTA, '26). Bei Kreuzung der verschiedenen parthenogenetischen und bisexualen Rassen von *S. triquetrella* erhielt SEILER ('27) eine Triploide.

Bei der genetischen Analyse hat BRIDGES ('21) bei *Drosophila melanogaster* die Triploide und später mit V. L. MORGAN (T. H. MORGAN u. a., '25) die Tetraploide gefunden und weiter GOWEN ('31) auch einen Stamm, bei dem infolge eines recessiven Gens im Chromo-

som III vererblich die Triploide auftreten, gezüchtet. Bei *Bombyx mori* hat HASHIMOTO vor kurzem tetraploide Falter mit dem hohen Temperaturschock erzeugt.

Die vorliegende Arbeit konnte ein sehr seltenes Beispiel, bei dem die polyploiden Rassen und zwar triploide, tetraploide sowie hexaploide experimentell erzeugt wurden, im Tierreich neu hinzufügen.

Nach der Erscheinung der von R. HERTWIG bekannten Kernplasmarelation führt eine Verdoppelung des Genoms zu einer Vergrößerung des Kernvolumens und damit auch des Zellenvolumens. So wurde der Riesenwuchs, den wir bei den vielen Polyploiden kennengelernt haben, direkt durch die Zellengröße, d.h. die verdoppelten Genome hervorgerufen. Solche Vervielfachung des Genoms begleitet aber nicht immer den Riesenwuchs. Wir müssen manchmal Ausnahmen erwarten. Obwohl solche Ausnahme natürlich von vielen Faktoren abhängt, beruht sie oft auf der Zahl der Zellen, von denen der Körper gebildet wird. Wenn die Zellenzahl in den diploiden und polyploiden Formen nicht so stark konstant bleibt, sondern manchmal zunimmt, so führt die Verdoppelung des Genoms nicht zu Vergrößerung des Körpers.

Bei einigen Tieren halten einige Autoren das Konstantbleiben der Zellenzahl, die Eutelie (von MARTINI 1909 so genannt), stark fest.

Nach WETTSTEIN ist die Ursache der Seltenheit der Polyploidie im Tierreich auf die starke Eutelie zurückzuführen, durch die der physiologisch unbalancierte Riesenwuchs die polyploiden Individuen zum frühzeitigen Absterben führe. Nach der MULLERSchen Auffassung (1925) ist diese Ursache dagegen in dem Geschlechtschromosomenmechanismus zu suchen.

Die Ergebnisse, die wir über die Zellengröße und Zellenzahl gewonnen haben, zusammenfassend, lässt sich sagen: Die Zellengröße nimmt im allgemeinen nach der Folge der Polyploidie zu und wird annähernd von der Kernplasmarelation bestimmt. Die Zellenzahl nimmt aber im Ei und in den Seidendrüssen ab. Sie hält Eutelie in anderen Organismen wahrscheinlich nicht streng fest, denn es fällt bei vergleichender Betrachtung diploider und polyploider Formen auf, dass Organe oder ganze Körper nicht so bedeutende Zunahme des Volumens nach der Folge der Polyploidie zeigen.

Der Japanischen Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften

(GAKUJUTSU-SHINKOKAI) bin ich für die Unterstützung zu Dank verpflichtet. Meinen Assistenten, den Herren S. OMURA und K. KOSHIYAMA, die mir bei Züchtung, Photographieren und Messungen immer geholfen haben, sei auch hier an dieser Stelle herzlichst gedankt.

#### 4. ZUSAMMENFASSUNG

1). Durch Behandlung von Seidenspinnereiern kurz nach der Ablage (1–3 Stunden nach) mit Zentrifugierungsschock (10 Minuten lang mit 3500 Umdrehungen per Minute) wurden triploide, tetraploide und hexaploide Tiere erzielt.

2). Zur Unterscheidung der polyploiden Formen wurden hauptsächlich einige Gene, die zu einer multiplern Allele-Gruppe gehörten, und ein Paar Gene, die mit den ersteren gekoppelt waren, benützt. Ausserdem sind sie gemäss solchen Eigenschaften von Polyploiden, wie Fruchtbarkeit und Eiergrösse, unterschieden. Zur Feststellung der Häufigkeit des Auftretens der männlichen Polyploiden haben wir besonders zytologisch untersucht.

3). Hinsichtlich der Häufigkeit des Auftretens zeigten sich 12% von Männchen und 14.5% von Weibchen triploid, 1.7% von Männchen und 2.9% von Weibchen tetraploid. Von 17193 Raupen wurde nur ein einziges hexaploides Weibchen gefunden.

4). Durch Behandlung von Eiern aus einer Kreuzung ( $4n \text{ ♀} \times 2n \text{ ♂}$ ) konnten noch einige hexaploide Tiere erzielt werden.

5). Bei den Triploiden ist das Weibchen fast nicht fruchtbar aber Männchen gar nicht. Bei den Tetraploiden zeigt das Weibchen in der Kreuzung mit Diploiden fast vollständige Fruchtbarkeit (79.6%), während das Männchen in Paarung mit tetraploiden Weibchen viel geringere Fruchtbarkeit (16.58%) und ebensowenig in der Kreuzung mit Diploiden (18.84%) hat.

6). Triploide Weibchen legen sehr unregelmässig grössere und kleinere Eier, aber tetraploide Weibchen gleichmässig grössere Eier ab.

7). Keine Vorzeichen der Intersexualität kann man hier bemerken.

8). Die Spermatozyten-, Eier-, Seidendrüsenzellengrösse nimmt im allgemeinen nach der Folge der Polyploidie zu und wird annähernd von der Kernplasmarelation bestimmt.

9). Die Zellenzahl nimmt aber zuverlässig im Ei und in den Seidendrüsen ab. Sie hält Eutelie wahrcheinlich nicht streng fest.

10). In der Polyploidie des Seidenspinners zeigen darum die Kopfgrösse der Raupen, Puppengewicht sowie Seidensekretionsfähigkeit nicht so bedeutende Zunahme des Volumens.

### Literatur

1. BRIDGES, C. B. Triploid intersexes in *Drosophila melanogaster*. Science. 54: 252-254. 1921.
2. FEDERLEY, H. Die Bedeutung der Kreuzung für die Evolution. Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. 67 (PLATE-Festschrift): 364-386. 1932.
3. GOWEN, J. W. Genetic nondisjunctional forms in *Drosophila*. Amer. Nat. 65: 193-213. 1931.
4. HARVEY, E. B. A review of the chromosome numbers in the Metazoa. Part I. Jour. Morph. 28: 1-63. 1916.
5. HASHIMOTO, H. Genetical studies on the tetraploid female in the silkworm. Bull. of the Imp. Sericult. Exp. Sta. 8: 359-381. 1933. (Jap. mit einer Zusammenfassung auf englisch)
6. KAWAGUCHI, E. Zytologische Untersuchungen am Seidenspinner und seinen Verwandten. I. Gametogenese von *Bombyx mori* L. und *Bombyx mandarina* M. und ihren Bastarden. Zeitschr. f. Zellforsch. mikr. Anat. 7: 519-552. 1928.
7. ——. "Black", ein Mutation der Körperfarbe beim Seidenspinner (*Bombyx mori* L.). Jap. Jour. Gen. 8: 98-106. 1933. (Jap. mit einer Zusammenfassung auf deutsch)
8. KOSTOFF, D. Chromosome alterations by centrifuging. Zeitschr. f. ind. Abst. u. Vererbungsl. 69: 301-302. 1935.
9. MORGAN, T. H., C. B. BRIDGES, A. H. STURTEVANT. The genetics of *Drosophila*. Bibliographia Genetica. 2: 1-262. 1925.
10. MULLER, H. J. Why polyploidy is rarer in animals than in plants. Amer. Nat. 59: 346-353. 1925.
11. SATO, H. Untersuchungen über die künstliche Parthenogenese des Seidenspinners *Bombyx mori*. IV. Biol. Zentralb. 51: 382-394. 1931.
12. SEILER, J. Geschlechtschromosomenuntersuchungen an *Psychiden*. IV. Die Parathenogenese der *Psychiden*. Zeitschr. f. ind. Abst. u. Vererbungsl. 31: 1-99. 1923.
13. ——. Ergebnisse aus der Kreuzung parthenogenetischer und zweigeschlechtlicher Schmetterlinge. Biol. Zentralb. 47: 426-446. 1927.
14. STUBBE, H. Untersuchungen über experimentelle Auslösung von Mutation bei *Antirrhinum majus*. I (Versuche mit Röntgenstrahlen, ultraviolettem Licht, Temperaturschocks und Zentrifugierungen). Zeitschr. f. ind. Abst. u. Vererbungsl. 56: 1-38. 1930.

15. TANAKA, Y. Some remarks on symbols, multiple allelomorphism, crossing over and linkage groups in the silkworm. Jour. Dep. Arg. Kyushu Imp. Univ. 1: 275-279. 1927.
16. —, und E. KAWAGUCHI. Über den experimental erzeugten triploiden Seidenspinner. Jap. Jour. Gen. 7: 186-187 (Jap.)
17. VANDEL, A. Gigantisme et triploidie chez l'Isopode *Trichoniscus (Spiloniscus) provisorius* Racovitza. Cpt. rend. des Séances de la Soc. de Biol. 20: 106-108. 1927.
18. WETTSTEIN, F. von. Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Moose auf genetischer Grundlage. I. Zeitschr. f. ind. Abst. u. Vererbungsl. 33: 1-236. 1924.
19. —. Die Erscheinung der Heteroploidie, besonders im Pflanzenreich. Ergebn. der Biol. Bd. II. Berlin. 1927.
20. WILSON, E. B. The cell in development and heredity. 3rd Ed. New York. 1925.