

Die Schädigung des Zellkerns durch Röntgenbestrahlung

Von HANS MARQUARDT¹, Freiburg i. Br.

A. Allgemeines

Jede tiefer dringende Analyse der Einwirkung von Röntgenstrahlen auf Organismen muß früher oder später die Reaktion der Zellen in Betracht ziehen, aus welchen der Organismus zusammengesetzt ist. Bei ihrer außerordentlichen Vielgestaltigkeit kann eine einheitliche Verhaltensweise nicht erwartet werden, und so sind Röntgenversuche mit Einzellern und Vielzellern, mit Pflanzen und Tieren verschiedener Organisationshöhe, mit Zellen in- und außerhalb eines geschlossenen Gewebeverbandes, mit embryonalen und ausdifferenzierten, dem Normaltyp nahestehenden und in besonderem morphologischem und physiologischem Zustand befindlichen Zellen durchgeführt worden.

Je nach der Eigenart des Objekts und dem besonderen Interesse des Untersuchenden sind verschiedene Methoden zur Anwendung gebracht und so die verschiedenen Teilphänomene der Röntgenwirkung erfaßt worden: der Morphologe befaßt sich mit dem mikroskopisch oder submikroskopisch nachweisbaren Strukturwandel, der Physiologe mit den nachweisbaren Änderungen der physiologischen Zustandsgrößen in der Zelle. Diese Feststellungen können bereits während der Bestrahlung oder in steigendem zeitlichen Abstand von ihr getroffen werden.

Aus der Fülle der gegebenen Möglichkeiten soll hier allein die Analyse der Röntgenwirkung auf einen Bestandteil der Zelle, auf den Zellkern, herausgegriffen werden, und zwar diejenigen Folgeerscheinungen, welche an noch teilungsfähigen Kernen in den folgenden Mitosen mit morphologischen Methoden nachzuweisen sind.

Bei der Bearbeitung der *Röntgenpathologie des Zellkerns* hat sich herausgestellt, daß die zur Untersuchung herangezogenen Objekte bestimmten Anforderungen genügen müssen, wenn die Analyse erfolgreich sein soll: 1. die Zellen sollen in streng vergleichbarem oder genau faßbarem morphologischem und physiologischem Zustand von den Strahlen getroffen werden; 2. es soll die Möglichkeit zur Lebendbeobachtung der Kerne während und nach der Bestrahlung gegeben sein; 3. es soll die erste Mitose nach der Bestrahlung sicher und ohne Verwechslung mit den folgenden Teilungsschritten zu fassen sein; 4. der Zellkern soll möglichst wenige und dabei große Chromosomen besitzen; 5. die einzelnen Chromosomen des Kerns sollen in möglichst allen Phasen der Kernteilung voneinander unterschieden werden können.

Diesen Maximalforderungen kommen als pflanzliches Material die Pollenkörner in den Staubgefäßen der

Blüten am nächsten. In ihnen läuft vor dem Verlassen der Antheren nur eine einzige Kernteilung, die *Pollenmitose*, und nach dem Ausstäuben bei der Keimung des Pollenschlauches ebenfalls nur eine einzige Mitose, die *Pollenschlauchmitose*, ab. Man bestrahlt also entweder die heranwachsenden Pollenkörner und analysiert die strukturellen Änderungen in der Pollenmitose oder es werden die reifen Pollenkörner bei der Keimung bestrahlt, um danach die Pollenschlauchmitose zu untersuchen. Der erste Weg ist der methodisch einfachere und darum begangener; MARQUARDT¹ führte als Objekt zu derartig angelegten Röntgenversuchen *Bellevia romana* mit 4 Chromosomen ein, welches die Forderungen 1, 3, 4 und 5 erfüllt, und SAX² *Tradescantia paludosa* mit 6 Chromosomen, für welches außer der Forderung 5 dieselben Forderungen realisiert sind. – Von tierischem Material eignen sich am besten die Neuroblastenkerne einer Heuschrecke, *Chortophaga viridifasciata*, welche CARLSON³ einführte und die vor allem die Forderung 2 und damit auch 1 und 3 erfüllen. Die Forderung 4 ist dagegen nur teilweise, 5 überhaupt nicht gegeben.

Von genetischer Seite wurden ferner an der Taufliege *Drosophila* noch Spezialmethoden zur Anwendung gebracht. Nach Bestrahlung reifer und somit in einheitlichem Zustand befindlicher Keimzellen – zumeist Spermatozoen – wird entweder aus den Abweichungen im genetischen Verhalten der Folgegeneration bzw. Generationen auf strukturelle Änderungen an den Chromosomen der bestrahlten Keimzellen rückgeschlossen. Oder es werden in der F_1 , welche sich aus einem bestrahlten und einem unbestrahlten Genom zusammensetzt, die für eine Chromosomenfeinanalyse so günstigen Speicheldrüsen auf röntgeninduzierte Strukturumbauten hin untersucht. In beiden Fällen ist aber nur die Forderung 1 und 5 erfüllt, und es müssen daher Rückschlüsse aus diesen Untersuchungen besonders sorgfältig auf ihre Tragfähigkeit hin geprüft werden. Nachdem FANO⁴ als Genetiker und MARQUARDT⁵ als Zytologe Grenze und Leistungsfähigkeit der rein zytologischen und der zytogenetischen Methoden kritisch herausgearbeitet haben, ist heute eine fast lückenlose Aneinanderfügung ihrer Ergebnisse prinzipiell möglich.

Bei allen experimentellen Einwirkungen auf den Zellkern hat sich herausgestellt, daß verschiedenartige Reaktionen eintreten, wenn ein Kern während des Ablaufs der Kernteilung oder wenn er in Teilungs-

¹ H. MARQUARDT, Z. Botanik 32, 401 (1938).

² K. SAX, Genetics 23, 494 (1938).

³ I. G. CARLSON, Genetics 23, 596 (1938).

⁴ U. FANO, Cold Spring Harbor Symp. 9, 113 (1941).

⁵ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

ruhe von ihnen getroffen wird. Dies gilt vor allem für Röntgenbestrahlungen, wo die Dauer der Bestrahlung fast stets viel kürzer gewählt wird als die Dauer der Kernteilung. Seit HERTWIG¹ wird daher die Strahlenwirkung auf Kerne in den *Primäreffekt* (Auswirkungen auf sich teilende Kerne) und den *Sekundäreffekt* (Auswirkungen auf Kerne in Teilungsrue) unterteilt. In günstigen Fällen liegt dazwischen noch eine mitosefreie Zwischenzeit. Die Bezeichnung der beiden Wirkungsweisen hat sich im Laufe der Untersuchungen nicht als ganz glücklich erwiesen; LEA² hat daher vorgeschlagen, die Begriffe Primäreffekt und Sekundäreffekt durch «physiologische Effekte» und «strukturelle Veränderungen» zu ersetzen. Die überraschenden Fortschritte in der Analyse chemikalien-induzierter Chromosomen-Aberrationen haben aber gezeigt, daß dieser Unterscheidung auch außerhalb der Röntgenwirkung eine allgemeine Bedeutung zukommt. Unter dem Aspekt der gesamten Chromosomen- und Kernpathologie wäre, nach einem Vorschlag MARQUARDTS³, der Primäreffekt als «unspezifische physiologische Störung», der Sekundäreffekt als «Ruhekerngift Störung» zu bezeichnen.

B. Der Primäreffekt (unspezifische physiologische Störung)

Werden Zellen während des Ablaufs einer Kernteilung von Röntgenstrahlen getroffen, so tritt als erster Erscheinungskomplex eine *Verlangsamung der Ablaufgeschwindigkeit von Kern- und Zellteilung* ein.

Bei einer Lebensbeobachtung der Neuroblasten von *Chortophaga viridifasciata* findet CARLSON⁴, daß in der späten Prophase 10–15 Minuten vor Auflösung der Kernmembran eine «kritische Periode» besteht: eine schwache Bestrahlung (8–16 r) kurz davor hemmt bereits die Auflösung der Kernmembran für einige Stunden und bewirkt so einen zeitlich begrenzten Teilungsstillstand. Bestrahlung in früher Prophase verlangsamt den Prophaseablauf gleichfalls, während nach der kritischen Periode keine Verzögerung mehr gesetzt wird. Bei einer stärkeren Dosis (250 r) ergibt sich prinzipiell dasselbe, es kehren aber dabei die nahe der kritischen Periode getroffenen späten Prophasen bis zur frühen Prophase zurück, um nach mehreren Stunden der Verharrung zum zweitenmal die mittlere und späte Prophase zu durchlaufen.

In einem rasch sich teilenden Gewebe, wie etwa in einer pflanzlichen Wurzelspitze, in welcher zur Zeit der Bestrahlung die Zellen in verschiedenen Zuständen hinsichtlich Kernteilung bzw. Teilungsrue vorhanden sind, spiegeln sich die an Einzelzellen beschriebenen Effekte in dreierlei Weise:

1. Es tritt ein sehr starkes Absinken der Mitosehäufigkeit ein. Da ein Zellkern hier etwa 3 Stunden

zum Ablauf einer Kernteilung benötigt, ist bei stärkerer Dosis nach dieser Zeit bereits kaum mehr eine Mitose zu finden.

2. Unter den in Teilung befindlichen Zellen verschiebt sich in diesen Stunden das gegenseitige zahlenmäßige Verhältnis der verschiedenen Mitosestadien. Dabei steht die Zunahme der Prophasen und die Abnahme der Metaphasen als auffälligste Erscheinung im Vordergrund (Abb. 1). Die beiden Verschiebungen er-

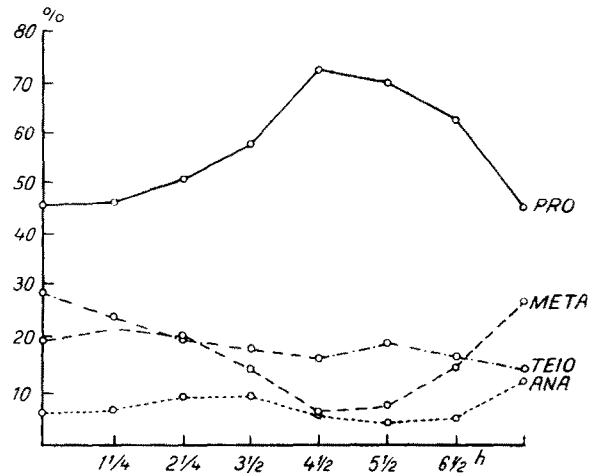


Abb. 1. Prozentuale Häufigkeit der Mitosestadien in den Wurzelspitzen von *Scilla campanulata* in steigendem Abstand von der Bestrahlung. Abszisse: Stunden nach der Bestrahlung. Ordinate: prozentualer Anteil der Mitosestadien unter den in Teilung befindlichen Kernen. Pro Prophase, Meta Metaphase, Ana Anaphase, Telo Telophase. (Nach MARQUARDT¹)

folgen nicht kontinuierlich, sondern diskontinuierlich, so daß von MARQUARDT¹ innerhalb des Zeitraumes des Primäreffektes eine Entfaltungs- und eine Hauptphase unterschieden wurde.

3. Parallel mit der Sistierung von Kernteilungen geht eine Zunahme des Kernvolumens.

Der zweite Erscheinungskomplex im Primäreffekt besteht in einer Änderung der *Oberflächenbeschaffenheit der Chromosomen und Chromatiden* bzw. ihrer Matrix. Von der späten Prophase ab und nach der Kernöffnung wird in steigendem Maße eine Tendenz der Kernelemente zu Verklebungen und Verklumpungen deutlich, durch welche einzelne oder zahlreiche beliebige Stellen auf der Chromosomenoberfläche in wechselnder Ausdehnung zusammenhängen. Die Chromosomenenden und die Insertionsstellen zeigen eine besondere Bereitschaft dazu (Abb. 2b). Im Extremfall entsteht so ein den ganzen Chromosomensatz oder nur einen Teil umfassender, unanalysierbarer Chromatinclumpen.

In der Anaphase tritt diese Erscheinung an den auseinanderweichenden Chromatiden mit derselben Variabilität der Zahl und des Umfangs der Verklebungen ein. Die Chromatiden werden dabei durch Brücken zusammengehalten, die wie eine zähflüssige Masse sich

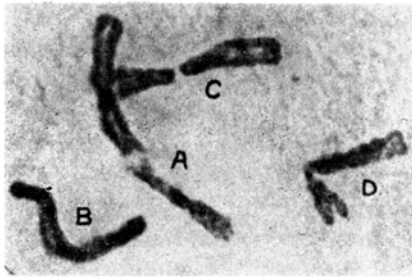
¹ O. HERTWIG, Strahlentherapie 11 (1920).

² D.E. LEA, Actions of radiations on living cells (Cambridge, 1946).

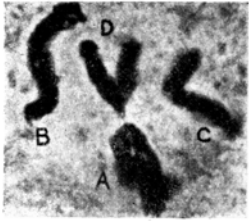
³ H. MARQUARDT, Ärztliche Forschung 2 (1948).

⁴ I. G. CARLSON, Cold Spring Harbor Symp. 9, 104 (1941).

¹ H. MARQUARDT, Z. Botanik 32, 401 (1938).



a



b



c

Abb. 2 a-c. *Bellevia romana*, Metaphasen der Pollenmitose.

- a) normaler Chromosomensatz, 4 Chromosomen. Nach MARQUARDT¹.
 b) Verklebung der Zentromeren von Chromosom A und D (4 h nach 300-r-Dosis).
 c) Frühe Anaphase, nur Chromosom A, mit Brücke zwischen den Chromatiden (1 h nach 300-r-Dosis) A, B, C, D-Bezeichnung der 4 Chromosomen. Vergr. etwa 2500mal. (Nach MARQUARDT²).

auseinanderziehen (Abb. 2c). Löst die Anaphasebewegung diese Verklebungen nicht, so bleiben die beiden Tochterkerne durch Brücken verbunden. Sie erscheinen fadenförmig, wenn nur wenige Chromatiden zusammenhafteten (Abb. 3). Bei umfangreicheren Störungen kommen die bekannten hantelförmigen untereinander verbundenen Tochterkerne zustande, die gelegentlich als «Amitosen» mißdeutet oder als Pseudoamitosen bezeichnet werden.

Eine dritte Gruppe von Kernstörungen umfaßt die *Anomalien des Spindelmechanismus*. Vor allem bei höherer Dosis kommt es entweder zu einem völligen Zusammenbruch der Spindel, indem überhaupt keine geregelte Einordnung der Chromosomen in die Äquatorialplatte und ein Ausbleiben der geordneten Pol-



Abb. 3. *Lilium candidum*, Telophase I der Meiosis mit Brücke (3 h nach 300-r-Dosis. Vergr. etwa 1500mal. (Nach MARQUARDT.)

wanderung der Tochterchromosomen stattfindet. Ferner neigen vorwiegend tierische Kerne zu multipolarer Spindelbildung mit einer entsprechenden abnormen Anaphasebewegung der Chromatiden. Aber auch in Kernen mit scheinbar normaler Spindel und normalen Chromosomenbewegungen ist ein auf einzelne Chromosomen beschränktes abnormes Bewegungsverhalten möglich.

Der vierte Erscheinungskomplex trägt nicht mehr den Charakter reiner physiologischer Schädigungen, sondern struktureller Eingriffe am Chromosom. Er besteht in einer *Fragmentation von Chromosomen oder Chromatiden*. Sie kommen einmal als Folgeerscheinungen vorhergegangener Verklebungen zustande und finden sich dann in den Phasen nach stärkeren Chromosomenbewegungen, vor allem in der Anaphase. Andererseits erfolgen sie als selbständige Effekte und können bereits in erstaunlich kurzer Zeit nach der Bestrahlung einer Meiosis (3 Minuten) sichtbar werden (BISHOP¹). Meist führen die Kerne nur einzelne derartige Chromosomenbrüche, doch können sie in selte-



Abb. 4. *Bellevia romana*, Anaphase der Pollenmitose, totaler Zusammenbruch des Chromosomensystems durch Fragmentation (9 h nach 700-r-Dosis). Vergr. etwa 2500mal. (Nach MARQUARDT²)

nen Fällen so zahlreich sein, daß ein völliger Zusammenbruch des chromosomalen Systems zustande kommt (Abb. 4), der auch spontan beobachtet wurde (DARLINGTON und UPCOTT³).

Die *Auswirkungen* dieser verschiedenartigen Anomalien für das weitere Schicksal der sie enthaltenden Zellen bzw. Zellkerne sind unterschiedlich. Im einfachsten Fall überwindet die Zelle die Hemmungen und die nicht zu ausgedehnt eingetretenen Verklebungen, so daß in den Folgemitosen der Chromosomensatz unverändert erscheint. Im Extremfall degeneriert der Zellkern und mit ihm die Zelle an den erlittenen Röntgenschädigungen. Dazwischen sind alle Übergangsstufen möglich: es entstehen entweder nur mit Stückverlust versehene Tochterkerne, deren Lebensfähigkeit je nach Umfang und Lage der Defizienz entweder nur herabgesetzt oder gänzlich aufgehoben

¹ H. MARQUARDT, Ber. Dtsch. bot. Ges. 60, 98 (1942).

² H. MARQUARDT, Z. Botanik 32, 401 (1938).

¹ D. W. BISHOP, Genetics 27, 132 (1942).

² H. MARQUARDT, Z. Botanik 32, 401 (1938).

³ C. D. DARLINGTON und M. B. UPCOTT, J. Genet. 41, 207 (1941).

ist. Oder es kommt zur *Heteroploidie*, indem der eine Tochterkern mehr als die Normalzahl an Chromosomen führt, und zur *Polyloidie*, indem durch Zusammenbruch des Spindelmechanismus oder des Vorgangs der Chromosomenteilung ganze Chromosomensätze überzählig vorhanden sind. Beide Phänomene sind bisher vorwiegend an Spermatogonienmitosen von Heuschrecken beobachtet worden (WHITE¹, HELWIG², CAROTHERS³).

Über den *Mechanismus der Auslösung* der beschriebenen röntgeninduzierten Störungen am teilenden Zellkern ist nichts Gesichertes bekannt. Man hat versucht, die Mitosenverlangsamung mit einem Auftreten und Wiederverschwinden von mitosehemmenden Stoffen in Zusammenhang zu bringen (LEA⁴) und die Verklebungen als Folge einer Nukleinsäureanlagerung in flüssigem, nicht polymerisiertem Zustand bei der Chromosomenentwicklung nach Röntgenbestrahlung zu deuten (DARLINGTON⁵). Doch sind diese Interpretationen wohl kaum höher als Arbeitshypothesen zu werten. Auch das Bemühen MARSHAKS⁶, eine Dosisabhängigkeit von Verklebungen und Fragmentationen in der späten Anaphase aufzustellen, führte nicht weiter, um so mehr, als die gewählten Anomalien gerade in diesem Stadium von sekundären Momenten modifiziert sind.

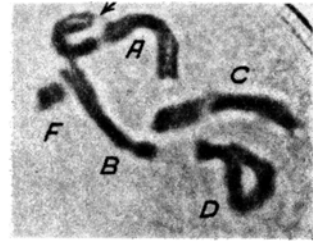
C. Der Sekundäreffekt (Ruhekerngift-Störung)

1. Qualitative Analyse

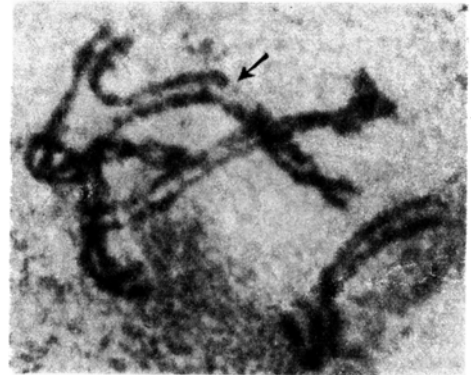
Beim Sekundäreffekt erhält der ruhende oder noch kaum Zeichen eines Mitosebeginns tragende Kern die Röntgendosis, und mit morphologischen Methoden ist an ihm kaum eine Reaktion festzustellen. Erst die je nach der Natur des Objektes früher oder später einsetzende erste Mitose nach der Bestrahlung zeigt an den nunmehr sichtbar gewordenen Chromosomen die Folgeerscheinungen, welche in erster Linie aus *strukturellen Veränderungen an den Chromosomen* bestehen. Aus der Fülle ihrer möglichen Erscheinungsformen läßt sich mit großer Sicherheit schließen, daß nur zwei Grundvorgänge struktureller Art an den Chromosomen des Ruhekerne ablaufen: die auch im Primäreffekt mögliche *Fragmentation* – ein Zerschneiden von Chromosomenlängselementen, und die als neues, dem Sekundäreffekt eigenes Phänomen hinzukommende *Restitution* – ein nahtloses Zusammenfügen von Bruchstücken zu einem neuen Chromosomen-Ganzen.

a) Die Fragmentation

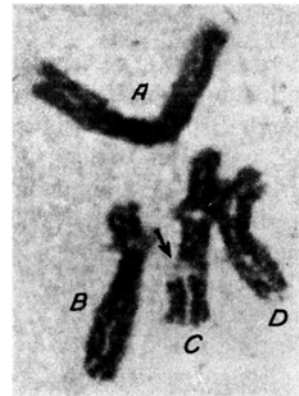
Das Bruchgeschehen am Chromosom führt nicht zu einem einzigen, im mikroskopischen Bild der verschie-



a



b



c

Abb. 5 a-c (Vgl. dazu Legende Abb. 5 d).

denen Mitosestadien feststellbaren Erdzustand. Es bestehen vielmehr eine Reihe von Möglichkeiten, deren Realisation von zwei Faktorenkomplexen bestimmt ist:

1. Von dem Umfang der Reaktion der Längselemente im Chromosom und
2. von dem Grad der Durchtrennung des Chromosomenkörpers.

Die strukturelle Analyse des Chromosomenfeinbaus hat ergeben, daß bereits vor Eintritt in die Mitose das Chromosom mit hoher Sicherheit mindestens *vierteilig* ist, indem jedes seiner Chromatiden nochmals in zwei Halbchromatiden zerfällt (KUWADA¹, MARQUARDT²). Unabhängig von dem Umfang einer derartigen *morphologischen* Längsspaltung verhält sich unter normalen Bedingungen das Chromosom als ungespaltenes bis zur Anaphase, wo der Längsspalt zwischen den Chromatiden aktuell wird. Gegenüber

¹ M. J. D. WHITE, Proc. Roy. Soc. Ser. B, 119, 61 (1935).

² E. R. HELWIG, J. Morph. 55, 265 (1933).

³ E. E. CAROTHERS, J. Morph. 66, 529 (1940).

⁴ D. E. LEA, Actions of radiations on living cells (Cambridge, 1946).

⁵ C. D. DARLINGTON, Nature 149, 66 (1942).

⁶ A. MARSHAK, Radiology 29, 669 (1937).

¹ Y. KUWADA, Cytologia 10, 213 (1939).

² H. MARQUARDT, Planta 31, 670 (1941).

einer Bestrahlung bestehen daher verschiedene Reaktionsweisen des Chromosoms, welche sich alle in der ersten Mitose nach der Bestrahlung realisiert finden: am häufigsten sind *chromosomale*, den ganzen Chromosomquerschnitt betreffende Brüche (Abb. 5a) und *chromatidale*, nur ein einziges Chromatid umfassende Fragmentationen (Abb. 5b). Schwieriger nachzuweisen sind *Halbchromatidbrüche*, welche nur die Hälfte eines Chromatids umfassen. Sie sind erstmals von NEBEL¹ gesehen und von MARQUARDT^{2,3} in der Pollenmitose von *Bellevalia* photographiert worden (Abb. 5c).

Wenn durch Röntgenstrahlen Längselemente des Chromosoms gebrochen sind und damit eine Bruchstelle gegeben ist, können ihre Bruchflächen in verschiedene räumliche Entfernung voneinander gebracht werden. Ist sie auffällig gering und dadurch im Chromosomenschenkel nur eine Einschnürung oder eine mehr oder weniger breite achromatische Lücke im Chromosom vorhanden, sprechen wir von einer *unvollständigen Fragmentation* (Abb. 5b und c). In der Anaphase können die unvollständigen Fragmentationen entweder ihren Charakter bewahren oder zu vollständigen Brüchen werden.

Stehen dagegen die Bruchflächen in keiner räumlichen Zuordnung mehr zueinander, indem das Bruchstück vom Restkörper des Chromosoms gänzlich getrennt liegt, haben wir eine *vollständige Fragmentation* vor uns (Abb. 5a).

Nicht in allen Fällen stellt die Fragmentation eine einfache Durchtrennung von Chromosomenlängselementen dar. Eine Reihe von unvollständigen Chromatidfragmentationen zeigen in der Prophase, wo eine

Verzerrung des Chromosoms mit einiger Sicherheit ausgeschlossen werden kann, anstelle eines einfachen Bruches eine Herauslösung eines oft ziemlich umfangreichen Chromatidsegments (Abb. 5b), ohne daß im Zellkern das fehlende Stück aufweisbar wäre. Hier handelt es sich wohl um eine weitergreifende, einen kleinen Stückausfall verursachende Einwirkung der Röntgenstrahlen an einer einzigen Bruchstelle, wie sie sich bereits zytogenetisch bei *Drosophila* am *white-notch*-Locus des X-Chromosoms hat nachweisen lassen (DEMEREK, KAUFMANN, SUTTON¹ und DEMEREK, KAUFMANN, SUTTON, FANO²).

Eine geregelte Chromosomenbewegung ist nur möglich, wenn, wie es unter Normalbedingungen stets der Fall ist, jedes Chromosom eine einzige Insertionsstelle besitzt. Solange daher eine unvollständige Fragmentation vorliegt, deren Bruchstück auch in den Anaphasen sich nicht selbständig macht, ergibt sich ein Normalverhalten im Laufe der auf die Bestrahlung folgenden Mitosen. Auch wenn das Zentromer selbst fragmentiert ist (RHOADES³) und jede Bruchhälfte des Chromosoms einen funktionstüchtigen Teil des Zentromers mitbekommt, brauchen durch dieses Zustandekommen «telozentrischer» Chromosomen noch keine Teilungsstörungen aufzutreten. Erst wenn das Fragment sich von dem Zentromer-führenden Teil des Chromosoms losgelöst hat, ist es keiner geregelten Bewegung fähig und damit zur Elimination verurteilt, die jedoch meist einer oft auffällig langen Zeit bedarf (WHITE⁴, CARLSON⁵, K. SAX⁶).

Nach dem auf die Dauer unvermeidlichen Verlust der Fragmente besitzt der betreffende Kern einen Stückverlust und dazu in dem fragmentierten Chromosom anstelle eines natürlichen Chromosomenendes eine Bruchfläche. Beide Momente ziehen aber in den meisten Fällen zwangsläufig den Tod der betreffenden Zelle nach sich.

Für die qualitative Seite des Fragmentationsproblems hat daher die mit Folgegenerationen nach einer Bestrahlung arbeitende *Drosophilaforschung* nur wenig beizutragen vermocht.

b) Die Restitution

Für eine formale Ableitung der auf diesen Grundvorgang zurückgehenden strukturellen Aberrationen ist die Ausgangsannahme notwendig, daß Brüche vorliegen, über deren aktuellen Zustand zunächst nichts ausgesagt werden kann und die darum als *potentielle Brüche* bezeichnet werden (KAUFMANN⁷,

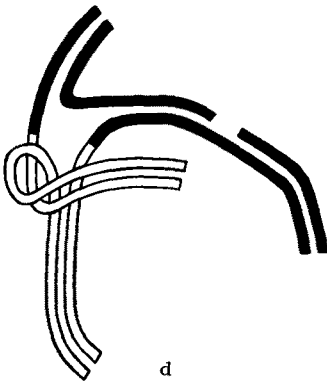


Abb. 5a-d. *Bellevalia romana*, Pollenmitose mit Fragmenten.

- a) Chromosomale, vollständige Fragmentation von Chromosom A (4 Tage nach 300-r-Dosis) Original.
- b) Chromatidale, unvollständige Fragmentation (Pfeil) und reziproke Chromatidtranslokation (3 Tage nach 300-r-Dosis).
- c) Unvollständige Chromatid- und Halbchromatidfragmentation des Chromosoms C (1 Tag nach 300-r-Dosis).
- d) Schema der Translokationsfigur von b, etwas vereinfacht. Pfeile = Fragmentationsorte. Vergr. etwa 2500mal (Nach MARQUARDT²).

¹ B. R. NEBEL, Amer. J. Bot. 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

² H. MARQUARDT, Z. Bot. 24, 365 (1937).

³ H. MARQUARDT, Planta 31, 670 (1941).

¹ M. DEMEREK, B. P. KAUFMANN und E. SUTTON, Carnegie Inst. of Wash. Year Book 38, 185 (1939).

² M. DEMEREK, B. P. KAUFMANN, E. SUTTON und U. FANO, ib. 40, 225 (1941).

³ M. M. RHOADES, Genetics 25, 483 (1940).

⁴ J. D. WHITE, Proc. Roy. Soc. Ser. B. 119, 61 (1935).

⁵ I. G. CARLSON, Genetics 23, 596 (1938).

⁶ K. SAX, Genetics 26, 418 (1941).

⁷ B. P. KAUFMANN, Cold Spring Harbor Symp. 9, 82 (1941).

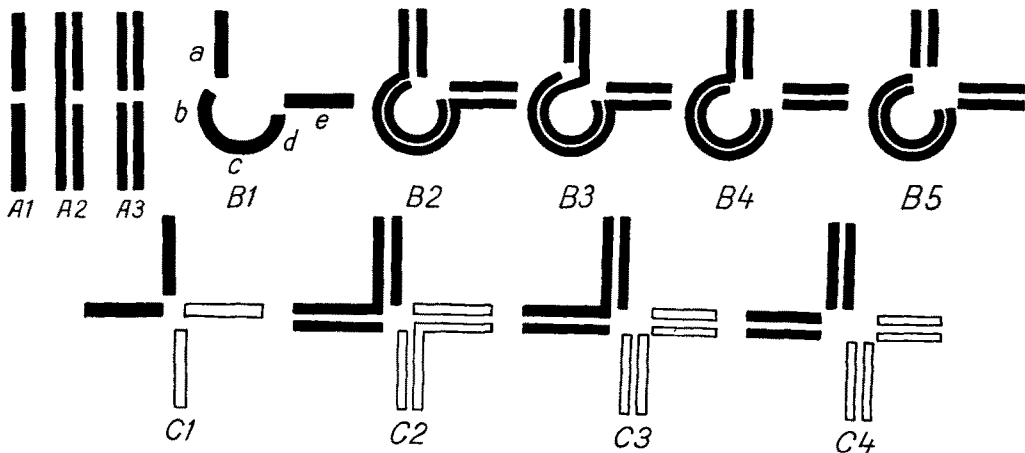


Abb. 6. Schema der verschiedenen Ausgangslagen für Restitutionsvorgänge.

A Für Einbruchrestitutionen. 1 bei ungespaltenem Chromosom, 2 bei gespaltenem, chromatidal verändertem und 3 bei gespaltenem, chromosomal verändertem Chromosom.

B Für Zweifbruchrestitutionen innerhalb eines Chromosoms. 1 bei ungespaltenem Chromosom, 2 und 3 bei gespaltenem, chromatidal verändertem, 4 bei chromatidal+chromosomal verändertem und 5 bei chromosomal verändertem Chromosom.

C Für Zweifbruchrestitutionen zwischen 2 Chromosomen. 1 bei ungespaltenen Chromosomen, 2 bei gespaltenen, chromatidal veränderten, 3 bei chromatidal+chromosomal veränderten und 4 bei chromosomal veränderten Chromosomen.

FANO¹). Entscheidend ist nun, daß diese potentiellen Brüche sich nicht oder nur teilweise in der ersten Mitose nach der Bestrahlung als Fragmentationen manifestieren, sondern daß sie in irgendeiner Kombination untereinander zur Restitution kommen, d. h. in einer nahtlosen Wiedervereinigung das alte oder ein verändertes neues Chromosomen-Ganzes bilden. Welcherlei Konfigurationen bzw. Umbauten durch diese Restitutionsvorgänge entstehen, ist abhängig 1. von der Anzahl der am Restitutionsgeschehen beteiligten Brüche, 2. von der Lage der reagierenden Brüche auf den Chromosomen, 3. von der Anzahl der Bruchflächen (Eine chromatidale Bruchstelle besitzt 2 Bruchflächen, die chromosomale Bruchstelle eines längsgespaltenen Chromosoms 4 Bruchflächen usw., vgl. Abb. 6), 4. von der Restitutionsbereitschaft der vorhandenen Bruchflächen.

Es sind daher verschiedene Ausgangslagen für Restitutionsvorgänge möglich, die wir in Abb. 6 dargestellt haben. Je nach der Anzahl der Bruchstellen unterscheiden wir Ausgangslagen, welche zu Einbruch (Abb. 6 A1–3), Zweifbruch (Abb. 6 B1–5, C1–4), Drei- und Mehrbruchrestitutionen führen. Je nach der Lage der restituierenden Brüche kennen wir Anordnungen der potentiellen Brüche, auf welche die Zweifbruchrestitutionen innerhalb eines Chromosoms (Abb. 6, B1–5) oder zwischen zwei (und mehr) Chromosomen (Abb. 6, C1–4) zurückgehen. Je nach dem Spaltungszustand der Chromosomen sind Restitutionsvorgänge am ungespaltenen Chromosom (Abb. 6, A1, B1, C1) möglich, die Längsspaltung läuft dann erst nach vollzogener Restitution ab, oder es sind chromatidale Bruchstellen mit je 2 Bruchflächen (Abb. 6, A2, B2, B3, C2) bzw. chromosomale Bruchstellen mit 4 Bruchflächen (Abb. 6,

A3, B5, C4) vorhanden, unter denen Restitutionsvorgänge möglich sind. Schließlich können auch chromosomale und chromatidale Bruchstellen (Abb. 6, B4, C3) miteinander restituieren. Je nach der Restitutionsbereitschaft der Bruchflächen sind *Partialrestitutionen* zu erwarten, wenn nur ein Teil der vorhandenen Bruchflächen zu einem neuen Ganzen zusammentritt und der übrigbleibende Teil als freie Fragmentationsbruchflächen sich erhält. Oder es werden *Totalrestitutionen* gebildet, wenn von den eintretenden Verheilungen keine Bruchfläche ausgeschlossen bleibt.

Eine systematische Entwicklung aller denkbaren Möglichkeiten der Ein- und Zweifbruchrestitutionen ist durch MARQUARDT¹ erfolgt. Dabei hat sich ergeben, daß trotz der Verschiedenheit der Ausgangslagen und der zahlreichen Einzelmöglichkeiten bestimmte Typen von Konfigurationen immer wieder auftreten. Es lassen sich zunächst zwei große Gruppen voneinander unterscheiden, nämlich die kleinere der *Umbauten ohne begleitenden Stückverlust* und die wesentlich umfangreichere der *Restitutionsvorgänge mit gleichzeitigem Stückverlust oder bizentrischen Chromosomen*. Jede Gruppe setzt sich dabei aus Konfigurationen zusammen, welche durch Restitutionsvorgänge zwischen Bruchflächen innerhalb eines Chromosoms oder zwischen Bruchflächen verschiedener Chromosomen zustande kommen.

Zur Gruppe der stückverlustfreien Umbauten innerhalb eines Chromosoms gehören: 1. Die *Rückrestitutionen zum Ausgangszustand*, welche zu einer Wiederherstellung des Normalzustandes vor dem Bruch führen. Sie sind bereits in der ersten Mitose nach der Bestrahlung verschwunden, so daß ihre Anzahl nicht direkt bestimmt werden kann, sondern auf Umwegen

¹ U. FANO, Cold Spring Harbor Symp. 9, 113 (1941).

¹ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941).

erschlossen werden muß. 2. Die *Inversionen* als Folge von Restitutionsvorgängen; welche eine umgekehrte Einfügung des zwischen den Bruchstellen gelegenen Chromosomensegments in das neue Chromosomenganze bewirken (Abb. 7a); bezeichnen wir wie in Abb. 6, B1 einzelne Chromosomensegmente mit den Buchstaben $a/bcd/e$, wobei die Striche die Bruchstellen symbolisieren sollen, erhalten wir also als neues Chromosom $a/dcb/e$. Von einer symmetrischen Inversion sprechen wir, wenn das Zentromer innerhalb des invertierten Segments liegt, von einer asymmetrischen, wenn sie sich nur in einem der beiden Chromosomenschenkel abspielt.

In der ersten Mitose nach der Bestrahlung sind diese Konfigurationen nur nachzuweisen, wenn sie chromatidal erfolgt sind, d. h. von den Ausgangslagen B2, B3 und B4 der Abb. 6 sich herleiten. Betrifft die Inversion beide Chromatiden (Ausgangslage B1 und B5) so findet man sie in der Metaphase nur dann, wenn sie symmetrisch ist und eine Längenverschiebung der Schenkel eines identifizierbaren Chromosoms bewirkt. In der Meiosis einer F_1 aus einem unveränderten und einem umgebauten Chromosomensatz dagegen (Mc. CLINTOCK¹) oder in den Speicheldrüsenkernen (PAINTER²) ist eine Inversion fast immer zu fassen.

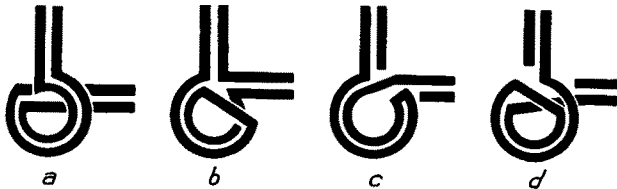


Abb. 7. Schemata lebensfähiger Zweibruchrestitutionen innerhalb eines Chromosoms.

- a Inversion (Ausgangslage Abb. 6, B1 und 5).
- b Einfache Duplikation (Ausgangslage Abb. 6, B3, B5).
- c Invertierte Duplikation (Ausgangslage Abb. 6, B5).
- d Doppelt invertierte Duplikation (Ausgangslage Abb. 6, B5).

3. Die *Duplikationen*, welche eine Verdoppelung eines begrenzten Chromosomensegments bedeuten. Sie können innerhalb eines Chromosoms nur durch Einfügung eines Stücks des einen Chromatids in das andere erfolgen, so daß das Zustandekommen einer Duplikation im einen Chromatid einen entsprechenden interkalaren Stückverlust (Deletion) im Schwesterchromatid bedeutet. Die Ausgangslagen B3 und B5 führen bei entsprechender Bruchflächenkombination zu dieser Konfiguration mit der Reihenfolge der Segmente $a/bcd/bcd/e$ (Abb. 7b). Nur asymmetrische, innerhalb eines Schenkels ablaufende Duplikationen erweisen sich als prinzipiell lebensfähig, d. h. den Teilungsablauf nicht mechanisch oder durch Stückausfall grob gefährdend.

4. Die *invertierten und doppelt invertierten Duplikationen*, welche etwas kompliziertere Erscheinungsfor-

men eines zur Stückverdoppelung führenden Umbaus darstellen und auf die Ausgangslage mit 2 Brüchen und 8 Bruchflächen (Abb. 6, B5) zurückgehen. Die invertierten Duplikationen besitzen die Anordnung der Segmente $abcd/dcb/e$ (Abb. 7c) und spielen in der Analyse der Speicheldrüsenchromosomen von *Drosophila* als «reversed repeats» eine nicht unbedeutende Rolle. Bei den doppelt invertierten Duplikationen ist nicht nur das neu eingefügte Segment invertiert, sondern auch das entsprechende, dem Chromatid eigene Segment, so daß $a/dcb/dcb/e$ entsteht (Abb. 7d).

In der ersten Mitose nach der Bestrahlung sind alle Formen der Duplikationen etwas schwierig nachzuweisen, da sie zumeist die Ausgangslage bewahren, und dadurch der Chromatidenverlauf selten ganz klar ist. In der Meiosis oder in der Speicheldrüse werden sie ebenso wie die Inversionen gefunden, wenn auch nicht ganz so leicht wie diese.

Zu dieser ersten Gruppe gehören als Restitutionen zwischen zwei Chromosomen ferner noch:

5. Die *symmetrischen Chromatidtranslokationen*, welche durch eine Restitution zweier chromatidal gebrochener Chromosomen entstehen (Ausgangslage C2 der Abb. 6, vollzogene Restitution in Abb. 5b). Die gegenseitige Zuordnung der beiden Chromosomen muß dabei eine derartige sein, daß die Austauschchromatiden nicht dizentrisch bzw. azentrisch werden.

In der ersten Mitose nach der Bestrahlung sind vor allem in der Pro- und Metaphase diese Konfigurationen mit besonderer Deutlichkeit nachzuweisen. Da durch die Anaphase aber die Chromatiden zu selbständigen Tochterchromosomen werden, verliert die Chromatidtranslokation ihren wesentlichen Charakter und ist darum bereits in der zweiten Mitose nach der Bestrahlung nur noch als reziproke Translokation schlechthin vorhanden, ganz abgesehen davon, daß in 50% der Fälle eine nicht lebensfähige Chromosomenverteilung zu erwarten ist (MARQUARDT¹).

6. Die *symmetrischen chromosomalen Translokationen*, welche entweder auf eine Ausgangslage mit ungespaltenen Chromosomen (Abb. 6, C1) oder mit gespaltenen, chromosomal fragmentierten Chromosomen (Abb. 6, C4) zurückgehen. Auch hier muß die Restitution der Bruchflächen so erfolgt sein, daß keine di- und azentrischen Chromosomen entstehen.

In der ersten Mitose nach der Bestrahlung wird diese Konfiguration nur dann gefunden, wenn eine Längenänderung von Chromosomenschenkeln damit verbunden ist (Abb. 8). In der Meiosis und in Speicheldrüsen von *Drosophila* macht ihre Feststellung im heterozygoten Zustand keine Schwierigkeiten.

Obgleich alle 6 genannten möglichen Typen weder freie Bruchflächen noch Stückverluste für den betreffenden Kern bedeuten, in dem sie sich befinden, haben nicht alle dieselbe Aussicht, über zahlreiche

¹ B. Mc. CLINTOCK, Z. Zellf.-mikr. Anat. 19 (1933).

² T. S. PAINTER, Genetics 19, 173 (1934).

¹ H. MARQUARDT, Z. Bot. 32, 401 (1938); Flora 35, 239 (1941).

Zellgenerationen in einem längeren Entwicklungsablauf sich zu behaupten. Am «kurzlebigsten» sind hier die Chromatidtranslokationen, welche sofort nach der ersten Mitose in reziproke Translokationen übergegangen sind. Ihnen folgen die Duplikationen, welche bei *Drosophila* gegenüber den Inversionen fast ganz

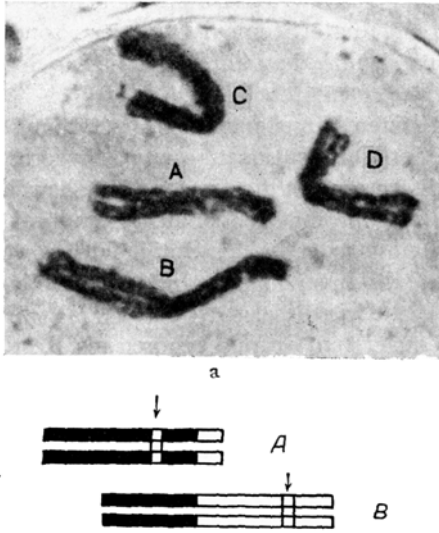


Abb. 8. *Bellevalia romana*. Metaphase der Pollenmitose mit einer reziproken, chromosomalen Translokation zwischen Chromosom A und B.
a) Photographie, b) Schema der Translokation.

Pfeil = Insertionsstellen der Chromosomen. (Vergr. etwa 2000mal.
(Nach MARQUARDT¹.)

zurücktreten (BAUER², KAUFMANN³). Allein die Inversionen aller Art und die chromosomalen symmetrischen Translokationen laufen ohne Einschränkungen durch alle Kernteilungen und damit durch den Entwicklungsablauf. Aber die Meiosis stellt auch für sie eine Barriere dar, durch welche wenigstens ein Teil von ihnen ausgeschaltet werden kann; für die Translokationen liegen speziell darauf gerichtete Einzeluntersuchungen von MARQUARDT⁴ vor.

Die zweite Gruppe der Restitutionen, welche die durch Stückverluste nicht lebensfähigen Umbauten umfaßt, sei hier nur in zwei charakteristischen Beispielen einzeln besprochen. Am häufigsten sind:

1. Alle *Partialrestitutionen*, welche unter den Kombinationsmöglichkeiten aller Ausgangslagen mit steigender Bruchflächenzahl zahlenmäßig immer mehr überwiegen. Gleichgültig, ob es sich dabei um Restitutionen innerhalb eines Chromosoms oder zwischen zwei und mehr Chromosomen handelt, stets sind freie Bruchflächen und dadurch azentrische Chromosomenstücke vorhanden, welche durch ihren Ausfall einen letalen Stückverlust für Kern und Zelle zur Folge haben.

2. Die *Schwesterchromatidrestitutionen*, welche bei chromosomalen Brüchen durch Verheilung von Schwesterchromatidbruchflächen entstehen können. Wir erhalten so eine neue Konfiguration, welche einerseits aus zwei bogenförmig vereinigten Schwesterchromatiden mit zwei Zentromeren, andererseits aus einem einheitlichen, azentrischen Fragment besteht, welches sich ebenfalls durch bogenförmige Vereinigung der restlichen zwei Schwesterchromatiden bildete (Abb. 9, die Bruchflächen des azentrischen Fragments sind allerdings unrestituert geblieben). In der Anaphase der ersten Mitose nach der Bestrahlung kommt es dann durch das regelmäßig eintretende gegensinnige Funktionieren der beiden Zentromeren innerhalb des bivalenten Tochterchromosoms zu einer Brücke zwischen den Tochterkernen, die entweder durch die Anaphasebewegung durchrissen oder bei der Zellteilung durchtrennt werden muß. Außer dieser, den Mitoseablauf stark hemmenden Störung ist noch ein azentrisches Fragment oder bei Partialrestitution (Abb. 9) deren zwei vorhanden. Derartige Zellen eliminieren sich daher mit besonderer Gründlichkeit.

Hieran schließen sich noch 5 weitere Konfigurationstypen an, welche ohne Einzelbesprechung nur aufgezählt seien, die symmetrischen Duplikationen, die Ringe und Deletionen, die Chromosomen mit gleichen Enden, die asymmetrischen Chromatid- und chromosomalen Translokationen und die lateralen Translokationen.

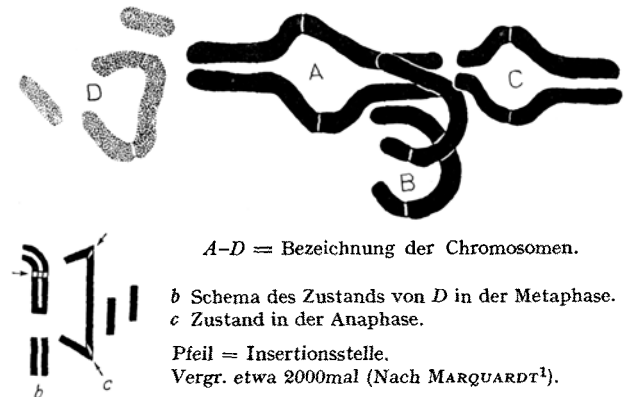


Abb. 9. *Bellevalia romana*. Frühe Anaphase der Pollenmitose mit Schwesterchromatidrestitution im D-Chromosom (Partialrestitution).

Noch mannigfaltiger wird das Bild, wenn nicht nur Restitutionen zwischen zwei, sondern auch zwischen drei und mehr Bruchstellen in Betracht gezogen werden. In der ersten Mitose nach der Bestrahlung sind derartige komplexe Restitutionen nur in den einfacheren Fällen sicher zu analysieren (Abb. 10, Vierbruchrestitution zwischen 3 Chromosomen). In den Speicheldrüsen von *Drosophila* liegen dagegen günstigere Bedingungen vor, so daß KAUFMANN sogar eine 32 Brüche umfassende, lebensfähige Restitution

¹ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941).

² H. BAUER, Chromosoma 1, 343 (1939).

³ B. P. KAUFMANN, Cold Spring Harbor Symp. 9, 82 (1941).

⁴ H. MARQUARDT, Flora 35, 239 (1941) und Z.I.A.V. (im Druck).

¹ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941).

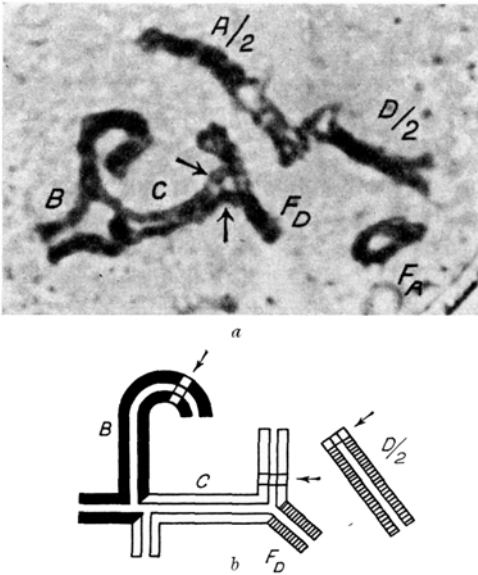


Abb. 10. *Bellevalia romana*. Metaphase der Pollenmitose mit einer Vierbruchrestitution zwischen Chromosom B, C und D sowie einer vollständigen, chromosomal Fragmentation des A-Chromosoms.

a Photographie.

b Schema der Translokationsfigur.

Pfeile = Insertionsstellen.

F_A, D Bruchstücke der Chromosomen A und D.

Vergr. etwa 2000mal (Nach MARQUARDT¹).

zu klären vermochte (DEMEREK, KAUFMANN, FANO, SANSOME und GAY²).

Im ganzen gesehen können wir die möglichen Chromosomenveränderungen des Sekundäreffekts, nämlich die Fragmentationen und Restitutionsen nach ihren Auswirkungen in der Zelle in drei Gruppen unterteilen. Die erste größte Gruppe umfaßt die Aberrationen mit bestehendem oder drohendem Stückverlust; sie setzt sich aus den Fragmentationen, allen Partialrestitutionen und den aufgezählten, nichtlebensfähigen Totalrestitutionen zusammen. Die zweite Gruppe enthält die Chromosomenumbauten ohne unmittelbar hemmende Wirkungen auf die Formwechselprozesse des Zellkerns. Sie sind aus der Zytogenetik als «die Chromosomenmutationen» bekannt und wurden vor allem von der *Drosophila*-forschung lange als die einzig wesentlichen Eingriffe gehalten. Die dritte Gruppe besteht schließlich aus den Rückrestitutionen zum Ausgangszustand, die sich jeder direkten Beobachtung entziehen und darum am längsten unberücksichtigt blieben.

2. Quantitative Analyse

a) Fragmentationen

Über den Anteil der Fragmentationen an den sichtbaren Röntgenveränderungen des Sekundäreffekts kann nur dort etwas ausgesagt werden, wo die Analyse auf die Erfassung aller irgendwie faßbarer Chromosomenveränderungen gerichtet ist und sich nicht nur

auf einzelne Konfigurationstypen beschränkt. Bei der Pollenmitose von *Bellevalia*, wo diese Voraussetzung bisher erfüllt ist, unterscheiden sich die Werte bei verschiedenen Dosen erheblich, indem ihr Anteil bei 150 r zwischen 50–60% der sichtbaren Aberrationen beträgt, bei 300 r auf 40% und bei 450 r auf 20% absinkt (MARQUARDT¹). Mit steigender Dosis nehmen somit die Restitutionsen bedeutend rascher zu als die Fragmentationen. Eine Verabreichung der Röntgendosis nicht in einer kurzen Zeit (Sekunden oder wenige Minuten), sondern in durch Pausen getrennten Fraktionen bleibt auf die Gesamthäufigkeit der Fragmente ohne Einfluß, gleichgültig ob die Fraktionierung sich über 16 Minuten (CATCHESIDE, LEA und THODAY²), über 80 Minuten (SAX³) oder über 7 Stunden (MARQUARDT¹) ausdehnt. Ferner zeigen die Fragmentationen eine Wellenlängenabhängigkeit, indem in der *Tradescantia*-pollenschlauchmitose bei einer Strahlung von 4,1 Å 1,1% der Zellen Chromatidbrüche besitzen, während bei der sehr weichen Strahlung von 8,3 Å nur 0,065% derartiger Fragmente auftreten (CATCHESIDE und LEA⁴).

Bei der Bestrahlung eines vergleichbaren Kernzustandes mit verschieden starker Dosis zeigen die Fragmentationen eine klare Dosisabhängigkeit. Sie steigen fast linear und damit streng proportional der Dosis in der Pollenmitose von *Tradescantia* an (SAX⁵), zeigen an demselben Objekt aber in den Versuchsreihen von THODAY⁶ und KOTVAL (unveröffentlicht)⁷ bei höheren Dosen eine geringe Abflachung der Kurve. Bei *Bellevalia* ist nach anfänglich linearem Anstieg diese Abflachung vorherrschend (MARQUARDT¹) während FABERGÉ⁸ und NEWCOMBE⁹ allerdings nur in einem Zweipunktversuch einen anderen Kurventyp erkennen, der einer quadratischen, nicht linearen Dosisabhängigkeit nahekommmt.

Wenn in den bestrahlten Kernen dabei die Fragmente durch die Röntgenstrahlen dem Zufall nach ausgelöst werden und nicht etwa eine Fragmentation eine oder mehrere andere in dem betreffenden Zellkern nach sich zieht, dann müssen die Kerne mit 0, 1, 2 und mehr Fragmentationen in einer Häufigkeit gefunden werden, welche einer Poisson-Verteilung entspricht. Bei allen daraufhin untersuchten Objekten, wie *Chortophaga* (CARLSON¹⁰) *Bellevalia* (MARQUARDT¹¹) und *Tradescantia* (THODAY, unveröffentlicht)¹² ist diese Verteilung tatsächlich festgestellt worden.

¹ H. MARQUARDT, Z. Bot. 37, 241 (1942).

² D. G. CATCHESIDE, D. E. LEA und I. M. THODAY, J. Genet. 47, 137 (1946).

³ K. SAX, Cold Spring Harbor Symp. 9, 93 (1944).

⁴ D. G. CATCHESIDE und D. E. LEA, J. Genet. 45, 186 (1943).

⁵ K. SAX, Genetics 25, 41 (1940).

⁶ I. M. THODAY, J. Genet. 43, 189 (1942).

⁷ E. KOTVAL, zit. nach LEA (Cambridge, 1946).

⁸ A. C. FABERGÉ, J. Genet. 39, 229 (1940).

⁹ H. B. NEWCOMBE, J. Genet. 43, 237 (1942).

¹⁰ T. G. CARLSON, Proc. Nat. Acad. Sci. 27, 42 (1941).

¹¹ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

¹² E. KOTVAL, zit. nach LEA (Cambridge, 1946).

¹ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

² M. DEMEREK, B. P. KAUFMANN, E. R. SANSOME, U. FANO und E. H. GAY, Carnegie Inst. of Wash. Year Book 42, 139 (1943).

Über die Häufigkeit der Fragmente entscheidet nicht allein die Röntgendosis, sondern auch der physiologische Zustand der bestrahlten Kerne, der sich während der Pollenkeimung infolge der plötzlich einsetzenden Wasseraufnahme, Quellung und physiologischen Aktivität besonders nachhaltig ändert (SWANSON¹).

Auf den einzelnen Chromosomen innerhalb eines Kerns sind die Fragmentationen entsprechend der Chromosomenlänge verteilt, indem ein Chromosom oder ein Chromosomenschenkel um so häufiger fragmentiert wird, je länger er ist (MARQUARDT²). Innerhalb eines Chromosomenschenkels sind jedoch die Fragmentationen nicht an allen Stellen gleich häufig, denn in der Pollenmitose von *Bellevalia* (MARQUARDT²) und der Pollenschlauchmitose von *Tradescantia* (SWANSON¹) sind sie in endennahen Segmenten gehäuft, während sie zentromerwärts immer seltener werden. In der Pollenmitose von *Tradescantia* finden dagegen SAX und MATHER³ gerade die umgekehrten Verhältnisse.

Da die Fragmentationen nicht in einer einheitlichen, sondern in verschiedenartigen Erscheinungsformen auftreten, lassen sich quantitative Aussagen auch für diese Untergruppen machen. Am auffälligsten erscheint dabei der Gegensatz der chromosomalen zu den chromatidalen Fragmenten. Wird in größerem zeitlichen Abstand von der Kernteilung bestrahlt, dann reagiert das Chromosom als ungespaltenes und erscheint chromosomal fragmentiert. Von einem bestimmten Zeitpunkt ab – meist 24–36 Stunden vor dem Beginn der Mitose – erfolgt dann ein Umschlag des Chromosomenverhaltens, indem jetzt Chromatidfragmentationen in den Vordergrund treten. Diese Verhältnisse haben sich bei allen bisher untersuchten Objekten finden lassen; eine Gesetzmäßigkeit im Eintritt des Umschlages scheint nach den bisherigen Ergebnissen nicht vorzuliegen – es handelt sich hier wohl um eine Spezifität der einzelnen Pflanzen oder Tiere (NEWCOMBE⁴).

In der Phase, da die chromatidalen Fragmente vorherrschen, das Chromosom also als längsgespaltenes Gebilde reagiert, verschwinden die chromosomalen Fragmente nicht vollständig, sondern sind in einer wechselnden Häufigkeit noch immer vorhanden. Es liegen gute Gründe für die Annahme vor, daß hier die Röntgenstrahlen trotz der wirksam gewordenen Längsspaltung beide Chromatiden gleichzeitig durchtrennen konnten. Diese Fälle werden unter dem Namen «Isochromatidfragmentationen» zusammengefaßt; ihre Zahl ist um so geringer, je näher die Bestrahlung an die Mitose gelegt wird (*Tradescantia*-

pollenmitose, SAX¹) und *Tradescantiapollenschlauchmitose* (SWANSON²). Mit steigender Dosis nehmen sie dagegen auf Kosten der chromatidalen Fragmentationen zu (MARQUARDT³), während eine Fraktionierung der Dosis bis 16 Minuten ihre Zahl nicht verändert (CATCHESIDE, LEA und THODAY⁴).

Außer in chromosomale und chromatidale Brüche ließen sich die Fragmentationen auch in vollständige und unvollständige gliedern. Über ihre Häufigkeiten liegen nur bei *Bellevalia* Untersuchungen vor, nach denen mit steigender Dosis eine starke Abnahme der unvollständigen und eine ebensolche Zunahme der vollständigen Fragmente erfolgt (MARQUARDT³). Während die Fraktionierung einer Bestrahlung bis zu 7 Stunden die Gesamtzahl der Fragmentationen nicht ändert, geht dabei die Häufigkeit der vollständigen Brüche deutlich zurück und die unvollständigen dominierten immer mehr (MARQUARDT³).

b) Die Restitutionen

Der Anteil der Restitutionen an der Gesamtschädigung ist entsprechend den Erfahrungen mit der Fragmentationshäufigkeit bei verschiedenen Dosen nicht gleichbleibend; von 40–50% Anteil bei 50 und 150 r nehmen sie bei *Bellevalia*, wo fast alle Aberrationen erfaßt werden konnten, bis auf 80% bei 450 r zu (MARQUARDT⁵). Die Anzahl der Zahlen mit 0, 1, 2, 3 und mehr Restitutionen entspricht einer Poisson-Verteilung bei Berücksichtigung aller Restitutionen (MARQUARDT⁵) oder einer bestimmten Teilgruppe von ihnen (THODAY, unveröffentlicht⁶, BAUER⁷).

Die Dosisabhängigkeitskurve der Restitutionen steigt bei allen Untersuchungen in der ersten Mitose nach der Bestrahlung mit dem Quadrat der Dosis an (SAX⁸, MARQUARDT⁵, THODAY¹⁰) doch werden reine Kurven dieses Typs nur erhalten, wenn in gleichbleibend kurzer Zeit die verschiedenen Dosen verabreicht werden (SAX⁸). Ist diese Bedingung nicht erfüllt, dann kommt es zu einer Kurve, welche zwischen linearer und quadratischer Dosisabhängigkeit liegt. Die verschiedenen möglichen Kurven sind von BAUER¹¹ rechnerisch zu den in der Treffertheorie der Strahlenwirkung üblichen Ein- und Mehrtrefferkurven in Beziehung gesetzt worden.

Eine Fraktionierung der Dosis über 7 Stunden führt zu einem Rückgang der Gesamtzahl von Restitutionen (MARQUARDT⁵); dasselbe gilt für die Chromatidtrans-

¹ K. SAX, Cold Spring Harbor Symp. 9, 93 (1944).

² C. P. SWANSON, J. Gen. Physiol. 26, 485 (1943).

³ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

⁴ D. G. CATCHESIDE, D. E. LEA und I. M. THODAY, J. Genet. 47, 137 (1946).

⁵ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

⁶ E. KOTVAL, cit. nach LEA (Cambridge, 1946).

⁷ H. BAUER, Chromosoma 1, 343 (1939).

⁸ K. SAX, Genetics 25, 41 (1940).

⁹ K. SAX, Cold Spring Harbor Symp. 9, 93 (1944).

¹⁰ I. M. THODAY, J. Genet. 43, 189 (1942).

¹¹ H. BAUER, Chromosoma 2 (1940).

¹ C. P. SWANSON, J. Gen. Physiol. 26, 485 (1943).

² H. MARQUARDT, Ber. Dtsch. bot. Ges. 60, 48 (1942).

³ K. SAX und K. MATHER, J. Genet. 37, 483 (1939).

⁴ H. B. NEWCOMBE, J. Genet. 43, 145 (1942).

lokationen bei Fraktionierung über 16 Minuten (CATCHSIDE, LEA und THODAY¹) und für den erfaßten Teil der chromosomalen Restitutionen bei Fraktionierung über 60 Minuten (SAX², MARINELLI, NEBEL, GILES und CHARLES³).

Innerhalb der Kerne finden sich die Restitutionen auf den Chromosomen in einer Häufigkeit, welche der Chromosomenlänge entspricht (MARQUARDT⁴). Dies gilt auch für den lebensfähigen Anteil unter ihnen bei *Drosophila*, und zwar für die eu- und heterochromatischen Chromosomensegmente in gleicher Weise, vorausgesetzt allerdings, daß die Längenverhältnisse der Mitose- und nicht der Speicheldrüsen als Bezugssystem gewählt werden (KAUFMANN⁵).

Innerhalb der einzelnen Chromosomen sind die Restitutionen dagegen nicht dem Zufall nach verteilt, sondern finden sich bei *Bellevalia* in den zentromernahen Segmenten bevorzugt, mit einem statistisch bedeutsamen Abfall nach den endennahen Segmenten hin (MARQUARDT⁴). Dasselbe Verhalten stellte bereits SAX und MATHER⁶ für einen analysierten Ausschnitt aus dem Gesamtrestitutionsgeschehen an *Tradescantiapollenkernen* fest. Zu Translokationen schließen sich bei *Bellevalia* eher gleichgelagerte Chromosomensegmente zusammen, als daß etwa ein zentromernahes und ein endennahes Segment sich vereinigen. An *Drosophila* wurde von KAUFMANN⁵ die Verteilung von nicht weniger als 1400 lebensfähigen Restitutionen über das X-Chromosom untersucht. Die lebensfähigen Translokationen und Inversionen sind *nicht* zufallsmäßig über die einzelnen «divisions» und noch weniger über die «subdivisions» verteilt, sondern bestimmte kurze Segmente beteiligen sich an viel mehr Umbauten als ihnen zufallsmäßig zukäme.

Ferner ist vor allem an Restitutionen die Wirkung von verschiedenen anderen Eingriffen auf den Organismus in Kombination mit Röntgenbestrahlungen untersucht worden; so fand SAX⁷ bei einer Kombination mit einer Zentrifugierung die Restitutionszahl fast auf das Doppelte erhöht, während mit Colchicin eine Herabsetzung der Chromatidaberrationen auf $\frac{1}{3}$ des Wertes nach einfacher Röntgenwirkung eintrat (BRUMFIELD⁸). Röntgenbestrahlungen in tiefer Temperatur (+ 1°) lösen fast das Dreifache an Translokationen aus gegenüber einem Versuch unter hohen Temperaturen (+ 30°) SAX⁹, CATCHSIDE und THODAY,

unveröffentlicht¹). Mit Hilfe der Speicheldrüsenanalyse sind bei *Drosophila* Kombinationen mit Ultraviolett (KAUFMANN und HOLLAENDER²) und Infrarot (KAUFMANN, HOLLAENDER und GAY³, KAUFMANN⁴) in ihren Wirkungen analysiert worden, wobei die zusätzlich angewendeten Strahlenarten allein keine lebensfähigen Aberrationen auslösen.

Da Restitutionen nicht in einer einzigen, sondern in einer großen Anzahl von verschiedenen Erscheinungsformen auftreten, lassen sich die quantitativen Feststellungen auch auf diese einzelnen Typen anwenden, soweit sie mikroskopisch beobachtbare Veränderungen darstellen. Nach MARQUARDT⁵ ergibt sich, daß folgende Kombinationsgesetzmäßigkeiten potentieller Brüche bei *Bellevalia* gegeben sind: 1. Die Totalrestitutionen sind häufiger als die Partialrestitutionen, die nur 0,5–1,5% der Translokationen ausmachen, bei *Tradescantia* in der Pollenkern- und Pollenschlauchmitose dagegen mit 5–16% etwas häufiger sind (THODAY⁶, CATCHSIDE und LEA⁷, KOTVAL unveröffentlicht⁸). 2. Unter den Restitutionen kommt es meist zu Kombinationen mit gleichartigem Verhalten der Schwesterchromatidbruchflächen; ein voneinander unabhängiges Restitutionsverhalten dieser Bruchflächen ist selten.

Das zahlenmäßige Verhältnis der Zweibruchrestitutionen innerhalb eines Chromosoms und zwischen den Schenkeln zweier verschiedener Chromosomen ist bei den untersuchten Arten je nach der Zahl der Chromosomen und ihrer Schenkellänge verschieden. Bei *Bellevalia* liegt der Wert bei 1:3, wobei die größere Zahl die Translokationen bedeutet (MARQUARDT⁹). Nach der Formel von NEWCOMBE¹⁰ stimmt dies mit dem Erwartungswert bei zufallsmäßiger Kombination zweier Bruchstellen (1:2,8) gut überein. Bei *Tradescantia* schwankt unter verschiedenen Versuchsbedingungen der Wert zwischen 1:4,3 und 1:6,4 und erscheint so etwas höher als bei zufallsmäßiger Restitution (CATCHSIDE, LEA und THODAY¹¹); nach Neutronenbestrahlung ist er mit 1:11,4 bei demselben Objekt ganz zuungunsten der Restitutionen innerhalb eines Chromosoms verschoben (THODAY¹²). Eine ähnliche Bestimmung läßt sich auch an *Drosophila* mit Hilfe der Speicheldrüsen vornehmen, doch können dabei nur die lebensfähigen Inversionen und symmetrischen reziproken Translokationen be-

¹ D. G. CATCHSIDE, D. E. LEA und I. M. THODAY, J. Genet. 47, 137 (1946).

² K. SAX, Proc. Nat. Acad. Sci. 25, 225 (1939).

³ L. D. MARINELLI, B. R. NEBEL, N. H. GILES und D. R. CHARLES, Am. J. Bot. 29, 866 (1942).

⁴ H. MARQUARDT, Ber. Dtsch. bot. Ges. 60, 48 (1942).

⁵ B. P. KAUFMANN, J. Exp. Zool. 102, 293 (1946).

⁶ K. SAX und K. MATHER, J. Genet. 37, 483 (1939).

⁷ K. SAX, Proc. Nat. Acad. Sci. 29, 18 (1943).

⁸ R. T. BRUMFIELD, Proc. Nat. Acad. Sci. 29, 190 (1943).

⁹ K. SAX, Genetics 25, 41 (1940); 32, 75 (1947).

¹ Zit. nach LEA (Cambridge, 1946).

² B. P. KAUFMANN und A. HOLLAENDER, Genetics 31, 368 (1946).

³ B. P. KAUFMANN, A. HOLLAENDER und E. H. GAY, Genetics 31, 349 (1946).

⁴ B. KAUFMANN, Genetics 31, 449 (1946).

⁵ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941).

⁶ I. M. THODAY, J. Genet. 43, 189 (1942).

⁷ D. G. CATCHSIDE und D. E. LEA, J. Genet. 45, 186 (1943).

⁸ E. KOTVAL, zit. nach LEA (Cambridge, 1946).

⁹ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

¹⁰ H. B. NEWCOMBE, J. Genet. 43, 145 (1942).

¹¹ D. G. CATCHSIDE, D. E. LEA und I. M. THODAY, J. Genet. 47, 137 (1946).

¹² I. M. THODAY, J. Genet. 43, 189 (1942).

rücksichtigt werden. Gegenüber einer zufallsmäßigen Beteiligung der Chromosomenschenkel an Aberrationen treten über das Doppelte mehr Inversionen als Translokationen auf, d. h. es liegt eine Verschiebung des Verhältnisses zugunsten der Restitutionen innerhalb eines Chromosomenschenkels vor (BAUER¹, KAUFMANN²). Ob diese Verschiebung durch den besonderen Zustand des Chromatins im Spermienkopf oder durch ungleichartiges Überleben von ursprünglich vorhanden gewesenen Restitutionen anderer Verteilung aufzufassen ist, bleibt ungewiß.

Das Verhältnis der Einbruch- zu den Mehrbruchrestitutionen sowie dasjenige der drei Translokationstypen (chromatidal, chromosomal, lateral) ist von der Reaktionsweise der Chromosomen zur Zeit der Bestrahlung abhängig. Je mehr chromosomal erfolgte potentielle Brüche vorliegen, desto zahlreicher können Einbruchrestitutionen und chromosomale Translokationen gegenüber den anderen Konfigurationen eintreten (MARQUARDT³). Das Verhältnis von symmetrischen zu asymmetrischen Translokationen schwankt bei verschiedenen Versuchsbedingungen zwischen 55:45 und 20:80 (NEWCOMBE⁴, SWANSON⁵, CATCHESIDE und LEA⁶, CATCHESIDE, LEA und THODAY⁷).

Im Gegensatz zu den bisher besprochenen Restitutionen sind über die *Rückrestitutionen zum Ausgangszustand* nur indirekte Aussagen möglich. Auf Grund der beobachteten Kombinationsgesetzmäßigkeiten von Bruchflächen ermittelte erstmals MARQUARDT¹ einen Näherungswert, der bei etwa 50% der gesamten, ausgelösten potentiellen Brüchen liegt. LEA² ging von seiner biophysikalischen Hypothese der Aberrationsentstehung aus und fand 5 rechnerische Wege der Bestimmung von Rückrestitutionshäufigkeiten. Er kam dabei zu noch höheren Werten, die bei etwa 90% der Gesamtzahl der potentiellen Brüche liegen. Beide, methodisch so verschiedenen Bestimmungen sind sich somit darin einig, daß die Anzahl der durch die Bestrahlung eintretenden potentiellen Brüche mindestens um das Doppelte höher liegt, als die mikroskopisch sichtbaren Aberrationen angeben.

3. Die Hypothesen der Aberrationsentstehung

Während über das Zustandekommen des Primäreffekts kaum begründete Vorstellungen vorliegen, ist ein geschlossenes Hypothesengebäude der Entstehung des Sekundäreffekts errichtet worden. Es besteht in einer Anwendung der biophysikalischen Treffertheorie

auf diesen Spezialfall. Hierzu ist notwendig, daß die Vielfältigkeit der beobachteten Aberrationen auf einen gemeinsamen Grundvorgang zurückgeführt wird, welcher als das «primäre Ereignis» im Sinne eines oder mehrerer «Treffer» angesehen werden kann. Dies geschieht durch die Grundannahme, die Energieabsorption ereigne sich nur an lokal begrenzten Stellen und *jedes* derartige primäre Ereignis führe zu einem potentiellen Bruch. Entscheidend ist dabei, daß somit das Chromosom nur eine *einzige* Reaktionsweise auf die Energieabsorption besitzen darf. Denn das weitere Verhalten des potentiellen Bruches – die Manifestation als Fragmentation oder Restitution – ist nicht von ihm selbst, sondern von seiner Lage im Kern, der Anzahl der in der Nachbarschaft vorhandenen Brüche und der Größe des sog. Rekombinationsbereiches abhängig, d. h. es handelt sich hierbei um ein statistisches Problem. Die Röntgenschädigung wird daher als Grundlage der treffertheoretischen Berechnungen durch die Summe der beobachteten Fragmentationen und der Zahl der in Restitutionen feststellbaren Bruchstellen einschließlich der Rückrestitutionen ermittelt.

Als wesentlichste Ergebnisse, die auf dieser Grundlage erzielt wurden, sei nach LEAS Darstellung¹ herausgehoben: Es sind die beim Strahlendurchgang durch das Protoplasma entstehenden *Ionisationen* auf den Elektronenbahnen, welche trefferauslösend wirken, d. h. potentielle Brüche entstehen lassen. Nur die 0,3 μ langen Enden dieser Bahnen sind ausreichend dicht mit Ionisationen besetzt, daß innerhalb eines Chromatids von 0,1 μ Dicke ein Bruch eintreten kann, und zwar sind 15–20 Ionisationen hierzu notwendig. Nur weniger als 1 μ voneinander entfernte potentielle Brüche können eine Restitution untereinander eingehen. Zwischen Auslösung des potentiellen Bruches und Vollzug einer Restitution vergehen bei *Tradescantiapollenkernen* maximal 4 Minuten. Fragmentationen folgen einer Eintreffer-, Restitutionen einer Zweitrefferkurve, da unter ihnen die Zweibruchrestitutionen vorherrschen.

Die rechnerische Durchführung der Treffertheorie bei den Chromosomen führt aber an verschiedenen Stellen zu Schwierigkeiten, welche eine nachträgliche Komplikation der absichtlich zunächst einfach gehaltenen Grundannahmen erfordern, so daß sogar FANO² den erzielten, so detaillierten Ergebnissen nur vorläufigen Charakter zuerkannte. Aus denselben Beweggründen heraus hat erstmals MARQUARDT³ die Grundannahme von der einheitlichen Natur des primären Ereignisses verlassen. Er unterscheidet einen Fragmentations- von einem Restitutionstreffer, welche sich beide in molekularen Dimensionen ab-

¹ H. BAUER, *Chromosoma* 1, 343 (1939).

² B. P. KAUFMANN, *Cold Spring Harbor Symp.* 9, 82 (1941).

³ H. MARQUARDT, *Z. Bot.* 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

⁴ H. B. NEWCOMBE, *J. Genet.* 43, 145 (1942).

⁵ C. P. SWANSON, *Genetics* 27, 491 (1942).

⁶ D. G. CATCHESIDE und D. E. LEA, *J. Genet.* 45, 186 (1946).

⁷ D. G. CATCHESIDE, D. E. LEA und I. M. THODAY, *J. Genet.* 47, 137 (1946).

⁸ D. E. LEA, *Actions of radiations on living cells* (Cambridge, 1946).

¹ Vgl. nebenstehende Note 8.

² H. MARQUARDT, *Z. Bot.* 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

³ U. FANO, *Cold Spring Harbor Symp.* 9, 113 (1941)

spielen und verschiedene Reaktionsweisen beim Übergang in die mikroskopische Dimension haben. Der als «oberflächeninstabil» charakterisierte Chromosomenort eines *Restitutionstreffers* heilt entweder *ad integrum* aus oder vereinigt sich mit einem durch einen Fragmentationstreffer geschädigten Ort zu einer Totalrestitution. Der als «Fragmentvorstufe» bezeichnete Chromosomenort eines *Fragmentationstreffers* beteiligt sich entweder an dem geschilderten Restitutionsvorgang oder restituiert mit einer zweiten Fragmentvorstufe zu einer Total- bzw. Partialrestitution. Ohne Konnex mit anderen geschädigten Stellen wird die Fragmentvorstufe ferner zu einer echten, unvollständigen, vollständigen oder sogar die Umgebung der Bruchstelle erfassenden Fragmentation. Schließlich kann an den Folgezuständen einer Fragmentvorstufe eine Schwesterchromatid(einbruch)restitution ablaufen. Diese Hypothese erlaubt ohne Zusatzannahme auch eine Deutung der Vorgänge an den Chromosomen im Primäreffekt, indem die Fragmentation denselben Mechanismus besitzt, anstelle der Restitution dagegen die Verklebung der Chromosomen tritt, welche auf die oberflächeninstabilen Stellen zurückgeht. Von treffertheoretischer Seite wurde diese Hypothese sofort angegriffen und es entstand eine heftige Diskussion (BAUER¹, MARQUARDT²).

Aber auch unabhängig von dieser auf Deutschland beschränkten Auseinandersetzung scheint eine neue Unruhe in die Beurteilung des Problems der Aberrationsentstehung zu kommen, und zwar durch die wachsende Einsicht, daß die *physiologischen* Vorgänge zwischen Energieabsorption und mikroskopischer Manifestation nicht nebensächlich oder formal behandelt werden dürfen wie in der treffertheoretischen Betrachtungsweise, sondern das eigentliche Haupt-

problem darstellen. So versuchte DARLINGTON¹ und DARLINGTON und LA COUR² auf Grund der Ergebnisse von CASPERSSON und Mitarbeitern über den Nukleinsäure-Stoffwechsel der Zelle, die Bruch- und Restitutionsbereitschaft auf röntgeninduzierte Störungen in der Nukleinsäure-Versorgung der Chromosomen zurückzuführen. Aber auch hierbei sind nur morphologische Methoden — Analyse der auftretenden Aberrationstypen und färberisches Verhalten der Chromosomen — zur Anwendung gekommen, mit welchen gerade diese Vorgänge nur indirekt und unsicher zu fassen sind. Um die Diskussion daher auf festen Boden zu stellen, wird es notwendig sein, mit physiologischen Methoden die Fragestellung aufzugreifen, d. h. die Physiologie und den physiko-chemischen Zustand der Chromosomen in Ruhe und Teilung vor und nach einer Bestrahlung zu bearbeiten.

Summary

X-ray induced aberrations of the cell nucleus are reviewed and classified as the so-called primary and secondary effects. The primary effects occur when actually dividing nuclei are irradiated and consist of retardation of the nucleus- and cell-divisions; of a change in the surface of chromosomes and chromatidia (stickiness, pyknosis); of anomalies in the chromosome spindles and the chromatidia; and of a change in the staining reaction of the nuclei. The secondary effects occur when resting nuclei are irradiated and are manifested by fragmentation (breaking of chromosomes) and restitution (healing of broken ends). Various types of restitution are discussed in detail. A survey is given concerning the quantitative analysis of fragmentation and restitution. Three different hypotheses of X-ray induced aberrations are briefly mentioned: The original Hit-Hypothesis of LEA, the author's own modified hypothesis of this, and the chemical hypothesis (disturbance of nucleic acid metabolism) of DARLINGTON.

¹ C. D. DARLINGTON in: Symp. Soc. exp. Biol. I, 252 (Cambridge, 1947).

² C. D. DARLINGTON und L. F. LA COUR. J. GENET. 46, 180 (1946).

¹ H. BAUER, Z. Botanik 38, 26 (1942).

² H. MARQUARDT, Z. Botanik 38, 42 (1942).