

KFK-42

KERNFORSCHUNGSZENTRUM

KARLSRUHE

DEZEMBER 1960

KFK 42

INSTITUT FÜR STRAHLENBIOLOGIE

ZUM PROBLEM DER WIRKUNG VON VERFÜTTERTEM EISENSACCHARAT AUF DIE  
DURCH RÖNTGENSTRAHLEN INDUZIERTER MUTATIONSRATE BEI DROSOPHILA

MELANOGASTER

*Contel*  
H. TRAUT

21. MRZ. 1961

KERNREAKTOR

Bau- und Betriebs-Gesellschaft m. b. H.



Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe

ZUM PROBLEM DER WIRKUNG VON VERFÜTTERTEM EISEN-  
SACCHARAT AUF DIE DURCH RÖNTGENSTRAHLEN INDUZIERTER  
MUTATIONSRATE BEI *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Von

H. TRAUT

(Eingegangen am 15. August 1960)

Einleitung

Mehrere Autoren berichteten über eine Erhöhung der strahleninduzierten Mutationsrate durch Inkorporation von Metallsalzen: Bei der Gerste nach Tränken der Samen mit Lösungen bestimmter Salze von Barium, Eisen, Blei und Uran (STADLER 1928, D'AMATO und GUSTAFSSON 1948) und bei *Drosophila* durch Verfüttern von Bleiazetat (MEDVEDEV 1933, BUCHMANN und ZIMMER 1941), Uranylazetat (BUCHMANN und SYDOW 1940), Arsentrioxyd (SCHÜTZE 1943) und Eisensaccharat (BUCHMANN und HOTH 1937, BUCHMANN und ZIMMER 1940, RAPOPORT 1943). Da diese Arbeiten bereits mehrmals, zum Teil eingehend, referiert worden sind (SCHÜTZE 1943, TIMOFÉEFF-RESSOVSKY und ZIMMER 1947, BAUER 1948, CATCHESIDE 1948, MULLER 1954), soll der „Metalleffekt“ hier nur soweit besprochen werden, als es die folgenden Untersuchungen an *Drosophila* nötig erscheinen lassen. Während nach BUCHMANN und ZIMMER (1941) sowie SCHÜTZE (1943) die bei *Drosophila* festgestellte Wirkung der Verfütterung von Blei- und Arsenalzen auf erhöhte Strahlenabsorption zurückgeht („physikalische Erklärung“), versagte die Deutung der Ergebnisse durch diesen vom theoretischen Standpunkt trivialen Effekt im Falle des Eisens: Hier zeigte die Erhöhung der Mutationsrate keine Abhängigkeit von der Wellenlänge der benutzten Strahlung, wohl aber bei Blei und Arsen, für die sie in der gleichen Weise von der Wellenlänge abhängig gefunden wurde, wie der Massenabsorptionskoeffizient des verfütterten Metalls. Daher vermuteten BUCHMANN und ZIMMER (1941) irgendeine physiologische Wirkungsweise des Eisens. RAPOPORT (1943) spezifizierte diese Vorstellung anhand eigener Untersuchungen, indem er eine Intensivierung der mutagenen Wirkung strahleninduzierter Verbindungen (vorwiegend vom Typ der Ozonide) durch Eisen annahm. In diesem Zusammenhang wiesen STONE et al. (1954) auf die in vitro Befunde von SHOLES und WEISS (1952) hin, denen zufolge  $H_2O_2$  allein Nukleinsäuren nicht angreift, wohl aber bei Gegenwart von  $Fe^{++}$  durch Bildung von OH-Radikalen (Fentons Reagenz). Neuerdings führt ABRAHAMSON (1959) den bei *Drosophila* berichteten Eiseneffekt als Hauptargument für die Auslösung von Mutationen auf indirektem Wege an.

Obwohl uns diese Vorstellungen (Wirkungen über Ozonide bzw. Fentons Reagenz) wenig überzeugend erschienen (z. B. weil es zweifelhaft ist, ob das Eisen nicht größtenteils als  $Fe^{+++}$  in der Zelle vorliegt), hielten wir weitere Untersuchungen für gerechtfertigt, da neuere Arbeiten auch auf ganz andere Denkmöglich-

keiten hinweisen (PORTER und WRIGHT 1959): Durch Eisenionen ermöglichten Übergang von Singulett — in langlebige Triplettzustände und dadurch verursachte Intensivierung der Strahlenwirkung (s. ZIMMER 1960). Wegen der so eröffneten interessanten Perspektiven erschien es uns wichtig, zunächst ein größeres Material zu sammeln mit der Absicht, die früheren Ergebnisse zu reproduzieren und weitere Parameter in die Betrachtung einzubeziehen.

Tabelle 1. Zusammenstellung der bisher über den Eiseneffekt (*Drosophila*) erschienenen Arbeiten Stets CIB-Technik, sichtbare Mutationen des X-Chromosoms einbezogen (ausgenommen bei RAPOPORT)

Versuch	Autor	Dosis	Mutationsrate		Statistische Prüfung der Unterschiede ( <i>P</i> )
			ohne Fe	mit Fe	
(1)	BUCHMANN u. HOTH 1937	3000 r, 100 kV	8,63 % (56/649)	12,40 % (160/1290)	0,015
(2a)	BUCHMANN u. ZIMMER 1940	3000 r, 180 kV	9,94 % (80/805)	12,95 % (357/2756)	0,022
(2b)	BUCHMANN u. ZIMMER 1940	3000 r, 50 kV	9,52 % (251/2640)	13,50 % (614/4539)	—
(3)	RAPOPORT 1943	4000 r	8,2 % (87/1068)	9,8 % (123/1251)	0,16

Zur statistischen Prüfung (Tabelle 1) der in den früheren Arbeiten gefundenen Unterschiede ( $\chi^2$ -Methode) sei bemerkt, daß die bei (2a) berechnete Differenz nur dann signifikant ( $P < 0,01$ ) wird, wenn man das dem Kontrollwert von (2a) zugrunde liegende Material durch Hinzunahme des Kontrollmaterials von (2b) vergrößert. Dies ist wegen der Wellenlängenunabhängigkeit der Letalenrate in diesem Spektralbereich (TIMOFÉEFF-RESSOVSKY und ZIMMER 1935) erlaubt. Bei (2b) wurde wegen der Heterogenität des dem Eisenwert zugrunde liegenden Materials auf die Ermittlung von *P* verzichtet.

Erwähnt sei noch, daß die bisherigen Versuche, an die Fliegen verfüttertes Eisen in den Gonaden nachzuweisen, negativ verlaufen sind (BUCHMANN und HOTH 1937, BORN und ZIMMER 1940); vielleicht ergäben modernere Methoden (z. B. die der Radioautographie oder der Neutronenaktivierung) ein anderes Resultat.

### Methodik

Wie bei BUCHMANN et al. wurden die Fliegen (Berlin wild bzw. *Bar* ♂♂) im Alter von einem Tag isoliert, 4 Tage lang (ohne ♀♀) auf dem Eisenfutter gehalten und dann im Alter von 5 Tagen in perforierten Gelatine kapseln bestrahlt. Entsprechend verfahren wir mit den Kontroll-♂♂ (Näheres s. Diskussion). Ebenso wie bei BUCHMANN et al. beschrieben, stellten wir das Eisenfutter durch Einrühren flüssigen Eisenzuckers (Ferrum oxydatum cum Saccharo liquidum<sup>1</sup>, 2,8—3,0% Eisen enthaltend) in das noch heiße, dünnflüssige Futter her, das in der üblichen Weise aus Maismehl, Sirup, Agar-Agar und Hefe bereitet war: 10 cm<sup>3</sup> Eisenzucker auf 100 cm<sup>3</sup> Futter. In einem Fall (s. Versuch 3, Tabelle 2) ersetzten wir den Eisenzucker durch Eisen-II-glukonat, das wir als 10%ige Lösung im Verhältnis 1:10 dem Medium beimengten.

Die meisten Bestrahlungen führten wir mit 150 kV durch; denn trotz der früher mitgeteilten Wellenlängenunabhängigkeit der durch das Eisen bewirkten Mutationsratenerhöhung (Bestrahlung bei 50 und bei 180 kV) und der daraus gefolgerten Ablehnung der „physikali-

<sup>1</sup> Genaue Formel bei BERSIN (1951).

Tabelle 2. Zusammenstellung der Bestrahlungs- und Kreuzungsbedingungen unserer Versuche

Ver-such	Untersuchter Mutationstyp und verwendeter Stamm <sup>1</sup>	Kreuzungsbedingungen	Bestrahlungsbedingungen
(1)	Rez. geschl. geb. Letalfaktoren und 2/3-Translokationen; <i>y sc</i> <sup>81</sup> <i>In49 sc</i> <sup>8</sup> ; <i>bw</i> ; <i>st</i> ♀ × <i>B</i> ♂	Brutmuster (Tage): 1—2—2—3—3, GVP = 3 ♀♀:1 ♂	3000 r, ~20 r/min, 150 kV, 10 mA, HWS = 1,4 mm Cu
(2)	Rez. geschl. geb. Letalfaktoren; Stamm wie bei (1)	Brutmuster (Tage): 1—2—6, GVP = 3 ♀♀:1 ♂	3040 r, ~600 r/min, 50 kV, 10 mA, HWS = 0,09 mm Al
(3)	Translokationen; <i>y cn</i> ; <i>ss</i> ♀ × <i>B. wild</i> ♂	Brutmuster (Tage): 1—2—3, GVP = 3 ♀♀:1 ♂	4000 r, ~500 r/min 150 kV, 20 mA, HWS = 6 mm Al
(4)	Rez. geschl. geb. Letalfaktoren; <i>CLB</i> ♀ × <i>B. wild</i> ♂	Eltern nach 4 Tagen entfernt, GVP = 1 ♀:1 ♂	wie bei (1)

<sup>1</sup> Erklärung der Gensymbole: *y* = yellow (gelbe Körperfarbe); *sc* = scute (Verringerung der Zahl bestimmter Borsten); *bw* = brown (braune Augen); *st* = scarlet (leuchtend hellrote Augen); *B* = Bar (schlitzförmige Augen); *cn* = cinnabar (hellrote Augen); *ss* = spineless (Borstengröße reduziert). *y*, *sc*, *Bar* auf X-Chromosom, *bw*, *cn* auf 2. Chromosom, *st*, *ss* auf 3. Chromosom.

schen“ Erklärung, erschien es uns sicherer, durch die vorwiegende Verwendung harter Röntgenstrahlen (150 kV entsprechend) die Beteiligung einer Strahlenabsorptionserhöhung beim Wirkungsmechanismus des Eisens unwahrscheinlicher zu machen als diese bei der Verwendung weicher Strahlen (50 kV entsprechend) wäre. Eine auf Erhöhung der Röntgenstrahlenabsorption beruhende Funktion des Eisens ist, wie bereits erwähnt, im Vergleich zu den oben erörterten Vorstellungen trivial und kaum der näheren Untersuchung wert.

Ein Teil unserer Versuche berücksichtigt die Abhängigkeit der Mutationsrate vom Reifegrad der bestrahlten Keimzellen (Brutmustertechnik). Das Zahlenverhältnis  $P \text{ ♀♀} : P \text{ ♂♂}$  ist in Tabelle 2 durch GVP abgekürzt. Wir wählten meistens ein  $GVP = 3$ , um den Verbrauch der in den aufeinander folgenden Bruten jeweils reifen Spermien einigermaßen zu gewährleisten (vgl. TRAUT 1960). — Die Zuchttemperatur betrug  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ .

Einzelheiten der Bestrahlungs- und Kreuzungsanordnung sind aus Tabelle 2 ersichtlich. Die hier aufgezählten Versuche setzen sich meist aus mehreren kleineren Versuchen zusammen, deren Ergebnisse untereinander homogen sind. Der bei (1) und (2) verwendete „Zweizweckstamm“ erlaubt die Erfassung von Translokationen und rezessiv geschlechtsgebundenen Letalfaktoren aus den Nachkommen der gleichen bestrahlten ♂♂<sup>1</sup>. Wegen Einzelheiten dieser Kreuzungstechnik sei auf OSTER (1958) verwiesen. Wir registrierten hier nur Translokationen zwischen dem 2. und 3. Chromosom; auf die Erfassung von Translokationen mit dem Y-Chromosom wurde verzichtet aus Gründen, die MULLER (1954) angibt. In Versuch (3) dienten als markers des 2. bzw. 3. Chromosoms *cn* und *ss*. Zur Erfassung von Translokationen mit dem X-Chromosom verwendeten wir  $P \text{ ♀♀}$  mit  $\bar{X}\bar{X}$ . Bei (4) benutzten wir die *CIB*-Technik anstelle von *M-5* mit dem Ziel der möglichst genauen Reproduzierung der Buchmannschen Kreuzungsanordnung. Die Versuche (1) und (4) stimmen in den Bestrahlungsbedingungen völlig mit denen von BUCHMANN und ZIMMER (1940) überein, Versuch (4) außerdem in der Kreuzungsanordnung. Dies war uns dank persönlicher Mitteilungen von BUCHMANN (genetischer Teil) und ZIMMER (physikalischer Teil) möglich. Allerdings sahen wir im Gegensatz zu BUCHMANN et al. von der Registrierung geschlechtsgebundener sichtbarer Mutationen ab, da uns deren Häufigkeit für Untersuchungen dieser Art zu gering und außerdem mit einem erheblichen subjektiven Fehler verbunden zu sein scheint.

<sup>1</sup> Dieser von Herrn Dr. I. OSTER (Philadelphia) konstruierte Stamm wurde uns von Frau Dr. CH. AUERBACH (Edinburgh) überlassen; beiden sei hier bestens gedankt.



## Ergebnisse

Wir begannen unsere Experimente zur Reproduzierung des Eiseneffekts mit einem Versuch<sup>1</sup>, der neben Letalfaktoren auch Translokationen, sowie die Reifegradabhängigkeit berücksichtigt (Versuch 1, Tabelle 2). Tabelle 3 gibt die Er-

Tabelle 3. (Versuch 1) Vergleich der mit 3000 r, 150 kV bei Verwendung eines Zweizweckstammes erhaltenen Raten von 2/3-Translokationen und rezessiv geschlechtsgebundenen Letalfaktoren aus eisengefütterten und -ungefütterten *Drosophila melanogaster*-♂♂

Brutmuster	Translokationen		Letalfaktoren		Statistische Prüfung der Unterschiede (P)	
	ohne Fe	mit Fe	ohne Fe	mit Fe	Translokationen	Letale
1. Tag	7,9% (31/392)	8,9% (76/851)	7,7% (38/495)	6,9% (78/1136)	0,72	0,55
2.—3. Tag	2,3% (11/483)	3,4% (30/890)	5,4% (38/703)	4,5% (60/1338)	0,26	0,36
4.—5. Tag	8,2% (23/279)	6,8% (32/468)	8,4% (37/441)	7,4% (64/863)	0,46	0,54
6.—8. Tag	— (0/6)	— (4/29)	— (3/9)	16% (8/50)	—	—
9.—11. Tag	2,9% (9/310)	0,0% (0/677)	4,3% (18/423)	2,0% (18/909)	< 0,001	0,017

gebnisse wieder. In keinem der möglichen Vergleiche ergibt sich ein Hinweis für eine Erhöhung der Mutationsrate durch Eisenfütterung. Die am 9.—11. Tag er-

Tabelle 4. (Versuch 2) Vergleich der mit 3040 r, 50 kV erhaltenen Raten rezessiv geschlechtsgebundener Letalfaktoren aus eisengefütterten und -ungefütterten *Drosophila melanogaster*-♂♂

Brutmuster	Letalfaktoren		Statistische Prüfung der Unterschiede (P)
	ohne Fe	mit Fe	
1. Tag	6,2% (33/532)	7,5% (80/1063)	0,34
2.—3. Tag	4,4% (20/459)	5,3% (56/1049)	0,42
4.—9. Tag	8,4% (50/593)	7,3% (93/1269)	0,40

Dosen grundsätzlich ab 8. Tag keine Translokationen mehr nachweisbar sind. Für Letalfaktoren käme neben dieser Möglichkeit noch cluster-Bildung in Frage.

Tabelle 5. Zusammenfassung bzw. Gegenüberstellung der Letalenraten von Tabelle 3 und 4 für die ersten beiden Bruten

Brutmuster	Letalenrate	
	ohne Fe (50 kV + 150 kV)	mit Fe (50 kV + 150 kV)
1. Tag	6,9% (71/1027)	7,2% (158/2199)
2.—3. Tag	5,0% (58/1162)	4,9% (116/2387)

aus Tabelle 3 hinzunimmt (Tabelle 5). Dies ist erlaubt, weil beide Versuche (1 und 2) sich nur in der Wellenlänge der verwendeten Strahlung unterscheiden (die 150 bzw. 50 kV entspricht). Sowohl für die Kontroll- wie die Eisenrate

<sup>1</sup> Die zugehörigen Kontrollwerte dieses Versuches sind bereits an anderer Stelle (TRAUT 1960) unter einem anderen Gesichtspunkt veröffentlicht.

mittelten Heterogenitäten ( $P < 0,001$  bzw.  $= 0,017$ ) dürften bei Translokationen auf Übertragung von Spermien aus der vorhergehenden Brut verursacht sein, da nach unseren Erfahrungen (unveröffentlicht), die von MOSSIGE bestätigt werden (persönliche Mitteilung), auch bei hohen

Auch in einem mit weichen Röntgenstrahlen durchgeführten Versuch (Versuch 2, Tabelle 2) konnten wir den Eiseneffekt nicht bestätigen (Tabelle 4). Die — ungesicherten — Erhöhungen der Eisenraten der ersten und zweiten Brut werden ausgeglichen, wenn man, zur Erzielung eines größeren Materials, die entsprechenden Werte

besteht aber in diesem Spektralbereich Wellenlängenunabhängigkeit (TIMOFÉEFF-RESSOVSKY und ZIMMER 1935 bzw. BUCHMANN und ZIMMER 1940, 1941). Wie Tabelle 5 zeigt, ist bei dem jetzt zugrunde liegenden größeren Zahlenmaterial die Übereinstimmung zwischen Kontroll- und Eisenwert so gut, daß sich deren statistische Prüfung erübrigt.

In Tabelle 6 ist noch einmal der Einfluß der Eisenverfütterung auf die Translokationsrate untersucht (Versuch 3, Tabelle 2), und zwar wurde das Eisen nicht nur als Saccharat sondern auch als Glukonat verfüttert. Auch hier findet sich

Tabelle 6. (Versuch 3) Die bei 4000 r, 150 kV erhaltenen 2/3- und Gesamt- (2/3 + X/2 + X/3 + X/2/3) Translokationen aus eisengefütterten und -ungefütterten *Drosophila melanogaster*-♂♂

Brutmuster	2/3-Translokationen			Gesamttranslokationen		
	ohne Fe	Fe-Saccharat	Fe-Glukonat	ohne Fe	Fe-Saccharat	Fe-Glukonat
1. Tag	10,1% (79/784)	9,1% (66/727)	9,1% (57/629)	12,2% (96/784)	11,3% (82/727)	11,8% (74/629)
2.—4. Tag	5,9% (100/1683)	—	5,8% (49/842)	7,2% (121/1683)	—	7,5% (63/842)
5.—8. Tag	15,5% (18/116)	—	— (0/6)	18,1% (21/116)	—	— (0/6)

kein Hinweis auf die Existenz einer die strahleninduzierte Mutationsrate erhöhen Wirkung des Eisens. (Die statistische Prüfung der Unterschiede ist hier wie beim folgenden Versuch überflüssig.)

Ogleich aus den bisherigen Ergebnissen bereits deutlich hervorgeht, daß wir die Befunde der früheren Arbeiten nicht reproduzieren konnten, führten wir noch einen Versuch mit der seinerzeit verwendeten CLB-Technik durch, wobei wir auch die sonstigen Kreuzungsbedingungen, sowie die Bestrahlungsanordnung soweit als möglich denen von BUCHMANN et al. anghen (Versuch 4, Tabelle 2; wegen der Kontroll-♂♂ s. Diskussion). Wie jedoch aus Tabelle 7 ersichtlich, sprechen auch unsere CLB-Daten nicht zugunsten eines Eiseneffekts. Ein Vergleich mit Tabelle 1 zeigt, daß unsere Letalenraten deutlich niedriger sind als die von BUCHMANN et al. ermittelten, und zwar sicherlich auch dann noch, wenn man bei den Buchmannschen Raten die Zahlen der sichtbaren geschlechtsgebundenen Mutationen subtrahieren würde (die bei BUCHMANN nicht angegeben sind). Es ist unklar, worauf dieser Unterschied beruht. Hingegen stimmen unsere Werte gut mit neueren Daten anderer Autoren überein, z. B. mit IVES (1959), dessen Versuchsbedingungen<sup>1</sup> den unseren besonders nahe kommen.

Tabelle 7. (Versuch 4) Vergleich der mit 3000 r, 150 kV mittels CLB-Technik erhaltenen Raten von Letalfaktoren aus eisengefütterten und -ungefütterten *Drosophila melanogaster*-♂♂.

Die Versuchsbedingungen von BUCHMANN et al. wurden möglichst genau reproduziert.

ohne Fe	mit Fe	Zum Vergleich: IVES (1959)	
		„ohne Semiletale“	„mit Semiletalen“
6,4% (210/3272)	6,1% (73/1195)	6,1% (128/2094)	6,8% (142/2094)

<sup>1</sup> 3000 r,  $\gamma$ -Strahlen. Diese unterscheiden sich in ihrer Wirksamkeit nicht von den hier verwendeten Röntgenstrahlen (TIMOFÉEFF-RESSOVSKY und ZIMMER 1939). P ♂♂ 2 Tage lang ohne ♀♀ gehalten, nach 3 Tagen von den P ♀♀ entfernt.

### Diskussion

Unsere Untersuchungen konnten trotz der Verarbeitung eines großen Zahlenmaterials, der Hinzunahme weiterer Parameter (Translokationen, Reifegrad, Verfütterung von Eisen-II-glukonat) und der zum Teil bis ins Detail der Bestrahlungs- und Kreuzungsanordnung gehenden Übereinstimmung mit den Versuchsbedingungen von BUCHMANN et al. den Eiseneffekt nicht reproduzieren. Demnach erscheinen weitere Versuche und Überlegungen etwa über die Lokalisation oder einen eventuellen Wirkungsmechanismus des verfütterten Eisens zwecklos.

Umsomehr interessiert die Frage, *wodurch* die Diskrepanz zwischen den früheren Resultaten, die sicherlich nicht als Zufallsergebnis anzusehen sind (vgl. Tabelle 1) und unseren Befunden bedingt ist. Eine Erklärung ergibt sich aus der folgenden Überlegung: Wie die Tabellen 3—6 zeigen und wie die Untersuchungen anderer Autoren über das Absinken der Mutationsrate vom 1. auf den 2. Tag bestätigen, besteht für Letalfaktoren wie Translokationen ein ausgesprochenes postmeiotisches (2. + 3. Tag nach der Bestrahlung) Sensibilitätsminimum<sup>1</sup>, dessen mögliche Ursachen bei TRAUT (1960) diskutiert werden. Es ist nun nicht auszuschließen, daß BUCHMANN et al., da damals die Reifegradabhängigkeit weniger bekannt war, die Kontroll-♂♂ nicht wie die eisengefütterten ♂♂ 4 Tage lang ohne ♀♀ gehalten, sondern sie vor der Bestrahlung den Massenkulturen entnommen haben. Dann kann man aber annehmen, daß die Eisen-♂♂ eine größere Menge reifer Spermien gespeichert hatten als die Kontroll-♂♂, da für jene ständig Gelegenheit zur Kopulation bestand. Somit besäßen die Eisen-♂♂ mehr sensible Brut A-Spermien als die Kontroll-♂♂, und den Mutationsraten der Buchmannschen Eisenversuche lägen mehr Brut A-Spermien im Vergleich zu relativ unsensiblen Brut B-Spermien zugrunde als den zugehörigen Kontrollen (Eltern nach etwa 4 Tagen entfernt, GVP = 1:1): Der Unterschied zwischen beiden Bruten (A und B) könnte so einen Eiseneffekt vortäuschen. Bei unseren Untersuchungen dagegen wurden die Kontroll-♂♂ wie die Eisen-♂♂ 4 Tage lang ohne ♀♀ gehalten; daher entsprechen unsere Kontrollraten Spermien der gleichen Empfindlichkeit, wie sie die Spermien der Eisenversuche besitzen.

Speziell hierzu angestellte Versuche hielten sich eng an die Methodik BUCHMANNs (entsprechend Versuch 4, Tabelle 2), doch verblieben die *P* ♂♂ bis zur Bestrahlung in Massenkulturen und wurden dann im Alter von 1—6 Tagen bestrahlt. Die Letalenrate betrug 4,4% (83/1876), ein Wert, der signifikant kleiner ist ( $P = 0,0023$ ) als der unserer vergleichbaren Kontrollen (Tabelle 7), bei denen die *P* ♂♂ 4 Tage lang ohne ♀♀ gehalten worden waren (6,4% = 210/3272). Selbst, wenn der Wert 4,4% zufällig besonders niedrig sein sollte, dürfte unsere oben angestellte Überlegung zur Ursache der Diskrepanz durch diesen Befund gestützt werden.

In diesem Zusammenhang seien die Untersuchungen von YANDERS (1956) angeführt: *Drosophila melanogaster* ♂♂ wurden ohne ♀♀ gehalten und vor der Bestrahlung in 2 Gruppen geteilt: Die eine kam für einen Tag zu einem ♀♀-Überschuß, die andere blieb ungepaart. Danach wurden beide Gruppen bestrahlt und die Raten rezessiv geschlechtsgebundener Letalfaktoren der Spermien des 1. Tages nach der Bestrahlung bestimmt (M-5). Es zeigte sich, daß die ♂♂, die 7 oder mehr

<sup>1</sup> Der Begriff „Sensibilität“ schließt hier Restitution mit ein, z.B. niedrige Sensibilität wegen hoher Restitutionshäufigkeit.

Tage lang ohne ♀♀ gehalten worden waren, signifikant höhere Raten ergaben als die gepaarten ♂♂ (deren Raten unabhängig von ihrem Alter waren). YANDERS deutet dies folgendermaßen: Die ungepaarten ♂♂ besitzen z. Z. der Bestrahlung mehr reife Spermien höheren Alters als die gepaarten. Alte reife Spermien seien aber empfindlicher als junge, eine Vermutung, die unseres Erachtens dadurch gestützt wird, daß in begatteten ♀♀ bestrahlte Spermien („nur alte reife Spermien“) höhere Letalen- und Translokationsraten ergeben als Spermien des ersten Tages nach der Bestrahlung („alte plus junge reife Spermien“), wobei „alt“ vielleicht mit „völlig reif“ gleichzusetzen ist. Die Interpretation YANDERS stimmt grundsätzlich mit unserer Überlegung zur Ursache der Diskrepanz überein. Während aber in unserem Fall die größere Empfindlichkeit der Brut A-Spermien (1. Tag) im Vergleich zu der der Brut B-Spermien (2. + 3. Tag) maßgeblich ist, kommt es bei YANDERS auf Sensibilitätsunterschiede innerhalb der Spermien des 1. Tages an, entsprechend dem Umstand, daß in unserer Anordnung die Eltern erst nach 4, bei YANDERS schon nach 1 Tag entfernt worden waren.

Möglicherweise sind die — statistisch nicht gesicherten — Befunde von RAPOPORT (1943) in der gleichen Weise zu erklären (vgl. Tabelle 1).

### Summary

The increase in x-ray induced rate of recessive sex-linked lethals in *Drosophila melanogaster* by feeding of iron-saccharate, reported previously, has led to some far reaching conclusions about the participation of indirect mechanisms in the radiation induced mutation process.

However, in large scale experiments we were not able to reproduce this effect. Some of our tests represent an exact repetition of the former genetical and radiation procedures, in others further parameters (translocations, state of maturity of the irradiated germ cells, feeding of iron-II-gluconate) were considered.

A certain factor of the former genetical technique, representing a neglect of the dependence of the mutation rate on the state of maturity of the irradiated germ cells, is experimentally shown to be the probable cause of that discrepancy.

Consequently, the speculations based on the earlier results seem to require reconsideration.

Die neuerliche eingehende Prüfung des besprochenen Problems wurde von Herrn Prof. Dr. K. G. ZIMMER angeregt. Ihm, sowie Herrn Prof. Dr. A. CATSCH danke ich für zahlreiche Diskussionen, Herrn Dr. A. MÜLLER für Beratung bei der Bestrahlungstechnik, Fräulein U. APITZSCH für sorgfältige Mitarbeit.

### Literatur

- ABRAHAMSON, S.: The influence of oxygen on the X-ray induction of structural changes in *Drosophila* oocytes. *Genetics* 44, 173 (1959).
- D'AMATO, F., and A. GUSTAFSSON: Studies on the experimental control of the mutation process. *Hereditas* (Lund) 34, 181 (1948).
- BAUER, H.: Genetische Wirkungen von kurzwelligen und Korpuskularstrahlungen. *Fiat Rev.* 21, 66 (1948).
- BERSIN, TH.: Über die Konstitution des Eisen-3-saccharates. *Pharm. Acta Helv.* 26, 407 (1951).
- BORN, H. J., u. K. G. ZIMMER: Zur Frage der Steigerung der mutationsauslösenden Wirkung der Röntgenstrahlen durch Einbringung schweratomiger Salze in den Organismus. II. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre 78, 246 (1940).

- BUCHMANN, W., u. J. HOTH: Versuche an *Drosophila melanogaster* über den Einfluß von Ferrum oxydatum saccharatum liquidum auf die Mutationsauslösung durch Röntgenstrahlen. Biol. Zbl. 57, 355 (1937).
- BUCHMANN, W., u. G. SYDOW: Weitere Versuche an *Drosophila melanogaster* über den Einfluß von Schwermetallsalzen auf die Mutationsauslösung durch Röntgenstrahlen. Versuche mit Uranylacetat. Biol. Zbl. 60, 137 (1940).
- BUCHMANN, W., u. K. G. ZIMMER: Zur Frage der Steigerung der mutationsauslösenden Wirkung der Röntgenstrahlen durch Einbringung schweratomiger Salze in den Organismus. I. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre 78, 148 (1940).
- BUCHMANN, W., u. K. G. ZIMMER: Zur Frage der Steigerung der mutationsauslösenden Wirkung der Röntgenstrahlen durch Einbringung schweratomiger Salze in den Organismus. III. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre 79, 192 (1941).
- CATCHESIDE, D. G.: Genetic effects of radiations. *Advanc. Genet.* 2, 271 (1948).
- IVES, P. T.: The mutation rate in *Drosophila* after high doses of gamma radiation. *Nat. Acad. Sci.* 45, 188 (1959).
- MEDVEDEV, N.: The production of mutations in *Drosophila melanogaster* by the combined influence of X-rays and salts of heavy metals. *C. R. Acad. Sci. URSS.* 230 (1933).
- MULLER, H. J.: The manner of production of mutations by radiation. *Radiation Biology* (edit. by A. HOLLAENDER), vol. I, p. 475. New York-Toronto-London: McGraw-Hill Book Comp. 1954.
- MULLER, H. J.: The relation of neutron dose to chromosome changes and point mutations in *Drosophila*. I. Translocations. *Amer. Naturalist* 88, 437 (1954).
- OSTER, I. I.: Radiosensitivity. *Genen en Phaenen* 3, 53 (1958).
- PORTER, G., and M. R. WRIGHT: Intramolecular and intermolecular energy conversion involving change of multiplicity. *Discuss. Faraday Soc.* No 27, 18 (1959).
- RAPOPORT, J. A.: Oxydation and the mechanism of action of mutagenous factors. *Ž. Obschei Biol.* 4, 65 (1943).
- SCHOLES, G., and J. WEISS: Chemical action of X-rays on nucleic acids and related substances. *Chemistry and physiology of the nucleus*, p. 219. New York: Academic Press 1952.
- SCHÜTZE, R.: Die Beeinflussung der Mutationsrate bei *Drosophila melanogaster* durch kombinierte Behandlung mit Arsen und Röntgenstrahlen. *Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre* 81, 484 (1943).
- STADLER, L. J.: Mutations in barley induced by X-rays and radium. *Science* 68, 186 (1928).
- STONE, W. S., F. HAAS, M. L. ALEXANDER and F. E. CLAYTON: Comments on the mechanism of action of radiations on living systems. *Univ. Texas Publ.* No 5422, 244 (1954).
- TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N. W., u. K. G. ZIMMER: Wellenlängenunabhängigkeit der mutationsauslösenden Wirkung der Röntgen- und  $\gamma$ -Strahlen bei *Drosophila*. *Strahlentherapie* 54, 265 (1935).
- TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N. W., u. K. G. ZIMMER: Strahlengenetik. *Strahlentherapie* 66, 684 (1939).
- TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N. W., u. K. G. ZIMMER: Das Trefferprinzip in der Biologie. Leipzig: Hirzel 1947.
- TRAUT, H.: Über die Abhängigkeit der Rate strahleninduzierter Translokationen und rezessiv geschlechtsgebundener Letalfaktoren vom Stadium der Spermatogenese bei *Drosophila melanogaster*. *Z. Vererb.-Lehre* (1960, im Druck).
- YANDERS, A. F.: An influence of aging mature sperm upon X-ray induction of sex-linked recessive lethals. *Genetics* 41, 667 (1956).
- ZIMMER, K. G.: Studien zur quantitativen Strahlenbiologie. *Abh. Akad. Wiss. u. Lit. Mainz, math.-nat. Kl.* 30 (1960).

Dr. H. TRAUT,  
 Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe,  
 Karlsruhe, Weberstr. 5