

nach dem Versetzen mit Myrosinase-Lösung milchig und schmeckte rettichähnlich. Das Senföl ließ sich mit CHCl_3 ausschütteln, nach seinem Verdunsten blieb ein stechend riechendes Öl zurück. Es erstarrte nach längerem Stehenlassen zu einem Brei strahlrig angeordneter Kristalle.

Nähere Mitteilung erfolgt später.

Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

⁵ H. Schmid u. P. Karrer, Helv. chim. Acta **31**, 1087 [1948].

⁶ C. Wehmer, „Die Pflanzenstoffe“ Bd. I, S. 394 (H. Fischer, Jena 1929).

Über die Wirkung von UV-Strahlen in somatischen Zellen

VON HELLMUT GLUBRECHT

Aus dem Physikalischen Institut der Technischen Hochschule Hannover

(Z. Naturforschg. **8b**, 17–27 [1953]; eingegangen am 28. Juli 1952)

Die UV-Wirkung in somatischen Pflanzenzellen wird im Hinblick auf die verschiedenartigen Reaktionen untersucht, die sie im Protoplasma hervorruft. Der progressive Schädigungsverlauf wird unter variierten physikalischen Bedingungen verfolgt. Es ergibt sich ein sehr differenziertes Bild der Strahlenwirkung, das eine treffertheoretische Analyse im Sinne der Ermittlung einzelner empfindlicher Bereiche ausschließt.

Seit der Begründung der Treffertheorie der biologischen Strahlenwirkung durch Dessauer wurde der größte Teil der strahlenbiologischen Untersuchungen, insbesondere in Deutschland, unter den Gesichtspunkten dieser Theorie durchgeführt¹.

Erst in neuerer Zeit wendet sich das Interesse mehr den allgemeinen physikalisch-chemischen Prozessen in der bestrahlten Zelle zu²:

Über die physikalische Berechtigung der Treffervorstellungen kann heute, angesichts der eindeutig erwiesenen Quantennatur aller Strahlung, kein Zweifel mehr bestehen. Es setzt sich jedoch ebenfalls mehr und mehr die Auffassung durch, daß — vom Biologischen aus gesehen — die unmittelbare Anwendung der Treffertheorie nur in einzelnen besonders glücklich gelagerten Fällen ein befriedigendes Bild der Strahlenwirkung ergibt, nämlich immer dann, wenn die spezifische Wirkung innerhalb eines empfindlichen Bereiches gegenüber allen anderen von der Strahlung im Organismus ausgelösten Veränderungen für den beobachteten Effekt den Ausschlag gibt.

Diese Grenzen der Treffertheorie erkennt man am besten, wenn man an einem biologischen Objekt möglichst viele der morphologisch und zellphysiologisch beobachtbaren Reaktionen in Abhängigkeit

von der Strahlendosis und in ihrer gegenseitigen Wechselwirkung verfolgt. Es zeigt sich dann, daß die diskontinuierliche Übertragung der Strahlungsenergie auf die Moleküle der Zelle u. U. in so vielfältiger Weise vorgehen kann, daß sich die Diskontinuität in den Beobachtungsbefunden ganz verwischt.

Über derartige Untersuchungen an pflanzlichen Gewebezellen soll im folgenden berichtet werden.

1. Dosis-Effekt-Kurven bei UV-Bestrahlung der Epidermiszellen von *Allium cepa*

Ausgangspunkt für die genauere Analyse des Schädigungsvorganges soll auch in diesem Fall die Aufnahme von Dosis-Effekt-Kurven sein. Das hierfür verwandte Objekt, die Zellen der inneren Epidermis von Zwiebelschuppen, wurde für strahlenbiologische Versuche bereits von Herčík und Mitarbeitern, insbesondere für die Untersuchung der α -Strahlenwirkung herangezogen³. Die Präparation der Epidermis wurde in der von Strugger beschriebenen Weise durchgeführt⁴. Alle Präparate wurden einer etwa 8 mm breiten Zone der 3. Schuppe (von außen gerechnet) entnommen, um die physiologischen Unterschiede von vornherein soweit wie möglich zu eliminieren.

³ F. Herčík, Radiologica [Berlin] **1**, 145 [1937]; Strahlentherapie **64**, 655 [1939]; F. Herčík, M. Klusaková u. F. Zenan, Strahlentherapie **67**, 251 [1940].

⁴ S. Strugger, Praktikum der Zell- u. Gewebephysiologie d. Pflanzen. 2. Aufl. Springer Verlag 1949, S. 6.

¹ Vgl. z. B. N. W. Timoféeff-Ressovsky u. K. G. Zimmer, Biophysik Bd. I, Leipzig 1947, S. 6 ff. - B. Rajewsky, Naturforschung und Medizin in Deutschland, Bd. 21; Dieterichsche Verlagsbuchhandlung, Wiesbaden 1948, S. 11; H. Langendorff, Strahlentherapie **83**, 33 [1950]; **85**, 391 [1950]; A. C. Giese, Physiol. Rev. **30**, 431 [1950], u. a.

Es ist selbstverständlich, daß die einzelnen Zellen eines solchen Epidermis-Stückchens als Teile eines Gewebeverbandes nicht ohne weiteres als diskrete, voneinander unabhängige Individuen angesehen werden dürfen. Es hat sich jedoch erwiesen, daß sie in bezug auf mechanische, thermische und strahleninduzierte Schädigungen weitgehend unabhängig voneinander reagieren.

Für die hier zuerst behandelte UV-Bestrahlung wurde dies mit Hilfe einer Bestrahlungsanordnung geprüft, die in Abb. 1 schematisch dargestellt ist. Eine Quecksilberhochdrucklampe L wird durch einen Quarzkondensator K auf den Spalt Sp abgebildet. Ein verkleinertes Bild von Sp wird über einen Planspie-

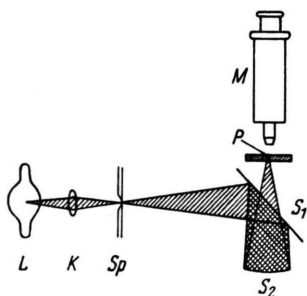


Abb. 1. Bestrahlungsanordnung.

gel S_1 mit Mittelöffnung und einen Hohlspiegel S_2 im Innern des Präparates entworfen und kann dort auf eine einzelne Zelle konzentriert werden. Die Verwendung von Spiegeln ist bei spektral unzerlegter Strahlung wegen der Vermeidung chromatischer Aberrationen erforderlich.

Abb. 2* zeigt ein solches Präparat, in dem eine einzelne Zelle bestrahlt wurde. Die Aufnahme wurde 5 h nach Beendigung der Bestrahlung gemacht; unmittelbar vor der Aufnahme war das Präparat 10' in einer wäßrigen Erythrosinlösung der Massenkonzentration 1:1000 gefärbt worden. Dabei werden beschädigte Zellen leicht rosa, ihre Kerne karminrot gefärbt. Dieses Verfahren wurde von Herčik³ zur Kennzeichnung einer letalen Schädigung der Zelle angegeben; es besitzt den Vorteil einer sehr übersichtlichen Markierung solcher Zellen, zeigt aber natürlich nur einen bestimmten, und zwar einen sehr weit fortgeschrittenen Schädigungszustand an, der im wesentlichen die gesteigerte Permeabilität des Cytoplasmas zur Voraussetzung hat (vgl. u.).

Man erkennt nun deutlich in Abb. 2 die sehr langgestreckte Zelle, die als einzige der UV-Strahlung aus-

* Abb. 2, s. Tafel S. 24 a.

gesetzt war. Der kräftig rot gefärbte, hier dunkel erscheinende Kern liegt ganz links an der Seite. Alle Zellen der Umgebung weisen — wie sich unter dem Mikroskop nachweisen läßt — normale Lebensfunktionen auf. Auch 24 h später zeigt sich in ihnen noch keine Veränderung.

Zur Prüfung der Frage, ob die Zellen der *Allium*-Epidermis auf die gleiche Strahlendosis verschieden reagieren, wenn sie in verschiedenen Zeiten appliziert wird, wurden Bestrahlungen mit einer physikalisch gut definierten UV-Lichtquelle durchgeführt. Benutzt wurde das UV-Normal, dessen spektrale Energieverteilung bekannt ist⁵.

Die oben beschriebenen Präparate wurden ohne Zwischenschaltung irgendeiner Optik aus verschiedenen Entfernungen (0,40—2,00 m) bestrahlt. Die Präparate lagen dabei auf feuchtem Filtrierpapier und wurden ständig mit reichlich Wasser nachversorgt. Eine ganze Anzahl von Versuchen stellte es sicher, daß diese Lagerung ohne Einfluß auf die Zellen war und der üblichen Aufbewahrung gleichkam, bei der die Zellen mit der ursprünglich dem Mesophyll zugekehrten Unterseite auf Wasser schwimmen. Da bei UV-Bestrahlung nur der Energieanteil im Wellenlängenbereich unterhalb von 3200 Å wirksam ist (vgl. u. Abschn. 5), wurde hier bei den folgenden Versuchen nur die Emission zwischen 3200 und 2000 Å der Berechnung zugrundegelegt. Ist Θ der bei Rössler⁵ tabellierte Strahlungsfluß in Watt innerhalb des genannten Spektralbereiches (Kontinuum und Linien), so ergibt sich die Bestrahlungsstärke I in Watt/cm² zu

$$I = \frac{\Theta}{4\pi \cdot 0,86 r^2} \quad (1)$$

(r Abstand des Präparates von der Strahlungsquelle). Diese Beziehung ist bei kleinem r wegen der räumlichen Ausdehnung der Entladung in der Hochdrucklampe natürlich nur näherungsweise erfüllt. Zur genauen Festlegung der Intensität wurde deshalb eine Cd-Sulfidzelle benutzt, die an der Stelle des Präparates angebracht wurde. Die Zelle wurde vorher mit Hilfe einer als punktförmig anzusehenden Höchstdrucklampe nach dem Abstandsgesetz geeicht. Es zeigt sich, daß bei $r > 1,50$ m (1) auch für das UV-Normal erfüllt ist, und damit läßt sich rückwärts für kleinere Entfernungen I in Watt/cm² aus dem Photostrom der CdS-Zelle berechnen. Die Strahlungsdosis ergibt sich dann einfach durch Multiplikation von I mit der Bestrahlungszeit in 10⁷ erg/cm².

Untersucht wurde nun die Dosis, die bei verschiedenen Intensitäten zur Erzielung eines bestimmten Schädigungszustandes der Präparate erforderlich ist. Dieser Zustand kann z. B. so definiert werden, daß 50% aller Zellen die oben besprochene Färbbarkeit mit Erythrosin zeigen. Dieser Definition entspricht die obere der beiden Kurven in Abb. 3. Sie zeigt bis

⁵ F. Rössler, Ann. Physik 34, 1 [1939].

auf geringfügiges Ansteigen bei Intensitäten über $3 \cdot 10^{-4}$ Watt/cm² praktisch die Erfüllung des **Bun- sen-Roscoeschen Gesetzes**.

Eigentümlicherweise zeigt sich eine Abweichung von dieser Beziehung, wenn man der Messung nicht die Anfärbbarkeit mit Erythrosin, sondern die Plasmolysierbarkeit der Zellen, etwa in 1-molarer KNO₃-Lösung, zugrundelegt (untere Kurve in Abb. 3). Während bei Intensitäten über 10^{-4} Watt/cm² die „Halbwertsdosen“ für Erythrosinfärbung und für Aufhören der Plasmolysierbarkeit nur unwesentlich differieren, erhält man bei geringerer Intensität schon bei einer kleineren Dosis in 50% der Zellen keine Plasmolysen mehr.

Auf die Einzelheiten dieser Verhältnisse sei hier noch nicht eingegangen. Der Intensitätsbereich von 10^{-4} bis $2 \cdot 10^{-3}$ Watt/cm² scheint für die Aufnahme von Schädigungskurven geeignet, insbesondere wenn als Testreaktion die Erythrosinfärbung zugrundegelegt wird. Man erkennt jedoch bereits hier, daß wesentliche Beobachtungsstatsachen verloren gehen, wenn man sich auf die Untersuchung einer einzigen Testreaktion beschränkt.

Die Aufnahme der Schädigungskurven erfolgte in der oben beschriebenen Anordnung, d. h. unter Bestrahlung mit dem ungefilterten Licht einer Hg-Lampe ohne zusätzliche Optik.

Die Intensität betrug $3,0 \cdot 10^{-4}$ Watt/cm²; ihre Konstanz wurde mit der Cd-Sulfidzelle kontrolliert. Als Strahlungsquelle diente hier und in allen folgenden Versuchen wegen der bequemeren Handhabung ein Quarz-Hg-Bogen von Heraeus mit 60 Watt Leistungsaufnahme. Die spektrale Energieverteilung dieser Strahlungsquelle unterscheidet sich nur unwesentlich von der des UV-Normals; lediglich das Kontinuum fehlt fast ganz. Bei der später beschriebenen Messung der Wellenlängenabhängigkeit kam dann wieder das UV-Normal zur Anwendung.

Zur Feststellung des Schädigungszustandes diente eine Erythrosinfärbung (vgl. oben) nach 24 h. Hierzu und bei allen folgenden Versuchen wurden die Präparate nach der Bestrahlung unter Lichtabschluß aufbewahrt. Dadurch ist das Mitspielen etwaiger *Reaktivierungserscheinungen* durch Lichteinwirkung ausgeschlossen.

Die Zählung der gefärbten Zellen erfolgte mit Hilfe eines Projektionsmikroskopes. Es wurde jedesmal ein ganzes Präparat auf einer übersichtlich eingeteilten Fläche abgebildet. Auf diese Weise ist auch die Auszählung umfangreichen Materials sehr rasch zu bewerkstelligen. Durch die Zeitersparnis wird die schädliche Wirkung des Erythrosins herabgemindert und die Gefahr zusätzlicher Schäden durch die Giftwirkung praktisch ausgeschaltet.

Das Ergebnis der Bestrahlungen erwies sich hier wie auch später unabhängig davon, ob die Präparate durch die cutunisierte Oberseite oder durch die dem Mesophyll angrenzende Fläche bestrahlt wurden.

Vor und nach der Bestrahlung wurden die Präparate auf konstanter Temperatur von 20°C gehalten. Auch während der Bestrahlung blieb die Temperaturerhöhung unter 1°C. Zur Kontrolle des evtl. Einflusses der sichtbaren und der ultraroten Strahlung wurden einige Epidermis-Stückchen durch 2 mm dickes Fensterglas bestrahlt. Zwischen ihnen und völlig unbehandelten Proben konnte keinerlei Unterschied festgestellt werden.

Abb. 4 zeigt an verschiedenen Zwiebelsorten aufgenommene Dosis-Effekt-Kurven. Außerdem sind ge-

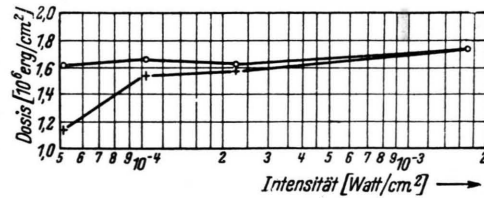


Abb. 3. Zusammenhang zwischen Strahlungs-Dosis (D) und Intensität (I) zur Erzielung eines bestimmten Schädigungszustands bei *Allium cepa*: o 50% der Zellen mit Erythrosin färbbar, + 50% der Zellen nicht mehr plasmolysierbar (2 h nach Bestrahlungsende).

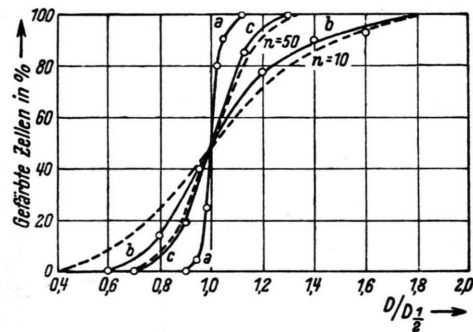


Abb. 4. Dosis-Effekt-Kurven verschiedener Zwiebelsorten: a) gelbe Zittauer $D_{1/2} = 6,9 \cdot 10^6$ erg/cm², b) gelbe Zittauer überwintert $D_{1/2} = 5,0 \cdot 10^6$ erg/cm², c) Red Wettersfield large $D_{1/2} = 3,6 \cdot 10^6$ erg/cm².

strichelt 2 „Trefferkurven“ für die Trefferzahlen $n=10$ bzw. 50 eingetragen. Die Abszisse gibt die Dosis im relativen Maß, bezogen auf die Halbwertdosis $D_{1/2}$, bei der 50% aller Zellen geschädigt sind. Man erkennt, daß sich die Kurven je nach der verwendeten Zwiebelart sowohl hinsichtlich der Form wie auch der Halbwertdosis wesentlich unterscheiden.

Der Unterschied zwischen den Kurven a und b ist offenbar durch das verschiedene Alter bestimmt. Die Zellen aus den abgelagerten Zwiebeln weisen nicht nur zum größeren Teil eine höhere Empfindlichkeit, sondern auch eine stärkere Variabilität auf. Der Unterschied zwischen a und c ist offenbar physiologisch bedingt.

Versucht man, den Kurven der Abb. 4 bestimmte Trefferzahlen zuzuordnen, so kommt man auf sehr hohe Werte von n (10—60). Eine treffertheoretische Analyse ist in diesem Falle wegen der Vieldeutigkeit der Kurven aussichtslos. Insbesondere zwingt aber auch das starke Eingehen der biologischen Variabilität zu der Annahme, daß im vorliegenden Falle kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Primärwirkung der Strahlung und dem als Testreaktion gewählten Sekundärprozeß, dem Einsetzen der Erythrosinfärbung, besteht. Die Diskontinuität, mit der dieser Sekundärprozeß eintritt, verschleiert gewissermaßen das übrige zellphysiologische Geschehen, das unter der Einwirkung der Strahlung vor sich geht. Man erhält in dem verhältnismäßig geringen Dosisintervall zwischen dem Auftreten der ersten gefärbten Zellen und der Färbungsreaktion aller Zellen Präparate, wie sie etwa Abb. 5* zeigt; die gefärbten Zellen treten dann durch eine leichte Dunkelfärbung und vor allem durch den stark gefärbten Kern hervor. Es ist nun offenbar nicht ohne weiteres zulässig, alle ungefärbten bzw. alle gefärbten Zellen in bezug auf ihren Schädigungszustand jeweils als gleich anzusehen. Das wird deutlich aus den Untersuchungen der nächsten beiden Abschnitte hervorgehen. Der gleiche Sachverhalt läßt sich aber auch an einem anderen Beispiel erkennen, in dem insbesondere der Einfluß der biologischen Variabilität gut zu überblicken ist.

Es wurden Staubfadenhaare von *Tradescantia virginica*⁶ in der oben beschriebenen Weise mit UV-Licht bestrahlt und auf ihre Plasmolysierbarkeit in 1-molarer Harnstoff-Lösung untersucht. Bei starken Bestrahlungsdosen ($> 10^7$ erg/cm²) bleibt die Plasmolyse völlig aus. Bei einer Dosis von $5 \cdot 10^6$ erg/cm² ergibt sich dagegen das in Abb. 6 wiedergegebene Bild: Der Plasmolysegrad nimmt gleichmäßig nach den Spitzenzellen hin ab. Man könnte an eine gegenseitige Beeinflussung der Zellen etwa durch Diffusion von „Strahlungsgiften“ denken. Daß dies nicht der Fall ist, beweist Abb. 7, bei der eine einzelne Zelle aus einem Staubfadenhaar bestrahlt wurde. Die unbestrahlten Nachbarzellen zeigen dabei normales Verhalten.

Es bleibt also nur die Deutung, daß sich der Schädigungsprozeß entsprechend dem Entwicklungszustand der Zellen praktisch kontinuierlich abstuft (das Alter der Zellen nimmt nach den Spitzenzellen hin im allgemeinen annähernd gleichmäßig ab). Treffertheore-

tisch gesprochen heißt das, die Zahl der „wirksamen Ereignisse“ ist so groß, daß für den erreichten Schädigungsgrad nicht mehr ihre statistische Verteilung, sondern der physiologische Zustand der Zelle ausschlaggebend ist.

2. Zellphysiologische Methoden zur Untersuchung des progressiven Schädungsverlaufes

Beobachtet man verschieden lange bestrahlte Epidermispräparate von *Allium cepa* unter dem Mikroskop, so lassen sich in den einzelnen Zellen mit zunehmender UV-Dosis folgende Veränderungen feststellen⁷:

a) Schon nach schwacher Bestrahlung ($1—2 \cdot 10^6$ erg/cm²) tritt eine Verlangsamung der *Cytoplasmastromung* ein. Man kann die Geschwindigkeit dieser Bewegung an den mitgeführten Plasmaeinschlüssen verfolgen und auch quantitativ messen. Dabei ist nach Strucker zwischen Glitschbewegungen und Zirkulationsströmung zu unterscheiden. Nur die Zirkulationsströmung, die sich im Dunkelfeld gut hervorhebt, nimmt mit wachsender Bestrahlungsdosis rasch ab. Glitschbewegungen einzelner Plasmaeinschlüsse sind auch nach dem Aufhören der Zirkulation noch zu beobachten, werden dann aber von *Brownscher Molekularbewegung* (BMB) überlagert. BMB ist in der unbestrahlten Zelle gar nicht zu beobachten. Sie tritt nach schwacher Bestrahlung auf und verschwindet wieder bei stärkeren Strahlendosen. Voraussetzung für diese Beobachtung ist Temperaturkonstanz auf mindestens $\pm 0,5^\circ\text{C}$.

b) Die unbestrahlte Zelle läßt eine *Cytoplasmastruktur* nur in Form einzelner Plasmastränge erkennen (Abb. 8). Nach Bestrahlung mit etwa $3 \cdot 10^6$ erg/cm² treten deutlich körnige Stellen im Cytoplasma auf (Abb. 9), die auf Entmischungsvorgängen der Cytoplasmasubstanz beruhen dürften. Bei etwas höheren Strahlendosen (etwa $5 \cdot 10^6$ erg/cm²) ist gelegentlich Vakuolenkontraktion als Folge einer Quellung des Cytoplasmas zu beobachten (Abb. 10). Bei noch stärkerer Bestrahlung tritt eine vollständige Koagulation des Cytoplasmas als Endphase der cytoplasmatischen Veränderungen auf (Abb. 11).

c) Der in der unbestrahlten Zelle nur schwach erkennbare *Zellkern* (vgl. Abb. 8) tritt nach Applikation einer UV-Dosis von $4—6 \cdot 10^6$ erg/cm² bereits im Hellfeld und noch mehr im Phasenkontrastbild stark lichtbrechend und scharf gegen die Umgebung abgesetzt

⁶ Über ihre Präparation vgl. Strucker l. c. 4, S. 5.

* Abb. 5—12, s. Tafel S. 24 a u. b.

⁷ Vgl. R. Biebl, *Protoplasma* 36, 491; 37, 1 [1942].

hervor (Abb. 12). Der mittlere Kerndurchmesser, der in der gesunden Zelle 36μ beträgt, geht dabei auf etwa 27μ zurück. Dieser Prozeß verläuft ganz stetig und ist nach den Untersuchungen von Riss und Mirsky⁸ wohl durch den allmählichen Ausfall der Nucleoproteide mit zunehmender Strahlendosis zu erklären. Bei noch stärkeren Bestrahlungsdosen ändert sich das Aussehen des Zellkerns nicht mehr, nur gelegentlich tritt Karyotypyse ein. Die Nucleolen zeigen bereits nach Bestrahlung mit etwa $3 \cdot 10^6$ erg/cm² eine starke Zunahme der Lichtbrechung und sind im stärker bestrahlten Zellkern im allgemeinen nicht mehr zu erkennen.

d) Die Veränderung der Plasmagrenzschichten infolge der Bestrahlung läßt sich durch Plasmolyse- und durch Färbungsversuche verfolgen. Eine Änderung der Plasmolyseform (Plasmolytikum 1-m. KNO₃) tritt nach Bestrahlung mit etwa $5 \cdot 10^6$ erg/cm² ein. Etwa bei der gleichen Strahlendosis wird das Plasmalemma für Farbstoffmoleküle durchlässig: Cytoplasma und Zellkern färben sich in der oben angegebenen Weise in einer Erythrosinlösung. Auch mit Pyronin (Konzentration 1 : 100, pH 5,5—6) kann eine — allerdings blässere — Färbung erreicht werden.

Das Aussetzen der Plasmolysierbarkeit und die Inabilität für Farbstoffe treten nicht für alle Zellen eines Präparates bei der gleichen Dosis ein (vgl. o. Abb. 5), aber doch innerhalb eines ziemlich begrenzten Dosisintervalls. Bei der Plasmolyse lassen sich dabei auch wieder deutlich Übergangsformen zwischen normaler Plasmolysierbarkeit und vollständiger Permeabilität für Salzionen erkennen; es tritt bei Bestrahlung mit $6—7 \cdot 10^6$ erg/cm² vielfach Konkavplasmolyse ein.

e) Eine gute Kontrolle für die genannten strahleninduzierten Veränderungen der Zellen bietet die Färbung mit Acridinorange nach Strugger bei Beobachtung im Fluoreszenzmikroskop⁹. Auch hierbei bestätigt sich das progressive Fortschreiten der Schädigung mit zunehmender UV-Dosis. Auch die Pyroninfärbung läßt sich fluoreszenzmikroskopisch beobachten.

3. Darstellung des Schädigungsverlaufes in Abhängigkeit von Strahlendosis und Beobachtungszeitpunkt

Die im vorhergehenden Abschnitt genannten „Testreaktionen“ lassen sich für eine übersichtliche Dar-

stellung der UV-Wirkung in somatischen Zellen auswerten. Eine große Anzahl von Präparaten wird — in der gleichen Anordnung wie bei Aufnahme der Dosis-Effekt-Kurven in Abschnitt 1 — mit gleichmäßig abgestuften Dosiswerten bestrahlt. Für jede Meßreihe wird unter definierten Bedingungen — Strahlenart, Beobachtungszeitpunkt, Temperatur, pH-Wert, physiologischer Zustand der Präparate — folgendes registriert: Abklingen der Cytoplasmaströmung bis zum völligen Aufhören (P), Sichtbarwerden der

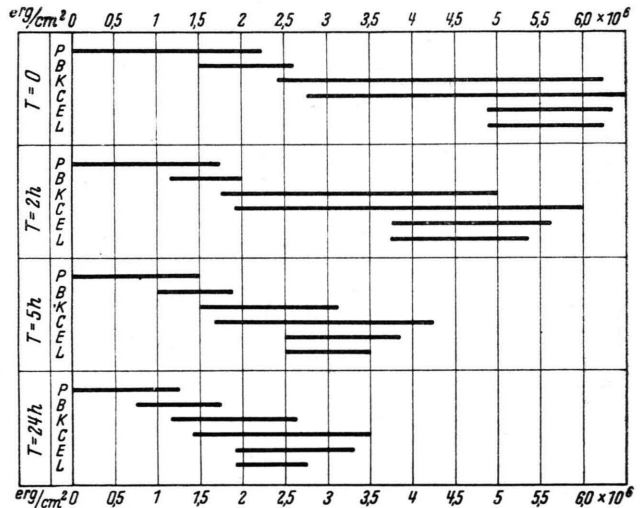


Abb. 13. Schädigungsdiagramm bei UV-Bestrahlung von Epidermiszellen von *Allium cepa*. Auftreten strahlenbedingter Veränderungen in Abhängigkeit von Strahlendosis und Beobachtungsfrist. P Plasmaströmung an Mikrosomen, B Brownsche Molekularbewegung an Mikrosomen beobachtbar, K sichtbare Veränderungen des Zellkerns, C sichtbare Veränderungen des Cytoplasmas, E Anfärbbarkeit mit Erythrosin, 1 : 1000, L Nachlassen der Plasmolysierbarkeit in 0,6-m. KNO₃.

Brownschen Molekularbewegung und Nachlassen bis zum Stillstand (B), Auftreten mikroskopisch beobachtbarer Veränderungen des Zellkerns bis zur Erreichung eines konstanten Zustandes (K), der gleiche Vorgang im Cytoplasma unter Einschluß der Vakuolenkontraktion (C), erstes Auftreten einer Färbbarkeit der Zellen mit Erythrosin bis zur Erreichung des Endstadiums (Abb. 17) (E), Einsetzen der ersten Unregelmäßigkeiten in der Plasmolyse (Plasmolytikum 0,6-m. KNO₃) bis zur völligen Beseitigung der Plasmolysierbarkeit (L).

Jeder einzelnen der sechs Reaktionen entspricht in den Diagrammen eine horizontale, dick ausgezogene

⁸ H. Riss u. A. E. Mirsky, J. gen. Physiol. 32, 489 [1949].

⁹ S. Strugger, Jenaische Z. Naturwiss. 73, 97 [1940]; A. Krebs, Strahlentherapie 75, 346 [1944].

Gerade. Natürlich sind Anfang und Ende dieser Geraden mit einer gewissen Unsicherheit behaftet. Da es sich jedoch immer wieder um die gleichen Beobachtungen handelt, spielt diese Unsicherheit für eine vergleichende Analyse verschiedener Meßreihen unter variierten Bedingungen im allgemeinen keine Rolle. Typische Abweichungen werden besonders diskutiert.

Abb. 13 gibt das Bild der Wirkung einer UV-Bestrahlung bei 20°C und einem p_{H} -Wert von 6,6 (Leitungswasser) zu verschiedenen Zeitpunkten nach Applikation der Strahlendosis. Als Beobachtungsfrist

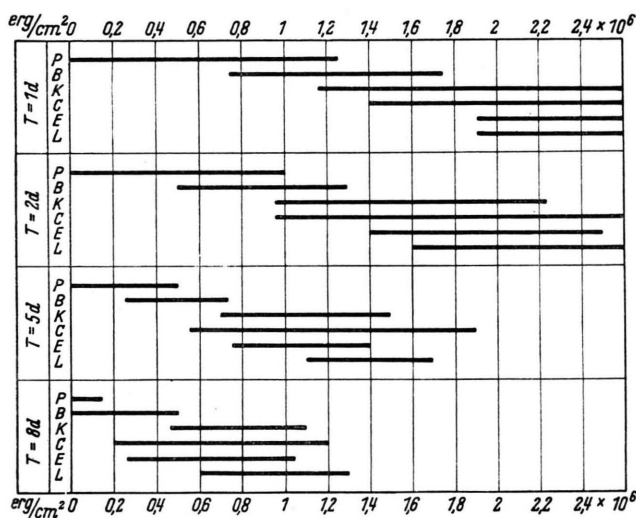


Abb. 14. Schädigungsdiagramm wie Abb. 13 bei längeren Beobachtungsfristen.

T wird dabei die frei wählbare Zeit zwischen Beendigung der Bestrahlung und Beobachtung der Zellen bezeichnet.

Die Dauer der Bestrahlungen ist gegenüber T zu vernachlässigen. Sie betrug 5' pro 10^6 erg/cm².

Man erkennt, daß die Reihenfolge des Einsetzens der verschiedenen Reaktionen bis zu einer Beobachtungsfrist von 24 h die gleiche bleibt. Dagegen verschiebt sich das ganze Bild mit zunehmender Beobachtungsfrist gleichmäßig zu geringeren Dosiswerten. Um also einen bestimmten Schädigungszustand nach einer Beobachtungsfrist von etwa 24 h zu erzielen, braucht man nur etwa 40% der Dosis zu applizieren, die erforderlich wäre, um den gleichen Zustand unmittelbar nach Beendigung der Bestrahlung herzustellen. Das Bemerkenswerte ist, daß diese Beziehung für sämtliche beobachteten Reaktionen in fast ganz übereinstimmender Weise besteht. Von den gering-

fügigen Verschiebungen im Verlaufe des Gesamtprozesses wird noch die Rede sein.

Zunächst wurde geprüft, bis zu welchen Beobachtungsfristen die gleichmäßige Gesamtverschiebung festzustellen ist. Abb. 14 zeigt die Erweiterung des Diagramms (mit größerem Abszissenmaßstab) bis zu Beobachtungsfristen von 8 Tagen. Nach dieser Frist war auch bei den unbestrahlten Kontrollen ein normaler physiologischer Zustand nicht mehr eindeutig zu reproduzieren. Immerhin beweist das Bild, daß die untersuchten Reaktionen auch schon nach sehr kleinen Bestrahlungsdosen nicht mehr reversibel sind.

Der bisherige Befund über den Einfluß der Beobachtungsfrist kann vorläufig so formuliert werden: Nach Applikation einer Strahlendosis D_0 kann einem bestimmten Wert von T gleichsam eine äquivalente zusätzliche Strahlendosis zugeordnet werden, die ohne zeitliche Verzögerung zu dem gleichen Zustande des Protoplasten führen würde, wie er sich jetzt in der nach Bestrahlung mit D_0 unbeeinflussten Zelle einstellt.

Quantitativ würde sich dieser Zusammenhang, wie die Diagramme zeigen, etwa durch folgende Formel ausdrücken lassen:

$$D_{T_1} - D_{T_2} = a \cdot \ln b (T_2 - T_1). \quad (2)$$

D_{T_1} und D_{T_2} sind dabei diejenigen Strahlendosen, die nach zwei beliebigen Beobachtungsfristen T_1 bzw. T_2 zu dem gleichen Schädigungszustand führen, a und b sind Konstanten.

Man könnte an eine Erklärung durch Diffusion von Giftstoffen (Radiotoxinen) denken; Gl. (2) müßte sich dann aus den Diffusionsgesetzen ableiten lassen. Es ist möglich, ja sogar wahrscheinlich, daß derartige Prozesse mitspielen. Daß der Mechanismus der Strahlenwirkung damit nicht erschöpfend zu deuten ist, zeigt bereits eine Betrachtung der in den Diagrammen der Abb. 13 u. 14 auftretenden Verschiebungen zwischen den einzelnen Reaktionen.

So beginnen die Prozesse E und L in Präparaten, die gleich nach der Bestrahlung beobachtet werden, erst bei fast 2-mal so großen Dosiswerten wie der Prozeß C. Nach 24 h verhalten sich die betr. Dosiswerte nur noch wie 1 : 1,4, bei $T = 8$ d fallen sie bereits fast zusammen. Die Nachwirkung der Bestrahlung muß in den Plasmagrenzschichten, die in erster Linie für die Reaktionen E und L ausschlaggebend sind, also als stärker angenommen werden als im Inneren des Cytoplasmas.

Noch etwas weniger tritt die Beobachtungsfrist bei den Veränderungen des Zellkerns (K) in Erscheinung.

Nach langen Beobachtungsfristen sind im Verhältnis zu den übrigen Vorgängen wesentlich größere Strahlendosen erforderlich, um solche Veränderungen hervorzubringen, wie aus dem Zurückbleiben der Reaktion K in den Diagrammen ersichtlich ist.

Schließlich erkennt man noch, daß die Plasmolyse bei sehr großen Werten von T offensichtlich bei etwas kleineren Strahlendosen Unregelmäßigkeiten zeigt, als sie angewendet werden müssen, um das Erythrosin in die Zelle eintreten zu lassen. Diese — allerdings nur schwach ausgeprägte — Erscheinung steht in Einklang mit den Befunden der Abb. 3. Sie mag auf einem verschiedenen Verhalten zwischen Intrabilität und Permeabilität der Zelle beruhen, das nur bei langsamer Entwicklung des Zerfallprozesses sichtbar wird. Außerdem wird die Verschiedenheit der Größe der Moleküle bei dem Farbstoff und dem Plasmolytikum (KNO_3) eine Rolle spielen, da sie in dieselbe Richtung fällt.

Die Frage der fraktionierten Bestrahlung ist durch die Untersuchungen bei verschiedener Beobachtungsfrist praktisch bereits mitbeantwortet. Da eine jede Bestrahlung nach ihrem Aussetzen zu einer progressiven Weiterentwicklung des Schädigungszustandes führt und Erholungserscheinungen bei dem vorliegenden Objekt nicht zu beobachten sind, wird die gleiche Dosis, wenn sie mit zeitlichen Unterbrechungen appliziert wird, zu stärkeren Schädigungen führen als nach einer zusammenhängenden Bestrahlung. Verschiedene Versuche bestätigten dies, jedoch differieren die Beobachtungsergebnisse bei zusammenhängender und bei fraktionierter Bestrahlung nicht sehr stark, wie es angesichts der verhältnismäßig langsamen Veränderungen während der Beobachtungsfrist auch zu erwarten ist.

Zur Ergänzung und zum Beleg, daß der bei *Allium cepa* festgestellte Schädigungsverlauf für somatische Zellen offenbar weitgehend charakteristisch ist, seien noch einige Ergebnisse an anderen Objekten mitgeteilt.

Abb. 15* zeigt Zellen aus einer reifen Frucht der Schneebeere (*Symphoricarpus racemosus*). Die Zellen besitzen im Normalzustand infolge ihrer Turgeszenz eine glatte Membran; die Plasmakonfiguration ist schon im Hellfeld teilweise gut zu erkennen, auch der Kern tritt in verschiedenen Zellen deutlich hervor. Dagegen ist Cytoplasmaströmung nicht zu beobachten, möglicherweise wegen des Fehlens grobkörniger Einschlüsse im Plasma.

* Abb. 15 u. 16, s. Tafel S. 24 b.

Es wurden nun Zellen im Wassertropfen auf Objektträger gebracht und in der gleichen Weise wie die Epidermiszellen von *Allium* einer UV-Bestrahlung ausgesetzt. Es zeigte sich in der Tat, daß die Reaktionen der einzelnen Zellen auf die Bestrahlung, soweit sie in diesem Objekt überhaupt zu beobachten sind, in ganz entsprechender Folge wie bei den *Allium*-Zellen auftraten. Der Zellkern (dessen innere Struktur hier allerdings schlecht zu erkennen ist) wird deutlich kleiner und tritt stärker lichtbrechend hervor. Bei zunehmender Strahlendosis treten die gleichen körnigen Strukturen im Cytoplasma auf, wie sie (vgl. o. Abb. 9) bei *Allium* zu beobachten sind. Abb. 16 zeigt den entsprechenden Zustand; interessant ist die starke Faltung der Zellmembran, die einen merklichen Wasseraustritt aus der Vakuole erkennen läßt. Dies entspricht der Vakuolenkontraktion bei *Allium*; da es sich dort um einen Zellverband handelt, können die Membranen der Zusammenziehung des Protoplasten nicht folgen. Auch in Abb. 16 ist z. Tl. noch innerhalb der gefalteten Zellmembran der abgesetzte Protoplast zu erkennen.

Ganz ähnlich ist der morphologische Befund bei *Vaccinium vitis idaea*, wenn man Beeren verwendet, die noch keine ausgeprägte Rotfärbung zeigen. Allerdings sind die Strahlendosen, die zu den verschiedenen Schädigungsstadien führen, größer als jeweils bei *Symphoricarpus*. Für die endgültige letale Schädigung veranschaulicht dies die nachstehende Tabelle, in der für die verschiedenen Objekte die Dosis D angegeben ist, nach der unmittelbar im Anschluß an die Bestrahlung 50% aller Zellen Färbung mit Erythrosin bzw. Pyronin zeigen:

Objekt	Epidermiszellen von <i>Allium cepa</i>	Fruchtfleischzellen von <i>Symphoricarpus racemosus</i>	Fruchtfleischzellen von <i>Vaccinium vitis idaea</i>
D [erg/cm ²]	5,6.10 ⁶	4,8.10 ⁶	8,8.10 ⁶

Sicherlich beruhen die Unterschiede zu einem Teil auf der verschieden starken Absorption des UV in den Zellmembranen. Es muß jedoch auf jeden Fall auch damit gerechnet werden, daß bei den einzelnen Objekten trotz der morphologischen Ähnlichkeit des Schädigungsverlaufes Unterschiede in der Konstitution des Protoplasten vorliegen.

Noch bessere Vergleichsmöglichkeiten bieten sich durch Betrachtung der oben bereits erwähnten Staubfadenhaare von *Tradescantia virginica*.

Man muß hier, will man an einer größeren Anzahl von Zellen den charakteristischen Schädigungsverlauf verfolgen, die bereits besprochene starke Abhängigkeit der UV-Empfindlichkeit vom Entwicklungsalter der Zellen berücksichtigen. Neben der geometrischen Größe kann man dabei die blaue Anthocyanfärbung als Kriterium wählen, die in einem bestimmten Entwicklungsstadium auftritt.

Da bei diesem Objekt Cytoplasmaströmung und Kernstruktur ebenso gut zu beobachten sind wie an den Epidermiszellen von *Allium cepa* und auch sonst die Reaktionen auf eine UV-Bestrahlung ganz ähnlich erfolgen, erscheint es sinnvoll, hier ein ganzes Schädigungsdiagramm zu zeichnen und mit den oben erhaltenen Diagrammen zu vergleichen. Es wurden mehrere hundert Zellen untersucht, die noch gerade keine Anthocyanfärbung aufwiesen. Da die Staubfadenhaare sich nicht über längere Zeit hinweg in

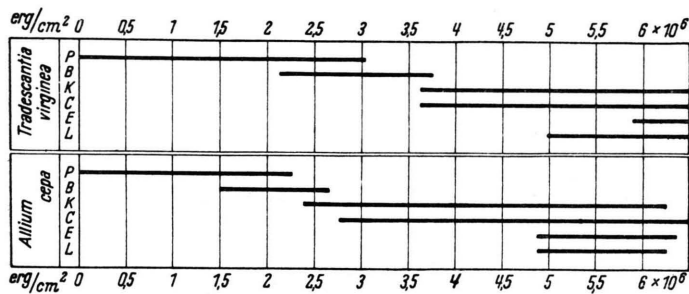


Abb. 17. Vergleichendes Schädigungsdiagramm bei UV-Bestrahlung zweier verschiedener Zelltypen.

isoliertem Zustande aufbewahren lassen, kann allerdings nur der Schädigungsablauf unmittelbar nach der Bestrahlung mit dem entsprechenden Diagramm bei *Allium cepa* verglichen werden (Abb. 17).

Aus dem Vergleich der Diagramme geht hervor, daß der Schädigungsverlauf an beiden Objekten sich weitgehend entspricht. Allgemein sind die Dosiswerte, die bei *Allium* jeweils zur Erzielung eines bestimmten Schädigungsstadiums erforderlich sind, bei *Tradescantia* um den Faktor 1,2—1,3 größer. Nur die Beeinflussung der Plasmolysierbarkeit und — weniger ausgeprägt — die morphologischen Veränderungen des Kernes zeigen ein abweichendes Verhalten.

Immerhin ist aus dem bisher dargelegten Versuchsmaterial eindeutig zu ersehen, daß die verschiedenartigsten Typen somatischer Pflanzenzellen einen verhältnismäßig einheitlichen Reaktionsverlauf in Abhängigkeit von der UV-Bestrahlungsdosis zeigen. Die Dosiswerte, die zu gleichen Schädigungsstadien führen, scheinen in den verschiedenen Fällen einander annähernd proportional zu sein und das Verhältnis

1:2 nicht zu überschreiten. Auf jeden Fall aber muß der hier geschilderte Schädigungsablauf eine unmittelbare Folge der Bestrahlung, d. h. einer jeweils sehr großen Anzahl „wirksamer Ereignisse“ m. a. W. absorbierter UV-Quanten sein. Eine „treffertheoretische“ Deutung ist also hier nicht am Platze.

Dagegen bieten Untersuchungen des Temperatureinflusses und der Wellenlängenabhängigkeit einen weiteren Einblick in den Wirkungsmechanismus der UV-Strahlung.

4. Untersuchungen des Temperatureinflusses

Bei allen bisher besprochenen Untersuchungen waren die Präparate auf einer Temperatur von 20°C gehalten. Eine Variation der Temperatur im Bereiche von 15° bis etwa 30° ergab außer der bereits oben erwähnten Geschwindigkeitsänderung der Cytoplasmaströmung weder eine unmittelbare Einwirkung auf die Zelle noch eine Beeinflussung des in den Diagrammen wiedergegebenen Verlaufs der Strahlenreaktion.

Geht man zu höheren Temperaturen über, so zeigt sich z. B. an den Epidermiszellen von *Allium cepa* bei Betrachtung der reinen Wärmewirkung ein deutlicher Einschnitt bei etwa 50°C. Oberhalb dieser Temperatur tritt eine bleibende Schädigung der Zelle auf, die praktisch an den

gleichen Symptomen zu erkennen ist, wie sie nach Bestrahlung mit etwas stärkeren UV-Dosen zu beobachten sind. Wird das Präparat nur auf etwa 45°C oder weniger erwärmt, so sind die auftretenden Reaktionen weitgehend reversibel.

Im einzelnen zeigen sich bei der Einwirkung höherer Temperaturen folgende Kennzeichen:

1. Damit die Erwärmung zur vollen Auswirkung kommt, müssen die Präparate eine gewisse Mindestzeit, die zwischen 5' und 15' liegt, auf der betreffenden Temperatur gehalten werden (z. B. im temperierten Wasserbad im Thermostaten). Bei länger andauernder Erwärmung tritt keine Verstärkung der Wirkung auf. Bei Temperaturen < 45° zeigt sich sogar schon innerhalb einer sehr lang ausgedehnten Erwärmungszeit die Reversibilität der beobachtbaren morphologischen und physiologischen Veränderungen.

2. Oberhalb von 50° tritt der Verfall der Zellen um so rascher ein, je weiter die Temperatur gesteigert wird. Bei 70°C ist sofort nach der Behandlung völlige Koagulation des Protoplasten und Färbbarkeit

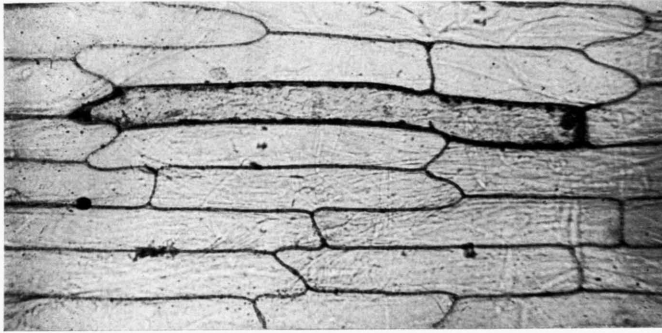


Abb. 2. Einzelne bestrahlte Zelle aus der Epidermis von *Allium cepa*, mit Erythrosin gefärbt. Vergr. 1 : 150.

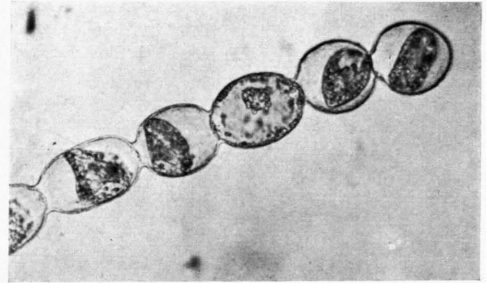


Abb. 7. Staubfadenhaar von *Tradescantia virginica*. Einzelne Zelle bestrahlt, anschließend plasmolysiert.

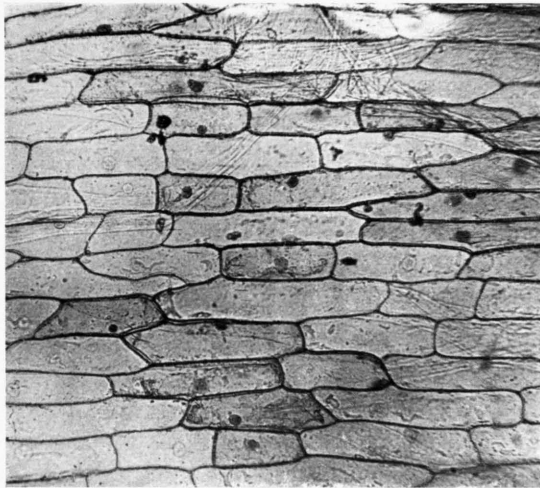


Abb. 5. Epidermis von *Allium cepa*, mit $5,5 \cdot 10^6$ erg/cm² bestrahlt und mit Erythrosin gefärbt. Stärker beschädigte Zellen treten durch dunklere Tönung insbes. des Zellkerns hervor. Vergr. 1 : 100.

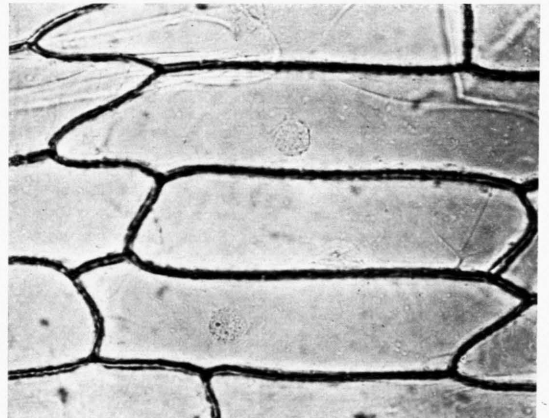


Abb. 8. Unbestrahlte Zellen aus der Epidermis von *Allium cepa*. Vergr. etwa 1 : 300.

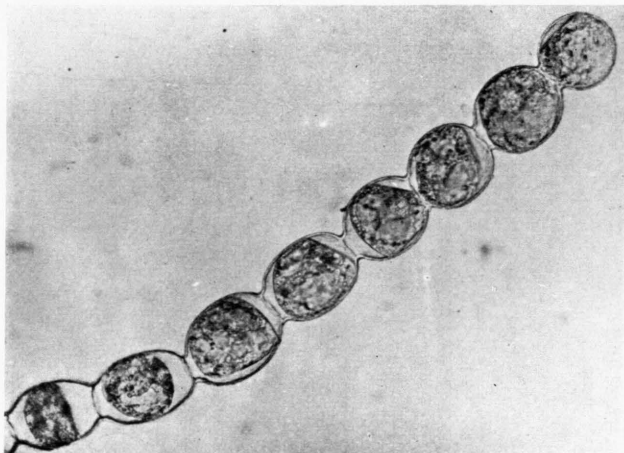


Abb. 6. Staubfadenhaar von *Tradescantia virginica*, mit $5 \cdot 10^6$ erg/cm² bestrahlt und plasmolysiert. Abstufung des Plasmolysegrades von der Spitzenzelle nach unten. Vergr. 1 : 150.



Abb. 9. Epidermis von *Allium cepa*, mit $3 \cdot 10^6$ erg/cm² bestrahlt. Einstellung auf die Oberseite des Präparates. Beginnende Koagulation des Cytoplasmas. Vergr. etwa 1:300.

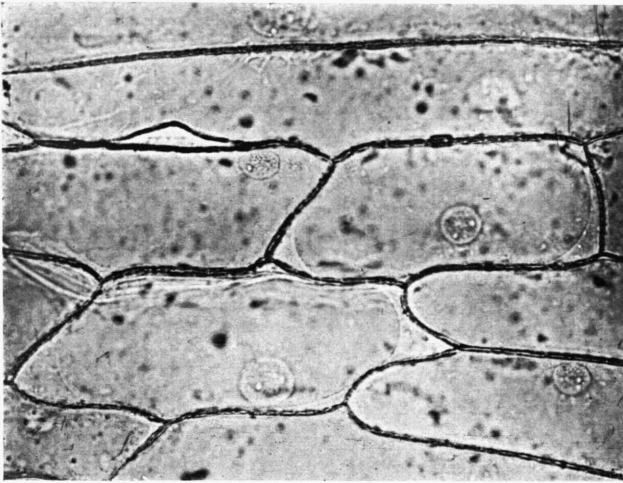


Abb. 10. Epidermis von *Allium cepa*, mit $5 \cdot 10^6$ erg/cm² bestrahlt, Vakuolenkontraktion.

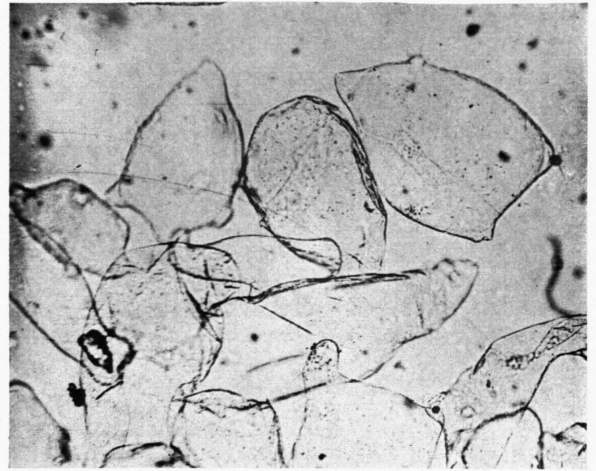


Abb. 15. Unbestrahlte Fruchtfleischzellen von *Symphoricarpus racemosus*. Vergr. 1 : 100.

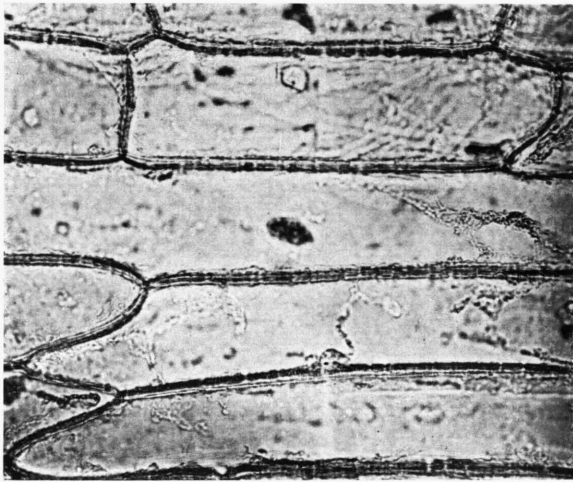


Abb. 11. Epidermis von *Allium cepa*, mit $1,5 \cdot 10^7$ erg/cm² bestrahlt, vollständige Zerstörung des Protoplasten.
Vergr. etwa 1 : 300.

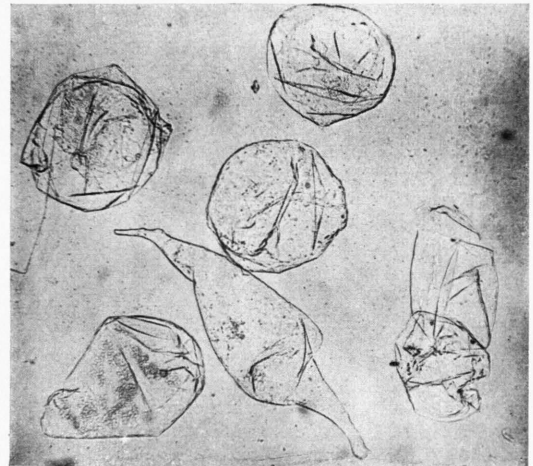


Abb. 16. Fruchtfleischzellen von *Symphoricarpus*, mit $3 \cdot 10^6$ erg/cm² bestrahlt. Beginnende Koagulation des Cytoplasmas. Vergr. 1 : 100.

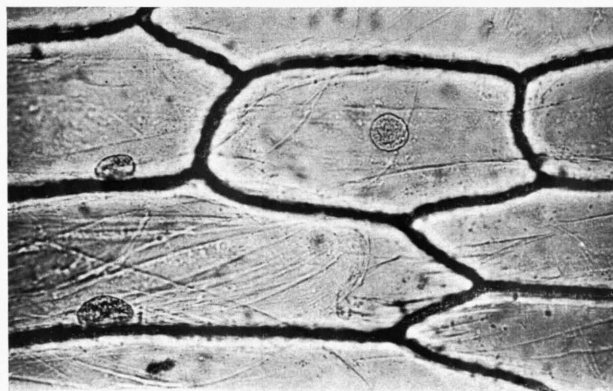


Abb. 12. Epidermis von *Allium cepa*, mit $6 \cdot 10^6$ erg/cm² bestrahlt. Hervortreten der Zellkerne. Vergr. etwa 1 : 300.

mit Erythrosin zu beobachten. Bei 50°C wird dieses Stadium erst nach 48 h erreicht.

3. Unterhalb von 45°C ist nur ein Nachlassen der Cytoplasmaströmung, Brownsche Molekularbewegung und das Auftreten grobkörniger Koagulationsprodukte

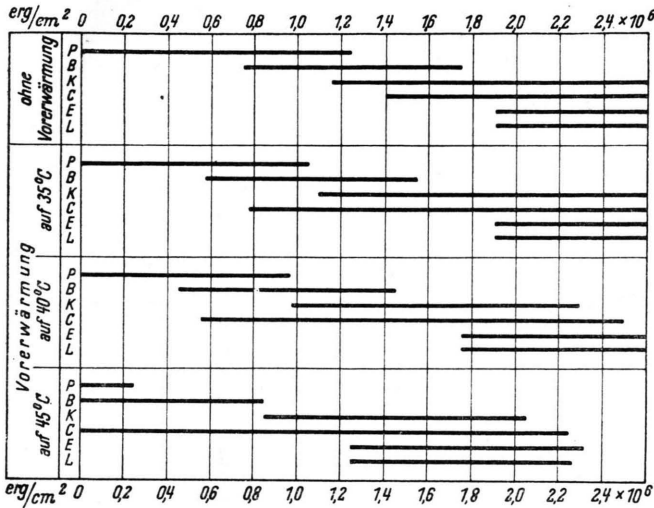


Abb. 18. Schädigungsdiagramm bei UV-Bestrahlung von Epidermiszellen von *Allium cepa*. Einfluß von Temperaturerhöhungen vor der Bestrahlung.

im Cytoplasma zu beobachten. Längstens 24 h nach der Temperatureinwirkung zeigt die Zelle aber wieder ein normales Bild. Lediglich die kleinen Einschlüsse im Cytoplasma bleiben bestehen. Auch dieser Effekt stuft sich mit abnehmender Temperatur ab. Eine Erwärmung auf 30°C erzeugt schon praktisch keine sichtbare Reaktion mehr in der Zelle außer der Beschleunigung der Cytoplasmaströmung.

Diese Tatsachen legen es nahe, die Wirkung einer un stetigen Temperaturerhöhung auf die Zelle als „schockartig“ im Sinne einer plötzlichen Störung des bestehenden Fließgewichtes zu bezeichnen. Bei tieferen Temperaturen ist die Zelle in der Lage, diesen Schock zu überwinden. Es erhebt sich jedoch die Frage, ob eine sofort an einen solchen Temperaturschock sich anschließende UV-Bestrahlung andere Wirkungen zur Folge hat als die Bestrahlung un behandelte Zellen.

Es wurden deshalb in der oben geschilderten Anordnung Präparate bestrahlt, die unmittelbar vorher im Wasserbade 10' lang auf 35°, 40° und 45° erwärmt waren. Das Ergebnis zeigt Abb. 18.

Man erkennt, daß sich die vorausgehende Wärmebehandlung in erster Linie auf das Cytoplasma aus-

wirkt. Bei einer Vorerwärmung auf 45° sind schon im unbestrahlten Präparat Änderungen der Cytoplasmastruktur und Brownsche Molekularbewegung zu beobachten; eine Dosis von etwa $2 \cdot 10^5$ erg/cm² reicht aus, um die Cytoplasmaströmung irreversibel zum Stillstand zu bringen.

Demgegenüber reagiert der Zellkern nur sehr wenig auf die Temperaturschocks. In allen vier Fällen ist fast die gleiche Strahlendosis erforderlich, um sichtbare Veränderungen seiner Struktur und Größe hervorzurufen.

Die endgültige Zerstörung der Zelle schließlich, die sich im Aufhören der Plasmolysierbarkeit und der Färbbarkeit mit Erythrosin zeigt, wird bei Vorerwärmung auf 35° gar nicht, bei 40° etwas und bei 45° merklich in ihrer Abhängigkeit von der Strahlendosis beeinflusst.

5. Wirkungsspektrum bei UV-Bestrahlung

Die spektrale Zerlegung des von der Bestrahlungsquelle ausgehenden UV-Lichtes muß bei der Bestrahlung von somatischen Zellen so erfolgen, daß die Intensitätsverluste auf ein Minimum herabgesetzt werden, andernfalls kommt man zu nicht mehr tragbaren Werten für die Bestrahlungszeiten. Es wurde deshalb die in Abb. 19 wiedergegebene Monochromator-Anordnung zusammengestellt, die ein Öffnungsverhältnis von 1 : 4,5 besitzt. Der Spalt Sp steht ohne Kondensor unmittelbar vor dem als Lichtquelle L benutzten UV-Normal. Die Quarzlinse Q ist in der Pfeilrichtung verschieblich und wird für jede Wellen-

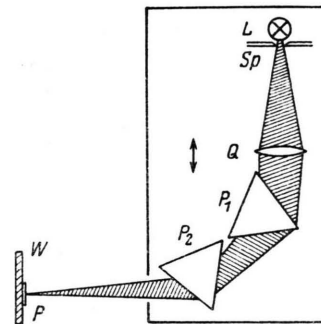


Abb. 19. Monochromatoranordnung.

länge auf scharfe Abbildung der betreffenden Spektrallinie im Präparat P eingestellt. P₁ und P₂ sind zwei 60°-Cornu-Prismen. Das Präparat befindet sich auf einem Objektträger, der an der (zur Kontrolle mit Fluoreszenzpapier beklebten) Wand W in einer horizontalen Schiene verschieblich ist. Die Abstände sind so gewählt, daß man bei einer Spaltbreite von 1 mm die UV-Linien des Hg-Spektrums auf der fluoreszierenden Wand in etwa 4 mm Breite erhält. Die Konvergenz des Lichtes beim Durch-

gang durch die Prismen ist also in Wirklichkeit geringer, als es in Abb. 19 gezeichnet wurde. In der Tat war der Astigmatismus im mittleren Teil der abgebildeten Spektrallinien, der für die Bestrahlung der Alliumzellen allein benutzt wird, auch zu vernachlässigen.

Zur laufenden Kontrolle der Konstanz der Bestrahlungsstärke wurde die CdS-Zelle verwandt. Die Absolut Eichung wurde mit einem Vakuum-Thermoelement mit Quarzfenster vorgenommen. Es zeigte sich dabei, daß die gemessenen Werte der Bestrahlungsstärke nur um max. 25% von den nach Rösslers Angaben über das UV-Normal berechneten abwichen, eine Folge der sehr einfachen Optik des Monochromators.

Das Hg-Spektrum bietet bekanntlich im Bereich von 313—248 m μ eine ausreichende Anzahl intensiver

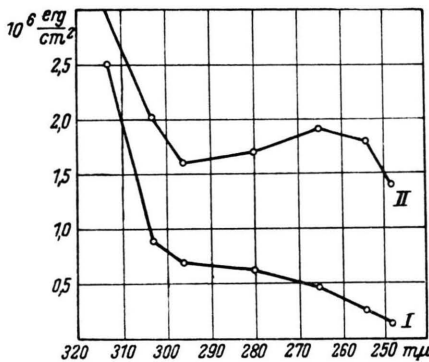


Abb. 20. Aufhören der Cytoplasmaströmung (I) und 50-proz. Färbung der Zellen mit Erythrocin (II) in Abhängigkeit von der Wellenlänge bei UV-Bestrahlung der Epidermiszellen von *Allium cepa*.

Linien, die für die Untersuchung der Wellenlängenabhängigkeit der Strahlenwirkungen herangezogen werden können. Bestrahlt wurden wieder Epidermiszellen von *Allium cepa*. Um erst einmal einen Überblick über die Wellenlängenabhängigkeit zu erhalten, wurden zwei bestimmte Schädigungszustände herausgegriffen und die jedesmal erforderliche Bestrahlungsdosis in Abhängigkeit von der Wellenlänge aufgetragen (Abb. 20).

Kurve I gibt die Dosiswerte an, die zum vollständigen Stillstand der Cytoplasmaströmung führen. Man erkennt, daß die Strahlung oberhalb von 303 m μ schon sehr geringe Wirkung besitzt. Auffallend ist das Steilerwerden des Intensitätsabfalls nach kürzeren Wellenlängen. In der Kurve II, die die Dosis wiedergibt, die zu einer Anfärbung von 50% aller Zellen mit Erythrocin führt, zeigt sich ein noch charakteristi-

¹⁰ T. O. Caspersson, Cell Growth and Cell Function, New York 1950.

scher Verlauf. Schon bei 290 m μ prägt sich ein deutliches Minimum der Dosis (Maximum der Wirkung) aus, während der Hauptabfall der Kurve auch hier erst nach kürzeren Wellenlängen hin einsetzt.

Vergleicht man diese Befunde mit den von Caspersson¹⁰ wiedergegebenen Absorptionskurven von Proteinen bzw. Aminosäuren und Nucleinsäuren, so entspricht der ganze Verlauf der Kurve II der Absorption der Eiweißkörper vom Histontyp. Die charakteristischen Absorptionsmaxima der Nuclein-

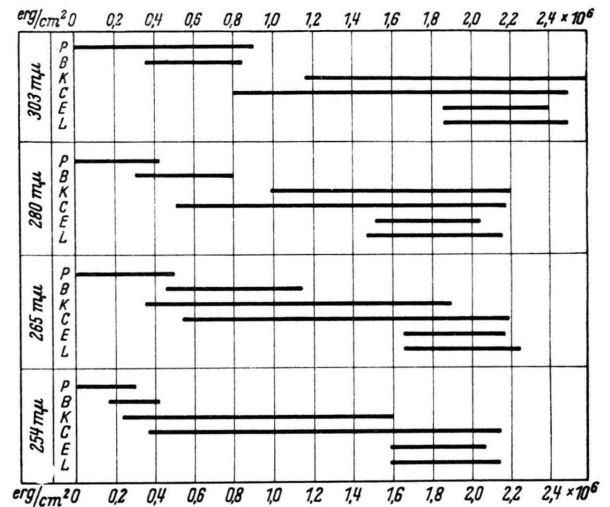


Abb. 21. Schädigungsdiagramme bei monochromatischer UV-Bestrahlung der Epidermiszellen von *Allium cepa*.

säuren im Bereich von 265 m μ treten nicht hervor, was auf ein geringes Mitwirken der Zellkerne bei den hier untersuchten Reaktionen schließen läßt.

Aber auch in diesem Falle läßt sich ein tieferer Einblick in die Verhältnisse der Strahlenwirkung erst gewinnen, wenn man — wie in den vorhergehenden Paragraphen — den Schädigungsvorgang durch ein Diagramm darstellt. In Abb. 21 ist dies für vier besonders charakteristische Wellenlängen erfolgt. Die Beobachtungsfrist beträgt in allen vier Fällen 24 h.

Hier sieht man nun, daß die Wirkung auf den Zellkern (K) bei 265 m μ deutlich hervortritt, während die beiden längeren Wellenlängen vor allem Schädigungen im Cytoplasma (C) zur Folge haben. Natürlich muß das Aufhören der Cytoplasmaströmung (P) auch auf Veränderungen des Cytoplasmas durch die Strahlung beruhen. Da die Empfindlichkeit dieser Reaktion aber fast gleichmäßig mit der Wellenlänge abnimmt, müssen bei ihr noch andere Prozesse mitspie-

len als bei der Bildung sichtbarer Koagulationsprodukte (C). Will man nach Caspersson im Cytoplasma auch die Anwesenheit von Nucleotiden annehmen, so müssen diese offenbar auf die Funktion der Cytoplasmaströmung einen stärkeren Einfluß ausüben als auf den Dispersitätszustand des Cytoplasmas.

Es ist ferner offenbar wesentlich, daß bei Bestrahlung mit 303 m μ Brownsche Molekularbewegung (B) nach dem Aufhören der Cytoplasmaströmung gar nicht mehr zu beobachten ist. Schließlich muß es auffallen, daß die Permeabilitätseigenschaften des Protoplasmas, die vor allem in den Reaktionen E und L zum Ausdruck kommen, bei sämtlichen Wellenlängen annähernd gleich bleiben. Es läßt sich daraus schließen, daß die UV-Wirkung auf die Plasmagrenzschichten wiederum anders zu deuten ist, als die auf das Innenplasma.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die im 3. Abschnitt besprochenen Ergebnisse durch das Zusammenwirken verschiedener wellenlängenabhängiger Reaktionen der einzelnen Teile des Protoplasten zustande kommen. Dabei ist die spektrale Spezifität durchweg nicht sehr stark ausgeprägt. Der grundsätzliche Charakter des Schädigungsablaufes bleibt auch bei monochromatischer Bestrahlung erhalten.

Dies gilt, wie durch eine Anzahl von Stichproben bestätigt wurde, auch für die Einwirkung der Beobachtungsfrist und der Temperatur. Beide Faktoren treten in der entsprechenden Weise in Erscheinung, wie es bei den Versuchen mit unzerlegter Strahlung geschildert wurde. Von längeren Versuchsreihen, die auch kaum etwas wesentlich Neues bringen dürften,

¹¹ F. Dessauer u. B. Rajewsky in „Zehn Jahre Forschung a. d. physikal. med. Grenzgebiet“, Leipzig 1931.

mußte wegen der z. Tl. doch schon ziemlich langen Bestrahlungszeiten abgesehen werden.

Schon die Tatsache überhaupt, daß sich bei verschiedenen UV-Wellenlängen deutliche Unterschiede in den Strahlenreaktionen der Zelle nachweisen lassen, bestätigt die eingangs ausgesprochene und in den vorhergehenden Abschnitten immer klarer hervortretende Tatsache, daß die UV-Wirkung in somatischen Zellen auf einer größeren Zahl physikochemisch untereinander verschiedenartiger Energieübertragungsakte beruht. Darüber hinaus legt der Verlauf der Wirkungsspektren nahe, die Eiweißmoleküle in der Zelle schlechthin als Energieacceptoren anzusehen, wie dies ursprünglich von Dessauer und Rajewsky auch ausgesprochen worden war¹¹. Die Vermutung, daß dabei Radiotoxine gebildet werden, die sich durch Diffusion im Protoplasten ausbreiten, stößt allerdings auf Schwierigkeiten. Es ließ sich nämlich auch durch mehrstündiges Auswaschen der Zellen nach der Bestrahlung keine Änderung des Schädigungsverlaufes herbeiführen. Ebenso zeigte eine Suspension, die durch Zerreiben stark bestrahlter Zellen in Wasser hergestellt wurde, keinerlei Giftwirkung auf gesunde Zellen.

Weitere Klarheit über die Art der Energieübertragung bei der UV-Bestrahlung somatischer Zellen ergibt sich durch einen Vergleich mit der Wirkung von Röntgenstrahlen an den gleichen Objekten. Hierüber wurde bereits in einer kurzen Mitteilung berichtet¹². Eine ausführliche Darstellung, die insbesondere auch die Verbindung zu den Ergebnissen Herçiks über die Wirkung von α -Strahlen³ gibt, wird in Kürze folgen.

¹² H. Glubrecht, Angew. Chem. 62, 412 [1950].