

Über die Wirkung der Temperatur auf den Mutationsprozeß bei *Drosophila melanogaster*

I. Versuche innerhalb normaler Temperaturgrenzen

von

N. W. Timoféeff-Ressovsky

(Genetische Abteilung des Kaiser Wilhelm-Institutes für Hirnforschung, Berlin-Buch)

(Eingegangen am 16. Juni 1935)

Inhalt

	Seite
1. Einleitung	125
2. Versuchsergebnisse	126
3. Schlußbemerkungen	128
4. Zusammenfassung	129
5. Literatur	129

1. Einleitung

Das Problem der Beeinflussung der Mutationsrate durch Temperatur zerfällt, schon nach den Behandlungsmethoden, in zwei getrennte Fragen: 1. über den Einfluß „normaler“, innerhalb normaler Toleranzgrenzen der betr. Art variierender, Temperaturen auf die spontane Mutationsrate, und 2. über Beeinflussung der Mutationsrate durch „Temperaturschocks“ (Timoféeff-Ressovsky 1934). In dieser Mitteilung sollen Versuche, die die erste Frage betreffen, beschrieben werden.

Gleichzeitig mit den ersten Versuchen, die Mutationsrate der *Drosophila melanogaster* quantitativ zu erfassen, hat H. J. Muller Experimente über die Abhängigkeit des Prozentsatzes auftretender Mutationen von der Temperatur (im Rahmen der für *Drosophila* normalen Temperaturgrenzen) durchgeführt (Muller und Altenburg 1919). Es wurde eine, statistisch allerdings nicht gesicherte, Steigerung der Mutationsrate mit der Temperaturerhöhung beobachtet. Die Fortsetzung dieser Versuche durch H. J. Muller (1923a, b; 1927; 1928) hat das vorhin gewonnene Ergebnis bestätigt und gesichert. Auf Grund der gewonnenen Resultate ist Muller zu dem vollkommen berechtigten Schluß gekommen, daß die Mutationsrate der Vant'Hoffschen Regel folgt.

Seit 1927 wurde von mir ebenfalls Material über die Temperaturabhängigkeit der spontanen Mutationsrate von *Drosophila melanogaster* gesammelt, das in dieser Arbeit beschrieben werden soll. Die Versuche hatten zum Ziel: 1. die von Muller gewonnenen Ergebnisse nachzuprüfen, und falls das Ergebnis positiv ausfällt — sie statistisch weiterhin zu sichern, und 2. den Temperaturquotienten der Mutationsrate möglichst genau festzustellen.

2. Versuchsergebnisse

Die Versuche wurden mit der „CIB“-Kreuzungsmethode durchgeführt und es wurden die im X-Chromosom der P-♂♂ auftretenden Mutationen registriert. Abzweigungen der gleichen normalen Kultur wurden dauernd unter drei verschiedenen, im Bereich der für *Drosophila* „normalen“ Grenzen liegenden Temperaturen gezüchtet: 14—15° C, 22—24° C und 28—29° C. Männchen aus diesen Zuchten wurden mit „CIB“-♀♀ gekreuzt, wobei die Eiablage in derselben Temperatur erfolgte, aus der die entspr. P-♂♂ stammten; die F₁- und F₂ wurde in gewöhnlicher Zimmertemperatur aufgezogen, und an den F₂-♂♂, bzw. ihrem Fehlen, wurden die in den Spermien der P-♂♂ aufgetretenen geschlechtsgebundenen Mutationen registriert.

Die Versuche wurden in mehreren Serien durchgeführt und erstreckten sich insgesamt auf mehrere Jahre; es wurde aber dafür gesorgt, daß in jeder Serie die tiefe und die hohe Temperatur durch ungefähr gleiche Kulturrenzenzahlen vertreten waren. Die Zahlen in den einzelnen Serien waren zu klein um statistisch gesicherte Ergebnisse zu liefern; und die Zahl der auftretenden Mutationen schwankte stark von Versuch zu Versuch. Alle bisher durchgeführten Versuchsserien ergeben aber zusammen genügend große Zahlen von Kulturen und aufgetretenen Mutationen und zeigen ein klares und statistisch gesichertes Resultat, das auf Tab. I zusammengefaßt ist. In 14—15° C sind insgesamt 6 geschlechtsgebundene Mutationen unter 6871 untersuchten F₁—F₂-Kulturen (0,087 %) aufgetreten; in 28—29° C waren es 20 Mutationen unter 6158 Kulturen (0,325 %); in 22—24° C war die Mutationsrate intermediär (0,188 %). Der gewonnene Unterschied ist statistisch genügend gesichert. Eine Umrechnung des gewonnenen Unterschiedes auf eine Temperaturdifferenz von 10° C ergibt einen Temperaturquotienten (t^0Q_{10}) von ca. 2,6.

Damit ist die von Muller gefundene Temperaturabhängigkeit der spontanen Mutationsrate bestätigt. Um aber den genauen Temperaturquotienten festzustellen, muß noch die Zeit berücksichtigt werden.

Der Mutationsvorgang scheint an sich zeitunabhängig zu sein, d. h. daß die noch nicht mutierten Gene mit Fortschreiten der Zeit keine Steigerung der Mutationstendenz aufweisen; oder, anders ausgedrückt, daß die Gene keine beschränkte Lebensdauer haben. Andererseits haben wir viele Gründe anzunehmen, wie darauf schon Muller (1928) hingewiesen hat, daß der Prozentsatz der auftretenden Mutationen zeitproportional ist; daß also die Mutationsrate als Prozent von Mutationen pro Zeiteinheit zu definieren ist. Diese letztere Annahme kann experimentell geprüft werden, indem man die Prozentsätze

Tabelle 1

Versuche über die Abhängigkeit der spontanen Rate der geschlechtsgebundenen Letalfaktoren von der Temperatur (innerhalb normaler Temperaturgrenzen) bei *Drosophila melanogaster*-♂♂

Art der Versuche	Behandlung	Zahl der		Prozentsatz der Letalfaktoren
		F ₁ -F ₂ -Kulturen	geschl.-geb. Letalfaktoren	
„CLB“-Versuche über geschlechtsgebundene Letalfaktoren	1. P-♂♂ dauernd in 14° C	6871	6	0,087 ± 0,035
	2. P-♂♂ dauernd in 22° C	3708	7	0,188 ± 0,071
	3. P-♂♂ dauernd in 28° C	6158	20	0,325 ± 0,072

Differenz₁₋₃ = 0,24% ± 0,08%

Entwicklungsdauer: 14° C — 22 Tage, 24° C — 14 Tage, 28° C — 11,5 Tage

Korr. Mutationsraten: 14° C — 0,056%, 24° C — 0,188%, 28° C — 0,396%

t⁰Q₁₀ = 2,6; korr. t⁰Q₁₀ = 5,1

von Mutationen in frischen und alten reifen Spermien von *Drosophila* vergleicht. Die reifen Spermien werden bei nicht-kopulierenden *Drosophila*-Männchen nicht resorbiert oder ejakuliert. Falls die Mutationsrate zeitproportional ist, so müßten also Männchen, die sofort (oder im Laufe der ersten Tage) nach dem Schlüpfen gepaart werden, weniger Mutationen ergeben als solche, die erst ca. 20 Tage nach dem Schlüpfen gepaart werden. Dies ist auch der Fall, wie die auf Tab. 2 zusammengefaßten Versuche es gezeigt haben: in den etwas über zweimal älteren Spermien wurden auch mehr als doppelt soviel Mutationen gefunden wie in den jüngeren. Das Versuchsergebnis ist statistisch noch nicht ganz einwandfrei gesichert ($\frac{\text{Diff.}}{\text{m}_{\text{diff.}}} = 2,3$), aber, angesichts der großen Zahlen von untersuchten Kulturen, kann es mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit für reell gehalten werden.

Tabelle 2

Erhöhung der spontanen Mutationsrate mit Verlängerung der Zeitspanne; Raten geschlechtsgebundener Letalfaktoren in frischen (sofort nach Schlüpfen) und in alten (20 Tage nach dem Schlüpfen) reifen Spermien der *Drosophila melanogaster*-♂♂

Art der Versuche	Alter der Spermien	Zahl der		Prozentsatz der Letalfaktoren
		Kulturen	Letalfaktoren	
„CLB“-Versuche, dauernd bei ca. 22° C	1. P-♂♂ sofort nach Schlüpfen gepaart .	9751	10	0,102 ± 0,032
	2. P-♂♂ 20 Tage nach Schlüpfen gepaart .	8637	21	0,243 ± 0,052

Differenz₁₋₂ = 0,141 ± 0,061

Falls also der Prozentsatz der Mutationen zeitproportional ist, so muß in den vorhin gewonnenen Temperaturquotienten eine Korrektur, die den Unterschied in der Entwicklungsdauer bei verschiedenen Temperaturen berücksichtigt, eingeführt werden. Auf Tab. 1, unten, ist diese Korrektur durchgeführt; danach ergibt sich für die Mutationsrate, innerhalb „normaler“ Temperaturgrenzen, ein Temperaturquotient für 10°C von ungefähr 5.

3. Schlußbemerkungen

Die oben geschilderten Versuche haben also gezeigt, daß die Mutationsrate als Prozentsatz von Mutationen pro Zeiteinheit zu definieren ist, und daß der Prozentsatz der geschlechtsgebundenen Mutationen, die in den Spermien von *Drosophila melanogaster*-Männchen auftreten, mit Erhöhung der Temperatur um 10°C um das ca. Zweieinhalbfache steigt. Nach Berücksichtigung der Verkürzung der Entwicklungsdauer bei höherer Temperatur, ergibt sich für die Mutationsrate $t^{\circ}\text{Q}_{10} = \text{ca. } 5$.

Die Bestimmung des Temperaturquotienten der Mutationsrate gewinnt besonderes Interesse, falls man sich die Mutation als Umlagerung in einem Atomverband, evtl. mit anschließenden Sekundärreaktionen, vorstellt (Timoféeff-Ressovsky, Zimmer und Delbrück 1935). Dann kann die spontane Mutabilität durch Schwankungen der Temperaturenergie erklärt werden, die, je nach der Struktur (Atomverband) in der sie stattfinden, mit verschiedener Häufigkeit die Aktivierungsenergieschwelle erreichen können, die für die Reaktionsauslösung in der betr. Struktur nötig ist. Nun besteht zwischen Aktivierungsenergie, Reaktionsgeschwindigkeit und dem Temperaturquotienten der betr. Reaktion ein bestimmtes Verhältnis (siehe Tab. 14 in Timoféeff-Ressovsky, Zimmer und Delbrück 1935), wonach aus dem Temperaturquotienten die zur Reaktionsauslösung notwendige Aktivierungsenergie bestimmt werden kann. Da die gesamte Durchschnittsrate geschlechtsgebundener Mutationen von *Drosophila melanogaster* einen $t^{\circ}\text{Q}_{10}$ von ungefähr 5 ergeben hat, so muß die Aktivierungsenergie einer solchen Mutation im Mittel ca. 1,5 eV (eV = Elektron-Volt = Energie, die ein Elektron beim Durchlaufen einer Potentialdifferenz von 1 Volt erhält) betragen.

Sollte die obenerwähnte Deutung der Mutation, als Strukturänderung eines Atomverbandes, richtig sein, so muß sich eine weitere Konsequenz ergeben. Die Reaktionskinetik lehrt, daß Reaktionen mit größerer Geschwindigkeit einen geringeren Temperaturquotienten aufweisen (siehe Tab. 14 in Timoféeff-Ressovsky, Zimmer und Delbrück 1935). Danach müßten besonders häufig auftretende Mutationen einen geringeren $t^{\circ}\text{Q}_{10}$ als die besonders seltenen zeigen. Die quantitative Erfassung der spontanen Raten einzelner, besonders der seltenen, Mutationen, ist wegen der dazu erforderlichen sehr großen Individuenzahlen zunächst Aufgabe der Zukunft. Anders ist es bei den bekannten, besonders häufig mutierenden Allelen, den sogenannten „labilen“ oder „mutablen“ Genen. M. Demerec (1932) hat den Einfluß der Temperatur auf die Mutationsrate des labilen miniature-3-gamma Allels von *Drosophila virilis* untersucht und konnte

dabei keinen nennenswerten Effekt feststellen; auf jeden Fall ist der t^0Q_{10} dieser sehr häufigen Mutation (deren Rate mehrere Prozent beträgt, im Vergleich zu den Mutationsraten der meisten „normalen“ Allele, die 0,001 % bis 0,0001 % ausmachen) nicht höher, als der der Entwicklungsdauer. Dieser bisher einzige exakt untersuchte Fall scheint mit der obenerwähnten Deutung in vollem Einklang zu stehen. Von weiterer Arbeit in dieser Richtung kann eine wesentliche Klärung des Mutationsproblems erwartet werden.

4. Zusammenfassung

1. Der Mutationsvorgang ist als solcher zeitunabhängig, die Mutationsrate ist aber zeitproportional, also als Prozentsatz von Mutationen pro Zeiteinheit zu definieren (Tab. 2).

2. Mit Erhöhung der Temperatur (innerhalb der normalen Toleranzgrenzen) steigt auch die spontane Mutationsrate von *Drosophila melanogaster* (Tab. 1).

3. Der unter Berücksichtigung des Temperatureinflusses auf die Entwicklungsdauer korrigierte Temperaturquotient von 10^0C (t^0Q_{10}) beträgt für die Rate der geschlechtsgebundenen Mutationen von *Drosophila melanogaster* ca. 5 (Tab. 1).

4. Die Bedeutung der Feststellung des Temperaturquotienten für die Analyse des Mutationsvorganges wird besprochen („Schlußbemerkungen“).

5. Literatur

- Demerec, M., 1932, „Effect of temperature on the rate of change of the unstable miniature-3-gamma gene of *Drosophila virilis*.“ Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.), vol. 18.
- Muller, H. J., 1923a, „Mutation.“ Eugen., Genet. and the Family, vol. 1.
- , 1923b, „The measurement of mutation frequency made practicable.“ Anat. Rec., vol. 24.
- , 1927, „Quantitative methods in genetic research.“ Amer. Nat., vol. 61.
- , 1928, „The measurement of gene mutation rate in *Drosophila*.“ Genetics, vol. 13.
- , 1930, „Radiation and Genetics.“ Amer. Nat., vol. 64.
- and Altenburg, E., 1919, „The rate of change of hereditary factors in *Drosophila*.“ Proc. Soc. Exp. Biol. Med., vol. 17.
- Timoféeff-Ressovsky, N. W., 1931, „Die bisherigen Ergebnisse der Strahlengenetik.“ Erg. med. Strahlenforsch., Bd. 5.
- , 1934, „The experimental production of mutations.“ Biol. Reviews, vol. 9.
- , Zimmer, K. G. und Delbrück, M., 1935, „Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur.“ Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Fachgr. 6, N. F. Bd. 1, Nr. 13.