

Zeitschrift: Verhandlungen der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft.
Wissenschaftlicher und administrativer Teil = Actes de la Société
Helvétique des Sciences Naturelles. Partie scientifique et administrative
= Atti della Società Elvetica di Scienze Naturali

Herausgeber: Schweizerische Naturforschende Gesellschaft

Band: 155 (1975)

Rubrik: Symposia

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 17.04.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Leere Seite
Blank page
Page vide

Leere Seite
Blank page
Page vide

D. Symposia

1. Schweizerische Gesellschaft für Anthropologie
Société Suisse d'Anthropologie
Società Svizzera di Antropologia

Recherches anthropologiques sur la biologie de la population suisse

M.-R. Sauter (Département d'Anthropologie, Université de Genève)

La Société Suisse d'Anthropologie a de nouveau remplacé sa réunion scientifique annuelle par un colloque. Organisé par M. W. Scheffrahn, de l'Anthropologisches Institut der Universität Zürich, il était consacré aux "recherches anthropologiques sur la biologie de la population suisse – Anthropologische Untersuchungen über die Biologie der schweizerischen Bevölkerung". Il n'était évidemment pas question de prétendre fournir une synthèse des problèmes, mais plus modestement de donner un aperçu de certains aspects de la démographie, de la géographie humaine, de l'anthropologie physique et de la sérologie de la population de la Suisse.

Après une introduction historique où le professeur M.-R. Sauter a rappelé "les principaux courants migratoires en Suisse à partir du haut moyen âge" et un exposé de M. J.-E. Neury sur "l'évolution démographique de la population suisse", trois communications montrèrent les résultats d'enquêtes où se combinent la démographie et l'anthropologie: MM.H. Leuzinger et D. Wegmann, "Anthropogeographische Untersuchung der Schweiz, Graubünden". – F. Forest, "Corrélations entre la sociodémographie et la variabilité phénotypique: quelques exemples Suisse N.E."

Après que M.V.-P. Chopra ait rappelé les principales méthodes de la statistique utiles aux anthropologistes, c'est à plusieurs de ceux-ci qu'il appartenait de donner une idée de la diversité des directions de recherches:

Professeur J.A. Baumann. Application de la biométrie à l'anthropologie médicale.

M.-J. Schlegel et V. Weilenmann-Griehaber. Isolatuuntersuchungen im Unterengadin (Kt. Graubünden).

H. Kaufmann. Quelques problèmes posés par la croissance en Suisse.

J. Buchberger. Anthropometrische Charakteristik heranwachsender alpiner und städtischer Kinder im Kanton Bern.

P.-A. Gloor. Répartition géographique des caractères de pigmentation.

W. Scheffrahn. Metrische und morphologische Merkmale der schweizerischen Bevölkerung.

Le colloque s'est achevé d'une part sur un exposé de sérologie par le Dr. R. Pflugshaupt: Genetische Polymorphismen des Blutes: Aussagemöglichkeiten und Genfrequenzen, et d'autre part sur une conclusion de W. Scheffrahn.

La plus grande partie des communications ont été publiées, grâce à une subvention du comité de la Société helvétique des sciences naturelles, dans le premier fascicule des Archives suisses d'Anthropologie générale (40, 1976), fascicule qui est l'organe de la Société suisse d'Anthropologie¹.

Il est résulté de ce colloque la constatation de la nécessité de développer les recherches anthropologiques en Suisse, pour tenter de suivre l'évolution de nos populations en fonction des facteurs multiples de transformation qui la travaillent. La vaste enquête d'O. Schlaginhaufen, dont rendent compte les deux doubles volumes d'Anthropologia Helvetica (1946 et 1959), date de 1927-1932. Elle devrait être refaite, en dépassant le cadre de seuls conscrits, pour s'intéresser aux différents composants de la population, et faire appel à la collaboration de médecins, de sérologistes, de sociologues et de démographes, au minimum. Il y aurait là matière à un programme national de recherche, puisque les résultats, mobilisant pour leur élaboration de gros moyens en informatique, pourraient avoir une utilité certaine dans de nombreux secteurs de la vie de la population suisse, ne serait-ce que dans le domaine de la santé publique.

1 Colloque de la Société Suisse d'Anthropologie, tenu lors de son assemblée à Aarau les 3 et 4 octobre 1975. Recherches anthropologiques sur la biologie de la population suisse – Anthropologische Untersuchungen über die Biologie der schweizerischen Bevölkerung. Archives suisses d'Anthropologie générale, Genève, 40, 1, 1976, pp. 1-127. – Ce même fascicule contient les compléments et corrections aux actes du colloque de 1974: Kolloquium: Der fossile Mensch im schweizerischen Paläolithikum. Actes de la Société helvétique des sciences naturelles, Partie scientifique. 154^e assemblée annuelle à Neuchâtel 1974, Bâle (1975). Sektion für Anthropologie, pp. 37-55.

2. Schweizerische Botanische Gesellschaft und
Schweizerische Pflanzenphysiologische Gesellschaft
Société Botanique Suisse et
Société Suisse de Physiologie végétale
Società Botanica Svizzera e
Società Svizzera di Fisiologia vegetale.

Lumière et végétaux

P.A. Siegenthaler (Université de Neuchâtel): Introduction

L'organisation commune d'un symposium entre les Sociétés de Physiologie végétale et de Botanique est devenue, depuis quelques années, une habitude qui marque la volonté des deux sociétés de discuter de problèmes généraux qui intéressent et couvrent tous les aspects de la biologie végétale. Le thème abordé au symposium de 1975 a montré en effet qu'autant le physiologiste que le systématique et l'écologiste pouvaient trouver un terrain de rencontre dans le domaine de l'action de la lumière sur les végétaux. La lumière est bien connue comme initiateur de la photosynthèse mais elle intervient aussi dans d'autres phénomènes tout aussi importants, tels le photopériodisme, la photomorphogenèse et la production végétale. Ces questions ont été abordées sous leur aspect fondamental mais ont aussi été envisagées sous leur aspect pratique en rapport avec la production agricole.

1. Joseph Nösberger (ETH Zürich):
Licht und Stoffproduktion von Pflanzenbeständen

Die Stoffproduktion der Vegetationsdecke ist das Ergebnis komplexer Beziehungen zwischen dem genetisch bedingten Potential der Pflanzen und einer Fülle von Umweltfaktoren. Physikalische, chemische und biologische Einflussgrößen wirken auf das Wachstum des Wurzelsystems und des oberirdischen Vegetationskörpers ein. Von den vielen Faktoren kommt dem durch die Pflanze verwertbaren Spektralbereich der Globalstrahlung in der Photosynthese und Photomorphogenese eine fundamentale Bedeutung zu.

Von der gesamten einfallenden Strahlenenergie liegen durchschnittlich 50 Prozent im photosynthetisch wirksamen Bereich. Die vom Pflanzenbestand aufgefangene Strahlung wird grösstenteils absorbiert; nur kleine Anteile werden reflektiert und durch die Blätter gelassen. Mit dem Extinktionskoeffizienten (Gesetz von Beer-Lambert) kann die Stärke des Lichtfalls in einem Bestand annähernd beschrieben werden.

Für die Strahlungsmessungen in Pflanzenbeständen eignen sich stabförmige Solarimeter mit und ohne Filter oder Quantenfühler.

Bei günstigen Wachstumsbedingungen wird die Stoffproduktion eines Bestandes in der vegetativen Phase wesentlich durch den Strahlungseinfall,

die Blattfläche, die Bestandesstruktur und das Photosyntheseverhalten der einzelnen Blätter bestimmt.

Nach dem Auflaufen einer Saat ist die Stoffherzeugung durch den Umfang der Blattfläche begrenzt. Mit dem Heranwachsen des Bestandes nimmt der Schattenwurf der Blätter zu; die Photosyntheserate pro Einheit Blattfläche fällt ab. Vermag das Blattwerk die Strahlung vollständig aufzufangen, so wird der Einfluss der Assimilationsfläche auf die Wachstumsrate von der Strahlungsintensität, der Pflanzenart und dem Aufbau des Bestandes mitbestimmt. Von ökologischer Bedeutung ist die Fähigkeit vieler Pflanzen, den Aufbau des Assimilationsapparates einem Schattenklima anzupassen.

Die Bestandesstruktur wird durch viele morphologische Parameter, insbesondere durch die vertikale Verteilung und den Neigungsgrad der Blätter, sowie durch die Zahl und Verzweigung der Sprossachsen beeinflusst. Die Bedeutung des Aufbaues eines Bestandes für die Wachstumsrate der ganzen Vegetationsdecke und einzelner Pflanzen wird anhand ausgewählter Beispiele diskutiert.

Der Einfluss der Strahlung auf die Nettoassimilationsrate kann durch die periodische Ermittlung der Trockensubstanzzunahme und der Veränderung der Blattfläche geschätzt werden. Direkte Messungen der Photosynthese erleichtern jedoch das Ergründen der Zusammenhänge. Die Frage, wieweit man von der an Einzelblättern bestimmten CO_2 -Aufnahme auf die Stoffproduktion ganzer Bestände schliessen kann, wird aufgrund neuerer Versuchsergebnisse erörtert.

2. Peter Schürmann (Université de Neuchâtel) Photosynthetic Metabolism and Ecology

Photosynthesis is practically the only source of chemical energy and organic carbon entering any terrestrial ecosystem. The efficiency and the capacity with which the constituent plants are able to carry out this process ultimately determine the potential productivity. It is therefore important to know all the different factors influencing the photosynthetic system. To evaluate the influence of the environment on the photosynthetic metabolism requires knowledge of the basic biochemical pathways of plant photosynthesis.

During the past three decades, tremendous progress has been made in uncovering the mechanism of photosynthesis. The main biochemical pathway for the incorporation of CO_2 into organic matter, as proposed by Benson and Calvin, has been elucidated in considerable detail. According to this pathway, also called the reductive pentose phosphate cycle, one molecule of CO_2 reacts in the chloroplast with the 5-carbon sugar phosphate ribulose 1,5-diphosphate (RuDP) to form two molecules of the 3-carbon compound 3-phosphoglyceric acid (C_3 plants). This key reaction is catalyzed by the enzyme RuDP carboxylase. The acceptor molecule for this reaction is regenerated through a series of enzymatic reactions with the gain of one molecule of organic carbon.

This reductive pentose phosphate cycle, which has been shown to operate in many higher plants and green algae, was thought to be the only quantitatively important way higher plants fix CO_2 and incorporate it into organic matter until 10 years ago, when it was reported that the first stable carbon compounds formed during photosynthesis by sugar cane leaves are 4-carbon dicarboxylic acids, malic and aspartic acid, rather than the 3-carbon 3-phosphoglyceric acid. This finding has been confirmed and extended to a number of other grasses and also dicotyledonous plants. In these plants (C_4 plants), CO_2 reacts first with the 3-carbon phospho(enol)pyruvic acid (PEP) to form the 4-carbon dicarboxylic acid oxaloacetate, which is rapidly reduced to malic acid or aminated to aspartic acid. This reaction is catalyzed by the enzyme PEP carboxylase. The regeneration of the acceptor, PEP, is continuous and driven by photochemically produced energy. The products, the 4-dicarboxylic acids, are not stored, but decarboxylated and the CO_2 refixed via the pentose phosphate cycle.

The CO_2 fixation step in the C_4 -plants is similar to the one used by certain succulent plants exhibiting the crassulacean acid metabolism (CAM-plants). In these plants, CO_2 is taken up at nighttime via PEP-carboxylase and stored as malic acid. During the day, when the stomata of the CAM-plants are closed, CO_2 is released from malic acid and refixed via the reductive pentose phosphate cycle. Here the initial CO_2 fixation and the decarboxylation and refixation steps are separated in time.

The energy requirement for the fixation of one molecule CO_2 and its reduction to the level of carbohydrate in C_3 plants is 3 ATP and 2 NADPH_2 , in C_4 plants 5 ATP and 2 NADPH_2 and in CAM-plants 6 ATP and 2 NADPH_2 .

C_4 photosynthesis and capacity for CAM are relatively recent events in evolution. They can both be considered addenda to the reductive pentose phosphate cycle that have evolved under environmental pressure. Plants that exhibit C_4 pathway or CAM are generally found in habitats with high thermal loads and they are often dominant in areas where this is combined with drought. CAM plants tend to be restricted to habitats where there is a pronounced diurnal variation in temperature with cold nights. C_4 plants, some of which are very important crop plants like sugar cane, maize, sorghum, are the most efficient plants, with a very high net photosynthesis. Their unusually high productivity is combined with an unusually high optimum light intensity and optimum temperature, conditions under which C_3 plants are inhibited.

References

- J.A. Berry, 1975, Adaptation of Photosynthetic Processes to Stress. *Science* 188: 644–650.
- O.E. Björkman, 1973, Comparative Studies on Photosynthesis in Higher Plants. In *Photophysiology*, A. Giese, ed. (Academic Press, New York), vol. 8, p. 1–63.
- O.E. Björkman and J.A. Berry, 1973, High Efficiency Photosynthesis. *Sci. Amer.* 229: no. 4 (Oct.): 81–93.
- I. Zelitch, 1975, Improving the Efficiency of Photosynthesis. *Science* 188: 626–633.
- C.C. Black, 1971, Ecological Implications of Dividing Plants into Groups with Distinct Photosynthetic Production Capacities. *Advan. Ecol. Res.* 7: 87–114.

3. Schweizerische Gesellschaft für Vererbungsforschung
Société Suisse de Génétique
Società Svizzera di Genetica

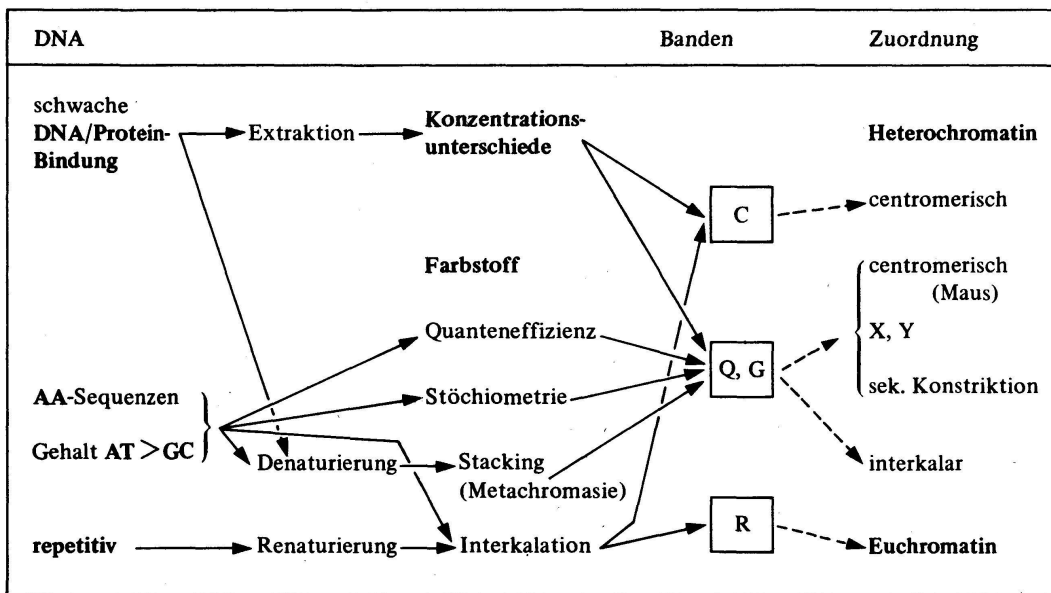
Moderne Chromosomenanalyse

1. Ursula Leemann (Institut für Allgemeine Botanik ETH Zürich):
Quantitative Aspekte der Chromosomenanalyse

1. Einleitung

Die von Caspersson und Mitarbeitern 1968⁵ zum erstenmal beschriebenen Chromosomenbanden sind in kurzer Zeit zum wichtigsten Hilfsmittel für die Chromosomenidentifizierung geworden und haben eine grossartige Entwicklung auf zytogenetischem Gebiet eingeleitet. Quantitative zytochemische Untersuchungen sind wesentlich für die Analyse der chemischen Grundlagen des Bandings und damit des Baues und des Chemismus der Chromosomen überhaupt. Casperssons ursprüngliche Zielsetzung war übrigens auch durchaus zytochemischer Natur gewesen, nämlich die Suche nach DNA-basenspezifischen Reagenzien; bereits seine ersten Banding-Arbeiten^{5,6} enthalten zytofotometrische Analysen der Quinacrin-Fluoreszenz im Vergleich zu UV- oder Feulgen-Absorption der DNA. Quantitative oder doch semiquantitative Auswertungen wurden sehr bald noch aus einem weiteren Grunde interessant: die Identifizierung der menschlichen Chromosomen anhand der Banden erlaubt im Prinzip die Automatisierung der Chromosomenanalysen⁷. Weder das eine noch das andere Ziel, d.h. weder die restlose Erklärung der Bandingphänomene noch die Automatisierung, ist bis heute erreicht worden.

Vom apparativen Standpunkt her ist eine Automatisierung durchaus realisierbar, und verschiedene Systeme sind beschrieben worden^{15, 16, 18, 21, 23}. Die in diesen Arbeiten angegebenen Fehlerquoten bei der Chromosomenklassifizierung liegen in der Grössenordnung von 4 bis 7 %, während die Brauchbarkeit der automatisch ausgelesenen Metaphasen zwischen 10 und 90 % schwankt. Der Grund für diese bis heute unbefriedigenden Ergebnisse liegt offensichtlich bei der Präparation (stark gekrümmte oder sich berührende Chromosomen, unvollständige Metaphasen usw.) und bei der mangelhaften Reproduzierbarkeit der Banding-Färbungen. Dass die Färbungen speziell mit Giemsa, wo eine Vorbehandlung der Chromosomen notwendig ist, meist recht unregelmässig ausfallen, dürfte jedem Praktiker bekannt sein. Auf dem selben Objektträger können sehr verschiedene Färbeintensitäten und sogar verschiedene Bandenmuster (G bis C) auftreten. Was sich bei visueller Untersuchung vielleicht etwas unangenehm, weil zeitraubend, auswirkt, wird bei der automatischen Klassifizierung zu einem kaum zu überwindenden Hindernis; quantitative Analysen sind unter solchen Umständen natürlich vollends unmöglich. Die riesige Zahl der bis heute publizierten Banding-Rezepte zeugt davon, dass immer wieder und mit nur sehr gerin-



Tab. 1: Schema zur Entstehung und zytologischen Zuordnung der Chromosomenbanden

gem Erfolg versucht wurde, die Methodik zu verbessern. Dass die Untersuchung der Bandenerscheinungen trotzdem ihre Faszination nicht verloren hat, ist wohl damit zu erklären, dass die systematisch auftretenden (und deshalb praktisch so eminent wichtigen) Banden ohne eine chemische oder strukturelle Grundlage einfach nicht zu denken sind. Die Interpretationen sind widersprüchlich geblieben: einerseits kann gezeigt werden, dass die Banden in einem Zusammenhang mit dem Basengehalt und der Basensequenz der DNA stehen (basenspezifische Farbstoffe, Antikörper, De- und Renaturierung der DNA); andererseits lassen sich die Banden auf Grund von Massenunterschieden darstellen (elektronenmikroskopisch, Feulgen, Phasenkontrast). In Tab. 1 sind diese Zusammenhänge vereinfacht dargestellt.

Anhand von Kriterien und Resultaten aus der quantitativen Zytchemie soll hier versucht werden, einige dieser Widersprüchlichkeiten zu erklären. Die Schwierigkeiten, die bei den Bandingmethoden auftreten, dürften sich dabei von grundsätzlicherer Natur erweisen, als zumeist angenommen wird. Ob wesentliche Fortschritte – wirklich reproduzierbare und auch quantitativ verwertbare Banding-Prozeduren – auf der heutigen methodischen Basis überhaupt möglich sind, muss bezweifelt werden. Für die praktische Anwendung, d.h. die Chromosomenidentifizierung im Mikroskop oder auf der Fotografie, spielt das eine geringe Rolle; für die Untersuchungen über Chemismus und Struktur der Chromosomen aber sowie für die Automation dürfte diese Frage von entscheidender Bedeutung sein.

2. DNA- und Trockengewichtsbestimmungen

DNA-Mengenbestimmungen können zytofotometrisch mit recht grosser Zuverlässigkeit ausgeführt werden, sowohl mit Hilfe der UV- oder Feulgen-Absorption wie mit Fluoreszenz-Schiffreaktionen²⁸. Menschliche Chromo-

somen sind verschiedentlich untersucht worden^{11, 22, 25, 29}. Innerhalb der Chromosomengruppen sind nur bei den Chromosomen 1–3 signifikante Unterschiede gefunden worden; die verwendeten Methoden erlaubten allerdings auch keine Identifizierung der einzelnen Chromosomen. Unterschiede im DNA-Gehalt entlang der Chromosomenachse wurden von keinem Autor beobachtet (abgesehen vom Centromer). Caspersson wies an pflanzlichen Chromosomen, die dank ihrer Grösse mit recht hoher Genauigkeit untersucht werden können, eine DNA-Verteilung von erstaunlicher Konstanz nach^{5,6}, während er mit Quinacrin an denselben Chromosomen eine auffallende Bänderung erhielt. Die für Chromosomenpräparate zumeist verwendeten Fixiermittel Carnoy oder Alkohol-Eisessig-Gemische werden in der Literatur im allgemeinen als gut bezeichnet für DNA-Bestimmungen; DNA-Verluste bei Alkohol-Eisessig-fixierten, getrockneten Chromosomenpräparaten wurden aber von Gaillard et al.¹¹ nachgewiesen und in eigenen Versuchen speziell an menschlichen Leukozyten wiederholt festgestellt (Abb. 1). Dies legt den Schluss nahe, dass Chromosomenbanden, die nach einer Feulgenreaktion beobachtet werden können²⁷, auf DNA-Extraktion zurückzuführen sind, um so mehr, als die entsprechenden Bilder morphologisch nur sehr schlecht erhaltene Chromosomen zeigen. Es ist ja auch bekannt, dass verschiedene DNA-Fractionen (Eu- resp. Heterochromatin) unterschiedliche Löslichkeit zeigen.

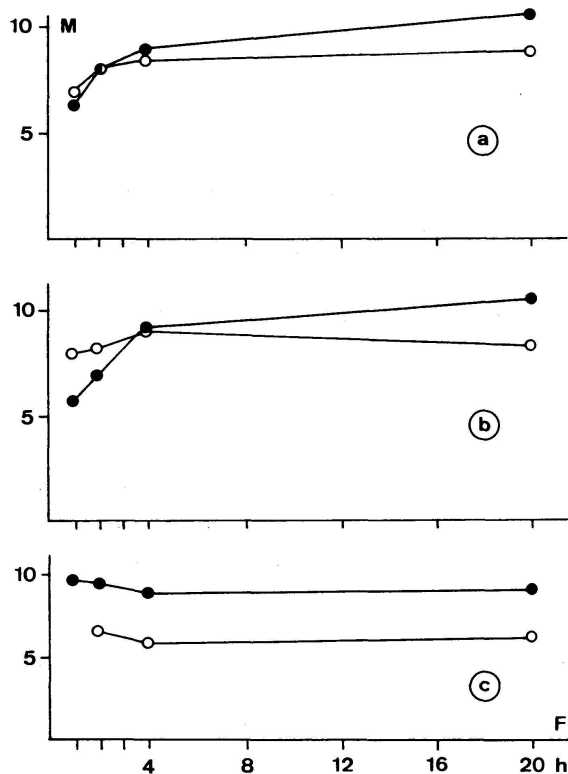


Abb. 1 Trockenmasse (a), Totalprotein (b) nach Sulfaflavinreaktion²⁸ und DNA (c) nach Bao-Reaktion²⁸ in relativen Einheiten M, in Abhängigkeit von der Fixierdauer F. Menschliche Leukozyten, in Suspension fixiert mit gepuffertem Formol 4 % (●) und Aethanol-Eisessig 99:1 (○).

Ähnliches lässt sich von der Trockenmasse resp. den Proteinen sagen, obwohl hier lichtmikroskopisch wenig quantitative Angaben über Chromosomen vorliegen. Chromosomenbanden sind im Phasenkontrast weder an lebenden Zellen noch nach zytologisch einwandfreier Fixierung zu beobachten, ebensowenig nach Proteinfärbungen, wie sie in der quantitativen Zytochemie Anwendung finden²⁸. An suspensionsfixierten Leukozyten können, vor allem bei kurzen Fixierzeiten, Proteinverluste nachgewiesen werden (Abb. 1); Histonverluste an Chromosomenpräparaten – bis zu 80 % nach Essigsäurebehandlung – sind von mehreren Autoren beschrieben worden^{3, 9, 10}. Golomb und Bahr¹³ bestimmten elektronenmikroskopisch die Trockengewichte von menschlichen Chromosomen und wiesen chromomerartige Strukturen nach, die recht genau der Quinacrinbänderung entsprechen¹⁴. Dasselbe wurde für G- und C-Banden gefunden⁴. Aus anderen elektronenmikroskopischen Arbeiten sind aber auch Chromosomen mit Spiralstruktur bekanntgeworden, wie wir sie aus vielen lichtmikroskopischen Untersuchungen kennen.

Man darf aus diesen Beobachtungen also wohl den Schluss ziehen, dass die bandenartigen DNA- und Proteinmassenunterschiede entlang der Chromosomenachse durch die Präparation und die Behandlung hervorgerufen werden. Dass solchermassen systematisch auftretende differenzielle Extraktionen (und vielleicht auch Stoff-Umlagerungen) letzten Endes auf Eigenschaften der DNA selbst beruhen müssen, dürfte allerdings auch klar sein. Für die praktischen Aspekte des Bandings sind diese Extraktionen sicher nur von Vorteil, weil sie die offenbar vorhandenen feinen Strukturunterschiede verstärken. Bei weitergehenden Interpretationen ist aber grösste Vorsicht geboten.

3. Präparation

Nicht nur die Fixierung, sondern die Präparation überhaupt ist in der Zytochemie von entscheidender Bedeutung. Besonders die Luft-Trocknung beeinflusst Struktur wie Färbbarkeit der Zellen sehr wesentlich. Dieser Trocknungseffekt hängt ab von verschiedenen äusseren Bedingungen, von der Fixierung, vom Objekt und interessanterweise offenbar auch vom Grad der Chromatinkondensation, was etwa am unterschiedlichen färberischen Verhalten von Mitosen und Interphasen festgestellt werden kann. Für gute Giemsa-Färbung ist eine Trocknung wahrscheinlich wesentlich; bei Histonreaktionen konnte zytofluorometrisch nachgewiesen werden²⁰, dass nur ungetrocknete Präparate homogene Färberesultate liefern. Einen Ausweg bieten für zytochemische Zwecke suspensionsfixierte Zellen, die auf Objektträger aufzentrifugiert werden. Im Elektronenmikroskop wurde festgestellt, dass Luft-Trocknung von unfixiert gespreizten Chromosomen eine vollständige Zerstörung der Struktur zur Folge hat; deshalb wird für solche Untersuchungen meist die Critical-Point-Trocknung angewendet¹.

4. Basenzusammensetzung der DNA

Banding ohne jede Vorbehandlung kann mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen erreicht werden, z.B. mit Quinacrinmustard, Quinacrin, Pro-

flavin oder der Hoechstverbindung 33 258. Im Modellversuch kann eindeutig ein Zusammenhang zwischen Fluoreszenzintensität und dem AT-Gehalt der gefärbten Polynukleotide gezeigt werden^{24, 26, 30}. Quinacrinmustard färbt direkt basenspezifisch (alkylierend), bei Quinacrin und Proflavin dagegen ist nur die Quanteneffizienz des Farbstoffes basenabhängig²⁴. Diese Farbstoffe – es handelt sich um Acridinderivate – interkalieren, d.h. sie lagern sich zwischen die Basen in den DNA-Doppelstrang ein. Andere Bindungsarten spielen aber auch eine Rolle, vor allem die elektrostatische Bindung an die Phosphatgruppen von DNA und RNA. Hier ist wohl die Erklärung dafür zu suchen, dass die Bänderung nicht bei allen Präparaten gleich deutlich ausfällt. Der Bindungsmechanismus des Hoechstfarbstoffes, eines Benzimidazolderivates, ist nicht bekannt. Quinacrin und Hoechstverbindung ergeben teilweise ähnliche, teilweise aber auch verschiedene Bilder¹⁷. Die Interpretation dieser Chromosomenbanden ist deshalb auch nicht einfach. Einmal dürften nicht lediglich der Gesamt-AT-Gehalt eines bestimmten DNA-Abschnittes, sondern auch die Basensequenzen eine Rolle spielen. Überdies ist, im Gegensatz etwa zum Acridinorange, nicht bekannt, wie weit die Präparation (Fixierung, Trocknung usw.), die Kernproteine oder die Chromatinkondensation die Färbung beeinflussen, da die zytochemische Erfahrung mit diesen neuen Farbstoffen noch recht gering ist.

Der AT-Gehalt wirkt sich aus auf die Denaturierungseigenschaften der DNA, die bei den Bandingphänomenen ebenfalls eine Rolle spielen dürften. Der Denaturierungsgrad der DNA lässt sich im Prinzip zytochemisch mit Hilfe der UV-Hyperchromizität nachweisen. Messungen sind freilich aus verschiedenen Gründen praktisch recht schwierig durchzuführen; an einzelnen Chromosomen sind sie deshalb kaum realisierbar. Die Prozeduren, die für die De- resp. Renaturierung der DNA in Chromosomenpräparaten angewendet werden, führen mit Sicherheit zu schwerwiegenden DNA-Verlusten^{10, 12} und zu einer Auflockerung der Chromatinstruktur. (Dasselbe gilt übrigens auch für die in situ-Hybridisierung.)

Acridinorange wird wegen seiner ausgesprochen metachromatischen Eigenschaften ebenfalls zur Unterscheidung von ein- resp. zweisträngiger DNA verwendet²⁶. Die Färbung wird stark durch die Präparation (Trocknung, Fixierung, aber auch Glasoberfläche, Zellkonzentration usw.) beeinflusst und hängt vom Kondensationsgrad des Chromatins ab^{2, 19}. Quantitative Untersuchungen zeigen, dass Resultate an ganz oder teilweise denaturierten Zellen nur dann einigermaßen reproduzierbar sind, wenn in Suspension gearbeitet wird⁸. Diese Beobachtungen, zusammen mit den in Chromosomenpräparaten zu erwartenden DNA-Verlusten beim Denaturieren, machen deutlich, dass die Rot- resp. Grünfluoreszenz beim Acridinorange-Banding nicht ohne weiteres mit dem Vorhandensein von nicht- resp. leichtrenaturierbarer DNA gleichgesetzt werden darf.

Die Hauptkomponenten des Giemsa, Methylenblau und Azure, zeigen ähnlich wie Acridinorange metachromatische Eigenschaften. Der hohe Kontrast beim Giemsa-Banding dürfte auf ein Zusammenwirken aller besprochenen Faktoren zurückzuführen sein: Konzentrationsunterschieden, Trocknungseffekten und Färbbarkeit infolge von Sequenz und Denaturierung.

5. Schlussfolgerungen

Zusammenfassend ist die Situation in Tab. 2 dargestellt. Die reproduzierbaren, quantitativen zytochemischen Reaktionen erfordern gute Fixierung und in vielen Fällen die Vermeidung von Luft-Trocknung, damit Extraktionen und Strukturveränderungen vermieden und homogene Färberesultate erzielt werden. Eine optimale Spreizung der Chromosomen ist aber

	Chromosomenidentifikation	Quantitative Zytochemie
Fixierung	<p>schwach (z.B. Methanol-Eisessig): Zellen platzen → Chromosomen gespreizt</p> <p>differentielle Stoffverluste bei Behandlung mit H^+, OH^- usw. → Banden</p>	<p>gut (z.B. Formol, Formol-Aethanol-Eisessig): Zellen erhalten</p> <p>keine Stoffverluste</p>
Herstellung der Präparate	<p>getrocknet auf Objektträger:</p> <p>einfach, rasch, Haftung gut</p> <p>Änderung der Struktur und der Reaktionsfähigkeit, abhängig von: Fixierung, Schnelligkeit des Trocknungsvorganges → inhomogen Chromatinkondensation → Kontrasterhöhung der Banden</p>	<p>getrocknet, je nach Objekt und Reaktion, oder nass (z. B. aufzentrifugiert):</p> <p>aufwendiger, Haftung schlechter</p> <p>Struktur und chemische Reaktionsfähigkeit erhalten: → homogen, reproduzierbar → quantitativ</p>

Tab. 2: Gegenüberstellung der Präparationsarten für Chromosomenidentifikation und für quantitative zytochemische Reaktionen

andererseits nur bei relativ schwacher Fixierung möglich. Der stärkste Bandenkontrast und wohl auch das feinste Bandenmuster wird mit dem Farbstoffgemisch Giemsa erreicht, dessen Reaktion vom chemischen Standpunkt aus am wenigsten durchschaubar ist und bei dem die notwendige Vorbehandlung Chromosomenstruktur- und chemismus weitgehend verändert. Die verschiedenen Forderungen sind kaum unter einen Hut zu bringen: für die Chromosomenidentifikation, wo kontrastreiche und gut reproduzierbare Färbungen erforderlich sind, wird man vor allem an der Präparation arbeiten müssen. Eine vollständige Vermeidung der Trocknung ist allerdings für Routineuntersuchungen aus praktischen Gründen kaum denkbar. Zur Untersuchung der Chromosomenstruktur und des Chemismus aber kommen in erster Linie die Fluorochrome wie Quinacrinmustard und die Hoechstverbin-

derung in Frage, die keine Vorbehandlung der Chromosomenpräparate erfordern. Präparation und Färbebedingungen müssen dabei stärker als bisher nach zytochemischen Kriterien und weniger auf maximalen Bandenkontrast ausgerichtet werden.

Literatur

- 1 Bahr G., Determination of the dry mass of small biological objects by quantitative electron microscopy. In: *Micromethods in molecular biology*. Springer, Berlin, 1973, p. 257.
- 2 Bolund L. et al., Changes in the cytochemical properties of erythrocyte nuclei reactivated by cell fusion. *J. cell sci.* 4 (1969) 71.
- 3 Brody T., Histones in cytological preparations. *Exp. cell res.* 85 (1974) 255.
- 4 Burkholder G.D., The ultrastructure of G- and C-banded chromosomes. *Exp. cell res.* 90 (1975) 269.
- 5 Caspersson T. et al., Chemical differentiation along metaphase chromosomes. *Exp. cell res.* 49 (1968) 219.
- 6 Caspersson T. et al., Chemical differentiation with fluorescent alkylating agents in *Vicia Faba* metaphase chromosomes. *Exp. cell res.* 58 (1969) 128.
- 7 Caspersson T. et al., Automatic karyotyping of Quinacrinmustard stained human chromosomes. *Exp. cell res.* 67 (1971) 233.
- 8 Darzynkiewicz Z. et al., Thermal denaturation of DNA in situ as studied by Acridine orange staining and automated cytofluorometry. *Exp. cell res.* 90 (1975) 411.
- 9 Dick C. & E.W. Johns, The effect of two acetic acid containing fixatives on the histone content of calf thymus DNP and calf thymus tissue. *Exp. cell res.* 51 (1968) 626.
- 10 Franke W.W. et al., Losses of material during cytological preparation of nuclei and chromosomes. *Exp. cell res.* 80 (1973) 445.
- 11 Gaillard J.L.J., P. van Duijn & A. Schaberg, Photometric determination of DNA in human chromosomes. *Exp. cell res.* 53 (1968) 417.
- 12 Gebert R., in preparation.
- 13 Golomb H.M. & G. Bahr, Analysis of an isolated metaphase plate by quantitative electron microscopy. *Exp. cell res.* 68 (1971) 65.
- 14 Golomb H.M. & G. Bahr, Human chromatin from interphase to metaphase. *Exp. cell res.* 84 (1974) 79.
- 15 Granlund G.H. et al., A technique for multiple cell karyotyping. *Conf. automat. cytol.*, Asilomar 1975.
- 16 Green D.K. & P.W. Neurath, The design, operation and evaluation of a high speed automatic metaphase finder. *J. histochem. cytochem.* 22 (1974) 531.
- 17 Gropp A., I. Hilwig & P.K. Seth, Fluorescence chromosome banding patterns produced by a benzimidazole derivative. *Nobel sympos.* 23 (1973) 300.
- 18 Johnson E.T. & L.J. Goforth, Metaphase spread detection and focus using closed circuit TV. *J. histochem. cytochem.* 22 (1974) 536.
- 19 Killander D. & R. Rigler, Activation of DNP in stimulated leukocytes. *Exp. cell res.* 54 (1969) 163.
- 20 Leemann U., S. Weiss & E. Schmutz, A centrifugation technique for cytochemical preparations. *J. histochem. cytochem.* 19 (1971) 758.
- 21 Lubs H.A. & R.S. Ledley, Automated analysis of differentially stained chromosomes. A review of goals, problems and progress. *Nobel sympos.* 23 (1973) 61.
- 22 Mendelsohn M.L. et al., *Cytogenetics* 5 (1966) 223.
- 23 Mendelsohn M.L. et al., Computer-oriented analysis of human chromosomes. *J. histochem. cytochem.* 22 (1974) 554.

- 24 Modest E.J. & S.K. Sengupta, Chemical correlates of chromosome banding. Nobel sympos. 23 (1973) 327.
- 25 Nitsch B. & J. Murken, Probleme der Charakterisierung einzelner Chromosomen durch DNS-Messungen. Hum. Genet. 9 (1970) 16.
- 26 Rigler R., Interactions between acridines and DNA. A key to the understanding of banding patterns in chromosomes. Nobel sympos. 23 (1973) 335.
- 27 Rodman T.C., Human chromosome banding by Feulgen stain aids in localizing classes of chromatin. Sci. 184 (1974) 171.
- 28 Ruch F. & U. Leemann, Cytofluorometry. In: Micromethods in molecular biology. Springer, Berlin, 1973, 329.
- 29 Rudkin G.T., Photometric measurements of individual metaphase chromosomes. In vitro 1 (1965) 12.
- 30 Weisblum B. & E. Haenssler, Fluorometric properties of the benzimidazole derivative Hoechst 33 258. A fluorescent probe specific for AT-concentration in chromosome DNA. Chromosoma 46 (1974) 255.

2. Wolfgang Schnedl

(Histologisch-Embryologisches Institut der Universität Wien):

Bändermuster der Chromosomen und andere neue Verfahren der Cytogenetik

Als im Jahre 1970 Caspersson et al. unter Verwendung des Fluoreszenzfarbstoffes Quinacrin eine Darstellung von Bändermustern innerhalb der menschlichen Chromosomen gelang, die für jedes Chromosom konstant und charakteristisch sind, begann für die Cytogenetik eine neue Ära. Caspersson ging von der Vorstellung aus, dass der von ihm verwendete Farbstoff, quinacrine mustard, eine alkylierende Substanz, eine besondere Affinität zu GC-reichen Chromosomenabschnitten zeigen müsste, und nahm an, dass die Quinacrin-positiven Stellen GC-reiche Abschnitte innerhalb der Chromosomen seien. Die Vermutung, dass die Bänderung der Chromosomen etwas mit der Basenzusammensetzung zu tun habe, wurde in der Folge, wenn auch in umgekehrter Weise, bestätigt; dennoch ist die Diskussion über die Beteiligung anderer Faktoren, z.B. der Proteine, noch in vollem Gang.

Wenig später wurden, ausgehend von der Methode von Arrighi und Hsu (1971), in mehreren Labors Verfahren entwickelt, die nach verschiedenen Vorbehandlungen in menschlichen und tierischen Chromosomen Bandmuster mit Hilfe einer Giemsa-Färbung darstellen (z.B. Schnedl, 1971; Abb. 1). Diese Muster stimmen weitgehend mit den Quinacrin-Bändern überein. Einige dieser Verfahren bestehen in einer Trypsinbehandlung der Chromosomen (Dutrillaux et al., 1971; Seabright, 1972), was eine Beteiligung der Proteine am Bandmuster wahrscheinlich macht. Es wurde aber gezeigt, dass die Proteinmuster der Chromosomen auch wieder von der Basenzusammen-

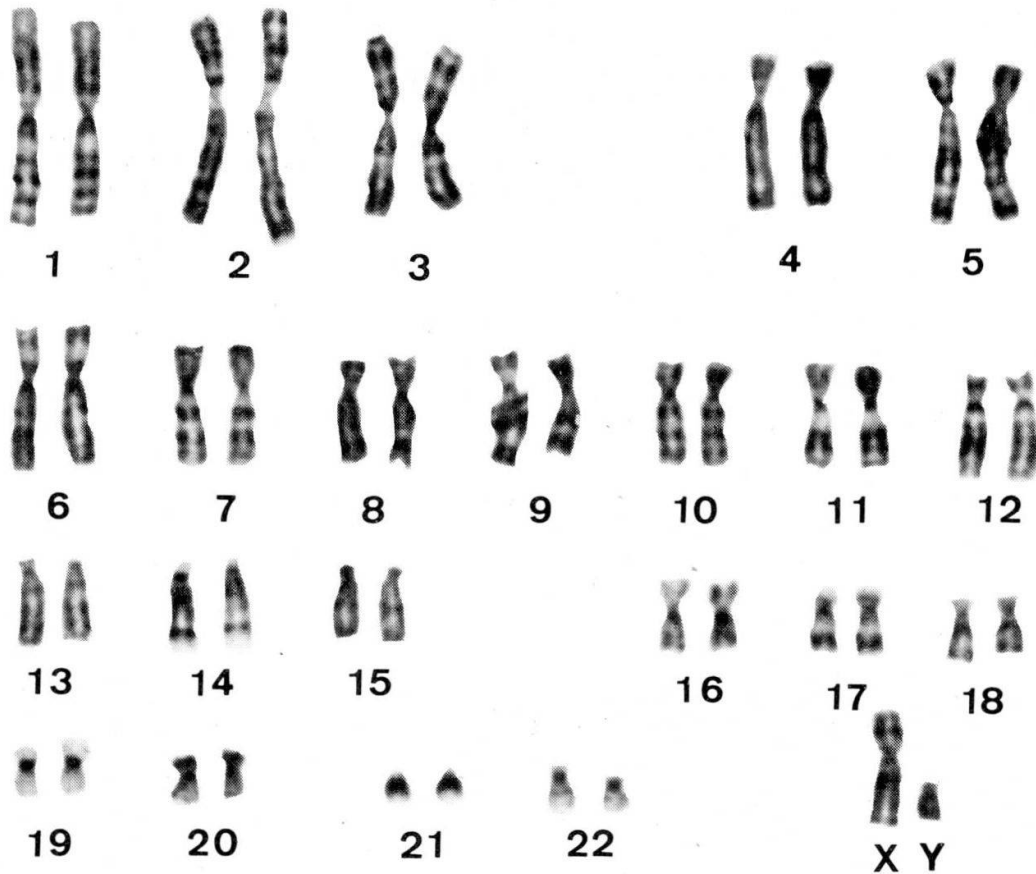


Abb. 1 Menschlicher Karyotyp (männlich); Giemsabänder-Technik.

setzung innerhalb der Chromosomen abhängig sein können (Clark and Felsenfeld, 1972).

Die Reverse-Bänder (Dutrillaux et Lejeune, 1971) gaben einen weiteren Hinweis über die Basenzusammensetzung der Chromosomen. Werden Chromosomen in cytologischen Präparaten einer dosierten Hitzebehandlung ausgesetzt, die zu einer teilweisen Denaturierung der DNS führt, so sollten AT-reiche Abschnitte eher denaturiert werden als GC-reiche Areale. Native, also doppelsträngige DNS, gibt mit Acridinorange eine gelbgrüne Fluoreszenz, einsträngige, also denaturierte DNS, eine schwächere, rötliche Fluoreszenzfarbe. Werden dosiert denaturierte Chromosomenpräparate mit Acridinorange gefärbt, so ergibt sich ein Muster aus abwechselnd hell-gelbgrünen und dunkelroten Abschnitten. Dieses Muster ist mit einigen wenigen Ausnahmen (im konstitutiven Heterochromatin) ein genaues Negativbild der Quinacrin-Bänder und wird daher Reserve-Muster genannt.

Die dunkelroten, also denaturierten Abschnitte liegen an den Quinacrin-Bändern entsprechenden Stellen der Chromosomen. Damit ist für die Quinacrin-Bänder eine Konzentration von AT-reicher DNS wahrscheinlich gemacht, die, wie oben ausgeführt, leichter denaturiert wird als GC-reiche DNS.

Bei Bindungs-Versuchen zwischen DNS-Arten verschiedener Basenzusammensetzung (aus Bakterien) und Quinacrin fanden Weisblum und DeHaseh (1972) eine verstärkte Bindung von Quinacrin und AT-reicher DNS. Ausserdem wurde gezeigt, dass AT-reiche DNS die Quinacrin-Fluoreszenz verstärkt, die dagegen durch GC-Basenpaare abgeschwächt wird. Weisblum (1973) zeigte auch, dass ein bestimmter Fluoreszenzfarbstoff, Hoechst 33 258, ein Benzimidazol, mit DNS eine strikt dem AT-Gehalt entsprechende Fluoreszenzintensität ergibt (Abb. 2). Die mit Hoechst 33 258 erhaltenen Muster ähneln wieder den Quinacrin-Mustern weitgehend.

Gleichzeitig konnte die AT-reiche Natur der Quinacrin-Bänder noch sehr elegant mit Hilfe der Immunfluoreszenz belegt werden (Dev et al., 1972). Anti-Adenosin ergibt ein Muster, das der Quinacrin-Fluoreszenz entspricht, Anti-Cytidin ein dem Reverse-Muster analoges Banding (Schreck et al., 1973).

Die chemische Grundlage für die Bändermuster liegt daher zweifellos in Verschiedenheiten der Basenverteilung längs der Chromosomen. Indirekt besagt dies auch, dass die Bänder aus zumindest teilweise repetitiver DNS bestehen müssen; sonst wäre eine bereits lichtmikroskopisch erkennbare ungleiche Verteilung der Basen nicht zu erwarten.

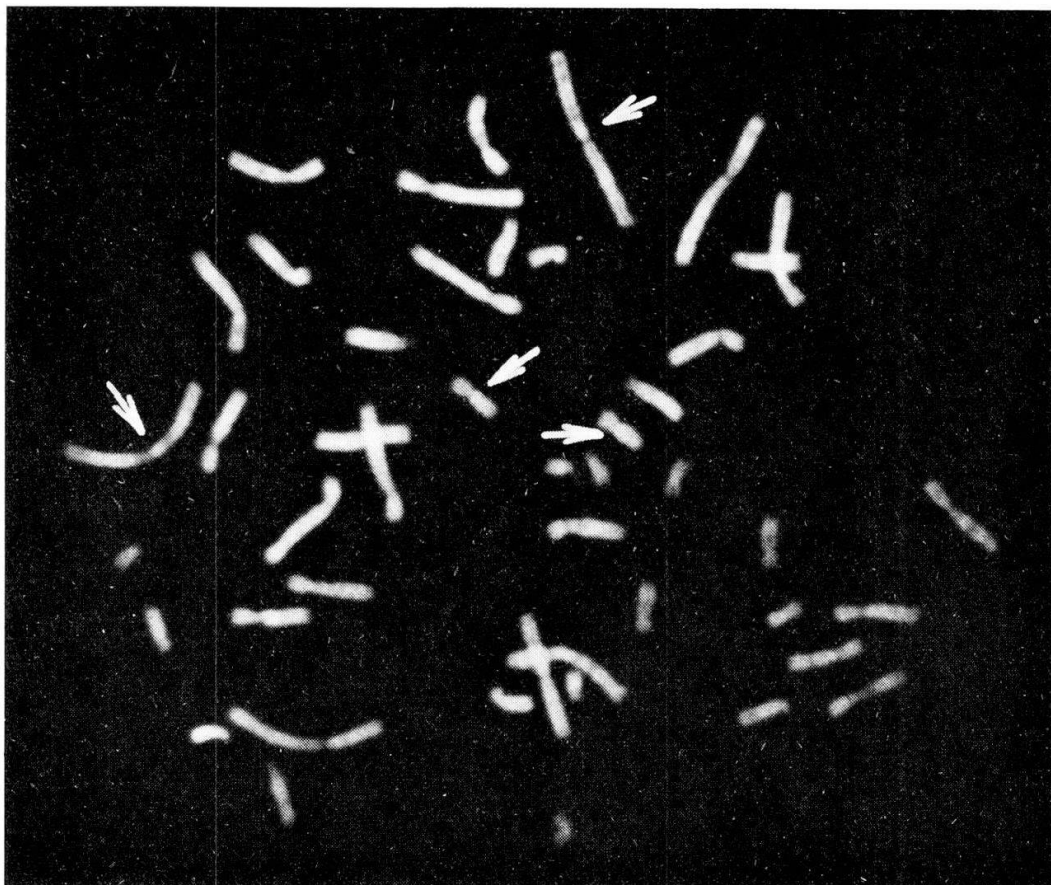


Abb. 2 Metaphase (Mensch), Fluoreszenzaufnahme nach Färbung mit Hoechst 33 258. Die Chromosomen zeigen ein Muster, das weitgehend der Quinacrin-Fluoreszenz entspricht. Abweichend davon zeigen die sekundären Konstruktionen der Chromosomen Nr. 1 und 16 intensive Fluoreszenz (Pfeile).

Unter Verwendung eines Antikörpers gegen die seltene Base 5-Methylcytosin konnte gezeigt werden, dass dieser Baustein, der beim Menschen ca. 1 % der DNS ausmacht, in ganz bestimmten Regionen der Chromosomen, die das konstitutive Heterochromatin ausmachen, konzentriert vorkommt (Miller et al., 1974). Es sind dies die sekundären Konstriktionen der Chromosomen 1, 9 und 16, der distale Abschnitt des Y und, unerwartet, der kurze Arm des Chromosoms Nr. 15 (Miller et al., 1974). Bei der Untersuchung von Chromosomen anderer Spezies zeigte sich, dass auch bei Maus, Schimpanse, Gorilla, Rind, Schaf und Ziege (Schnedl et al., 1975; Schnedl et al., 1976) das konstitutive Heterochromatin Konzentrationen von 5-Methylcytosin darstellt. Unter Umständen ist diese Base also für dieses chromosomale Material charakteristisch.

Noch vor der Entwicklung der Bänderungsmethoden gab eine Methode einen Hinweis dafür, dass längs der Chromatiden mit Hilfe des Lichtmikroskops auflösbare Unterschiede bestehen: die Untersuchung der Spätreplicationsmuster unter Verwendung von ³H-Thymidin-Markierung und Autoradiographie. Diese Befunde wurden besonders durch die Arbeiten von Schmid (1963) genau dokumentiert. Nach der Entdeckung der Quinacrin-Muster wurde gezeigt, dass diese Spätreplicationsmuster ungefähr dem Quinacrin-Muster entsprechen (Ganner und Evans, 1971; Calderon und Schnedl, 1973).

Später zeigten Zakharov et al. (1974), dass BrdU, das die Zelle anstelle von Thymidin in die DNS einbaut, verschiedene Effekte auf das Chromatin hat. Wird z.B. eine Zelle am Ende der S-Phase mit BrdU markiert, so sind die Regionen der Chromosomen, die BrdU enthalten, verdünnt und gestreckt (Zakharov et al., 1974). Mit dieser Methode erhält man also ebenfalls ein Spätreplicationsmuster der Chromosomen, das so detailreich ist, dass es zur Identifikation der Chromosomen verwendet werden kann. Besonders eindrucksvoll ist die Dehnung des spätreplicierenden X-Chromosoms bei der Frau.

Dieses BrdU-Spätmarkierungsmuster ist nach gewöhnlicher Giemsa-färbung erkennbar, aber auch im Akridinorange-Fluoreszenzbild deutlich. Bei Verwendung letzteren Verfahrens werden die BrdU-enthaltenden Areale nach einigen Minuten dauernder UV-Bestrahlung an schwächerer rötlicher Fluoreszenz erkannt, wogegen die übrigen Regionen noch hellgrünlich bleiben.

Merkwürdigerweise ist die Dehnung der Chromatiden nur ausgeprägt, wenn BrdU erst am Ende der Synthesepériode zugesetzt wird. Werden z.B. zwei ganze aufeinanderfolgende Zyklen mit BrdU markiert, so ist die Dehnung der Chromatiden zwar nachweisbar, aber geringer (Zakharov et al., 1972).

Mit einer solchen Technik lässt sich die Segregation der Chromatid-untereinheiten gut nachweisen. Werden zwei aufeinanderfolgende Synthesephasen mit BrdU markiert, so sind die Chromosomen der darauffolgenden Mitose in ihren beiden Chromatiden ungleich markiert; eine Chromatide ist in beiden Untersträngen, die andere nur in einem Unterstrang markiert (Abb. 3). Die Chromatiden unterscheiden sich auch in der Markierung, wenn nur die erste Synthesepériode mit BrdU markiert wurde (Abb. 3).

In beiden Fällen kann der Unterschied im Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht werden, und zwar mit Acridinorange (Dutrillaux et al., 1974) oder Hoechst 33 258 (Latt, 1974). Unter Verwendung letzteren Farbstoffes und einer anschließenden speziellen Behandlung der Präparate kann der Unterschied der Chromatiden auch mit Giemsa-Färbung nachgewiesen werden (Perry und Wolff, 1974; Abb. 4).

Präparate, die auf solche Weise hergestellt wurden, können zu verschiedenen Untersuchungen verwendet werden. Da BrdU nur in DNS-Stränge eingebaut wird, die Thymidin enthalten, bleiben Unterstränge, die kein Thymidin besitzen, unmarkiert. Damit können sogenannte laterale Asymmetrien der DNS in gewissen heterochromatischen Regionen nachgewiesen werden. Solche Asymmetrien finden sich im Y-Chromosom (Latt et al., 1974) und in den sekundären Konstriktionen der Chromosomen 1 und 16 (Angell und Jacobs, 1975).

Schon normalerweise finden sich längs der Chromosomen sogenannte „sister chromatid exchanges“, Stellen, an denen die Markierung von der einen Chromatide auf die andere überspringt (Abb. 4). Diese Tatsache ist schon aus den früheren autoradiographischen Untersuchungen bekannt (z.B. Gibson und Prescott, 1972), kann aber heute mit Hilfe der BrdU-Markierung viel besser untersucht werden. Die durchschnittliche Zahl dieser Austausche liegt für Blutkulturen und BrdU-Markierung bei 10–12 pro Zelle. Diese Anzahl steigt sprunghaft, wenn die Kulturen belichtet werden, da es dadurch zu einer Photolyse des BrdU kommt (Ikushima und Wolff, 1974). Eine ganz krasse Vermehrung der Austausche tritt bei Verwendung von Mutagenen auf

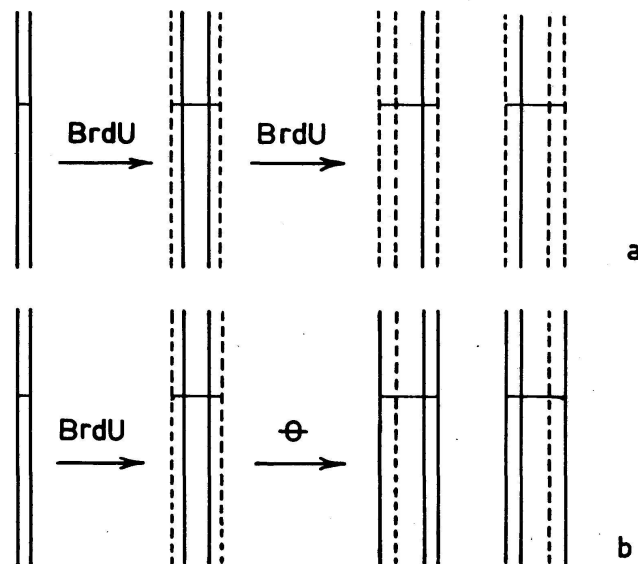


Abb. 3 Schematische Darstellung der Segregation der Chromatiduntereinheiten bei BrdU-Markierung; markierte Unterstränge strichliert. *a* Einbau von BrdU während zweier aufeinanderfolgender Zellzyklen; *b* BrdU nur während der ersten Replikationsphase anwesend. In beiden Fällen unterscheiden sich die Chromatiden der Chromosomen in der zweiten Mitose in der Markierung.



Abb. 4 Menschliche Metaphase, nachdem die zwei vorhergehenden Replikationsphasen mit BrdU markiert wurden (siehe Abb. 3a); Färbung nach Perry und Wolff (1974). Die doppelt markierten Chromatiden sind deutlich schwächer gefärbt als die nur halb markierten Chromatiden. An den Pfeilen einige Beispiele von „sister chromatid exchanges“.

(z.B. Beek und Obe, 1975); gegenwärtig wird eine lebhafte Diskussion geführt, inwieweit die Erhöhung der Austausch-Rate ein direktes Mass für die Mutagenität einer Substanz ist, da man den molekularen Zusammenhang von Mutation, DNS-Reparatursystem und sister chromatid exchange noch nicht genau kennt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in den letzten fünf Jahren die Cytogenetik um eine Reihe von Methoden und Erkenntnissen bereichert wurde, deren Auswertung noch lange nicht beendet ist.

Literatur

- Angell, R.R. and Jacobs, P.A.: Lateral asymmetry in human constitutive heterochromatin. *Chromosoma* 51, 301–310 (1975).
 Arrighi, F.E. and Hsu, T.C.: Localization of heterochromatin in human chromosomes. *Cytogenetics* 10, 81–86 (1971).

- Beek, B. and Obe, G.: The human leukocyte test system VI. The use of sister chromatid exchanges as possible indicators for mutagenic activities. *Humangenetik* 29, 127–134 (1975).
- Calderon, D. and Schnedl, W.: A comparison between quinacrine fluorescence banding and 3H-thymidine incorporation patterns in human chromosomes. *Humangenetik* 18, 63–70 (1973).
- Caspersson, T.; Zech, L.; Johansson, C. and Modest, E.J.: Identification of human chromosomes by DNA-binding fluorescent agents. *Chromosoma* 30, 215–227 (1970).
- Clark, R.J. and Felsenfeld, G.: Association of arginine-rich histone with GC-rich regions of DNA in chromatin. *Nature New Biol.* 240, 226 (1972).
- Dev, V.G.; Warburton, D.; Miller, O.J.; Millder, D.A.; Erlanger, B.F. and Beiser, S.M.: Consistent pattern of binding of anti-adenosine antibodies to human metaphase chromosomes. *Exp. Cell Res.* 74, 288–293 (1972).
- Dutrillaux, B.; DeGrouchy, J.; Finaz, C. and Leujeune, J.: Mise en évidence de la structure fine des chromosomes humains par digestion enzymatique (pronase en particulier). *C.R. Acad. Sc. Paris*, t. 273, 587–588 (1971), Série D.
- Dutrillaux, B. and Lejeune, J.: Sur une nouvelle technique d'analyse du caryotype humain. *C. R. Acad. Sc. Paris*, t. 272, 2638–2640 (1971), Série D.
- Dutrillaux, B.; Fosse, A.M.; Prieur, M. and Leujeune, J.: Analyse des échanges de chromatides dans les cellules somatiques humaines. *Chromosoma* 48, 327–340 (1974).
- Ganner, E. and Evans, H.J.: The relationship between patterns of DNA replication and of quinacrine fluorescence in the human chromosome complement. *Chromosoma* 35, 326–341 (1971).
- Gibson, D.A. and Prescott, D.M.: Induction of sister chromatid exchanges in chromosomes of rat kangaroo cells by tritium incorporated into DNA. *Exp. Cell Res.* 74, 397–402 (1972).
- Ikushima, T. and Wolff, S.: Sister chromatid exchanges induced by light flashes to 5-bromodeoxyuridine- and 5-iododeoxyuridine substituted chinese hamster chromosomes. *Exp. Cell Res.* 87, 15–19 (1974).
- Latt, S.A.: Sister chromatid exchanges, indices of human chromosome damage and repair: detection by fluorescence and induction by Mitomycin C. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 71, 3162–3166 (1974).
- Latt, S.A.; Davidson, R.L.; Lin, M.S. and Gerald, P.S.: Lateral asymmetry in the fluorescence of human Y chromosomes stained with 33 258 Hoechst. *Exp. Cell Res.* 87, 425–429 (1974).
- Miller, O.J.; Schnedl, W.; Allen, J. and Erlanger, B.F.: 5-Methylcytosine localised in mammalian constitutive heterochromatin. *Nature* 251, 636–637 (1974).
- Perry, P. and Wolff, S.: New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. *Nature* 251, 156–158 (1974).
- Schmid, W.: DNA replication patterns of human chromosomes. *Cytogenetics* 2, 175–193 (1963).
- Schnedl, W.: Analysis of the human karyotype using a reassociation technique. *Chromosoma* 34, 448–454 (1971).
- Schnedl, W.; Dev, V.G.; Tantravahi, R.; Miller, D.A.; Erlanger, B.F. and Miller, O.J.: 5-Methylcytosine in heterochromatic regions of chromosomes: chimpanzee and gorilla compared to the human. *Chromosoma* 52, 59–66 (1975).
- Schnedl, W.; Erlanger, B.F. and Miller, O.J.: 5-Methylcytosine in heterochromatic regions of chromosomes in Bovidae. *Humangenetik* 31, 21–26 (1976).
- Schreck, R.R.; Warburton, D.; Miller, O.J.; Beiser, S.M. and Erlanger, B.F.: Chromosome structure as revealed by a combined chemical and immunochemical procedure. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 70, 804–807 (1973).
- Seabright, M.: The use of proteolytic enzymes for the mapping of structural rearrangements in the chromosomes of man. *Chromosoma* 36, 204–210 (1972).

- Weisblum, B. and DeHaseth, P.L.: Quinacrine, a chromosome stain specific for deoxyadenylate-deoxythymidylate-rich regions in DNA, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 69, 629–632 (1972).
- Weisblum, B.: Fluorescent probes of chromosomal DNA structure: three classes of acridines. *Cold Spring Harbor Symp.* XXXVIII: 441–449 (1973).
- Zakharov, A.F. and Egolina, N.A.: Differential spiralization along mammalian mitotic chromosomes. I. BUdR-revealed differentiation in chinese hamster chromosomes. *Chromosoma* 38, 341–365 (1972).
- Zakharov, A.F.; Baranovskaya, L.I.; Ibraimov, A.I.; Benjusch, V.A.; Demintsera, V.S. and Oblapenko, N.G.: Differential spiralization along mammalian mitotic chromosomes. II. 5-Bromodeoxyuridine and 5-Bromodeoxycytidine revealed differentiation in human chromosomes. *Chromosoma* 44, 343–359 (1974).

4. Schweizerische Arbeitsgemeinschaft für Umweltforschung
Association suisse pour la recherche sur l'environnement

2. SAGUF-Symposium

Zukunftsorientierte Planung für den Umweltschutz (Gewässerschutz)

H. Mislin (Carona/Lugano): Einführung

Die Thematik drängte sich schon im Hinblick auf das bedenkliche Faktum auf, dass in unserer Industriegesellschaft der Wasserverbrauch sich bisher alle 10 Jahre etwa verdoppelt und dass ausser der mengenmässigen Belastung des Grund- und Oberflächenwassers die Qualität durch eine grosse Zahl von Umwelteinwirkungen negativ beeinflusst wird. Hierbei spielt die chronische Chemisierung bzw. Vergiftung der Gewässer eine entscheidende Rolle. Zur Diskussion der Auswege, Abhilfen und Lösungen wurden – wie die nachstehenden kurzen Zusammenfassungen zeigen – vor allem Praktiker aus den verschiedenen Landesteilen eingeladen. Dabei wurden insbesondere die Grenzen des technisch Möglichen behandelt, desgleichen auch Fragen der wechselseitigen Beeinflussung veränderter Umweltbereiche. Zentrales Anliegen dieses Symposiums ist das Problem der Ökologie, also des Zusammenlebens und Aufeinander-Angewiesenseins aller Lebensbereiche gewesen. Am Umweltbereich Wasser wurde deutlich gemacht, dass wir heute oft unverantwortlich sorglos auf Kosten unserer Nachkommen leben, denn die instabilen Systeme, die wir selbst geschaffen haben, drohen erst in der nächsten oder auch erst übernächsten Generation umzukippen.

1. H.R. Wasmer (EAWAG):

Wirkung und Grenzen von Umweltschutzmassnahmen

Einleitend wird auf die Problematik der Quantifizierung von Umweltbelastungen hingewiesen. (Der Vorentwurf zu einem Bundesgesetz über den Umweltschutz dient dazu als Leitgedanke.)

Als mögliche Lösung zur Quantifizierung von Umweltbelastungen wird der Energieumsatz vorgeschlagen. Das Potential der Umweltbelastungen (ausgedrückt in Bruttosozialprodukt/Energieverbrauch) zeigt für die verschiedenen Länder erstaunliche Unterschiede. Aus der wirtschaftlichen Struktur (Primär-, Sekundär- oder Tertiärsektor) ergeben sich bereits Grenzen für die Wirkung von Umweltschutzmassnahmen.

Die Wirkung technischer Umweltschutzmassnahmen ist in erster Linie beschränkt durch die Produktionsverfahren selbst und die Art des Verbrauches von Gütern. Dissipativer Verbrauch (z.B. Pb als Treibstoffzusatz) würde einen sehr grossen Aufwand erfordern, wenn bei unverändertem Verbrauchsmodus die Endbelastung reduziert werden müsste. Ein Recycling dissipativ verbrauchter Stoffe ist wirtschaftlich kaum denkbar.

Technische Umweltschutzmassnahmen (Reinigungsanlagen) sind als solche wiederum mit einem gewissen Energieaufwand verbunden. Die durch Umweltschutzmassnahmen erreichte Verminderung der Umweltbelastung lässt sich nicht beliebig weitertreiben. Aufwand und erzielte Verminderung der Belastung stehen in keinem proportionalen Verhältnis. Massgebendes Kriterium für den Umweltschutz ist jedoch nur die schliesslich verbleibende Restbelastung. Thermodynamische Überlegungen zeigen, dass durch die Berücksichtigung von Sekundärverunreinigungen (d.h. Belastungen, die durch die Umweltschutzmassnahmen selbst verursacht werden) die allein aufgrund technischer Massnahmen (end of pipe measures) zu erwartenden Auswirkungen für den Umweltschutz relativ eng begrenzt sind.

2. E. Bosset (Inspecteur cantonal des eaux, Lausanne):
Prévention de la pollution des eaux par des mesures prises à la source

La meilleure façon de lutter contre la pollution des eaux souterraines et superficielles et, par conséquent, d'exclure ses effets dommageables tant au plan social que du point de vue économique, est de la prévenir à l'origine même, par des mesures propres à supprimer les causes.

Les moyens à disposition sont de quatre ordres:

a) Collecte, concentration et élimination des polluants contenus dans les eaux usées domestiques et celles résiduares industrielles et artisanales.

Conformément à la loi fédérale du 8 octobre 1971 sur la protection des eaux contre la pollution, il incombe à chaque entreprise, chaque collectivité, voire tout particulier lorsque son habitation ou son exploitation ne peut être raccordée au réseau public d'égouts, de prendre les mesures techniques adéquates et d'en contrôler l'efficacité, ceci même s'il s'agit de prétraitements destinés à éliminer à la source les matières qui par leur nature, leur concentration ou leur température sont susceptibles de perturber le fonctionnement mécano-biologique de la station d'épuration collective ou de corroder, sinon d'incruster les canalisations d'égouts et les installations de relèvement des eaux usées.

Dans un pays de libre entreprise, il appartient à l'industrie non seulement de découvrir un procédé ou de mettre au point un produit nouveau, mais aussi de résoudre les problèmes d'évacuation, de traitement et de recyclage de ses déchets. C'est d'ailleurs dans son intérêt de restreindre les pertes de matières premières, sinon intermédiaires ou auxiliaires non négligeables. Il est aussi du devoir des collectivités, d'une part de construire et de maintenir en activité les installations d'épuration nécessaires, d'autre part de les entretenir et de les perfectionner, en tenant compte des progrès réalisés dans les techniques de traitement.

b) Localisation, canalisation et rétention, par des mesures techniques appropriées, des fuites et pertes de produits nocifs sur les aires de stockage, de transvasement, de fabrication, de production et de traitement.

Il s'agit essentiellement de mesures générales de protection ou, mieux, de sécurité primaire, qui consistent en dispositions techniques en matière de

construction, d'équipement et d'entretien des réservoirs, tuyauteries, places de transvasement, installations de fabrication, de production, de traitement, doivent être prises dans toutes les zones de protection définies par l'Ordonnance fédérale du 19 juin 1972 sur la protection des eaux contre leur pollution par des liquides pouvant les altérer et conformément aux prescriptions techniques fédérales du 27 décembre 1967 applicables à l'entreposage des produits liquides nuisibles pour les eaux. Dans les zones de protection A et B, des mesures spéciales complémentaires de protection, dites de sécurité secondaire, sont exigées en raison d'un danger particulier de pollution. Elles visent la détection des fuites et, en sus, leur rétention totale dans la zone A, compte tenu de l'importance économique des eaux en cause.

c) Prise de mesures individuelles propres à empêcher tout accident et toute contamination intempestive des eaux aussi bien souterraines que superficielles.

La lutte contre la pollution des eaux implique une discipline librement consentie, un effort volontaire soutenu de la part de chaque collectivité et entreprise, ainsi que de tout particulier, en bref une prise de responsabilité individuelle dans la protection de ressources naturelles fondamentales pour l'existence et l'économie du pays.

d) Enfin, création de zones de protection des captages d'eaux souterraines, c'est-à-dire de périmètres grevés de servitudes interdisant ou restreignant, selon les conditions hydrogéologiques locales, les épandages d'engrais naturels, de boues d'épuration, etc., ainsi que l'aménagement d'installations de stockage, de transvasement, de production et de traitement de produits liquides présentant un danger pour les eaux, voire la pose de canalisations d'égouts.

En L'occurrence, il s'agit essentiellement des aires constituant les zones de captage et de protection rapprochée, au sens de l'Ordonnance fédérale du 19 juin 1972 mentionnée plus haut.

Il est clair que la protection sanitaire des eaux souterraines destinées à l'alimentation exige, en premier lieu, leur captage selon les règles de l'art, et que ces eaux soient dérivées et distribuées par des installations offrant toutes garanties sur le plan de l'hygiène.

Les mesures pour prévenir la pollution des eaux sont sans conteste coûteuses. Elles sont cependant indispensables, eu égard aux incidences économiques et sociales de ce véritable fléau. Encore faut-il se garder d'un perfectionnisme inutile, dû à l'intervention centralisatrice croissante d'une administration fédérale formée de théoriciens peu informés de la diversité des cas pratiques à résoudre par les cantons, les collectivités locales et les entreprises artisanales et industrielles.

En revanche, la répression des délits de pollution et des infractions aux dispositions réglementaires en matière de protection des eaux doit se traduire par des sanctions énergiques, seule arme dissuasive efficace.

3. B. Ferrini (Lugano): Methodik und Umweltschutzkoordination

Es wurde ausgegangen vom Faktum, dass jedes unsachgemässe Eingreifen in die Regelkreise der Biosphäre wieder auf den Menschen und seine Gesundheit zurückfällt und bei Einbeziehung der Industriegesellschaft und ihrer Abfallprodukte ein stets globaler Kreisprozess in Gang gesetzt wird. Eine optimale Steuerung dieses Prozesses verlangt aber in jedem Fall, Eingriffe in den Komplex „Umwelt“ in allen Wechselbeziehungen zu durchdenken. Es wurde gezeigt, dass kleine Veränderungen innerhalb von Teilbereichen durch die gegenseitige Verkettung sowohl zu Schäden als auch zu Verbesserungen führen können, die für den Betrachter isolierter Teilprobleme völlig überraschend sind. Die Untersuchung der einzelnen Systemzusammenhänge zeigt in der Tat, dass man der Problematik der Umweltschädigung nicht gerecht wird, wenn man ausschliesslich direkte statt auch verzweigte Ursachenketten betrachtet. Am Beispiel der Unternehmung „Monte Forno“ wurde die adäquate Methodik und Umweltschutzkoordination näher ausgeführt.

4. H. Bretscher (Ciba-Geigy, Basel): Lösung der Abwasserprobleme bei der Herstellung von Antibiotika am Beispiel des Werkes FERVET S.p.A.

Besprochen wird die Behandlung des Abwassers eines Werkes, das Antibiotika herstellt.

Das von festen Anteilen (Mycelien) und Lösungsmitteln befreite Abwasser wird nach folgenden vier Verfahren auf die bestmögliche Beseitigung der Verunreinigungen untersucht:

1. Mehrstufenverdampfung, Verbrennen des Konzentrats, dann Deponie des Rückstandes und Adsorption der in den Brüden vorhandenen organischen Verbindungen an Aktivkohle
2. Mehrstufenverdampfung wie oben und Brüdenoxidation bei 800 °C
3. Physikalisch-chemisch-biologische Abwasserreinigungsanlage mit anschliessender Aktivkohlebehandlung
4. Physikalisch-chemisch-biologische Abwasserreinigungsanlage mit Nitrifikation des $\text{NH}_4\text{-N}$ und Denitrifikation durch Ansäuern, dann Neutralisation.

Die nach ökologischen, technischen und finanziellen Aspekten durchgeführte Evaluierung der vier Verfahren zeigt eindeutig die Überlegenheit der Mehrstufenverdampfung mit Adsorption der in den Brüden vorhandenen organischen Verbindungen an Aktivkohle. Daneben werden die weiteren Verwertungsmöglichkeiten der festen Abfälle und Lösungsmittel aufgezeigt und der Wärmekreislauf der Reinigungsanlagen besprochen.