

Die mikroskopischen Untersuchungen ergaben, daß die Zelldichte in den verschiedenen Läsionen nicht wesentlich differenzierte, einerlei, ob diese durch „gemahlene“ oder „geschnittenen“ Asbest hervorgerufen worden waren. Das gleiche gilt für die Anzahl der Rundzellen und Riesenzellen, die in den einzelnen Läsionen nicht wesentlich differenzierte. Unterschiede fanden sich aber im Gehalt an Fibrocyten und Monocyten. In sämtlichen, durch „geschnittenen“ kurzfasrigen oder längerfasrigen Asbest hervorgerufenen Läsionen überwogen von Anfang an die Fibrocyten, deren prozentualer Anteil an der Gesamtzellzahl von der 2. bis zur 16. Woche zwischen 60% und 80% lag. In den durch gemahlene Asbest verursachten Läsionen überwogen dagegen bis zur 4. Woche zunächst die Monocyten; erst ab der 8. Woche war die Anzahl der Fibrocyten größer als die der Monocyten. In der 16. Woche war dann die Zahl der Fibrocyten annähernd gleich groß wie in den durch „geschnittenen“ Asbest verursachten Läsionen. Aus diesen und anderen in unserem Institut durchgeführten Versuchen sowie Untersuchungen menschlicher Lungen [2] geht hervor, daß die „Transportfähigkeit“ der Fasern eine entscheidende Rolle spielt, ob eine Asbestose entsteht oder nicht.

Eingegangen am 4. Mai 1970

[1] Friedrichs, K.-H.: im Druck. — [2] Hunt, R.: Cleckheaton: BBA Group Limited 1969.

The Organic Matrix of Developing Tibia and Femur, and Macromolecular Deliberations

Electronmicroscopical Electronprobe X-ray Microanalysis

H. J. HÖHLING, H. SCHÖPFER, and R. A. HÖHLING

Institut für Medizinische Physik, Universität Münster, Bundesrepublik

T. A. HALL

Cavendish Laboratory, Dept. Electronmicroscopy, Cambridge, England

R. GIESEKING

Pathologisches Institut, Universität Münster

In electron probe microanalyses of *cryostat sections* of predentine in rat incisors, we have observed calcium massfractions in the range 0.2–0.4% and phosphorus values of 1–4%. The Ca/P mass ratios were low, often only 1/10 of the ratio in apatite. In *alcohol-fixed* sections of the same material, which had contact with H₂O, the range of Ca values was the same but the P values were reduced to about 0.06%, indicating that the phosphate groups had been mainly unbound or loosely bound; so the Ca/P ratios in these sections were well above apatitic [1]. In ultrathin sections of *alcohol-fixed* tibia diaphysis of chicken embryo the Ca/P ratios were again quite high, ranging up to more than 4 times the apatitic value in the unmineralized matrix (the Ca mass-fraction less than 1%), while the Ca/P ratios were slightly below apatitic in a matrix with already many dotlike nuclei or in which the tissue was fully mineralized [2].

In the experiments reported here, *freeze-dried* pieces of tibia and femur diaphysis of chicken embryo were directly embedded in methacrylate without contact with any fluid. With the electron microscope-microanalyser of Duncumb, quantitative Ca and P measurements were carried out in the unmineralized matrix in ultrathin sections. One group of ultrathin sections was prepared with no contact with water and in a second group the time of contact was only 15–45 sec. In the 4 measurements of the first group the Ca mass-fractions were in the range 0.4–0.9% and the P values in the range 0.5–1.1%; in the 20 determinations of the second group the Ca values were in the range 0.15–0.4% and the P values 0.15–0.33%. The Ca/P mass ratios for the first group were 0.5–0.85 and for the second group 0.6–1.9, the high end of the range occurring only in microareas where dotlike nuclei were apparent (Ca/P in apatite, by weight: 2.15). The Ca/P ratios for *just mineralized* areas were again slightly below apatitic.

The results lead to the conclusion that in the matrix of tibia and femur diaphysis as well as in rat-incisor predentine, in the prestage of nucleation Ca is bound to the matrix, surrounded by some surplus of poorly bound PO₄ groups which become only gradually more strongly bound to Ca. Concerning the

meaning of these Ca mass-fractions in macromolecular dimensions, it has been suggested [3] that the *distance* between the neighbouring *dotlike nuclei* within the calcium phosphate “rows” or needles — which are seen in just mineralized tissue — is the distance between the *active nucleating sites* along the matrix-chain while the distance between these needles, which lie parallel and close to each other, is the distance between the neighbouring matrix-chains. According to [3] and especially newer results [4] we might assume in first approximation a periodicity of 45 Å for both spacings. Under the further assumption that the bound calcium is concentrated at these active sites, a simple calculation shows that a Ca mass-fraction in the range 0.2–1% implies 3–14 Ca atoms per nucleation site, indicating that even at this prestage of nucleation, where nuclei are not yet visible in the electron microscope, *several* calcium atoms (clusters?) already appear at the sites where nuclei will develop.

We thank Deutsche Forschungsgemeinschaft for support.

Received May 4 and June 8, 1970

[1] Höhling, H. J., et al.: Calc. Tiss. Res. 2, Suppl. 5 (1968). — [2] Höhling, H. J., et al., in: Les Tissus Calcifiés, p. 323. Ed. by G. Milhaud, M. Owen and H. J. Blackwood. Paris: Société d'Édition d'Enseignement Supérieur 1968. — [3] Höhling, H. J., Schöpfer, H.: Naturwissenschaften 55, 545 (1968). — [4] Scholz, F.: Medical Thesis. Inst. f. Med. Physik, Münster (1970).

Diploide, heterozygote Gametophyten bei der Braunalge *Ectocarpus siliculosus*

DIETER G. MÜLLER

Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Köln

In Kulturversuchen an zwei Klonen von *Ectocarpus siliculosus* [Dillw.] Lyngb. aus Neapel wurden neuerdings genotypische Geschlechtsbestimmung und Diözie festgestellt. Außerdem entstand in den Kulturen spontan ein tetraploider, homozygot männlicher Sporophyt, aus dem diploide männliche Gametophyten gewonnen werden konnten [1]. Es schien reizvoll, zu versuchen, diploide heterozygote Geschlechtspflanzen herzustellen und das Verhalten ihrer Gameten zu untersuchen. Im diploiden Zustand könnte ein Geschlecht dominieren [2], oder es könnten monözische Pflanzen entstehen [3]. *Ectocarpus siliculosus* ist hier von besonderem Interesse, weil bei dieser Art Gametophyten vorkommen, deren Gameten sowohl mit eindeutig weiblichen als auch mit männlichen Gameten kopulieren, also „relativ sexuell“ sind [4].

Für die Versuche wurde von den Pflanzen R-B1 (haploider männlicher Gametophyt) und D-A2 (haploider weiblicher Gametophyt) ausgegangen. Aus dem spontan entstandenen tetraploiden, homozygot männlichen Sporophyten wurde nach einer Reduktionsteilung ein diploider, homozygot männlicher Gametophyt erhalten. Ein diploider, homozygot weiblicher Gametophyt wurde durch Colchicin-Behandlung vegetativer Fadenzellen der Pflanze D-A2 hergestellt. Gameten dieser beiden diploiden Pflanzen wurden zusammengebracht, eine Kopulation mikroskopisch beobachtet, die entstandene Zygote markiert und isoliert aufgezogen. Es entstand ein tetraploider Sporophyt, der seiner Entstehung gemäß heterozygot bezüglich seiner Geschlechtsfaktoren sein mußte. Tetraploide Nachkommen dieser Pflanze wurden bei +13 °C aufgezogen, um Meiose und Bildung unilokulärer Sporangien zu induzieren. Vier unilokuläre Sporangien wurden isoliert und die aus den Gonosporen entstehenden diploiden Gametophyten einzeln aufgezogen. Durch Kombination ihrer Gameten mit denen der Ausgangspflanzen D-A2 und R-B1 wurde ihr Geschlecht festgestellt. Das Geschlecht einer Pflanze galt erst dann als bekannt, wenn mindestens eine Fusion zwischen zwei Gameten mikroskopisch beobachtet worden war.

Alle 44 geprüften diploiden Gametophyten aus vier unilokulären Sporangien reagierten männlich (Tabelle 1, A-D). Um unter diesen Gametophyten mögliche Heterozygote zu finden, mußten ihre Nachkommen nach einer erneuten meiotischen Aufspaltung der Geschlechtsfaktoren untersucht werden. Dazu wurden von zwei diploiden Gametophyten Gameten entnommen und bei +13 °C in Kulturschalen gebracht. Es entstanden parthenogenetisch diploide Sporophyten, in deren unilokulären Sporangien Meiose stattfand. Solche unilokulären Sporangien wurden isoliert und die aus den Gonosporen entstandenen, nunmehr haploiden Gametophyten auf ihr

Tabelle 1. Prüfung des Geschlechts der aus einer Meiose hervorgegangenen Gametophyten

Nachkommen aus unilokulärem Sporangium	Gametophyten insgesamt	Davon auf Geschlecht geprüft	Geschlechtsverteilung		Sporophyten
			♀	♂	
Miose tetraploid zu diploid					
A	19	4	0	4	6
B	29	7	0	7	12
C	39	4	0	4	32
D	29	29	0	29	4
Miose diploid zu haploid					
D-25	112	20	7	13	1
D-3	100	15	6	9	1

Tabelle 2. Kombination von Gameten mit verschiedener genetischer Zusammensetzung und Kernphase. +: Kopulation und Zygoten beobachtet; -: weder Kopulation noch Zygoten beobachtet

	♀ 2n homozygot	♀ n	Gametophyten 2n heterozygot	♂ 2n homozygot	♂ n
♀ 2n homozygot	—				
♀ n	—	—			
Gametophyten 2n heterozygot	+	+	—		
♂ 2n homozygot	+	+	—	—	
♂ n	+	+	—	—	—

Geschlecht geprüft. Es traten männliche und weibliche Pflanzen auf. (Die neben Gametophyten aus den Gonosporen in geringerer Zahl entstehenden Sporophyten sind zwar in ihren Geschlechtsfaktoren ebenfalls determiniert, können jedoch nicht unmittelbar auf ihr Geschlecht geprüft werden.) Diploide Gametophyten, die bezüglich ihrer Geschlechtsfaktoren heterozygot sind, reagieren also phänotypisch männlich, d. h. die männlichen Faktoren sind dominant (Tabelle 1, unten). Gametenkombinationen mit den bei diesen Experimenten gewonnenen Gametophyten unterschiedlicher genetischer Zusammensetzung und Kernphase ergaben stets strenge Diözie (Tabelle 2). Diese Versuche bestätigen die bei *Ectocarpus siliculosus* aus Neapel gefundene genotypische Geschlechtsbestimmung und Diözie. Sie zeigen ferner, daß die männlichen Erbfaktoren im heterozygot diploiden Zustand dominant sind. An den verwendeten Kulturen sind keine Anzeichen für „relative Sexualität“ zu erkennen.

Eingegangen am 21. Mai 1970

[1] Müller, D. G.: *Planta* 75, 39 (1967). — [2] Ebersold, W. T.: *Science* 157, 447 (1967). — [3] Hoffmann, A.: *Z. Vererbungslehre* 87, 753 (1956). — [4] Hartmann, M.: *Arch. Protistenk.* 83, 110 (1934).

Zur Zusammensetzung glatt- und rauhschaliger Äpfel

W. LIEGEL

Institut für Obstbau und Gemüsebau der Universität Hohenheim

Bei glatt- und rauhschaligen, vergleichbaren Äpfeln ein und derselben Sorte sind Unterschiede in der Zusammensetzung der Fruchtschale zu erwarten, denn der „Berostungsvorgang“ beruht auf der partiellen Neubildung eines sekundären Abschlußgewebes (Periderm). Nach Schwerdtfeger und Buchloh [1] wird die Epidermis nach vollzogener Korkbildung rasch abgestoßen.

Die Daten der Tabelle 1a bestätigen Unterschiede für einige mineralische Bestandteile: Gegenüber den glatten Fruchtschalen enthalten rauhe mehr Ca, Mn, Cu und Zn. Auffallend ist das geringere Vorkommen von Kalium. Zwischen Schalen- und parenchymatischem Fleischgewebe besteht allgemein ein Konzentrationsgefälle für alle analysierten Elemente, schwach ausgeprägt ist dieses bei K, am deutlichsten bei Zink. Fast immer liegen die Gehalte der quantitativ erfaßten mineralischen Stoffe in den Fleischpartien berosteter Äpfel höher als im entsprechenden Parenchym glattschaliger Früchte. Das trifft auch für die freien titrierbaren Säuren und Zucker (Tabelle 1b) zu.

Tabelle 1. a) Mineralische Zusammensetzung [mg/100 g T. S.] der Fruchtschalen von Äpfeln. Probenentnahme: Anfang August.

b) Gehalt [% Fr.-Gew.] an Gesamtzucker, freien reduzierenden und hydrolysierbaren Zuckern (berechnet als Glucose bzw. Saccharose) von Fruchtfleischgewebe. Probenentnahme: Anfang August

a) Sorte	Fruchthaut	K	Mg	Ca	Fe	Mn	Cu	Zn
Boskoop	glatt	1280	65	40	3,0	0,3	0,40	2,6
	rauh	1250	65	50	2,8	0,4	0,45	3,2
Cox	glatt	1130	60	45	4,3	1,1	—	2,8
	rauh	990	60	70	3,0	2,3	—	3,2
Golden Delicious	glatt	870	50	60	3,0	1,1	0,25	1,1
	rauh	770	50	75	2,5	1,4	0,50	3,3
b) Sorte	Fruchthaut	Ges.-Zucker	freie red. Zucker	Saccharose				
Boskoop	glatt	9,3	6,2	3,1				
	rauh	9,7	6,0	3,7				
Cox	glatt	7,8	4,8	3,0				
	rauh	9,0	5,5	3,5				

Die Befunde können in erster Linie als Ausdruck naturgemäßer Unterschiede verschiedener Gewebe (Epidermis und Periderm) gewertet werden. Ob die regelmäßig erhöhten Werte im Fleischgewebe berosteter Früchte in unmittelbarer Beziehung zur Auslösung der Berostung, d. h. zur lokalisierten Peridermbildung, stehen, bleibt offen. Denkbar scheint ein Zusammenhang mit dem Stärkehaushalt, vor allem mit dem Ausmaß des Polysaccharidabbaus und den daraus resultierenden Veränderungen des potentiellen osmotischen Wertes. Junge Früchte speichern Stärke im Parenchym, die mit zunehmender Entwicklung abgebaut wird.

Eingegangen am 22. Mai 1970

[1] Schwerdtfeger, G., Buchloh, G.: *Gartenbauwiss.* 33, 77 (1968).

Phytochrome-Mediated Increase of Galactolipids in Mustard Seedlings

G. UNSER and H. MOHR

Biologisches Institut II der Universität Freiburg i. Br.

Under continuous far-red irradiation, which maintains a steady state concentration of P_{fr} , the physiologically active form of phytochrome [1, 2], the plastids in the cotyledons of mustard seedlings (*Sinapis alba* L.) increase in size and carotenoid synthesis is enhanced [3, 4]. We now present evidence that the contents of mono- and digalactosyl-diglycerides (MGDG and DGDG), the major lipids of plastid membranes, also increase under the influence of P_{fr} (Fig. 1).

Lipids were extracted and purified on Sephadex LH-20 and the bulk of pigments and triglycerides was separated from the polar lipids by means of silica gel columns (method modified after Maxwell and Williams [5]). After separation of MGDG and DGDG by thin-layer chromatography, the two glycolipids were determined according to the method of Roughan and Batt [6]. Lipid standards were used and correction was made for lipid loss during analysis (correction factor for MGDG = 1.25, for DGDG = 1.22).