

Table I

Plant family	Number of species investigated	Number of samples analyzed		Values obtained in mg%			
		Ascorbic acid	Carotene	Ascorbic acid		Carotene	
				Range	Average	Range	Average
Polygonaceae	8	53	20	60-163	105	4.9-15.6	9.7
Chenopodiaceae	4	25	11	29-153	95	2.4-12.8	9.5
Cruciferae	11	70	24	92-334	182	6.1-13.8	8.5
Leguminosae	5	32	16	67-175	129	9.2-22.0	13.9
Umbelliferae	5	29	13	20-99	76	2.1-13.9	7.5
Labiatae	3	20	7	41-83	56	10.9-21.5	15.2
Compositae	10	74	29	19-51	37	5.1-12.5	8.5

decreased carotene content, so that the amounts of the two constituents were parallel, and the ascorbic acid/carotene ratio (a/c) remained nearly the same as in other plants of the family. A striking example showing the approximate constancy of the a/c ratio were plants of xerophytic structure. The leaves of *Salsola Kali* L., for example, were proportionally much poorer in both vitamins than the other Chenopodiaceae examined.

In Table II the calculated ratio of the ascorbic acid/carotene content (a/c), for the plant families examined, is shown.

Table II

Plant family	The calculated a/c ratio	
	Range of the species examined	Average of the family
Polygonaceae	9.2-12.2	10.8
Chenopodiaceae	8.8-12.1	10.0
Cruciferae	11.8-34.5	21.4
Leguminosae	7.3-12.3	9.3
Umbelliferae	6.3-16.5	10.1
Labiatae	3.3- 3.9	3.7
Compositae	2.6- 6.5	4.4

In Table II a certain tendency to constancy in the a/c ratio can be observed. By comparing the data of the two tables, the a/c ratio seems to be less variable and more characteristic of a given family than the ascorbic acid or carotene content itself. While the amounts of ascorbic acid and carotene in various Polygonaceae, for example, varied quite considerably (from 60 to 163 and from 4.9 to 15.6, resp.), the a/c ratio in various species of this family remained rather constant (from 9.2 to 12.2). Such is the case also with Chenopodiaceae, Leguminosae, Labiatae and Compositae. Cruciferae and Umbelliferae showed, however, a much wider range in this ratio. It is interesting to note that 4 of 7 families examined have an average a/c ratio of nearly 10.

Since the vitamin content of plant tissues varies within species between very wide limits and is influenced by many factors (soil, shade, moisture, season, stage of growth etc.), it is obvious that no conclusion concerning the exact quantitative correlation between ascorbic acid and carotene in plants can be drawn here. However, from the data of our tables it is readily apparent that the ascorbic acid/carotene ratio shows within plant families a greater tendency towards constancy than do the concentrations of these constituents themselves. This fact seems to support the view that there may be a closely

connected functional interrelationship between these two constituents in plants.

LJ. GRLIĆ

Institute for Drug Control, Zagreb, Yugoslavia, November 25, 1955.

Résumé

Les résultats des dosages parallèles d'acide ascorbique et de carotène dans les feuilles des espèces appartenant à 7 familles ont démontré une tendance à la stabilité de la proportion acide ascorbique/carotène chez les plantes apparentées. La stabilité de cette proportion chez les espèces d'une seule famille est plus marquée que celle de la teneur même des deux substances. Ce fait semble pouvoir confirmer l'idée d'une corrélation étroite dans l'action des deux substances en question.

Über die Einwirkung des Schilddrüsenhormons auf die Ossifikation

Hinsichtlich der Frage von Beziehungen der Schilddrüsenfunktion zum Kalkstoffwechsel, insbesondere über eine etwaige Einwirkung des Schilddrüsenhormons auf den Kalzifikationsvorgang bei der Knochenbildung, gehen die Ergebnisse bisheriger Untersuchungen weit auseinander: SCHULZE¹ entwickelt die Vorstellung, dass nur die Derivate des Ektoderms und des Entoderms auf den Thyroxinreiz anzusprechen vermögen, KELLER², FOX und IRVING³ und KALTENBACH⁴ haben in ihren Experimenten Hinweise auf eine Förderung der Ossifikation durch das Schilddrüsenhormon erhalten.

Für die experimentelle Klärung dieses Problems ergeben sich folgende Fragestellungen: 1. Sind bei einer durch Verabreichung von Schilddrüsenhormon ausgelösten, vorzeitigen Metamorphose bezüglich der Kalkeinlagerung im Stützgewebe Veränderungen festzustellen, die denjenigen bei der experimentell unbeeinflussten Verwandlung entsprechen? 2. Sind bei einer lokalen Thyroxineinwirkung örtlich begrenzt Veränderungen in bezug auf die Kalkeinlagerung festzustellen?

Larven von *Salamandra salamandra quadriplagiata* Dürigen wurden im geburtsbereiten Stadium dem Ute-

¹ W. SCHULZE, Roux' Arch. 101, 338 (1924).

² R. KELLER, Rev. Suisse Zool. 53, 329 (1946).

³ E. FOX und J. T. IRVING, S. Afr. J. med. Sci. 15, 11 (1950).

⁴ J. C. KALTENBACH, J. exp. Zool. 122, 21 (1953).

rus entnommen. Im Alter von 20 Tagen wurde den Versuchstieren Gelegenheit gegeben, im Aquarienwasser gelöstes Thyroxin (Roche) durch die unverletzte Haut aufzunehmen. Es entwickelten sich Tiere, die in Gestalt, Färbung und Verhalten völlig solchen Salamandern glichen, die nach ungekürztem Ablauf der Larvenperiode eine Umwandlung zum Landtier erfahren. Demgegenüber hatten unter gleichen Bedingungen, aber ohne Thyroxineinwirkung gehaltene Kontrolltiere in vollem Umfange ihre larvalen Merkmale beibehalten.

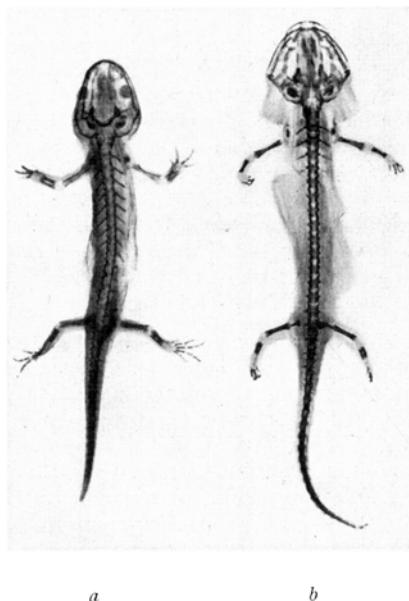


Abb. 1. Kalzifikation des Skeletts bei *Salamandra s. quadrivirgata* (Aufhellungspräparat, Alizarinfärbung), Vergrößerung 1,25 x.
a Versuchstier (Thyroxin-Einwirkung), b Kontrolle.

Auch in Bau und Struktur des Skeletts zeigen die nach einer Modifikation des Spalteholzschen Verfahrens mit Alizarin angefärbten und aufgehellten, vorzeitig metamorphosierten Salamander charakteristische Unterschiede gegenüber unbehandelten Larven (Abb. 1). Das Kopfskelett erscheint nicht nur infolge eines näheren Zusammenrückens der einzelnen Schädelknochen, sondern auch auf Grund einer Erweiterung der verkalkten Bereiche in den einzelnen Skelettelementen gedrengter gebaut. In den Röhrenknochen der Extremitäten ist eine verstärkte Kalzifikationslagerung besonders in den proximal wie distal in Richtung auf die Gelenke hin weiter ausgedehnte Knochenmanschetten festzustellen. Die deutlichste Förderung der Kalzifikationslagerung aber ist im Achsenskelett zu verzeichnen: bei den Versuchstieren hat sich die Zahl der verknöcherten freien Rippen gegenüber den unbeeinflussten Larven verdoppelt, in einander entsprechenden Rippenpaaren ist die Kalzifikationslagerung bei den Versuchstieren wesentlich intensiver.

Aus Larven von *Xenopus laevis* Daud., die 28 Tage alt im Zustand noch fast völligen Fehlens von Kalkablagerungen im Skelett durch vierzehntägige perkutane Thyroxinapplikation zur verfrühten Metamorphose gebracht wurden, entwickelten sich innerhalb von 23 Tagen Fröschen mit verstärkter Kalzifikation (Abb. 2).

Im Schädel tritt die Förderung der Kalzifikationslagerung nach Thyroxinbehandlung am auffälligsten hervor. Alle bei Kontrollen und Versuchstieren überhaupt verkalkten Skelettelemente zeigen bei den Thyroxintieren er-

heblich ausgedehntere Kalzifikationsareale. Sogar die in der Entwicklung am weitesten fortgeschrittenen Kontrollen werden an Intensität der Kalzifikationslagerung in den entsprechenden Schädelknochen von den Versuchstieren übertroffen. Bei diesen sind über solche graduellen Unterschiede hinaus in mindestens drei weiteren, bei den Kontrollen noch völlig kalkfreien Skelettelementen (Pterygoid, Squamosum, Vomer, bei einigen auch im Columellare) initiale Kalzifikationslagerungen eingetreten. In Wirbelsäule und Beckengürtel ist bei den Versuchstieren die Kalzifikationslagerung in den auch bei Kontrollen schon vorhandenen Knochen, besonders in den Wirbelbögen und dem Ilium, verstärkt. In den Querfortsätzen des Sakralwirbels, den Kreuzbeinflügeln, ist nur bei Versuchstieren Kalk nachweisbar. Darüber hinaus kommt es auch in diesen Skelettab schnitten zur Bildung neuer Verkalkungszentren in den postsakralen Wirbelkörpern und im Ischium. In Schultergürtel und Vorderextremität ist die Zahl der verknöcherten Skelettelemente bei den Thyroxintieren zwar nicht vermehrt, die Kalzifikationslagerung ist jedoch vor allem in den von Clavicula und Coracoid gebildeten Knochen spannen ausgedehnter. Die geringsten Unterschiede weisen die Hinterextremitäten auf. Zwar reichen die verkalkten Diaphysen nur bei den Versuchstieren völlig an die Gelenkköpfe heran, doch ist in diesem Skelettab schnitt, in welchem der Höhepunkt der Kalzifikation offenbar bereits auf einem frühen Entwicklungsstadium erreicht wird (KÄLIN und BERNASCONI⁵), keine wesentliche Förderung über die Norm hinaus erfolgt.

Deutlicher noch als beim Feuersalamander zeigen somit die am Krallenfrosch angestellten Untersuchungen, dass sich die Förderung der Verkalkung nach Thyroxinbehandlung in zweifacher Hinsicht äussert: 1. wird der auch bei der unbeeinflussten Entwicklung auftretende verkalkte Bereich der einzelnen Knochen erweitert, und 2. treten in anderen, bis dahin unverkalkten Skelettelementen neue Verkalkungszentren auf.

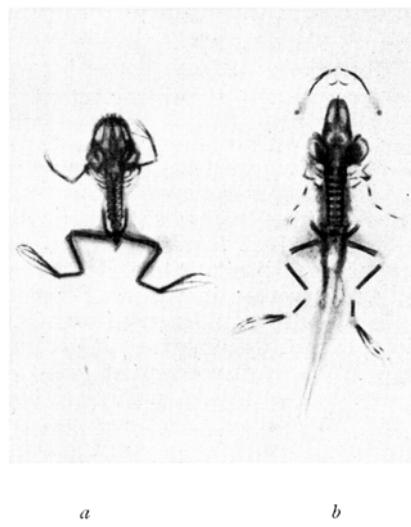


Abb. 2. Kalzifikation des Skeletts bei *Xenopus laevis* (Aufhellungspräparat, Alizarinfärbung), Vergrößerung 1,25 x.
a Versuchstier (Thyroxin-Einwirkung), b Kontrolle.

Zur Feststellung des unmittelbaren Angriffsports des Schilddrüsenhormons bei der Ablagerung von Kalksalzen im Stützgewebe wurden Thyroxin enthaltende

⁵ J. KÄLIN und A. BERNASCONI, Rev. Suisse Zool. 56, 359 (1949).

Agarstückchen bestimmter Grösse ($0,2 \text{ mm}^3$) in die rechte Hinterextremität von *Ambystoma mexicanum* implantiert (HARTWIG⁶). Das äusserre Erscheinungsbild dieser Tiere wie auch der allgemeine Befund des Skeletts weisen darauf hin, dass das örtlich gesetzte Thyroxindepot sich nicht auf den Organismus in seiner Gesamt-

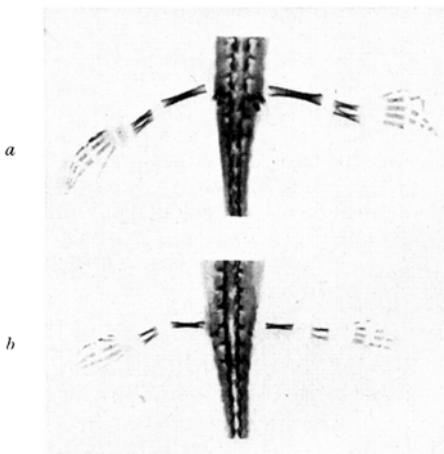


Abb. 3. Kalzifikationen der hinteren Extremitäten und der Sakralregion bei *Ambystoma mexicanum* (Aufhellungspräparat, Alizarinfärbung), Vergrösserung $1,25 \times$. a Förderung der Kalkeinlagerung durch Implantation von Thyroxin-Agar an den rechten Femur, b Unspezifische Entwicklungshemmung nach Implantation von reinem Agar an den rechten Femur.

heit ausgewirkt hat. In der das Thyroxinimplantat tragenden Extremität hingegen ist eine intensivere Kalkeinlagerung festzustellen: die Diaphysen sind länger, die Knochenhülsen stärker verknöchert (Abb. 3a). Auch die auf der Implantatseite gelegenen Teile des Beckengürtels nebst den betreffenden Sakralrippen erfahren eine weiter ausgedehnte Verknöcherung als die entsprechenden Skelettelemente der Gegenseite. Axolotl hingegen, bei denen zur Kontrolle ein Implantat aus reinem Agar ohne Thyroxinzusatz gesetzt wurde, lassen eine entsprechende Förderung der Kalkeinlagerung vermissen; vielmehr tritt als unspezifische Nebenwirkung der Operation in diesen Fällen eher eine örtliche Verzögerung in der Verknöcherung ein (Abb. 3b).

Die Veränderungen im Skelettesystem nach lokaler Thyroxinapplikation zeigen also, dass das Schilddrüsenhormon unmittelbar in den Prozess der Kalkablagerung eingreift.

Es ergibt sich somit, dass bei einer experimentell ausgelösten Entwicklungsbeschleunigung wie zum Beispiel die Epidermis so auch das skelettogene Gewebe auf das Schilddrüsenhormon und zwar durch intensivierten Einbau von Kalzium in die Knochen anspricht. Die Reaktionsbereitschaft der einzelnen Skelettelemente tritt auch hier zu verschiedenen Zeitpunkten auf (KUHN⁷). Es ist anzunehmen, dass im Verlauf der unbeeinflussten Amphibienmetamorphose die Schilddrüse bei dem Verkalkungsprozess des Skelettes eine entsprechende Rolle spielt.

O. KUHN und H. O. HAMMER

Zoologisches Institut der Universität Köln, den 15. September 1955.

⁶ H. HARTWIG, Biol. Zentralbl. 60, 473 (1940).

⁷ O. KUHN, Nachr. Ges. Wiss. Göttingen VI 7, 13 (1933).

Summary

Larvae of *Salamandra salamandra quadrivirgata* Dürrigen and tadpoles of *Xenopus laevis* Daud, treated with a percutaneous application of thyroxin, show a more intensive calcification of their skeletal system after a precocious metamorphosis. The calcified area of bones is increased; additional centres of calcification can be distinguished in quite a number of other skeletal elements. By thyroxin-soaked agar implants in the hindlimbs of *Ambystoma mexicanum*, deposition of calcium salts is furthered in the bones of the leg treated, as well as in the adjacent pelvic girdle, thus demonstrating that the thyroid hormone exerts a direct effect upon calcification. It is supposed that during normal metamorphosis the thyroid gland plays an equal part in the process of calcification in the skeletal system.

Parathion Metabolism in Rat Liver and Kidney Slices

Parathion¹, when pure, is known not to inhibit cholinesterase *in vitro*². It is, however, changed in the organism to an active inhibitor of cholinesterase which has been identified as paraoxon³. This change was found to be enzymatic and to take place in the combined fractions of

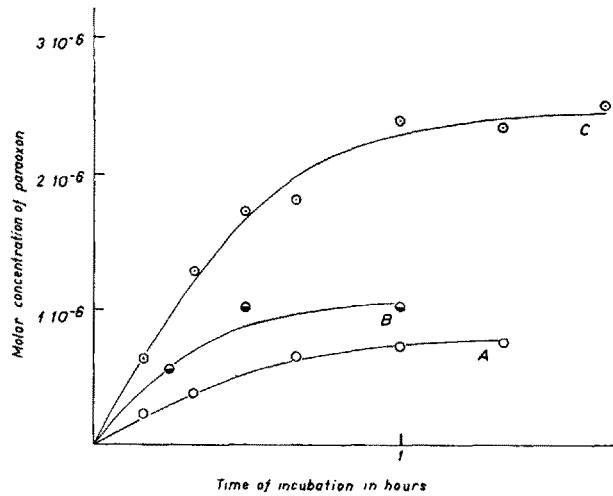


Fig. 1.—Accumulation of paraoxon with liver slices. Total volume 15 ml, concentration of parathion in A $1,18 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ (dry weight of the tissue 92 mg), in B $2,36 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ (94 mg), in C $4,72 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ (103 mg).

hepatic microsomes and the supernatant in the presence of oxygen⁴. Hepatectomy is known to give no protection to rats against the lethal effect of parathion⁵, and this suggested the possibility that the conversion into an active inhibitor of cholinesterase takes place in other organs than in the liver.

¹ OO-Diethyl-O-*p*-nitrophenyl-thiophosphate.

² W. M. DIGGLE and J. C. GAGE, Biochem. J. 49, 491 (1951).

³ J. C. GAGE, Biochem. J. 54, 426 (1953).

Diethyl-*p*-nitrophenylphosphate.

⁴ N. A. DAVISON, Biochem. J. 61, 203 (1955).

⁵ W. M. DIGGLE and J. C. GAGE, Nature 168, 998 (1951).