

Distribution of  $^{32}\text{P}$  in different phosphorus fractions in grape buds during floral initiation (expressed as  $\text{CPA} \times 10^8/\text{g}$  of fresh weight of buds)

Grape cultivars	Acid soluble-P	Phospho-protein P	Phospho-lipid P	DNA-P	RNA-P	Total nucleic acid-P	RNA-P/DNA-P	RNA-P phospho-protein	Total P
Anab-e-Shahi	2.28 (4.57)	6.79 (13.61)	1.49 (2.99)	30.22 (60.56)	9.12 (18.27)	39.34 (78.33)	0.30	1.3	49.90 (100)
Pachadraksha	0.79 (4.29)	3.17 (17.22)	0.70 (3.80)	7.25 (39.40)	6.49 (35.29)	13.74 (74.69)	0.89	2.0	18.40 (100)
Kali Sahbi	2.09 (14.45)	1.10 (7.60)	0.58 (4.01)	9.40 (64.96)	1.30 (8.98)	10.70 (73.94)	0.14	1.1	14.47 (100)
Bangalore Blue	2.83 (22.24)	0.89 (6.98)	0.38 (2.98)	5.58 (43.79)	3.06 (24.01)	8.64 (67.80)	0.54	3.4	12.74 (100)

Figures in parenthesis are percentages of total productivity.

*Lolium temulentum*<sup>12</sup>. Moreover there is overwhelming evidence to show that the synthesis of DNA, RNA and protein are considerably accelerated during floral initiation<sup>13, 14</sup>, which is essentially a process of intense mitotic activity and duplication of DNA.

The comparatively low percent of activity in acid soluble P fraction of AS and PD, and a corresponding increase in phosphoprotein, suggest that the inorganic P and free nucleotides (which constitutes acid-soluble P fraction) could have been efficiently utilized for the synthesis of nucleic acids and nucleo protein. A high ratio of RNA-P/Phosphoprotein and a moderate to high RNA-P/DNA-P ratio observed in PD and BB, low ratio in other two cultivars suggest that a high ratio favours high fruitfulness in grapes. The PD and BB are generally more highly fruitful than the other two varieties. Such high RNA and low protein was observed during floral initiation in *Chenopodium album*<sup>11</sup>. Radioactivity in phospholipid fraction was low in all cultivars, as this fraction is generally less in primordial leaves of buds. In grapes, floral initiation become evident only after the development of specific number of leaf primordia in the buds. Such a comparatively high activity in the phospholipid fraction of AS could be accounted for the greater number (5 to 6) of well-developed leaf primordia in this cultivar, whereas in others it is only 2 to 4. Such a linear increase in phospholipid corresponding to the increase in size and number of leaf primordia has been observed in runner bean<sup>15</sup>.

It is obvious from the study that the nucleic acid synthesis is a prerequisite for floral initiation, but its intensity and that of other fractions depends on the cultivars. Further, it is evident that the ratio of nucleic acid to other P fractions is more important than their absolute quantity for high fruitfulness in grape buds.

*Zusammenfassung.* Das Verhältnis von Nukleinsäuren zu anderen phosphathaltigen Fraktionen ist von grösserer Bedeutung für den späteren Fruchtansatz der Weintrauben als ihre absolute Menge in den Knospen.

C. SRINIVASAN, C. R. MUTHUKRISHNAN,  
A. SHANMUGAM and C. V. CHELLAM

Department of Horticulture, Tamil Nadu  
Agricultural University, Coimbatore-641003  
(Tamil Nadu, India), 11 May 1973.

<sup>12</sup> A. H. G. C. RIJVEN and L. Y. EVANS, Aust. J. biol. Sci. 21, 13 (1967).

<sup>13</sup> J. BONNER and J. A. D. ZEEVART, Plant. Physiol. 37, 286 (1962).

<sup>14</sup> J. J. CHINOY, Indian J. Plant Physiol. 10, 202 (1967).

<sup>15</sup> F. M. EBERHARD, T. and M. KATES, Can. J. Bot. 35, 907 (1957).

## Zum Nachweis einiger mechanisch-rheologischer Eigenschaften des hyalinen Knorpels

Seinen vielfältigen mechanischen Aufgaben entsprechend verkörpert der hyaline Knorpel eine Reihe mechanischer Eigenschaften. Über die histologische Struktur, Wachstums- und Umbauvorgänge sowie die chemische Zusammensetzung des Knorpels sind viele Einzelheiten bekannt. Dagegen ist sein komplexes mechanisches Verhalten nur in Teilbereichen geklärt. Die mechanischen Grundeigenschaften des Knorpels sind Festigkeit, Viskosität, Elastizität, Turgor, innere Reibung und Diffusibilität. Aus ihrer Kombination resultieren zahlreiche mechanisch-rheologische Eigenschaften, von denen hier Retardation (Kriecherscheinung), Relaxation, elastische Nachwirkung und Kraftrückgewinn (mechanische Erholung, inverse Relaxation) genannt seien. Diese Begriffe stammen zum Teil aus der Rheologie<sup>1</sup> und Mechanik hochpolymerer Körper, beides Teilbereiche der Physik, die massgebliche Grundlagen für gewebsmecha-

nische Untersuchungen in der Biologie darstellen<sup>2-5</sup>. Retardation ist die Deformation eines Körpers in zeitlicher Abhängigkeit unter konstanter Kraft. Untersuchungen über die Retardationserscheinung am Gelenknorpel stammen von HAYES et al.<sup>6</sup>, KEMPSON et al.<sup>7</sup>

<sup>1</sup> M. REINER, *Lectures on Theoretical Rheology* (North Holland Publishing Company, Amsterdam 1960).

<sup>2</sup> F. HARTMANN, Z. Rheumaforsch. 31, 42 (1972).

<sup>3</sup> A. VIDIK, J. Biochem. 1, 3 (1968).

<sup>4</sup> W. WORTHMANN, G. ARNOLD und H. LIPPERT, Int. Z. angew. Physiol. 31, 77 (1973).

<sup>5</sup> M. ZECH, Diplomarbeit im Fach Elektrotechnik an der Technischen Universität Hannover (1973).

<sup>6</sup> W. C. HAYES, L. M. KEER, G. HERRMANN und L. F. MOCKROS, J. Biomech. 5, 541 (1972).

<sup>7</sup> G. E. KEMPSON, M. A. R. FREEMAN und S. A. V. SWANSON, J. Biomech. 4, 239 (1971).

und SOKOLOFF<sup>8</sup>. Knorpel- und Gelenkgeometrie bei statischen Belastungen haben SIMON<sup>9</sup> sowie WALKER und HAJEK<sup>10</sup> besonders berücksichtigt. Relaxation, Kraft-rückgewinn und zyklische Belastung sind Gegenstand der Untersuchungen von ARNOLD und HARTUNG<sup>11</sup>.

**Problemstellung.** Da der Knorpel hauptsächlich mechanische Aufgaben hat, liegt es nahe, die mechanischen Einwirkungen, denen er ausgesetzt ist, und sein mechanisches Verhalten zu untersuchen. Die Ergebnisse derartiger Bemühungen erweitern unsere Vorstellungen von der funktionellen Anatomie des Bewegungssystems. Aus den gewebsmechanischen Untersuchungen ergeben sich neue, gezielte Fragestellungen zur histologischen Struktur, insbesondere zum quantitativen Aufbau. Den vorliegenden Versuchen liegen folgende Fragestellungen zugrunde: 1. Sind zyklische, druckkraftbegrenzte Kurven von Gewebeproben des hyalinen Knorpels reproduzierbar? 2. Welche Gesichtspunkte sind bei in vitro-Versuchen über die Gewebesmechanik zu beachten? 3. Wie verhält sich der Knorpel nach systematisch schrittweise gesteigerten Druckkräften mit unmittelbar folgenden Entlastungen

auf eine bestimmte Restkraft und anschliessend konstant gehaltener axialer Deformation? 4. Welche Eigenschaften hat der hyaline Knorpel nach Be- und unmittelbar folgender Teilentlastung bei konstanter Entlastungsamplitude und schrittweise erniedrigtem Kraftniveau?

**Untersuchungsverfahren.** Aus dem Rippenknorpel vom Rind und retropatellaren Knorpel vom Menschen haben wir zylinder-, würfel- und quaderförmige Stücke herausgeschnitten. Die Gewebeproben wurden mit keinen fixierenden oder sonstigen aggressiven chemischen Lösungen in Berührung gebracht. Vor Dehydration, die zu Veränderungen der Gewebesmechanik führt, haben wir die Probestücke geschützt. Einzelheiten der Methode haben wir in einer 1973 erschienenen Arbeit<sup>11</sup> mitgeteilt. Das Wesentliche sei in kurzen Zügen wiederholt: Die Gewebeproben werden zwischen die Druckplatten elektronischer Zugprüfmaschinen gelegt und definierten Kompressionsbelastungen ausgesetzt, wobei die Deformationsgeschwindigkeit, die Art der Vorbelastung (preconditioning) und Pausen<sup>12</sup> berücksichtigt wurden.

**Ergebnisse.** Der auf Figur 1 dargestellte Versuch zeigt eine zyklische Kraft-Zeit-Kurve einer konstant kraftbegrenzten Knorpelprobe unter Be- und Entlastungen. Dabei bewegen sich die Druckplatten des Untersuchungsgerätes mit einer jeweils konstanten Geschwindigkeit (Längenänderungsgeschwindigkeit) von 6 mm/min hin und her in der Weise, dass sich das Gerät jeweils nach Erreichen einer oberen Druckkraft von 4 kp und unteren von 1,15 kp umschaltet. Auf der Abszisse läuft die Zeit  $t$  in Minuten und auf der Ordinate die Kräfte  $P$ , eingezeichnet in den Dimensionen Kilopond [kp] und Newton [N]. Die Knorpelprobe war vorher in der gleichen Weise wie in folgendem Versuch mehrfach vorbelastet worden und der abgebildete Versuch ohne zwischengeschaltete Pause ausgeführt worden. Das Gewebe befand sich bezogen auf den abgebildeten Versuchsabschnitt im rheologischen Gleichgewichtszustand, den man bei einem Körper, der sich nur aus elastischen und viskosen Elementen zusammensetzt, auch viskoelastischen Gleichgewichtszustand nennen kann. Auf das Problem des rheologischen Zustandes von Gewebeproben, in dem biomechanische Versuche an ihm vorgenommen werden, ist in letzter Zeit mehrfach hingewiesen worden<sup>11,12</sup>. Das mechanische Verhalten von biologischen Geweben ist sehr stark abhängig davon, welcher Art und Stärke vorausgehende Belastungen waren und wie lang sowie unter welchen Spannungs- bzw. Kraft- oder Dehnungsgrössen Pausen zwischen den vorausgehenden und anschliessenden Versuchen dauerten. Es ist also die Kraft-Längenänderungs- bzw. Spannungs-Dehnungs-Vorgeschichte («stress-strain history») zu beachten, ein Sachverhalt, der in theoretischen Betrachtungen über die Viskoelastizität in hereditären Integralen seinen Niederschlag gefunden hat. Wird das Gewebe zunächst mehrfach belastet bis es sich in einem viskoelastischen Gleichgewichtszustand befindet, so sprechen wir auch vom «steady state»<sup>12</sup> und nennen den Vorgang, der ihn bedingt auch Vorbelastung («preconditioning»). Der Versuch (Figur 1) zeigt unter den angegebenen Voraussetzungen im abgebildeten Zeitintervall eine eindeutige Reproduzierbarkeit. Hinsichtlich des Kraftbereiches spielt sich der Versuch im sogenannten fast linearen Bereich ab.

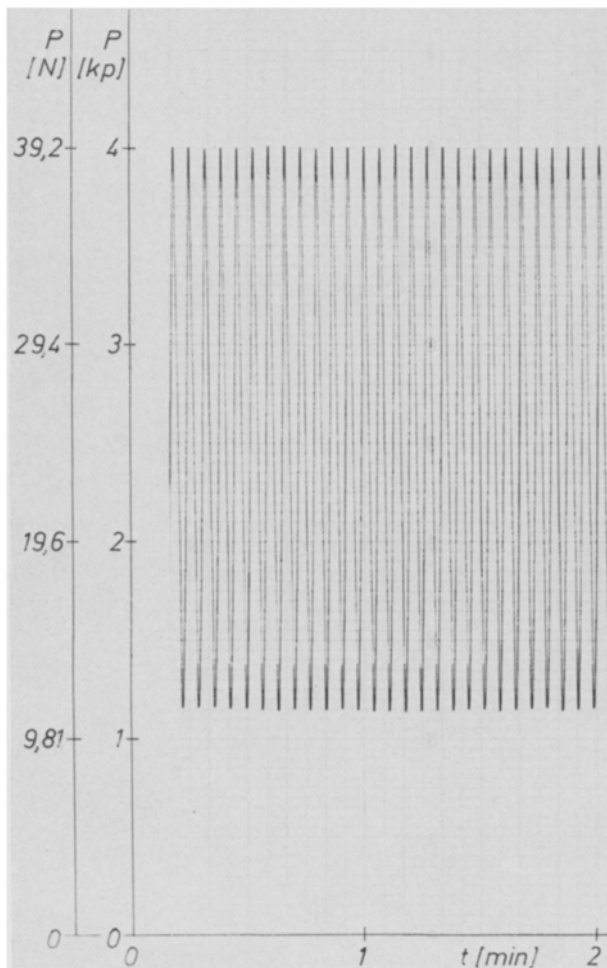


Fig. 1. Kraftbegrenzte zyklische Be- und Entlastung eines Knorpelzylinders vom Rippenknorpel des Rindes. Höhe des Zylinders  $H = 4$  mm, Durchmesser  $D = 3$  mm. Abgebildeter Versuchsabschnitt nach Einstellen (preconditioning) des viskoelastischen Gleichgewichtszustandes («steady state»). Geschwindigkeit der Druckplatten (Längen- bzw. Höhenänderungsgeschwindigkeit)  $v_{\Delta L} = 6$  mm/min. Registrierpapiervorschubgeschwindigkeit  $v_t = 60$  mm/min. Gerät 1361.

<sup>8</sup> L. SOKOLOFF, Fedn. Proc. 25, 1089 (1966).

<sup>9</sup> W. H. SIMON, Arthr. Rheum. 13, 244 (1977).

<sup>10</sup> P. S. WALKER und J. V. HAJEK, J. Biomech. 5, 581 (1972).

<sup>11</sup> G. ARNOLD und C. HARTUNG, Z. Orthop. 111, 139 (1973).

<sup>12</sup> Y.-C. B. FUNG, Biorheology 10, 139 (1973).

Figur 2 zeigt einen Druckversuch. Zunächst wurde durch Vorbelastungen («preconditioning») der viskoelastische Gleichgewichtszustand («steady state») dem mittleren Kraftbereich des dargestellten Versuchs entsprechend eingestellt. Während der Be- und Entlastungen haben wir den Registrierpapiervorschub unterbrochen, so dass diese Vorgänge als vertikale Strecken abgebildet sind. Diese Aufzeichnungsart nennen wir Selektivdarstellung. Wir haben im ersten Schritt (Figur 2) auf 0,22 kp belastet und dann gleich auf etwa 0,1 kp entlastet. Beide Vorgänge sind in der ersten vertikalen Strecke des Diagramms auf Figur 2 enthalten. Nach der Entlastung auf 0,1 kp haben wir den Abstand der Druckplatten und damit die axiale Deformation der Knorpelproben konstant gehalten. Wir beobachten nun auf dem Diagramm eine zeitlich fast konstante Kraftlinie, für die wir die Bezeichnung isorheologische Linie vorschlagen. Nach einer Pause von 10 sec haben wir den Versuch im zweiten Schritt mit einer höheren Druckkraft wiederholt, dann wieder unmittelbar anschliessend auf die gleiche Kraft von etwa 0,1 kp wie im ersten Schritt entlastet und nun die axiale Deformation des Knorpelstückes wieder konstant gehalten. Wir sehen anfangs einen geringen Kraftanstieg, der in eine annähernd gerade Linie parallel zur Zeitachse übergeht. Insgesamt lässt der Versuch erkennen: Je grösser die vorausgegangene Be- und Entlastungskräfte sind, um so deutlicher ausgeprägt sind die Kraft-rückgewinnkurven.

In dem systematischen auf Figur 3 dargestellten Versuch wurde die Entlastungsamplitude jeweils konstant gehalten nach schrittweise herabgesetzten Druckkräften. Im einzelnen zeigt Figur 3 in Selektivdarstellung eine Druckbelastung auf etwa 4,5 kp im ersten Schritt mit einer unmittelbar folgenden Entlastung um 1,5 kp auf 3 kp (erste vertikale Strecke). Die axiale Deformation wird nun konstant gehalten, die Druckplatten mit der zwischen ihnen stehenden Knorpelprobe nicht mehr bewegt. Wir beobachten nach der ersten Entlastung eine ausgeprägte Relaxation, die nach den folgenden Entlastungen flacher wird und eine initiale isorheologische Linie zeigt. Schliesslich entstehen Kraft-rückgewinnkurven, die in den niedrigen Kraftbereichen am ausgeprägtesten sind.

*Diskussion.* In der Literatur beschriebene und die vorliegenden eigenen Versuchsreihen zeigen ein komplexes mechanisches Verhalten des hyalinen Knorpels, das aus seinem histologischen Aufbau, Flüssigkeits- und Elektrolytmilieu<sup>18</sup> sowie seiner biochemischen Zusammensetzung resultiert. Da die Funktion des hyalinen Knorpels nach Abschluss der enchondralen Ossifikation fast rein mechanischer Natur ist, liegt es nahe, die Knorpelmechanik im Zusammenhang mit der funktionellen Anatomie des Bewegungsapparates zu betrachten. Die Auswertung me-

<sup>18</sup> J. V. YANNAS, Nature, Lond. 227, 1358 (1970).

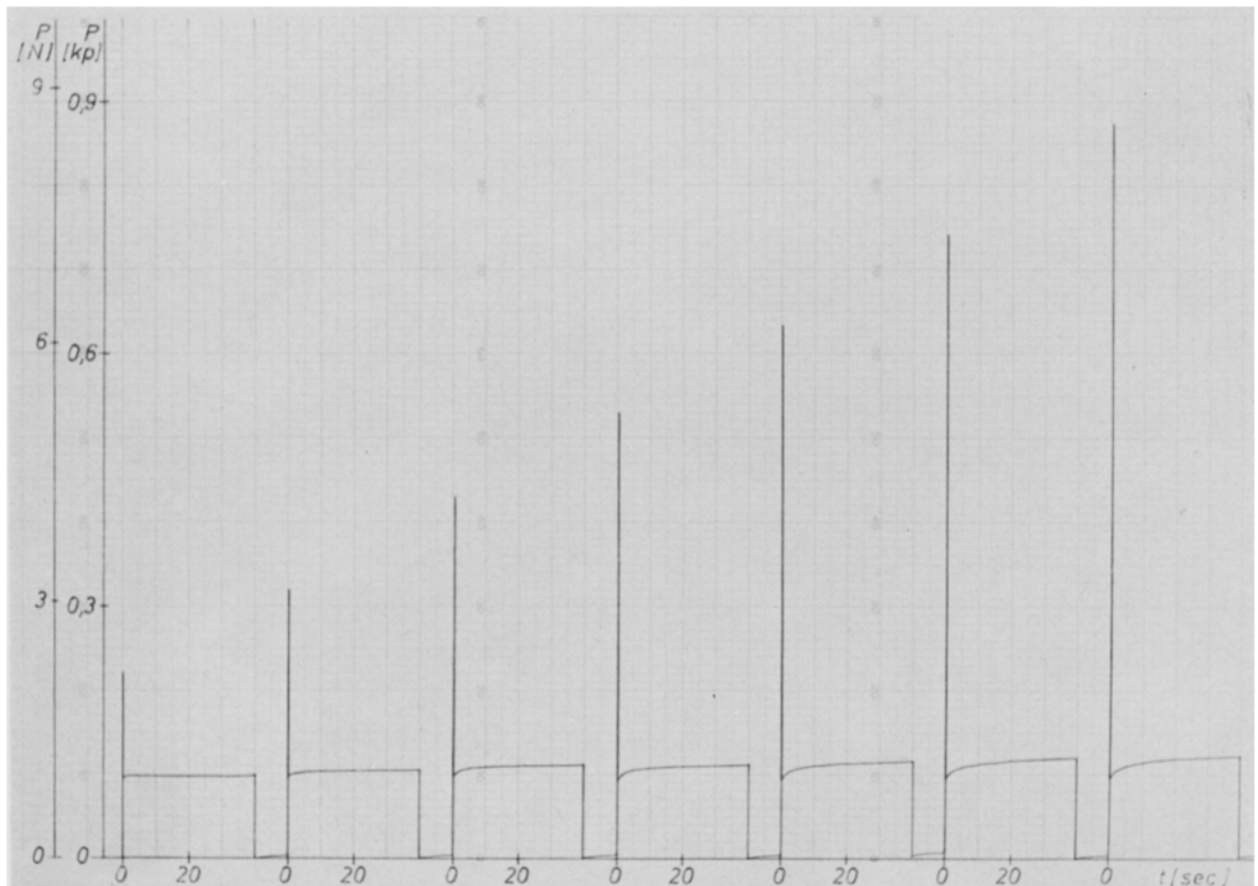


Fig. 2. Kraft-rückgewinnkurven mit konstanter Anfangskraft nach schrittweise steigenden Be- und Entlastungskräften. Selektivdarstellung. Abszisse: Unterbrochene Zeitschreibung. Ordinate: Druckkraft in Newton und Kilopond. Cartilago patellae, 71-jähriger Mann, 3 Knorpelzylinder wurden zwischen die Druckplatten des Untersuchungsgerätes gelegt mit einer Höhe H von je 2 mm und einem Durchmesser D von je 4,5 mm. Druckplattengeschwindigkeit (Längenänderungsgeschwindigkeit)  $v_{AL} = 1,5$  mm/min. Registrierpapiervorschubgeschwindigkeit  $v_t = 60$  mm/min. Gerät 1361.

chanisch-rheologischer Kurven von Knorpelproben aus arthrotisch veränderten Gelenken verspricht neue Ansätze für die Klärung der Pathogenese der arthrotischen Gelenkveränderungen. Der für die Festigkeit des Knorpels wesentliche Bestandteil sind die kollagenen Fasern, die bereits in parallelsträhniger Form unter uniaxialer longitudinaler Zugbeanspruchung das rheologische Verhalten eines viskoelastischen hochpolymeren multifilen Gebildes zeigen<sup>3-5</sup>. Im hyalinen Knorpel sind die kollagenen Fasern in die hochvisköse Grundsubstanz eingebettet und haben zudem einen geometrisch komplizierten Verlauf. Aus diesem Sachverhalt ergibt sich ein mechanisches System des Knorpels, das nicht mit elementaren Gesetzen der Mechanik erklärbar ist.

Insgesamt haben die Versuche am hyalinen Knorpel das komplexe mechanische Verhalten dieses Gewebes gezeigt, das unter Berücksichtigung der Rheologie und Physik Hochpolymerer mit technologischen Methoden dargestellt werden kann. Besondere Beachtung verdienen die dem eigentlichen Versuch vorausgehenden mechanischen Belastungsarten («preconditioning»), die je nach Länge der zwischengeschalteten Pause einen Einfluss auf den eigentlichen gewebsmechanischen Versuchsablauf haben. Konstant kraftbegrenzte zyklische Belastungen sind nach Massgabe der Vorbelastungen reproduzierbar. Die Form der Krafrückgewinnkurven und das Ausmass des Krafrückgewinns (mechanische Erholung) sind abhängig von der Entlastungshöhe. Nach konstanten Entlastungsamplituden in verschiedenen hohen Kraftbereichen entstehen Relaxationen, isorheologische Strecken mit Sekundärrelaxationen oder Krafrückgewinnkurven in Abhängigkeit von der Höhe des Kraftbereiches, in dem die axiale Deformation konstant gehalten wird.

**Summary.** Experiments on hyaline cartilage have demonstrated the complex mechanical behaviour of this

tissue, which can be delineated with consideration of the rheology and physics of high polymers with technological methods of testing for organic materials. The mechanical loadings preceding the actual test (preconditioning) have, according to the length of the intervals, an influence on the actual histomechanical test. Constant cyclic loadings of limited force are reproducible according to the degree of preconditioning. The shape of force-recovery curves and the size of mechanical recovery (force regain) depend on the extent of unloading. After constant amplitudes of unloading within different fields of force, there occur relaxations, isorheological straight lines with secondary relaxations or force recovery curves dependent on the level of the field of force in which the axial deformation is kept constant.

G. ARNOLD, F. GROSS und J. HARRING<sup>14,15</sup>

*Abteilung Anatomie der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule, Melatener Strasse 211, D-51 Aachen (BRD); Orthopädische Heil- und Lehranstalt Annastift, Heimchenstrasse 1-6, D-3 Hannover (BRD); und Abteilung Anatomie II, Karl Wiechert-Allee 9, D-3 Hannover (BRD), 4. Februar 1974.*

<sup>14</sup> Frau J. GESE und Fräulein A. KLARE danken wir für die bereitwillige und intensive technische Hilfe.

<sup>15</sup> Die Untersuchungen wurden ermöglicht durch die Unterstützung der Stiftung Volkswagenwerk.

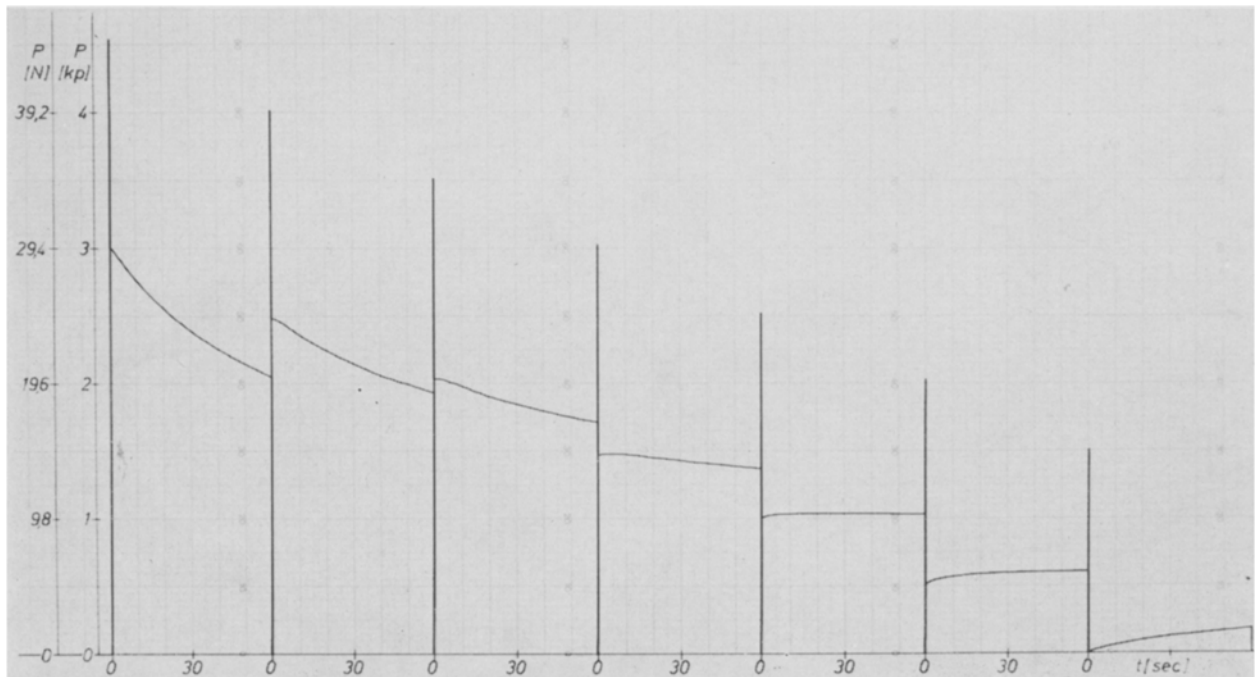


Fig. 3. Relaxationen und Krafrückgewinnkurven nach konstanter Entlastungsamplitude und schrittweise erniedrigter Druckkraft. Selektivdarstellung. Rippenknorpel vom Rind. 1 Zylinder, Höhe  $H = 4,1$  mm, Durchmesser  $D = 4,1$  mm. Das Gewebe war bis zu den mittleren Kräften des Versuchs vorbelastet worden («preconditioning»). Druckplattengeschwindigkeit (Längenänderungsgeschwindigkeit)  $v_{\Delta L} = 1,7$  mm/min. Registrierpapiervorschubgeschwindigkeit  $v_s = 60$  mm/min. Gerät 1361.