

per la particolare distribuzione della cromatina nucleare e per la presenza di granuli basofili attorno al nucleo. Questi granuli, che qualche volta si osservano anche nel citoplasma delle gonie vicine, sono Feulgen-negativi, mentre notevole è la loro affinità per la pironina e per il blu di toluidina. Tale affinità si conserva quando le sezioni siano state precedentemente trattate con acqua distillata a 60° C, mentre si estingue del tutto in seguito ad incubazione con la ribonucleasi. È pertanto evidente che questi granuli sono prevalentemente costituiti di acido RN. La quantità dei granuli è variabile; generalmente sono disposti intorno al nucleo. Le zolle di cromatina presenti nel nucleo della cellula apicale sono, nella maggior parte dei casi, addossate alla membrana nucleare. L'abbondante citoplasma della cellula di Verson pare insinuarsi tra le gonie i cui confini sono per altro poco evidenti. Non ho mai visto fenomeni di divisione nel nucleo della cellula apicale.

Tutt'attorno al complesso apicale, intendendo con questo termine l'insieme della cellula di Verson e delle gonie circostanti, si osservano numerosi elementi connettivali provvisti di un nucleo di forma ovoidale molto compatto e colorabile.

2.° *Zona di accrescimento.* Le cellule germinali di questa zona, per lo più spermatociti I in tutti gli stadi della profase meiotica, sono raggruppati in cisti, ciascuna delle quali è rivestita da un involucro di elementi connettivali. La regione centrale della zona di accrescimento è attraversata da una trabecola di connettivo che s'insinua sin quasi alla zona di maturazione, formando la cosiddetta «rachide». Nella parte distale di questa trabecola, che è in intimo contatto con gl'involucro delle singole cisti, gli elementi connettivali sono raccolti in un gruppo numeroso e molti di essi presentano imponenti fenomeni degenerativi. In questa zona, molto prossima al complesso apicale, si osservano numerose masserelle sferoidali basofile di varia dimensione, alcune delle quali, con la miscela di Unna, si colorano intensamente in rosso, altre in verde o in viola, altre infine in parte assumono il color rosso, in parte il verde o il viola. Le sferule o le parti di esse che appaiono verdi o violacee sono anche intensamente Feulgen-positive. Accanto alle sferule pironinofile, contenenti, come è provato dal trattamento con la ribonucleasi, notevoli quantità di acido RN, si osservano granuli più piccoli della stessa natura che si ritrovano nella compagine della rachide, nell'involucro delle cisti e nel citoplasma degli spermatociti I. Figure mitotiche nelle gonie ne ho osservato di rado e limitatamente alla regione più prossima all'apice.

3.° *Zona di maturazione.* Vi si osservano le figure della meta-, ana- e telofase meiotica. È sparita ogni traccia di cisti e di granulazioni pironinofile.

Seguono: 4.° la zona degli spermatidi e 5.° quella degli spermatozoi, che non presentano particolari caratteristiche.

Per quanto riguarda la distribuzione dell'acido RN nelle cellule germinali, posso confermare l'osservazione di BRACHET¹ su *Stenobothrus*: il citoplasma delle spermatogonie è ricco di acido RN, e ne diviene sempre più povero man mano che il processo spermatogenetico procede. Dallo stadio di metafase I in poi la basofilia citoplasmatica praticamente si può dire scomparsa.

Conclusioni

1.° La cellula apicale, elemento di natura connettivale, ha principalmente funzione trofica, nel senso che secerne acido RN il quale viene assorbito dalle cellule germinali. Le spermatogonie in accrescimento trarreb-

bero così le loro riserve di acido RN prevalentemente dai prodotti di secrezione della cellula apicale.

2.° È probabile che l'elaborazione di acido RN avvenga sotto il controllo della cromatina nucleare; la variabile quantità e distribuzione dei granuli perinucleari di acido RN suggeriscono inoltre la possibile esistenza di un ciclo secretorio, analogamente a quanto è stato descritto in *Asellus*¹.

3.° Nelle cellule connettivali della zona sottostante al complesso apicale si osservano processi degenerativi il cui prodotto terminale è principalmente costituito di acido RN. Interpreto le sferule che appaiono verdi o violacee con l'Unna e positive alla Feulgen, come nuclei picnotici la cui cromatina si trasforma poi in acido RN, dando luogo alle sferule e ai granuli pironinofili di minori dimensioni. Il contenuto di questi ultimi viene assorbito ed utilizzato dagli spermatociti in profase meiotica.

In definitiva, durante la spermatogenesi degli Ortoteri da me studiati, è accertato che sia la cellula apicale, sia alcuni elementi connettivali degeneranti, producono acido RN che viene assorbito e utilizzato dalle cellule germinali.

B. BATTAGLIA

Istituto di Genetica dell'Università di Napoli e Centro di Citologia Genetica del C.N.R., il 1° febbraio 1949.

Summary

(1) The apical or Verson cell of the testis of *Orthoptera* is a connective tissue element having a trophic function. Its secretion is rich in ribonucleic acid (RNA), which is absorbed by the germ cells. This is a primary source of RNA for spermatogony.

(2) Nuclear chromatin is probably concerned in RNA elaboration. The variation in amount and distribution of the perinuclear RNA granules suggest the existence of a secretory cycle analogous to that described in *Asellus*.

(3) In the connective tissue cells of the zone below the apical complex, degenerative processes are observed, the end-product of which is essentially RNA. The spherules which stain green or violet with UNNA's mixture and are Feulgen-positive, are interpreted as pyknotic nuclei. Their chromatin is transformed into RNA and constitutes spherules and small granules positive to pyronine, which are absorbed by spermatocytes in meiotic, prophase. Thus, during spermatogenesis in the investigated *Orthoptera*, both the apical cell and some degenerating connective tissue elements produce RNA, which is absorbed by the developing germ cells.

¹ G. VITAGLIANO, Ric. scient., 18, 840 (1948). - G. VITAGLIANO e M. DE NICOLA, Nature 162, 965 (1948).

The Action of Quinones on Mitosis

Plants which are affected by a deficiency of zinc, boron, and other micronutrients are characteristically dwarfed, and poorly differentiated. The purpose of this paper is to show that quinones formed in the cells of affected plants, as a result of a shift of oxidation-reduction potential, may block nuclear divisions and consequently retard growth and differentiation, and also cause hypertrophy of cells (REED)¹.

¹ HOWARD S. REED, Amer. J. Bot. 28, 10 (1941).

¹ J. BRACHET, Arch. Biol. 53, 207 (1942).

It is possibly significant that phenolic precipitates appeared only at the time when the post-meristematic cells began to differentiate, or when the cells were no longer able to divide by mitosis. In either case, there had been a shift in the oxidation-reduction potential from the level compatible with the compensated respiration essential for the maintenance of the cell, resulting in an irreversible oxidation of dihydroxyphenols to quinones and related substances.

The leaves and leaflets of zinc-deficient walnut trees (*Juglans hindsii*) chosen for study were curled and dwarfed. The cells of palisade and spongy parenchyma showed evidence of inhibited growth, hypertrophy, and cytological disintegration (Fig. 1). Many of them contained coacervated phenolic material, each in an envelope of phospho-lipid, floating in the cell sap. In the absence of sufficient phospho-lipid material a true auto-complex coacervate was not formed. Lysis of the cell contents went often so far as to "clear" the cell volumes (Fig. 1 and 3), but coacervates retained their organization.

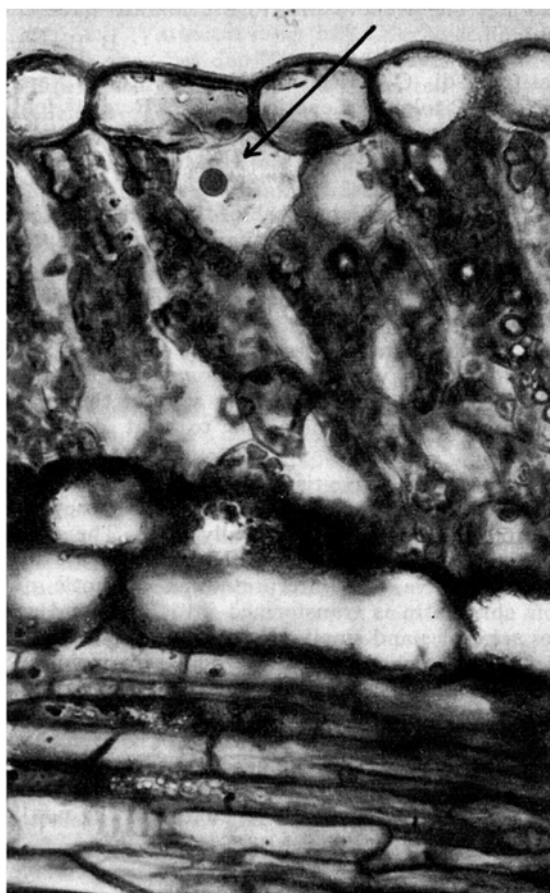


Fig. 1. – Photomicrograph of transverse section of an affected walnut leaf $\times 600$. The arrow points to a hypertrophied palisade parenchyma cell in which there has been lysis of the constituents. The globular body is an autocomplex coacervate. Safranin-fast green stain.

Polyphenol oxidase is very active in leaves of this species. Evidence of antimitotic action is adduced by the example shown in Fig. 2, where mitosis was arrested in the prophase. This hypertrophied palisade cell contained flocculent phenolic material which showed the initial stages of syneresis leaving clear spaces at the poles of the cell.

Blockage of mitosis through the action of autochthonous quinones has not hitherto been demonstrated in such hypertrophied plant cells.

A hypertrophied spongy parenchyma cell (Fig. 3) gives confirmatory evidence on the antimitotic action of quinones arising from the oxidation of di-hydroxy-

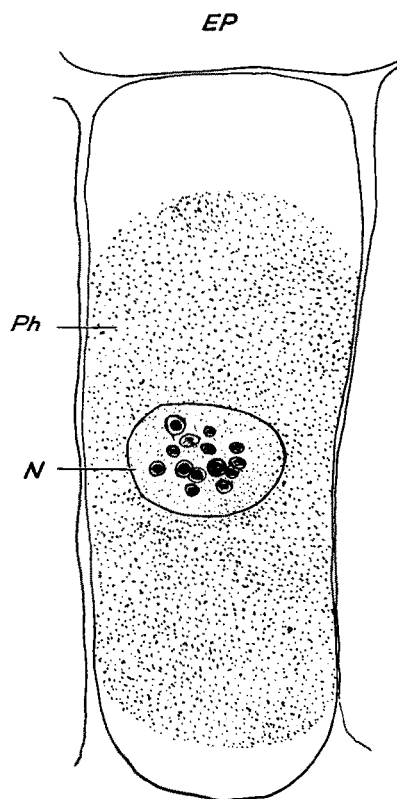


Fig. 2. – Arrested mitosis of a hypertrophied palisade parenchyma cell. *N* nucleus, *Ph* phenolic material which flocculated from the vacuolar sap, *EP* epidermal cell. Iron alum-hematoxylin stain.

phenols. In this case mitosis was blocked although the polyphenols in the cell vacuole had coalesced into a globule at one end of the vacuolar cavity. If this globule carried a $+$ -charge it would be repelled by the nucleus. Some of the plastids and depauperate stromata were attracted to its surface. Chromomeres were grouped in a random fashion near the nuclear membrane. Since this cell was mature, it is evident that the blockage had occurred earlier in the development of the leaf.

The antimitotic action of .1 p.p.m. phenanthraquinone on cuttings of *Tradescantia* was evident after two weeks. Growth of shoots and roots was inhibited (LEHMANN)¹.

Definite evidence of the antimitotic action of phenanthraquinone is presented in Fig. 4, which represents two nuclei from the corpus of a section stained by the Feulgen method. *A* represents a cell whose nucleus had enlarged to near the limit of the cell volume. *B* represents a companion cell whose nucleus had initiated the process of mitosis, but was blocked in the prophase. The abnormal chromosomes lay near the nuclear membrane. Some showed a tendency toward cleavage, but there was no regularity of arrangement or size.

The similarity of this condition with that observed in the walnut leaf strikingly confirms the idea that the quinones have the power to inhibit mitosis and that

¹ F. E. LEHMANN, Exper. 3, 223 (1947).

their predominance in the cells is one of the chief causes of dwarfness of affected plants.

The addition of a suitable H-donor was favorable to mitosis in cells of orange roots which grew for 5 months

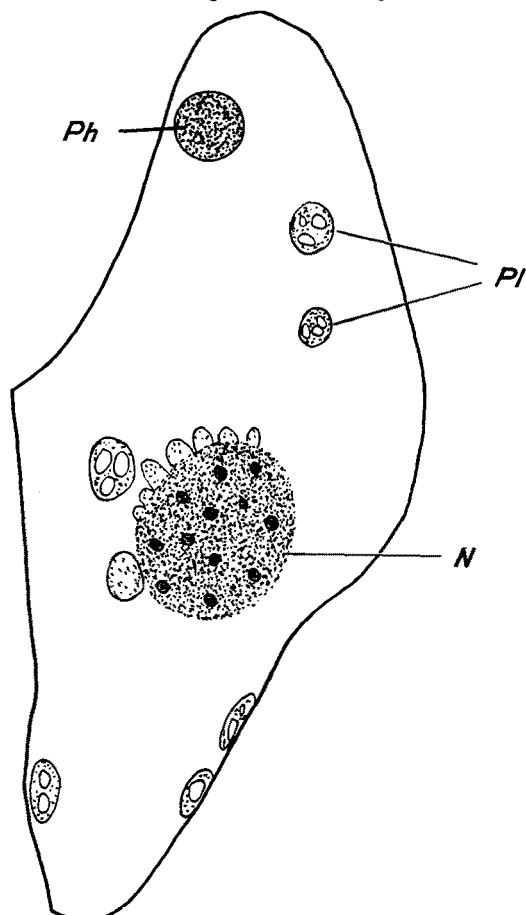


Fig. 3. – Hypertrophy and arrested mitosis of a mesophyll cell of a walnut leaf affected by zinc deficiency. *N* nucleus, *Ph* globule of phenolic material, *Pl* plastids. Iron alum-hematoxylin stain.

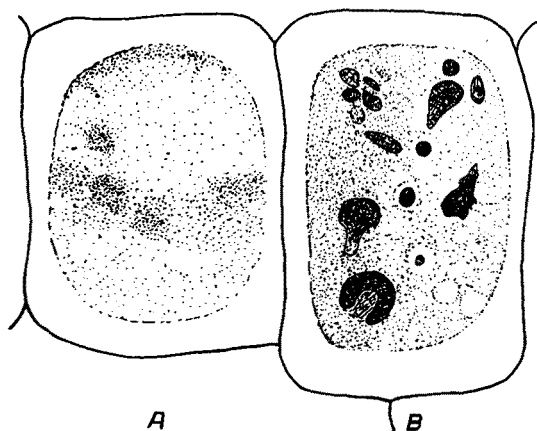


Fig. 4. – Effect of .1 p.p.m. phenanthraquinone on meristematic cells of a *Tradescantia* bud. *A* a cell which showed no conspicuous abnormality, *B* a cell in which there was distortion of chromosomes. Feulgen stain.

in nutrient solution lacking only zinc. Neutralized cystein hydrochloride (5 p.p.m.) was added to part of the cultures. Samples of roots from both series were removed 11 weeks later, sectioned, and stained for study.

In the absence of both zinc and cystein, there was an average of three mitotic figures in each longitudinal section of the root tips. Roots from a parallel culture lacking zinc but receiving 5 p.p.m. cystein had an average of 16 mitotic figures per section. The greater number of mitoses in the latter sample is ascribed to the fact that cystein contains the group R-SH which can donate H, thereby enabling the cells to keep the di-hydroxy-phenols in a reduced state, whereas they would otherwise be oxidized to quinones by the polyphenol oxidase.

Normally, tissues would contain enough reducing substances to reduce quinones back to di-hydroxy-phenol derivatives. As fast as they tended to become dehydrogenated to diketones, they would be restored to the dienol stage and preserved from irreversible dehydrogenation.

HOWARD S. REED

College of Agriculture, University of California, Berkeley, Ca., February 10, 1949.

Zusammenfassung

Chinone, die durch Oxydation von Dihydroxyphenolen in durch Zinkmangel geschädigten Pflanzen entstehen, blockieren die Mitosen in jungen Geweben. Durch Cystein wird die Zahl der Mitosen erhöht. Phenanthrachinon hat einen ähnlichen antimitotischen Effekt. Wenn die Mitose gehemmt ist, dann erfolgt die Zellvergrößerung, soweit als möglich, ohne eine entsprechende Volumenzunahme des Kerns.

Action de l'arginase pure sur la croissance du cancer greffé de la Souris

L'arginase agit comme catalyseur dans l'hydrolyse de l'arginine en ornithine et urée. Dans les tumeurs, comme aussi dans les muscles de l'animal porteur de tumeur, on trouve environ 3 fois plus d'arginine libre que dans les muscles d'animaux sains¹. Les déterminations du taux d'arginase dans les divers organes de la souris saine ont montré que le foie, la glande mammaire, le poulmon et le rein contiennent les plus grandes quantités d'arginase, le foie étant de loin l'organe le plus riche en cette enzyme². Dans les tumeurs du foie, le taux d'arginase est nettement diminué; par rapport au tissu normal, la tumeur ne contient plus que le 70 % environ de l'activité de cet enzyme³. Dans des tumeurs de nature et d'origine très diverses, l'activité enzymatique oscille très peu autour d'une certaine valeur moyenne³. Chez la Souris porteuse de carcinome greffé, l'activité de l'arginase dans le foie et dans le rein diminue⁴. En somme, la transformation d'un tissu normal en tissu cancéreux s'accompagne d'une diminution d'activité de l'arginase dans ce même tissu et la greffe d'un cancer chez un animal sain entraîne une diminution d'activité enzymatique dans les organes sains de cet animal. Que la tumeur soit spontanée, provoquée ou greffée, elle exerce une action à distance, aussi bien sur un système enzymatique particulier tels que l'arginine-arginase-urée que sur les équilibres physico-chimiques plus généraux qui commandent la position des points isoélectriques par exemple⁵.

¹ G. KLEIN et W. ZIESE, Z. f. Krebsforsch. 37, 323 (1932).

² J. P. GREENSTEIN, W. V. JEURETTE, G. B. MIDER et J. WHITE, J. Nat. Cancer Inst. 1, 687 (1941). – J. P. GREENSTEIN et J. W. THOMPSON, ib. 4, 63, 271, 275 (1943).

³ J. P. GREENSTEIN et F. M. LEUTHARDT, ib. 6, 197, 203, 211 (1946). – J. P. GREENSTEIN et H. W. CHALKLEY, ib. 6, 207 (1946).

⁴ H. FUJIWARA, Z. physiol. Chem. 185, 1 (1929).

⁵ F. VLÈS et A. DE COULON, Arch. Phys. Biol. 11, 1 (1933).