

d'un réseau. Le halo prélevé tous les 8–14 jours et transposé sur de nombreux points dans un autre flacon de culture, assure la continuation d'un développement lent des fibroblastes avec formation d'un tissu à structure moyennement serrée. Dans les subcultures apparaissent quelquefois aussi des formes épithéliales. Certaines lignées ont été repiquées douze fois (Figure).



Culture de tissu de gonade femelle de larve de *Bombyx mori*. Culture de 5 jours, troisième transfert. Hémalum-éosine-orange 1:600.

Pour les tissus du mollusque *H. aspersa*, le milieu contenait pour 1000 cm³ d'eau bi-distillée: NaCl: 6,500 g; KCl: 0,14 g; CaCl₂: 0,12 g; NaH₂PO₄: 0,01 g; CO₃NaH: 0,20 g; glucose: 1,0 g; avec hydrolysate de caséine, glutamine, extrait de levure, choline et antibiotiques aux mêmes doses que pour *B. mori*. Le pH du sang augmente très rapidement après prélèvement. Aussi est-il immédiatement incorporé dans le milieu (10%) et centrifugé ensemble afin d'éliminer les hémocytes et obtenir un pH définitif de 7,6–7,9.

Les explants de la tunique pédieuse (non septique!) donnent naissance aux fibroblastes, lesquels prélevés et repiqués, forment des réseaux à évolution très lente. Après huit repiquages, les cellules se maintiennent avec peu de granules et un nombre réduit de mitoses.

Ces résultats montrent la possibilité de maintenir à partir des tissus d'invertébrés, des lignées cellulaires ininterrompues et de rendre accessibles ces tissus aux travaux de pathologie expérimentale *in vitro*. Nous soulignons cependant, que le développement des cellules après repiquages est beaucoup plus lent que celui des tissus de vertébrés en général. Nous attribuons ce fait à l'insuffisance de nos connaissances relatives aux facteurs de croissance chez les insectes et chez les mollusques. Cette question est d'ailleurs encore actuellement complexe pour les cultures de tissus de vertébrés. Les extraits obtenus à partir de l'organe de Bojanus et des ovaires des *Helix* semblent constituer un facteur accélérateur et c'est par l'adjonction de ce principe que nous essayons à l'heure actuelle d'augmenter la croissance. D'autre part, la blessure de la culture semble

libérer, comme cela a été signalé pour la culture de tissus de vertébrés, certaines substances activatrices. Enfin, pour assurer une homogénéité de développement, nous continuons à l'heure actuelle l'isolement des lignées à l'aide de dispersions cellulaires par voie enzymatique.

C. VAGO et S. CHASTANG

Institut National de la Recherche Agronomique, Station de Recherches d'Alès (France) (Laboratoire de Pathologie Comparée), le 10 décembre 1957.

Zusammenfassung

In Gewebekulturen von *Bombyx mori* ♀-Gonade und von *Helix aspersa*-Bindegewebe abimpfbare Fibroblasten-Zellenstämme wurden erhalten. Die Zusammensetzung der Nährflüssigkeiten ist gegeben, und es wird auf Schwierigkeiten in der Gewebekultur Wirbelloser hingewiesen.

Culture of Nucellar Tissue of *Citrus* *in vitro*

A variety of reproductive structures in plants, such as anthers, ovules, endosperm, embryos and embryo fragments, have been successfully cultured *in vitro*; but I have not come across any report of the culture of nucellar tissue. In *Citrus*, the cells of nucellus surrounding the micropylar part of the embryo sac are known to produce adventive embryos. It was, therefore, considered worthwhile to make *in vitro* cultures of the nucellus in order to explore its proliferative capacity. A horticultural variety of *Citrus*, growing in the 'Varsity Campus, was used for experimentation.

The upper half of the nucellus, in which proembryos had been initiated, was dissected out and inoculated on WHITE's¹ medium modified by the addition of NITSCH's² trace elements and cobalt chloride (0.025 ppm).

On this basal medium, the nucellus turned brown within a week. But in a medium supplemented with 400 ppm of casein hydrolysate (acid hydrolysed, neutralised and vitamin-free), profuse proliferation of nucellar cells was observed and the original tissue could hardly be traced as such 6–8 weeks after culture. Instead, there were produced abundant masses of tissue which are here designated as 'pseudobulbils' (Fig. 1) – a term first coined by LA RUE³ to designate the curious balls of tissue obtained in cultures of the female gametophyte of *Zamia*.

The pseudobulbils were pearly white and consisted of parenchymatous cells. They have now been maintained for over a year through several transfers to fresh media. Kinetin (2 ppm), added in conjunction with casein hydrolysate (400 ppm) to the basal medium, was found to enhance the production of pseudobulbils. It is possible that, apart from the proliferation of nucellar cells, the pseudobulbils may in part also originate from callusing of proembryos.

Pseudobulbils, left in culture media containing casein hydrolysate alone (400 ppm), and in combination with kinetin (2 ppm), for more than two months, occasionally developed into seedlings which presented several

¹ P. R. WHITE, *A Handbook of Plant Tissue Culture* (Lancaster, Pa. James Cattell, 1943).

² J. P. NITSCH, *Amer. J. Bot.* 38, 566 (1951).

³ C. D. LA RUE, *Brookhaven, nat. Lab. Symp.* No. 6, 187 (1954).

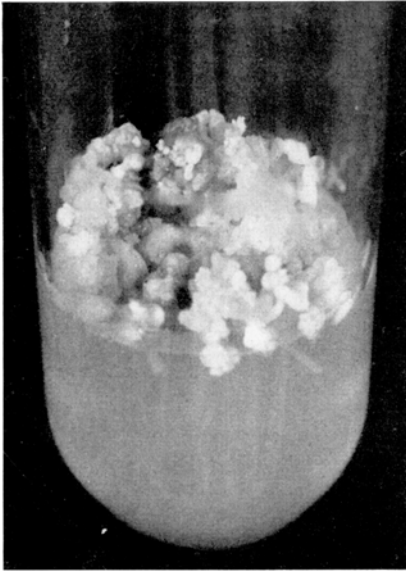


Fig. 1. – Pseudobulbils; 6 week-old on White's medium + casein hydrolysate. $\times 1.4$.

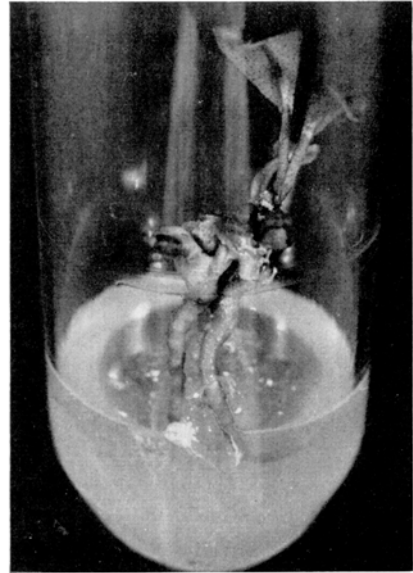


Fig. 2. – Seedlings with normal leaves and fasciated hypocotyl. $\times 1.4$.

morphological peculiarities like pluricotyl and the fasciation of cotyledons, stem and hypocotyl. The leaves, however, were normal (Fig. 2) and characteristic of the plant. They were green, gland-dotted, narrow-winged and articulated.

Proembryos, whether zygotic or nucellar, excised and cultured on the casein hydrolysate medium, showed normal development and attained the heart-shaped stage in 6–8 weeks of culture. Embryos at the torpedo stage on the same medium showed the plumule to have developed as a green papilla, which lay dormant even after transfers to fresh medium. No growth of the embryos was observed on the control medium.

The production of pseudobulbils from the nucellus opens new avenues of obtaining vigorous plants breeding true to the maternal parent. It may, however, be added that 'although a method of inducing adventive embryony has undoubted possibilities, there is also a need sometimes for the elimination of adventive embryos'⁴.

⁴ P. MAHESHWARI, *An Introduction to the Embryology of Angiosperms* (McGraw-Hill, N.Y. 1950).

It would be of great interest if some control could be exercised through chemical means to eliminate either zygotic or nucellar embryos to suit the needs of the breeder.

I am grateful to Professor P. MAHESHWARI and Dr. S. NARAYANASWAMI for guidance, and to Professor KENNETH V. THIMANN (Harvard University) for valuable suggestions. Grateful acknowledgements are made to the Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi, for financing the scheme under which this work was carried out.

N. S. RANGA SWAMY

*Department of Botany, University of Delhi (India),
October 10, 1957.*

Zusammenfassung

Wucherungen, die in der vorliegenden Arbeit als «Pseudobulbillen» bezeichnet worden sind, erschienen zuerst in Kulturen von *Citrus*-Nucellargewebe auf einem künstlichen Nährboden. Diese Bulbillen sind durch zahlreiche Passagen in einem genau definierten Nährboden seit einem Jahr erhalten geblieben.

Nouveaux livres - Recensioni - Buchbesprechungen - Reviews

Physikalisches Wörterbuch

Herausgegeben von W. H. WESTPHAL

VI, 833 und 795 Seiten. 4^o

Zwei Teile in einem Band

(Springer-Verlag, Berlin, Göttingen und Heidelberg, 1952). DM 148.–

Dieses überaus umfangreiche Werk mit mehr als 10000 Stichworten und mit über 1500 Figuren im Text

ist als Fortführung der 2. Auflage des Physikalischen Handwörterbuches von A. BERLINER und K. SCHEEL (1932) gedacht. Das Wörterbuch wendet sich zwar, wie es im Vorwort heisst, in erster Linie an Physiker. Es soll aber auch Chemikern, Biologen und Medizinern dienlich sein. Nach Auffassung des Referenten kommt ein derartiges Werk vor allem für solche Interessenten in Frage, die dem behandelten Fachgebiet etwas ferner stehen, und die sich rasch über das eine oder andere Thema informieren wollen. Deshalb erscheint es berechtigt, dass das Buch durch einen Nichtphysiker besprochen wird.