

and $10^{-7}M$ cause a significant inhibition, compared with control, but only in the initial stage; this inhibition then gradually diminishes. The block of bud formation induced by naringenin $10^{-4}M$ remains for 50 days at least; also callus is strongly reduced, while in the other concentrations this is normal. A test was also made on 50-day-old cultures to verify whether or not they contained naringenin. The extraction and spectrophotometric dosage were made according to the method of flavonoid compounds⁹ modified for naringenin⁴. UV-spectra in ethyl ether did not reveal the maximum absorption characteristic of naringenin, but there were two different substances (or two groups of substances), presumably flavonoid compounds, respectively one from control and the other from naringenin $10^{-4}M$ cultures, whose identification is being examined at the present time.

In short, only naringenin $10^{-4}M$ completely inhibits bud formation in explants in vitro of chicory roots, also reducing callus without, however, blocking.

Riassunto. La naringenina alla concentrazione di $10^{-4}M$ inibisce in modo totale l'emissione di gemme in radici di *Cichorium intybus* in vitro senza tuttavia bloccare completamente la callogenesi. A concentrazioni scalari minori (10^{-5} , 10^{-6} , $10^{-7}M$) questa sostanza causa una inibizione solo nella fase iniziale dell'esperienza.

N. BAGNI and D. SERAFINI FRACASSINI

Istituto Botanico and Istituto di Coltivazioni Arboree dell'Università di Bologna (Italy), December 24, 1965.

⁹ T. A. GEISSMAN, in *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse* (Eds. K. PAECH and M. V. TRACEY; Springer-Verlag, Berlin 1955), vol. III, p. 450.

Polytäne Chromosomen im Bereiche der Prothoracal-dorsal-Imaginalscheibe von *Drosophila melanogaster*¹

Die dorsale Prothoracal-Imaginalscheibe enthält die Primordien, die sich in der Metamorphose zum Humeralteil des Thorax differenzieren. Als versucht wurde, diese Imaginalscheibe nach der von HADORN^{2,3} entwickelten Technik im Adultabdomen zu kultivieren, ergaben sich

unerwartete Schwierigkeiten. Im Gegensatz zu anderen Primordien desintegrieren die Zellen der Prothoracalanlage leicht.

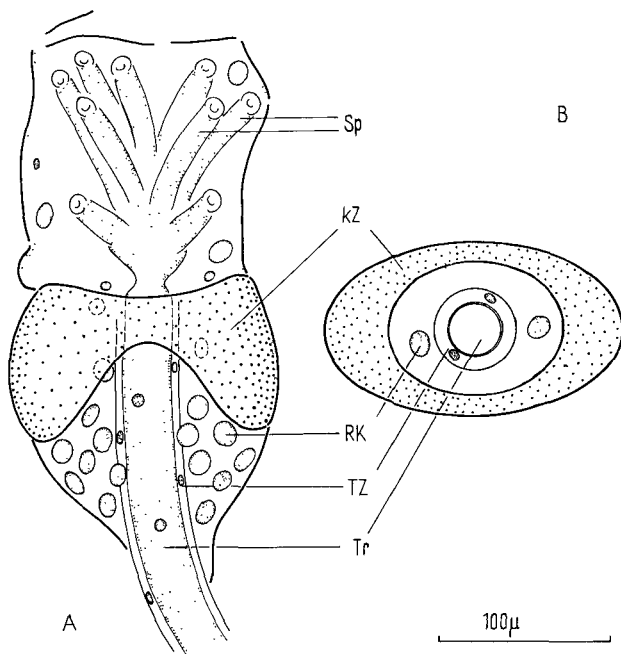


Fig. 1. Bau des Prothoracal-dorsal-Komplexes (schematisch). A: Lateralansicht. B: Querschnitt auf der Höhe der kleinen Zellen. Sp, Spiracularpapillen; Tr, Trachee; TZ, Trachealzellen; kZ, kleine, undifferenzierte Zellen; RK, Riesenkerne der grossen, schwer abgrenzbaren Zellen.



Fig. 2. Polytäne Chromosomen aus dem Prothoracal-dorsal-Komplex von *Drosophila melanogaster*. Die Pfeile weisen auf Puffs hin.

Dieses Verhalten wurde verständlich, als wir die «Scheibe» genauer untersuchten. Es zeigte sich, dass das, was man als «Imaginalscheibe» heraussezieren und transplantieren kann, aus zwei Zelltypen zusammengesetzt ist. Eine eigentliche Imaginalanlage steht dabei in engstem Kontakt mit grosskernigen Zellen, die leicht auseinanderfallen.

Zu unserer Überraschung stellten wir sodann fest, dass die Kerne dieser grossen Zellen polytäne Chromosomen enthalten. Im folgenden wird kurz über diesen Befund berichtet.

Wir verwendeten verpuppungsreife Larven des Wildstammes Sevelen von *Drosophila melanogaster*. Sie wurden mit Uhrmacherpinzetten in Holtfreter-Lösung seziiert. Die mit Orcein-Essigsäure gefärbten Quetschpräparate untersuchten und fotografierten wir mit dem Zeiss Ultraphot Phasenkontrastmikroskop.

Die Prothoracal-dorsal-Komplexe umgeben als runde Zellhaufen beiderseits die vordersten Abschnitte der Haupttracheenstämme unmittelbar hinter den fingerförmigen Spiracularpapillen. Sie liegen bei der intakten Larve in der Gegend des vierten Segmentes. Sie haften gut an den Tracheen, lassen sich daher mit diesen zusammen leicht vom Larvenkörper ablösen.

Figur 1 zeigt die Lage der locker gefügten Riesenzellen, deren Kerne die polytänen Chromosomen enthalten. Ihre Zahl variiert zwischen 30 und 50. Im vorderen Abschnitt sind sie von einem Kranz kleiner, undifferenzierter Zellen umgeben. Der ganze Komplex wird von einer Membran begrenzt.

Die kleinen Zellen stellen das eigentliche Humerusprimordium dar, dagegen sind die Riesenzellen rein larvale Bildungen, die in der Metamorphose zerfallen (LAMPRECHT⁴).

In Figur 2 ist ein Satz polytärer Chromosomen aus einem Riesenkern des Prothoracal-dorsal-Komplexes dargestellt. Der mittlere Durchmesser dieser Chromosomen beträgt $1,2 \mu$; das entspricht $\frac{1}{2}$ bis $\frac{1}{3}$ der Dicke von Speicheldrüsenchromosomen aus 96 h alten Larven. Die Bänderstruktur und grosse Puffs (Pfeile) sind deutlich. Es ist jedoch nicht leicht, schöne Platten herzustellen, da die Chromosomen sehr flexibel sind und oft Knäuel bilden.

Summary. Polytene chromosomes have been found in a cell complex associated with the humerus imaginal disc of *Drosophila melanogaster*.

J. LAMPRECHT und P. REMENSBERGER

Zoologisch-vergleichend-Anatomisches Institut der Universität Zürich (Schweiz), 7. Januar 1966.

¹ Wir danken unserem Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. HADORN, herzlich für die Anregung zu dieser Arbeit und die kritische Durchsicht des Manuskripts. Zu Dank verpflichtet sind wir auch Fräulein M. STAUB, die uns bei der Herstellung der mikroskopischen Präparate geholfen hat.

² E. HADORN, *Devl Biol.* 7, 617 (1963).

³ E. HADORN, *Revue suisse Zool.* 71, 99 (1964).

⁴ J. LAMPRECHT, unveröffentlicht.

Inhibition of DNA Synthesis and Cell Division by Actinomycin D^{1,2}

Results from this laboratory^{3,4} and from that of HARDING^{5,6} have shown that when amphibian or mammalian lenses are either mechanically injured or are cultured in vitro, large numbers of epithelial cells are prompted to enter DNA synthesis followed by mitosis.

In lenses of the bullfrog, *R. catesbeiana*, maintained at 24°C, DNA synthesis commences after a period of 2 days in culture. The cells which proliferate in vitro as well as those which do so in vivo after wounding, do not do so under normal in vivo conditions. Apparently injury and culture conditions are able to call into play the whole train of events which adumbrates mitosis. Though DNA synthesis is one of the most obvious of premitotic events one has to suppose that it, too, is preceded by significant cytochemical transformations. And, in fact, there are already several published reports which indicate that the synthesis of RNA is a prerequisite for both DNA replication and cell division in injured and cultured tissue⁷⁻⁹. The experiments reported herein suggest that this is also true for lens epithelial cells. Thus it will be shown that actinomycin D, which is a potent inhibitor of the DNA primed synthesis of RNA¹⁰, is fully capable of suppressing both of the aforementioned hyperplastic reactions.

Experimental. Lenses of adult bullfrogs were either needle injured in vivo or isolated and cultured according to methods which have been fully described elsewhere^{3,4}. In the culture experiments actinomycin D (kindly supplied to us by Dr. H. B. WOODRUFF, Merck Sharpe and

Dohme, Rahway, New Jersey, USA) was used at a concentration of $10^{-1} \mu\text{g/ml}$. In the in vivo studies the actinomycin was injected intraperitoneally at concentrations varying from 0.5–1.0 $\mu\text{g/g}$ body weight. Such injections were administered once a day starting on the day during which the lenses were injured. Following experimental treatment the lenses were exposed to either tritiated thymidine (5 $\mu\text{C/ml}$, 6.0 C/mM) or tritiated uridine (5 $\mu\text{C/ml}$, 20 C/mM) for 2 h and 40 min respectively. Thereafter they were fixed in Carnoy's fluid and whole

¹ This work was supported in part by Public Health Service Grant No. NB-05425-01 and also by institutional grant 71D from the American Cancer Society.

² Supported by U.S. National Science Foundation grant No. GE-6534 5/410-0056.

³ H. ROTHSTEIN, J. REDDAN, and A. WEINSIEDER, *Expl. Cell Res.* 37, 440 (1965).

⁴ H. ROTHSTEIN, J. M. LAUDER, and A. WEINSIEDER, *Nature* 206, 1267 (1965).

⁵ C. V. HARDING and B. D. SRINIVASAN, *Expl. Cell Res.* 25, 326 (1961).

⁶ C. V. HARDING, H. ROTHSTEIN, and M. B. NEWMAN, *Expl. Eye Res.* 7, 457 (1962).

⁷ M. FUJIOKA, M. KOYA, and J. LIEBERMAN, *J. biol. Chem.* 238, 3401 (1963).

⁸ J. LIEBERMAN, R. ABRAMS, and P. OVE, *J. biol. Chem.* 238, 2141 (1963).

⁹ R. BASERGA, R. D. ESTERSEN, R. O. PETERSEN, and J. P. LAYDE, *Proc. natn. Acad. Sci.* 54, 745 (1965).

¹⁰ E. REICH, *Cancer Res.*, 23, 1428 (1963).