

Absence of Intrinsic Innervation of the Human Placenta

The presence *v.* absence of nerve fibres in the human placenta is a matter of considerable interest as well morphologically as in relationship to its various physiological foeto-maternal functions, and to the interpretation of many experimental, especially pharmacological, data. If the placenta was usually considered to be devoid of neural elements¹⁻⁶, recent studies have revealed nerve fibres in the human placenta⁷⁻¹¹, however and either after a 'methylene blue-immersion technique' of thick sections (2 mm) of fresh placental tissue¹¹, or after the osmiumdioxid 'nerve staining' technique of CHAMPY-COUJARD^{9,10}.

Having demonstrated by an electron microscopical investigation^{12,13}, the absence of selective 'nerve' staining properties of the Champy-method and intrigued by the fundamental importance of this again debated question, we took many biopsies immediately after delivery from the various (marginal, paramarginal and central) areas of 40 unselected human placentas. They were fixed in Bouin's fluid, embedded in paraffin, step sectioned and the classic Jabonero silver staining technique for nerve fibres in mounted paraffin sections, as worked out by VAN CAMPENHOUT^{14,15} carried out. As a control, tissue specimens of various other organs of the human body were identically processed and stained at the same time, using the same solutions.

If in all control slides, nerve fibres were readily seen, we did not observe – even after a very scrutinous study – the occurrence of genuine nerve fibres on the placental slides (which always covered a total transverse section, i.e. from the foetal to the maternal side). Hence it appears to us that the nerve fibres observed in the placenta by the two above-mentioned methods do represent artefactual staining results, which are known and have been demonstrated^{12,13} to occur easily in mesenchymal tissues. In this sense, i.e. the bended and more or less collapsed chorionic capillaries could easily mimick ... 'the numerous large nerve trunks coarsing among the placental villi'^{11,16}.

Résumé. A l'encontre de certaines publications récentes et en appliquant la technique plus classique d'imprégnation nerveuse aux sels d'argent, nous n'avons pas observé la présence de réelles fibres nerveuses dans le placenta humain. Dès lors, le placenta humain devrait toujours être considéré comme un tissu non innervé directement.

J. M. LAUWERYS, M. DE BRUYN,
J. PEUSKENS and N. BOURGEOIS

Department of Pathology B,
Experimental Laboratory for Cardiopulmonary and
Genital Pathology, University of Leuven (Belgium),
14 October 1968.

- ¹ G. L. BOURNE and D. LACY, *Nature* 186, 952 (1960).
- ² K. E. KRANTZ and J. C. PARKER, *Clin. Obstet. Gynec.* 6, 26 (1963).
- ³ W. SCHMITT, *Z. Biol.* 75, 19 (1922).
- ⁴ P. STÖHR, *Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie des Menschen* (Springer, Berlin 1951), p. 451.
- ⁵ J. M. CRAWFORD, *J. Obstet. Gynaec. Br. Commonw.* 68, 378 (1961).
- ⁶ G. S. DAWES, *Am. J. Obstet. Gynec.* 84, 1634 (1962).
- ⁷ R. COUJARD, F. LAPAGE and B. SCHRAMM, *Bull. Féd. soc. gynéc. et obstét.* 4, 522 (1952).
- ⁸ M. KERNBACH, *Akush. Ginek.* 5, 15 (1959).
- ⁹ B. S. TEN BERGE, *Geburtsh. Frauenheilk.* 22, 1228 (1962).
- ¹⁰ B. S. TEN BERGE, *Gynaecologia* 156, 49 (1963).
- ¹¹ H. N. JACOBSON and F. K. CHAPLER, *Nature* 214, 103 (1967).
- ¹² J. M. LAUWERYS and J. PEUSKENS, *J. Microsc.* 6, 66a (1967).
- ¹³ J. M. LAUWERYS and J. PEUSKENS, *Acta Anat.*, in press.
- ¹⁴ E. VAN CAMPENHOUT, *Stain Technol.* 28, 195 (1953).
- ¹⁵ E. VAN CAMPENHOUT, *Archs Biol., Liège* 67, 1 (1956).
- ¹⁶ This investigation was supported by a research grant from the Belgian 'Nationaal Fonds voor Wetenschappelijk Onderzoek'. We thank Mrs. M. KESTENS and B. EMANUEL for their excellent technical help.

Kolbenzellen in der Epidermis der Galaxiidae, *Galaxias attenuatus* (Salmoniformes)

Unter der Bezeichnung «Kolbenzellen» wurden ganz verschiedene Zellen in der Epidermis der Petromyzoniformes, Polypteriformes, Cypriniformes, Siluriformes, Gonorhynchiformes, Anguilliformes und Gadiformes beschrieben¹⁻⁵. PFEIFFER^{2,3} wies darauf hin, dass sich die Kolbenzellen der Ostariophysi und Gonorhynchiformes von den bekannten Kolbenzellen aller anderen Fische unterscheiden und nannte sie Schreckstoffzellen. Es wurden mehrere Hinweise gefunden, dass sie den Schreckstoff enthalten, durch den die von K. von FRISCH^{6,7} an der Elritze, *Phoxinus laevis* Ag., entdeckte Schreckreaktion ausgelöst wird. Die Verbreitung der Schreckreaktion und des Schreckstoffes deckt sich mit der Verbreitung der Schreckstoffzellen: sie sind bisher nur von Ostariophysi und Gonorhynchiformes bekannt^{2,3,8}. Die wechselseitige Wirksamkeit des Schreckstoffes zeigt, dass die Schreckreaktion der Gonorhynchiformes derjenigen der Ostariophysi homolog ist⁹. Dies bekräftigt die Auffassung⁹, dass die Ostariophysi und die Gonorhynchiformes auf gemeinsame Ahnen zurückgehen.

Nach GREENWOOD et al.⁹ leiten sich die Gonorhynchiformes und die Ostariophysi von salmonoid-artigen Fi-

schen ab. Bei den Salmoniformes wurden bisher keine Kolbenzellen oder Schreckstoffzellen gefunden; allerdings wurden von ihren 37 Familien und 8 Unterordnungen⁹ bisher nur 3 Familien aus 2 Unterordnungen untersucht, nämlich die Salmonidae (Salmonoidei), Esocidae und Umbridae (Esocoidei)^{1,2}. Alle Versuche mit diesen Fischen endeten ohne Schreckreaktion¹⁰. Es wurde bisher angenommen, dass den Salmoniformes Schreckstoffzellen,

- ¹ M. OXNER, *Jena. Z. Naturwiss.* 40, 589 (1905).
- ² W. PFEIFFER, *Z. vergl. Physiol.* 43, 578 (1960).
- ³ W. PFEIFFER, *Z. vergl. Physiol.* 56, 380 (1967).
- ⁴ W. PFEIFFER, *Z. Zellforsch.* 90, 127 (1968).
- ⁵ W. PFEIFFER and T. F. PLETCHER, *J. Fish. Res. Bd. Canada* 21, 1083 (1964).
- ⁶ K. v. FRISCH, *Naturwiss.* 26, 601 (1938).
- ⁷ K. v. FRISCH, *Z. vergl. Physiol.* 29, 46 (1941).
- ⁸ W. PFEIFFER, *Z. vergl. Physiol.* 47, 111 (1963).
- ⁹ P. H. GREENWOOD, D. E. ROSEN, S. H. WEITZMAN and G. S. MYERS, *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 131 (4), 339 (1966).
- ¹⁰ F. SCHUTZ, *Z. vergl. Physiol.* 38, 84 (1956).

Schreckstoff und Schreckreaktion fehlen^{1,3,11,12,13}. Nun zeigte sich, dass diese Aussage, zumindest bezüglich der Schreckstoffzellen und Galaxoidei wahrscheinlich eingeschränkt werden muss.

Mit *Galaxias attenuatus* (Jenyns 1842) wurde ein Angehöriger der bisher nicht geprüften Galaxiidae (Galaxoidei, Salmoniformes) untersucht¹⁴. Die juvenilen Fische waren 35 mm lang und stammten aus dem Lago Nahuel Huapi, Provinz Rio Negro, Argentinien¹⁵. Sie waren in Formalin fixiert und in 70% Äthylalkohol aufbewahrt worden. Die Epidermis von 2 Exemplaren wurde histologisch untersucht. Die 6–10 μ dicken Paraffinschnitte wurden mit Hämalaun-Eosin gefärbt.

Die Epidermis dieser Fische ist 25 μ dick und enthält eine Lage «Kolbenzellen» mit 15–18 μ Durchmesser. Die Kolbenzellen reichen weder bis zur Basis noch bis zur Oberfläche der Epidermis. Ihr Zellkern liegt zentral und wird von einem hellen Hof umgeben. Daran schliesst sich der färbbare Hauptinhalt. Ein Vergleich dieser Kolbenzellen von *Galaxias* mit den Schreckstoffzellen von Gonorhynchiiformes³ und Cypriniformes^{1,3,8} ergibt keine Unterschiede. Die Kolbenzellen von *Galaxias* gleichen morphologisch völlig den Schreckstoffzellen der Gonorhynchiiformes und Cypriniformes. Ob sie ihrer Funktion nach Schreckstoffzellen sind, können nur Experimente über die Schreckreaktion entscheiden. Die Schwarmbildung bei juvenilen Galaxiidae spricht für eine Schreckreaktion. Das Vorkommen von Kolbenzellen bei *Galaxias*, die den Schreckstoffzellen der Gonorhynchiiformes und Ostario-

physi gleichen und vielleicht ebenfalls Schreckstoffzellen sind, passt zu der Auffassung⁸, dass die Gonorhynchiiformes und die Ostariophysi auf salmonoid-artige Ahnen zurückgehen.

Summary. The epidermis of *Galaxias attenuatus* (Galaxiidae, Salmoniformes) was found to contain club cells that are like the alarm substance cells of the Gonorhynchiiformes and Cypriniformes. Whether they are alarm substance cells, can be decided only by experiments on the fright reaction. The existence of club cells in the Galaxiidae confirms the opinion that both the Gonorhynchiiformes and the Ostariophysi derived from salmonoid-like fish.

WOLFGANG PFEIFFER

Zoophysiologisches Institut der Universität,
74 Tübingen (Deutschland), 20. Dezember 1968.

¹¹ W. PFEIFFER, Biol. Rev. 37, 495 (1962).

¹² W. PFEIFFER, Experientia 19, 113 (1963).

¹³ W. PFEIFFER, Naturwiss. 53, 565 (1966).

¹⁴ Für die Überlassung des wertvollen Materials danke ich der Zoologischen Sammlung des Bayerischen Staates; für die Bestimmung der Art gilt mein besonderer Dank Herrn Dr. F. TEROFAL, München.

¹⁵ Sie wurden im Dezember 1951 von Herrn A. THORHAUSER gesammelt.

Inhibition of Growth of the Seedlings of *Phaseolus radiatus* Linn. by N-Benzyl Orthofluorophenoxy Acetamide - A New Growth Retardant

Recently orthofluorophenoxy- α -methyl acetic acid has been reported to be a strong growth retardant for the growth of the seedlings of *Phaseolus radiatus* Linn.¹ Its inhibitory effect on some metabolites has also been studied^{2,3}. The growth-retarding activity of N-benzyl orthofluorophenoxy acetamide was found to be more potent than the chemical reported above. The chemical was found to be insoluble in water but soluble in alcohol. The solution of the chemical was prepared by dissolving 100 mg of it in 10 ml of absolute alcohol, and finally raising the volume to 1 l, with distilled water. From this 100 ppm stock solution, the solutions of lower concentrations were prepared.

The seeds of *P. radiatus* were soaked in solutions of different concentrations of the chemical, i.e. 5, 10, 25 and 50 ppm for 6 h. The control seeds were soaked in 1.0% ethanol for the same period. After soaking, the seeds were thoroughly washed with distilled water and were allowed to germinate in sterilized petri-dishes lined with moist filter papers at 30°C in an incubator.

The length of the radicle and hypocotyl was recorded after 18 h of soaking and thereafter at an interval of every 12 h. The mean length of the radicles and hypocotyls were recorded for 30 seeds grown in 3 petri-dishes each containing 10 seeds. The results have been presented in the Figures 1, 2 and 3. After 12 h of germination of the seeds 43% inhibition in growth was recorded in the seedlings treated with 5 ppm of the solution. At 10 ppm the inhibition in growth of the seedling was about 55%. The growth of the radicle was inhibited to a greater extent than the growth of hypocotyl. The radicle of the seedlings were completely killed at a concentration of 10 ppm and

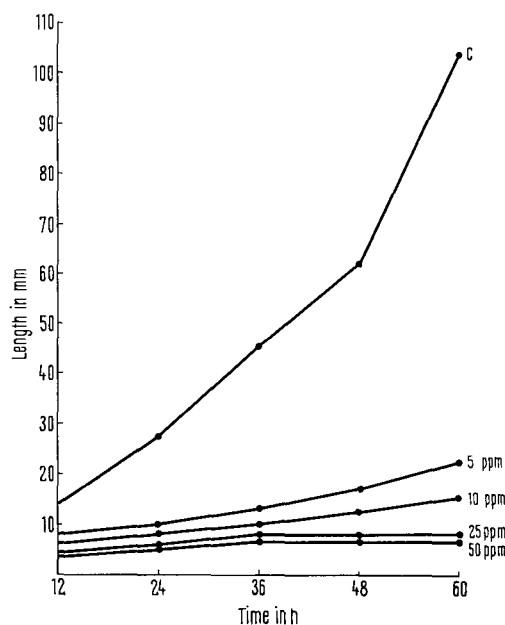


Fig. 1. Effect of N-benzyl orthofluorophenoxy acetamide on the growth of the seedlings.

¹ M. N. TEWARI, Curt. Sci. 37, 236 (1968).

² M. N. TEWARI, Ph. D. Thesis, Jodhpur University (1965).

³ M. N. TEWARI, Proc. Indian Sci. Congr. 3, 350 (1967).