

in the cichlids might therefore reflect the degree of phylogenetic relatedness. Thus *Cichlasoma spilurum*, *C. facetum*, *C. meeki* and *C. citrinellum* might be related and *Herichthys cyanoguttatus* might be closely allied to them. This conclusion is confirmed by REGAN's work¹².

Similarly, *Herotilapia multispinosa*, *Sympodus aquifasciata* and *Pterophyllum scalare* might by closely related to *Cichlasoma nigrofasciatum*. This is again in good agreement with REGAN¹². According to REGAN's view *Herotilapia multispinosa* is closely related to *C. nigrofasciatum*, which is derived from facetum-type cichlids. *Pterophyllum scalare* and *Sympodus aquifasciata* are however closely allied to *C. severum*, which like *C. nigrofasciatum*, is derived from facetum-type cichlids. This agrees with our results, if it is accepted that the different net charge of LDH E₄ in *C. severum* originates from a recent mutation in this species.

It would be premature to draw any further conclusions on the phylogeny of South American cichlids from a comparative investigation of three enzymes only, but it is substantiated by our results, that conveniently collected data on genetic variation, such as electrophoretic mobilities of specific proteins, might be an excellent tool for confirming and supplementing taxonomic relationships derived from classical criteria.

Zusammenfassung. Ein Vergleich der elektrophoretischen Mobilitäten der Laktatdehydrogenasen A₄ (Skelettmuskel), B₄ (Herz) und E₄ (Retina) zeigt bei 7 Arten

der Gattung *Cichlasoma* weitgehende Übereinstimmungen. 10 Arten anderer Gattungen südamerikanischer Cichliden weisen, verglichen mit der Gattung *Cichlasoma*, zunehmende Divergenz der Isoenzymmuster auf. Es wird vermutet, dass sich hierin die phylogenetische Verwandtschaft der Gattungen widerspiegelt. Die auf Grund der Übereinstimmungen in LDH-Isoenzymmustern ermittelten phylogenetischen Zusammenhänge decken sich weitgehend mit den Beziehungen, die durch vergleichend-morphologische Untersuchungen aufgezeigt wurden. Das methodische Vorgehen scheint geeignet, taxonomische Beziehungen zu ergänzen, die durch klassische Kriterien dargelegt wurden¹³.

A. SCHOLL and S. HOLZBERG¹⁴

*Zoologisches Institut der Universität,
Sahlistrasse 8, CH-3012 Bern (Switzerland); and
Gesellschaft für Strahlenforschung m.b.H., München,
Institut für Biologie, D-8042 Neuherberg (Germany),
6 October 1971.*

¹² C. T. REGAN, Ann. Mag. Nat. Hist., ser. 7, Vol. 12, 60 (1905).

¹³ Supported by Schweizerischer Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung and Gesellschaft für Strahlenforschung m.b.H., München.

¹⁴ The technical assistance of Mrs. EVELYNE PERRIARD is gratefully acknowledged.

PRO EXPERIMENTIS

Eine Methode zur Gewinnung von Ameisen-Spurpheromonen

Viele Ameisenarten kennzeichnen ihren Futterweg durch die Ausscheidung von Geruchsstoffen, die als Spurpheromone bezeichnet werden¹⁻⁶. Das Spurpheromon von *Lasius fuliginosus* war Gegenstand eingehender Untersuchungen von HANGARTNER und BERNSTEIN⁷ sowie von HANGARTNER⁸, die unter anderem ergaben, dass sich die Substanz in der Rektalampulle sammelt und durch die Analöffnung ausgeschieden wird.

Das Problem der Isolierung dieses Naturstoffs lässt sich, je nach der Wahl des Ausgangsmaterials, auf vier verschiedene Weisen angehen. Das Ausgangsmaterial kann sein a) ein Ameisengesamtextrakt, b) ein Abdominal-

extrakt, c) der Inhalt der aus den Ameisen herauspräparierten Rektalampullen, d) die Gesamtheit der von den Ameisen auf dem Futterweg ausgeschiedenen Stoffe. Im folgenden wird eine Anlage beschrieben, welche erlaubt, die von den Ameisen einer Laboratoriumskolonie auf dem Futterweg ausgeschiedenen Stoffe laufend und ohne Störung der Tiere zu sammeln.

Die Anlage besteht aus einem Kunstnest und einer Reihe von Futterkästchen, von denen jedes über eine Vorrichtung zu erreichen ist, die als Eluierkammer bezeichnet werden soll. Figur 1 zeigt schematisch eine mögliche Anordnung dieser Bauelemente. Das Kunstnest ist in einem PVC-Behälter (70 × 45 × 15 cm) untergebracht, dessen Boden mit einer 5 mm hohen Gipsschicht belegt ist. Die Ränder sind mit Paraffinöl eingestrichen, um die Ameisen am Entweichen zu hindern. Eine Scheidewand unterteilt den Behälter in den Nestraum N und die Arena A. Nest

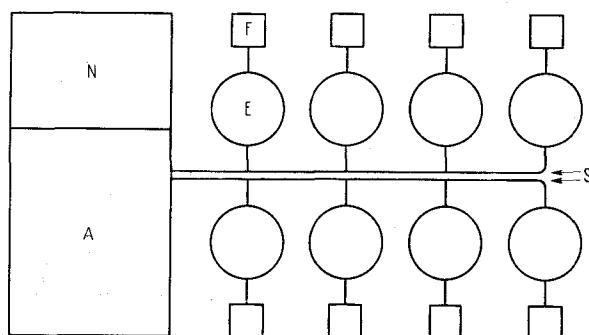


Fig. 1. N, Nestraum; A, Arena; E, Eluierkammer; F, Futterkästchen; S, Silicongummischläuche.

¹ E. O. WILSON, Science 129, 643 (1959).

² E. O. WILSON, Scient. Am. 208, 100 (1963).

³ J. H. SUDD, in *An Introduction to the Behaviour of Ants* (E. Arnold Ltd., London 1967), p. 40.

⁴ A. GABBA, Natura, Milano 58, 150 (1967).

⁵ M. S. BLUM, in *Chemicals Controlling Insect Behavior* (Ed. M. BEROZA; Academic Press, New York and London 1970), p. 62.

⁶ J. C. MOSER, in *Control of Insect Behavior by Natural Products* (Eds. D. L. WOOD, R. M. SILVERSTEIN and M. NAKAJIMA; Academic Press, New York and London 1970), p. 168.

⁷ W. HANGARTNER und St. BERNSTEIN, Experientia 20, 392 (1964).

⁸ W. HANGARTNER, Z. vergl. Physiol. 57, 103 (1967).

und Arena sind mit Glasplatten abgedeckt, das Nest ausserdem zum Schutz vor Lichteinfall mit einer PVC-Platte. Die Eluierkammern sind auf einem Gerüst aus Stahlstangen montiert. Eine Eluierkammer besteht entsprechend Figur 2 aus einem PVC-Zylinder (Höhe 40 cm, Durchmesser 18 cm), der auf einem Paar nebeneinanderliegender Glasplatten (10×20 cm) ruht und oben durch ein zweites Glasplattenpaar abgedeckt ist. Zwischen den beiden Glasplattenpaaren eingespannt durchzieht ein Glasseidenstreifen⁹ (Gesamtlänge 52 cm, Breite 14 cm) den Zylinder. Das unten herausragende Ende ist spitz zugeschnitten und mit Aluminiumfolie umkleidet. Auf dem oben herausragenden, waagrecht umgelegten Ende steht ein (der Übersichtlichkeit halber in die Figur nicht eingezzeichnet) Glasfiltertiegel (Gesamthöhe 5 cm, Plattendurchmesser 3 cm, Porosität 5). 15 mm vom oben bzw. untern Glasplattenpaar entfernt führt in den Zylinder hinein je ein Glasrohr (ä.D. 10 mm), dessen schräg zugeschnittenes Ende den Glasseidenstreifen berührt. Jedes Glasrohr ist mit einem Silicongummischlauch verbunden. Der untere führt zum Nest,

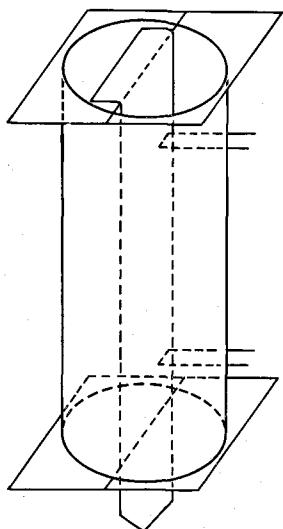


Fig. 2. Eluierkammer.

während der obere, in einer Spiralwindung um den Zylinder herumgelegt, an ein auf dem Labortisch stehendes Futterkästchen angeschlossen ist. Das Futterkästchen ist ein würfelförmiger Plastikbehälter (10 cm Kantenlänge) mit durchlöchertem Deckel. Es enthält ein Schälchen mit 20%iger Rohrzuckerlösung sowie, zur Aufrechterhaltung einer genügend feuchten Atmosphäre, ein Stück nassen Schwammes. Zur Ergänzung des Futters wird eine homogene Mischung aus einem Hühnerei und 80 g Waldhonig bereitet. Wegen seiner leichten Verderblichkeit bietet man den Ameisen dieses Futter in der Arena an, wo es leicht erneuert werden kann. Die Hauptnahrungsquelle der Ameisen bildet indessen die in den Futterkästchen aufgestellte Rohrzuckerlösung. Der Weg zu diesem Futter führt über die Eluierkammern. Auf den Glasseidenstreifen wird das Spurpheromon ausgeschieden, das folgendermassen eluiert werden kann: Zweimal wöchentlich giessst man in jeden Glasfiltertiegel 10–15 ml Wasser, das allmählich auf den Glasseidenstreifen abtropft und denselben durchsickert. Der grösste Teil des Wassers verdunstet in den Kammerraum hinein; 1–2 ml tropfen unten ab und werden in einem kleinen Glasbecher aufgefangen. In den Eluaten lässt sich das Spurpheromon mit Hilfe des von HANGARTNER⁸ beschriebenen S-Testes nachweisen. Die Eluate werden bis zu ihrer Weiterverwendung eingefroren. Versuche, aus diesem Material das Spurpheromon von *Lasius fuliginosus* zu isolieren, sind im Gang¹⁰.

Summary. A method for collecting the trail pheromone, excreted by the ant species *Lasius fuliginosus*, is described.

S. HUWYLER und M. VISCONTINI

Organisch-chemisches Institut der Universität,
Rämistrasse 76, CH-8001 Zürich (Schweiz),
28. September 1971.

⁹ Bezugsquelle für Glasseidengewebe: Fibres de Verre S.A., CH-1001 Lausanne (Schweiz). Die Glasseidenstreifen wurden zur Entfernung der Schichte vor Gebrauch in Chromschwefelsäure eingelegt.

¹⁰ Die Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt.

Reproducible Chemography in Autoradiographs of Rat Brain

In a study of the distribution of ^{35}S -chlorpromazine in rats, autoradiography with stripping-film technique was applied to freeze-dried tissue samples¹. The autoradiographs of certain areas in the brains, however, showed exposure also in control animals which had received no labelled drug.

Further investigations revealed that the Kodak AR-10 film used, after proper exposure and development, was blackened in the area of fascicle dorsalis at the caudal end of the fourth ventricle (Figure 1). The silver grains were accumulated in groups resembling those produced by β -radiation, and localized to the ventral margin of the ventricle (Figure 2).

The grains were visible also in unstained preparations and thus did not arise from any fault in the staining procedure employed. That they actually consisted of silver and not of deposits from the developer or other solutions was confirmed using an X-ray microprobe. When the electron beam of this instrument was focused on the grains

they emitted X-ray fluorescence of a wavelength characteristic of silver.

Autoradiographs prepared from the brains of several different rats were exposed in the same histological location and the groups of silver grains showed good apposition between consecutive sections. This fact, and the observation that no mechanical deformations of the sections such as cracks or folds were evident, make it improbable that ordinary stress artefacts were the cause. It seems more likely that the phenomenon is due to positive chemography, i.e., chemical action on the film by substances within the section. Artefacts of this kind are often encountered and may be very troublesome in autoradiographic work².

¹ C. R. HACKMAN, S. ROSENGARD and H. VAPAATALO, Eur. J. Pharmac. 9, 59 (1970).