

be removed by washing with 0.9% saline.  $\frac{1}{5}$  of the label present in blood cells was incorporated in the phospholipid fraction. The bulk of label was recovered in the FFA fraction of blood cells, which was shown to be exchangeable with the plasma FFA.

The results are interpreted to indicate that 1 FFA compartment<sup>6</sup> of blood cells<sup>8</sup> is thought to have so rapid a turnover that the FFA compartment of the plasma and blood cells may be considered as one compartment, which is greater than the FFA compartment of the plasma FFA. Thus, quantitative considerations of the fate of injected label must be emphasized in order to avoid spurious low values for the turn-over rate of plasma FFA.

<sup>7</sup> L. HUMMEL, W. SCHIRRMAYER, T. ZIMMERMANN and H. WAGNER, *Acta biol. med. germ.* 32, 311 (1973).

<sup>8</sup> C. C. WINTERBOURN and R. D. BATT, *Biochim. biophys. Acta* 152, 255 (1968).

The FFA concentration of 21 days pregnant rats maintained under light ether anesthesia for approximately 7 min was found to be  $0.64 \mu\text{M}/\text{ml}$  plasma<sup>7</sup>.

*Zusammenfassung.* 20 sec nach i.v. Injektion radioaktiven Palmitates findet man 9% der Radioaktivität in den Blutzellen, wo sie zu 80% in der FFS-Fraktion nachgewiesen wurde. Das radioaktive Palmitat kann durch Serum, nicht aber durch physiologische Kochsalzlösung aus den Blutzellen entfernt werden. Bei Nichtbeachten dieser Befunde wird die Umsatzrate der FFS des Serums zu niedrig bestimmt.

L. HUMMEL and A. SCHWARTZE

*Institute of Pathophysiology, University of Jena, Holzmarkt, DDR-69 Jena (German Democratic Republic, DDR), 12 June 1974.*

### DNA-Feulgen Value in Brain Cells of the Adult Worker Honeybee Dependent on Age<sup>1</sup>

The question of whether a correlation exists between DNA content per nucleus and age of bees was investigated. The investigations covered the lifespan from the emergence to 30 days of adult life.

One brood comb was placed in a thermostatically controlled incubator at 35°C. The young bees that hatched in the incubator were marked with paint. Most of the bees were restored to the beehive while approximately 70 were maintained in a wire mesh cage (25 × 7 × 3 cm) within the hive, thereby prohibiting normal age-dependent behavior<sup>2</sup>.

The heads of the bees, 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 22, 26 and 30 days of age, were dissected, stored in 10% glycerol which was immediately frozen in fluid nitrogen (−196°C). Some days later, the heads were thawed and the brains removed from which the corpora pedunculata (CP) were dissected out. The tissues were fixed for 10 sec in 50% HAc, thereafter for 15 min in 70% alcohol, and hydrolysis for 30 min at room temperature in 5 *n* HCl subsequent to staining for 2 h in the Feulgen solution. In order to obtain a measurable layer of intact round nuclei, the freezing process was essential.

Preparations from 3 bees from each age group were slightly squashed under a siliconized cover slip. The absorption of the DNA-Feulgen complex was measured at 567 nm on 12 smeared nuclei for each CP with a Zeiss microphotometer 01 by the plug method. Diploid nuclei with only approximately equal radii were measured<sup>3,4</sup> which made it necessary to correct the DNA value for

each nucleus with the real radius. The mean radius of the nuclei measured was  $1.127 \pm 0.006 \mu\text{m}$ . The DNA content of the nuclei must satisfy the criterion that DNA had not been synthesized in preparation for a mitotic division. Earlier investigations have shown no mitotic activity occurs later than 3 days prior to emergence<sup>4,5</sup>.

From the results in the Figure, it was observed that in the young bees the DNA values varied widely. The DNA value of bees at 2 days of age showed a 30% lower value compared to newly emerged bees. From the 2nd to the 4th day, the DNA value increased 47%. At the 10th day, a third peak was observed. It is possible that the real minima and maxima of the DNA values lay somewhere between the age groups investigated. Forager bees, 22 to 30 days old, showed a constant DNA value with a deviation less than 3%.

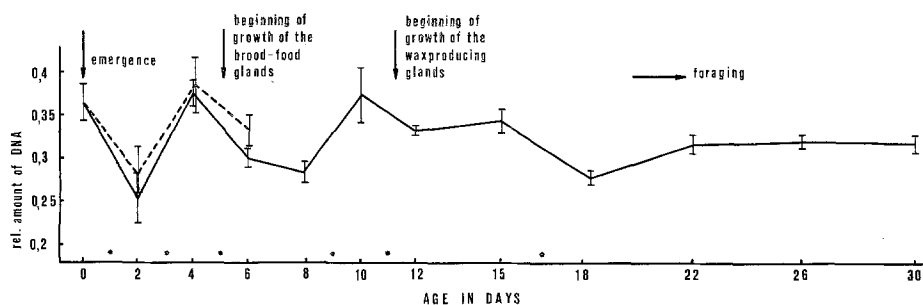
<sup>1</sup> Supported by the Schweizerischer Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (No. 3.187.69) and Sandoz Stiftung zur Förderung der medizinisch-biologischen Wissenschaften.

<sup>2</sup> K. VON FRISCH, *Aus dem Leben der Bienen*, 8th edn. (Springer Verlag, Berlin 1969), p. 41.

<sup>3</sup> D. WEIDELI, Diplomarbeit, Zoologisches Institut der Universität Zürich.

<sup>4</sup> W. HENSEL, Diplomarbeit, Zoologisches Institut der Universität Zürich.

<sup>5</sup> C. BAECHI, Diplomarbeit, Zoologisches Institut der Universität Zürich.



Age dependent DNA-Feulgen values measured in brain cells (CP) of adult worker honeybee. Relative amount of DNA in bees kept under natural conditions (—). Relative amount of DNA in bees maintained in a wire mesh cage (---). Significant differences ( $p = < 0.05$ ) between consecutive age groups indicated by \* sign (analysis of variance and Duncan-test). The day of emergence was taken as day 0.

In spite of adequate food, the bees which were maintained in the wire cage died within 6 days following emergence, however they demonstrated the same DNA values as bees maintained under natural conditions.

In the absence of mitotic activity, the significant changes in DNA-Feulgen values pose some interesting questions; however the real 2c value of the nuclei in the CP tissue of bees could not be found. HAUSCHTECK-JUNGEN<sup>6</sup> has discussed the possibility that variations of the absorption of DNA-Feulgen complex were not based on a synthesis or on a loss of DNA but rather on a change in the chromatin structure connected with gene activity. In this connection, histones have been demonstrated to effect the colour intensity of the DNA-Feulgen complex<sup>7</sup>.

The changes in the DNA-Feulgen values can also be correlated with different age-dependent activities of the bees as given in the Figure. The peaks of the DNA values were found immediately 1 day before the onset of maturation of the brood-food and wax-producing glands. KUHN et al.<sup>8</sup> reported relative RNA levels, under identical experimental conditions, which follow by 1 day the same pattern of change observed in DNA values, suggesting that RNA may play a distinct role in the observed behavioral changes. A mechanism by which such significant differences in the DNA values might be explained would be the existence of metabolic DNA<sup>9</sup> which has not yet been identified in somatic tissues of insects<sup>10</sup>.

*Zusammenfassung.* An feulgengefärbten G<sub>0</sub>-Kernen der Corpora pedunculata von Bienegehirnen wurde die relative DNS-Menge photospektrometrisch bestimmt. Die DNS-Werte zwischen verschiedenen Altersstadien differierten bis zu 47%.

W. HENSEL<sup>11</sup> and E. HAUSCHTECK-JUNGEN<sup>12</sup>

Zoologisches Institut der Universität,  
Künstlergasse 16, CH-8006 Zürich; and  
Strahlenbiologisches Institut der Universität,  
August-Forel-Strasse 7, CH-8008 Zürich  
(Switzerland), 1 July 1974.

<sup>6</sup> E. HAUSCHTECK-JUNGEN, *Chromosoma* 32, 79 (1970).

<sup>7</sup> A. SIBATANI, *Nature, Lond.* 166, 355 (1950).

<sup>8</sup> O. KUHN, E. KUEBLI and E. HAUSCHTECK-JUNGEN, *Experientia* 28, 982 (1972).

<sup>9</sup> S. R. PELC and M. P. VIOLA-MAGNI, *J. Cell Biol.* 42, 460 (1969).

<sup>10</sup> We would like to thank Dr. G. T. BAKER for reading the manuscript.

<sup>11</sup> Zoologisches Institut der Universität Zürich.

<sup>12</sup> Strahlenbiologisches Institut der Universität Zürich.

## Einfluss von Gravidität und Alter bei Kaninchen auf die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und die Lipide im Serum

FILLIOS und MANN<sup>1</sup> berichteten, dass der Cholesteringehalt bei weiblichen Kaninchen höher ist als bei männlichen. Vergleichende Untersuchungen der Plasmalipide und der Fettsäurezusammensetzung bei männlichen und weiblichen Kaninchen stellten LUTTON und TSALTAS<sup>2</sup> an. Die Normalwerte von Lipiden, einigen Enzymen sowie Elektrolyten und Eiweissfraktionen im Serum bei Versuchskaninchen wurden von SCHMIDTMANN et al.<sup>3</sup> bestimmt. Von GIAROLA et al.<sup>4</sup> wurde der Lipidstatus im Serum von Kaninchen mit experimenteller Hypercholesterinämie aufgestellt; eine Analyse der Lipidfraktionen bei Kaninchen in Beziehung zur Blutkoagulation, Fibrinolyse und Blutplättchenaggregation wurde von BALDONI et al.<sup>5</sup> durchgeführt und das Verhältnis von Cholesterin zu Lecithin bei weiblichen und männlichen Kaninchen von GLADKOVA<sup>6</sup> bestimmt.

Studien über den Lipidstatus in Beziehung zu anderen Parametern stehen jedoch noch aus. In dieser Arbeit sollte geprüft werden, welche Aussagefähigkeiten der Lipidstatus in Verbindung mit der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT)-Aktivität als klinisch-chemische

Grösse für den Gesundheitszustand von weiblichen Kaninchen hat. In Beziehung werden gesetzt: 1. Alter, 2. Zwischenwurfzeit, 3. Anzahl der Lebendgeburten, 4. Anzahl der Totgeburten, 5. Erstwurfalter, 6. Trächtigkeitsstadium.

*Material und Methode.* Kollektiv: Als Untersuchungsmaterial wurde eine Stichprobe weiblicher «Neuseeländer»-Kaninchen ( $n=50$ ) aus einem Praxisbetrieb verwendet. Die Tiere hatten ein mittleres Gewicht von 3,5 kg und wurden in «flat-deck»-Käfigen bei ad libitum Fütterung mit handelsüblichem Fertigfutter gehalten. Die Untersuchungszeit erstreckte sich über 1 Monat.

Blutentnahme: Das Blut wurde jeweils zur gleichen Tageszeit aus der marginalen Ohrvene entnommen. (Fixierung der Tiere in Kästen; die Ohren der Tiere wurden durch Einreiben mit Äthanol:Xylol (1:1) hyperämisiert.) 1–2 h nach der Entnahme wurde das Blut zentrifugiert ( $1620 \times g$ ; 0,5 h). Das gewonnene, nicht hämolytische Serum wurde bei  $-30^\circ\text{C}$  eingefroren. Die GOT-Bestimmung erfolgte nach einigen Tagen, der Lipidstatus nach 2 Monaten.

Tabelle I. Leistungsmerkmale der Versuchstiere ( $n = 50$ )

Bestimmung	$\bar{x}$	s
Alter der Versuchstiere	194,1	80,9 Tage
Zwischenwurfzeit	63,9	15,4 Tage
Jungtiere lebend geboren	8,9	2,2 Stück
Jungtiere tot geboren	0,9	1,5 Stück
Erstwurfalter	152,5	17,8 Tage
Anzahl der Würfe bei Versuchsbeginn	2,3	1,3

<sup>1</sup> L. C. FILLIOS und G. V. MANN, *Circulation Res.* 4, 406 (1956).

<sup>2</sup> C. E. LUTTON und T. T. TSALTAS, *Proc. Soc. Biol. Med.* 118, 1048 (1965).

<sup>3</sup> W. SCHMIDTMANN, B. LOUVEN, M. KOCH und S. OEST, *Ärztl. Lab.* 19, 351 (1973).

<sup>4</sup> P. GIAROLA, H. EGGE, A. GIBELLI und J. MÜLLER, *Farmaco* 27, 1018 (1972).

<sup>5</sup> E. BALDONI, H. EGGE, S. CUTTIN, U. MURAWSKI, A. GIBELLI und P. GIAROLA, *Farmaco* 28, 713 (1973).

<sup>6</sup> A. J. GLADKOVA, *Bull. exp. Biol. Med.* 72, 760 (1971).