

kept for 2 weeks in constant darkness in a photographic dark room provided with light trap. Clearing of the cages was done under a photographic red light source. The animals were killed between noon and 14.00 h. d) Animals kept in constant light (fluorescent light source giving 100–150 lux in the cages) for 2 weeks and then killed between noon and 14.00 h.

CBV was measured as cerebral plasma volume using radio-isotope dilution¹¹. A solution (0.1 ml) of human serum albumin (0.3–0.5 mg/ml in 0.9% saline) labelled with ¹³¹I (RIHSA) to an activity of 50 μ Ci/ml was injected into the tail vein of the unanesthetized animal, and after 10 min mixing time the animal was killed by rapid immersion into liquid nitrogen (-196°C). The entire intracranial content was then dissected out, weighed and placed in a plastic tube. 25 μ l blood was drawn from the left ventricle of the heart, collected in another plastic tube to serve as internal reference. All manipulations during dark conditions were performed under a red bulb light. Radioactivity in the samples was measured with an autogamma spectrometer (Packard). CBV was expressed as μ l blood per g of brain tissue.

The circadian variation in CBV is presented in the Figure. The CBV values obtained for animals kept for 4–7 h in light (35–40 μ l/g) agree with figures previously presented for untreated control animals killed during the corresponding time of the day¹⁰. Subsequently, the CBV was significantly reduced (Student's *t*-test for mean values after 4 h light vs. 10 h light: $P < 0.01$) to reach a

minimum level after 10 h in light. A comparatively small CBV was then maintained during the following 8 h after which there was an increase to a maximum CBV of 50 μ l/g (6 h darkness vs. 1 h light: $P < 0.05$). CBV then returned to the values measured after 4–7 h in light. The difference between the highest and the lowest CBV levels was statistically significant ($P = 0.02$).

The CBV measured around noon in animals maintained in constant darkness was significantly higher ($P < 0.001$) than time-matched control animals kept in a light-darkness rhythm. Animals in constant light, however, had a similar CBV as these controls.

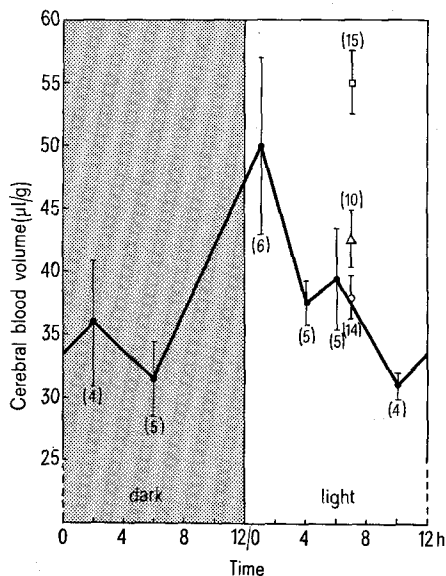
It is at present not known whether the marked 24-h variation in the cerebral hemodynamics of mice has resulted from direct changes at the brain level, e.g. intracerebral¹² or autonomic^{8–10} neural mechanisms, or whether it is secondary to systemic factors influencing the cerebral circulation, such as fluctuations in arterial carbon dioxide tension or blood pressure¹³. Experiments are in progress to study whether the circadian rhythm in CBV is endogenous or exogenous, i.e. influenced by external lighting conditions. The present results show that at least continuous darkness significantly affects the rhythmic fluctuations. It is notable that the 24-h variation in pineal gland² and salivary gland³ norepinephrine follows a pattern very similar to that of the CBV which would favour a reflex influenced by environmental light: the adrenergic nerves to the intracranial blood vessels as well as to the pineal and salivary glands all arise in the superior cervical sympathetic ganglia^{4,5,7} known to receive pathways transmitting external light impulses via the optic tracts¹.

In conclusion, the cerebral blood volume of mice, measured by radioisotope (RIHSA) dilution shows marked circadian variation, with a peak in the early morning and comparatively low levels in the afternoon and evening until midnight. The CBV (measured around noon) of animals kept in constant darkness was significantly higher, that of animals in constant light, however, not altered compared with time-matched control animals on a light-darkness schedule¹⁴.

Zusammenfassung. Mittels ¹³¹I markiertem Human-Serumalbumin wurde das Blutvolumen im Gehirn von Mäusen zu verschiedenen Tageszeiten gemessen und eine circadiane Rhythmik festgestellt. Andauernder Dunkel-aufenthalt führt zu erhöhten Werten des Blutvolumens.

L. EDVINSSON, K. C. NIELSEN and CH. OWMAN

Departments of Histology and Neurosurgery A,
University of Lund, Biskopsgatan 5, S-22362 Lund
(Sweden), 1 December 1972.



Cerebral blood volume of mice killed throughout the last 24-h cycle of a 12 h darkness/12 h light schedule during 2 weeks. The circadian changes in these untreated animals are indicated by filled circles. Animals maintained for 2 weeks in constant darkness, open square; constant light, open triangle; matching controls on a light-darkness schedule, open circle. Mean values $\pm$ standard error of the mean, number of animals within parenthesis.

¹¹ L. EDVINSSON, K. C. NIELSEN, CH. OWMAN and K. A. WEST, *Neurology* 23, 73 (1973).

¹² I. HANIN, R. MASSARELLI and E. COSTA, *Science* 170, 341 (1970).

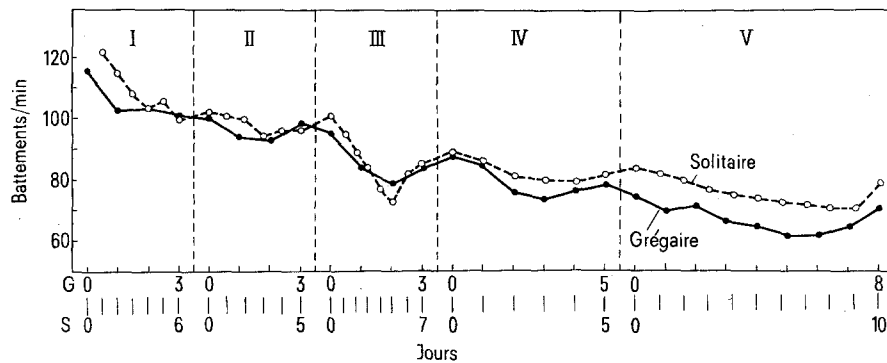
¹³ R. W. ROSS RUSSEL, *Brain and Blood Flow* (Pitman, London 1971).

¹⁴ Supported by the Swedish Medical Research Council, grant No. B73-04X-732-07.

Réalisation de la différence phasaire du rythme cardiaque chez *Locusta migratoria* L. I. Vie larvaire

L'Orthoptère Acridien *Locusta migratoria* se présente sous deux formes qui diffèrent par de nombreux caractères¹ et notamment par le rythme cardiaque en fin de vie larvaire et en début de vie imaginaire².

Nous étudions et comparons ici le rythme cardiaque des Criquets de la phase solitaire et de ceux de la phase grégaire dans des conditions aussi rigoureuses et semblables que possibles pour les deux phases au cours de



Rythme cardiaque en battements par minute (bt/mn) de *Locusta migratoria* en phase grégaire (●-●) et en phase solitaire (○---○) au cours de la vie larvaire.

toute la vie larvaire, journallement du premier jour du stade I au dernier jour du stade V.

Matériel et méthodes. Pour éviter l'interférence possible de certains facteurs (bruit, chant, phéromone,...), les Criquets des 2 phases sont élevés dans 2 pièces différentes soumises à des conditions d'éclairement, de température et d'humidité voisines.

Les grégaires sont élevés dès leur naissance par groupes de plusieurs centaines dans des cages grillagées. Les solitaires sont placés, moins de 24 h après leur éclosion, un par un, dans des bocaux de verre de 1,5 l. Les néonates grégaires et solitaires proviennent de souches respectivement grégaire et solitaire depuis plusieurs générations.

Les animaux sont soumis à un éclairage alterné comprenant 12 h de lumière et 12 h d'obscurité. La température du jour est voisine de 30°C, celle de la nuit de 25°C. L'humidité n'est pas systématiquement contrôlée; elle est supérieure à 60% et plus élevée chez les solitaires que chez les grégaires. Les comptages des battements cardiaques sont réalisés chaque jour, à la fin de la période obscure, dans une salle à 24 ± 1°C par observation directe du cœur et comptage à l'aide d'un chronomètre³.

Résultats et discussion. Les résultats sont indiqués sur la Figure qui présente les 2 courbes du rythme cardiaque des individus solitaires et grégaires. La durée, plus longue, de la plupart des stades de la phase solitaire a été ajustée de manière à correspondre à celle de la phase grégaire. Chaque point correspond à la moyenne d'environ 15 mesures individuelles. Les écarts-type, sensiblement égaux chez les grégaires et les solitaires, sont d'environ ± 10 au cours des stades I, II et III et de ± 6 au cours des stades IV et V. Statistiquement, les moyennes des solitaires sont compatibles avec la courbe des grégaires aux stades II et III; elles sont incompatibles aux stades I, IV et V.

Dans tous les stades l'évolution du rythme cardiaque des 2 phases suit approximativement le même schéma, comme chez d'autres Insectes⁴: un rythme élevé dans la première partie du stade, une chute, puis (sauf au stade I) une remontée à la fin du stade.

Au stade I, les solitaires présentent, pendant la première moitié du stade, un rythme cardiaque nettement

supérieur à celui des grégaires (115 contre 105 bt/min), mais le rythme devient ensuite semblable dans les 2 phases. Au cours de ce stade, les 2 courbes sont compatibles ($Z = 0,20$ et Z permis = 0,36).

Au stade II, les solitaires ont une tendance, toujours en première partie de stade, à posséder un rythme cardiaque supérieur à celui des grégaires. Néanmoins, ici, la différence n'est plus significative ($Z = 0,20$ et Z permis = 0,33).

Au stade III, il en est de même ($Z = 0,27$ et Z permis = 0,36). Nous montrons de plus que les solitaires présentent une chute de rythme plus accentuée que les grégaires (73 contre 79 bt/min).

Au stade IV prend naissance la différence phasaire de rythme cardiaque ($Z = 1,14$ et Z permis = 0,39). L'écart moyen des 2 rythmes est faible mais il existe chaque jour et il est le fait de l'ensemble des individus. C'est la raison pour laquelle cette petite différence (solitaires: 83 bt/min - grégaires: 80 bt/min) est significative.

Au stade V, la différence phasaire de rythme cardiaque s'exprime pleinement ($Z = 2,32$ et Z permis = 0,33). Pour l'ensemble du stade, les solitaires ont un rythme cardiaque de 11% supérieur à celui des grégaires. Cette différence se retrouve à peu près de manière semblable tout au long du stade.

La différence phasaire du rythme cardiaque entre les solitaires et les grégaires de *Locusta migratoria* s'acquiert au cours du développement larvaire, vraisemblablement au stade IV, pour s'exprimer nettement au stade V.

Nous avons montré^{5,6} que seuls, 2 organes endocrines, les corpora allata et les glandes prothoraciques possédaient une action sur le rythme cardiaque. Il serait intéressant de comparer le devenir de ces organes au cours des stades IV et V.

Si, comme nous en avons émis l'hypothèse, le cycle du rythme cardiaque dans l'intermue est plutôt sous la dépendance des glandes prothoraciques⁷, la permanence de ce cycle dans les 2 phases conduirait plutôt à penser que la différence du rythme cardiaque est liée aux corpora allata. Cependant cette liaison pourrait aussi bien s'exprimer en supposant une action différente des corpora allata selon la phase⁸, qu'une réactivité différente des 2

¹ F. O. ALBRECHT, *Polymorphisme phasaire et biologie des Acridiens migrants* (Masson et Cie, Paris 1967).

² J.-P. ROUSSEL, C.R. Acad. Sci., Paris 274, 2071 (1972).

³ J.-P. ROUSSEL, C.R. Acad. Sci., Paris 267, 631 (1968).

⁴ J. C. JONES, J. exp. Zool. 131, 223 (1956).

⁵ J.-P. ROUSSEL, Thèse, Strasbourg (1971).

⁶ J.-P. ROUSSEL, *Acrida* 7, 17 (1972).

⁷ J.-P. ROUSSEL, *Archs Zool. exp. gén.* 172, 179 (1971).

⁸ J. S. KENNEDY, Colloque International du C.N.R.S. (Paris) 114, 283 (1962).

phases à des corpora allata possédant des pouvoirs identiques⁹.

Le plus haut niveau du rythme cardiaque des solitaires au stade I est vraisemblablement déterminé par l'organisme maternel qui posséderait un plus haut niveau de rythme cardiaque au moment de l'ovogenèse. Ceci est en accord avec les premières observations faites sur le rythme cardiaque des adultes¹.

Summary. Except for a higher value of the cardiac rhythm at the beginning of the first stage of *Locusta migratoria* solitary phase, phase difference of the cardiac rhythm sets up during the 4th stage very progressively

and is clearly expressed in the 5th stage, the solitary locusts showing a higher rhythm.

J.-P. ROUSSEL

Equipe de recherche associée au C.N.R.S. No. 118, Biologie humorale des Insectes.

Laboratoire de Biologie Générale, Université Louis Pasteur, 12, rue de l'Université, F-67000 Strasbourg (France), 11 Octobre 1972.

⁹ Y. QUEINNEC et J.-P. ROUSSEL, C.r. Acad. Sci., Paris 275, 71 (1972)

Developmental Changes in Contraction Time and Muscle Fibre Pattern of Fast and Slow Muscles

The developmental changes in contraction time (CT) differ in fast and slow muscles within the same animal and in different species of animals¹⁻⁵. Differentiation into fast and slow muscle types in the rat appears to be brought about by a relative shortening of CT in the fast muscle (extensor digitorum longus), there being little or no change in the slow soleus muscle in this respect^{2,6}. However, histochemical findings in the soleus muscle of the guinea-pig and cat revealed a mixed fibre pattern with predominance of fibres with a high ATPase activity (Type II) at birth, and of fibres with a low activity (Type I) of this enzyme in muscles of adult animals⁵.

Contraction speed and histochemical fibre pattern in fast and slow muscles of different animals (rat, rabbit, and guinea-pig) was therefore studied in order to ascertain whether prolongation of CT and change in muscle fibre pattern in slow muscles are general phenomena.

Material and methods. Fast extensor digitorum longus (EDL) and slow soleus (SOL) muscles of rats, rabbits, and guinea-pigs perinatally, 1 month after birth and of 3-, 5-, and 12-month-old animals were used in our experiments. Contraction time (time to peak = CT) was measured in vitro at 36°C with the massive stimulation method⁷ and recorded by an automatic analyzer⁸. The stimuli were square pulses of 1.0 msec in duration of supramaximal intensity. Resting tension, tension producing maximal twitch tension as a response to the stimulation, was determined before each experiment. For histochemical analysis, the muscles were removed, quickly frozen in liquid nitrogen and 10 µm thick cross-sections

were gained in a cryostat at a temperature of -20°C and stained for myosin ATPase activity by a modified method^{9,10} at pH 9.4.

Results and discussion. The Table shows CT of fast EDL and slow SOL phasic muscles of the rat, rabbit, and guinea-pig at, or very early after, birth, 1 month after birth and in the adult animal (3, 5, and 12 months after birth). The CT of the fast muscles of the rat and rabbit shows a progressive postnatal shortening, whereas the CT of EDL muscle of the guinea-pig remains rather constant. The slow SOL muscle of the rabbit and guinea-pig, however, shows postnatally a considerably shorter CT and prolongation of CT in the adult animal. In the soleus muscle of the rat, the prolongation of CT in the adult occurs after a marked temporary shortening of CT 1 month after birth. Thus the slowing of CT in the slow muscle is of general occurrence but follows a different time course in the rat, rabbit, and guinea-pig, according to their maturation at birth.

The Figure (a, b) shows the muscle fibre pattern in the SOL muscle of the rabbit in 1-month-old and adult animals. Cross-sections of the muscles were stained for myosin ATPase activity. In the SOL of the adult animal, only a few muscle fibres with a high ATPase activity (Type II) and most muscle fibres with a low ATPase activity (Type I) are found, whereas in the 1-month-old animal both types of muscle fibres are observed, the ratio being about 1:1. A similar change in muscle fibre pattern was also observed in the slow muscles of rats and guinea-pigs. Contrary to this, there is an increase of myosin ATPase activity in the fast muscles of the animals studied by us.

Thus, during development, slow muscles show a prolongation of CT and a change of fibre pattern related to a change to the slow muscle type. The different time course in prolongation of CT and temporary shortening of CT in the animals studied by us can be explained by the

Contraction time (in msec) of the fast (EDL) and slow (SOL) muscles of the rat, rabbit and guinea-pig during development (at 36°C)

Animal	Age (days)	EDL	N	SOL	N
Rat	7*	25.0 ± 1.02	12	47.1 ± 2.14	7
	30	11.6 ± 0.15	18	22.2 ± 0.52	7
	90	12.9 ± 0.39	7	35.0 ± 1.24	6
	365	15.1 ± 0.22	8	38.6 ± 1.07	8
Rabbit	1	49.2 ± 1.72	5	49.5 ± 3.01	5
	30	22.1 ± 1.12	5	47.3 ± 5.04	5
	90	25.8 ± 1.13	5	97.2 ± 7.62	5
	365	24.3 ± 0.71	13	82.7 ± 2.10	10
Guinea-pig	1	14.9 ± 0.69	7	29.3 ± 0.66	7
	150	15.6 ± 0.23	6	46.1 ± 1.46	5

EDL, extensor digitorum longus; SOL, soleus muscle; N, number of measurements. * for data at birth see CLOSE².

¹ A. BULLER, J. C. ECCLES and R. M. ECCLES, J. Physiol., Lond. 150, 399 (1960).

² R. CLOSE, J. Physiol. Lond. 173, 74 (1964).

³ E. GUTMANN and J. MELICHNA, Physiologia bohemoslov. 21, 1 (1972).

⁴ E. GUTMANN and I. SYROVÝ, Physiologia bohemoslov. 16, 232 (1967).

⁵ G. KARPATI and W. K. ENGEL, Arch. Neurol. 17, 542 (1967).

⁶ R. I. CLOSE, Physiol. Rev. 52, 129 (1972).

⁷ A. SANDOW and M. BRUST, Am. J. Physiol. 194, 557 (1958).

⁸ V. ROLÍČEK, SNTL tech. Dig. 61, 383 (1968).

⁹ H. A. PADYKULA and E. J. HERMAN, J. Histochem. Cytochem. 3, 170 (1955).

¹⁰ L. GUTH and F. J. SAMAHA, Expl. Neurol. 28, 365 (1970).