

ÜBER DIE PROTEINE DER HYPOPHARYNXDRÜSE DER BIENENARBEITERIN

I. — ELEKTROPHORETISCHER VERGLEICH VON SOMMER-,
WINTER UND GEKÄFIGTEN BIENEN

K. HALBERSTADT

Landesanstalt für Bienenkunde, Stuttgart-Hohenheim (Allemagne)

SOMMAIRE

Der Autor untersucht mittels der Acrylamid-Elektrophorese die Sekretproteine der Hypopharynxdrüse von Sommer-, Winter- und gekäfigten Bienen. Auf dem Pherogramm wurde ein Wechsel in der Proteinproduktion der Drüsen mit dem Alter der Sommerbienen beobachtet und mit dem Pherogramm von Winterbienen und brutlos aufgezogenen Bienen verglichen. Es wurde eine Reihe von typischen Pherogrammen für die Entwicklungsstufen der Bienenarbeiterin gefunden.

A. — EINFÜHRUNG UND FRAGESTELLUNG

In der vorliegenden Arbeit sollte versucht werden, die Proteine des Sekrets der Hypopharynxdrüse der Bienenarbeiterin elektrophoretisch so weit aufzutrennen, dass Aussagen über die Proteinbildung dieser Drüse im Lebensablauf der Arbeiterinnen möglich sind. Weiter sollte untersucht werden, ob sich das Proteinspektrum des Hypopharynxdrüsensekrets während der Winterruhe und unter experimentellen Bedingungen ändert. Schliesslich war es von Interesse, für die physiologischen Stadien der Arbeiterin « Leitpherogramme » zu finden, die bei der späteren Untersuchung der Proteinfractionen auf Funktion und chemische Eigenschaften als Grundlage dienen könnten.

Bisher ist über die Proteine der Hypopharynxdrüse, ebenso wie über die Proteinsynthese selbst wenig bekannt. Nach AMMON und ZOCH (1957) sind 12,6 p. 100 des Königinnenfuttersaftes Eiweisse. Ein Teil dieser Proteine dürfte als Stickstoffquelle dienen, da er den Larven als Eiweissnahrung angeboten wird. Ein anderer Teil besteht aus Enzymen verschiedenster Art. Die Zellen der Drüse selbst durchlaufen einen Funktionswandel, sie produzieren im Ammenbienenalter andere Proteine als im Sammelbienenalter. Über die Eiweisse des Sekrets der Ammenbienen brachte

nur die Untersuchung des Futtersafts einige Kenntnisse. AMMON und ZOCH (1957) fanden durch Nachweis auf dem Papierelektropherogramm eine unspezifische Cholinesterase und eine saure Phosphatase. Nachdem nach PATEL, HAYDACK und GOCHNAUER (1960) Futtersaft und Extrakte von Hypopharynxdrüsen der Ammenbienen papierelektrophoretisch gleiche Fraktionen liefern, ist anzunehmen, dass diese Enzyme von der Hypopharynxdrüse der Ammenbienen gebildet werden. Der Beweis einer Enzymproduktion in den Kopfdrüsen der Ammenbienen wurde erbracht durch den Nachweis einer Invertase- und Amylaseaktivität (KRATKY, 1931).

Es enthält jedoch bereits das Drüsensekret von frisch geschlüpften Arbeiterinnen Invertase (MAURIZIO, 1962 *b*). Diese Befunde erklären, dass im Futtersaft wahrscheinlich keine Saccharose enthalten ist (ELSER, 1929). Über die Funktion der Sekretproteine insgesamt ist bekannt, dass sie mit der Kastendetermination nichts zu tun haben. Es konnte lediglich eine lebensverlängernde Wirkung bei Aufzucht im Brutschrank nachgewiesen werden (REMBOLD und HANSER, 1964). Weiterhin wird offenbar ein Trägerprotein für die gonadotrope Substanz des Futtersafts der Königin gebildet (ALTMANN, 1950). Überdies scheint überhaupt der für die Aufzucht der Königin gebildete Futtersaft andere Proteine zu enthalten, als derjenige, mit welchem Arbeiterinnen- und Drohnenbrut versorgt wird (GONTARSKI, 1954), was auf unterschiedliche Produktion bei den Pflgebienen schliessen lässt.

Den ersten direkten Nachweis einer Enzymproduktion der Hypopharynxdrüse der Sammelbienen führte KRATKY (1931). Danach enthält der Drüsenextrakt Invertase und Amylase. Die Invertase ist von GONTARSKI (1952) näher untersucht worden, die Fermenteigenschaften sind ähnlich denen anderer tierischer Glycosidasen. Über die Amylase sind keine genauen Untersuchungen durchgeführt. Im Lebenslauf der Arbeiterinnen erreicht die Aktivität der Invertase ein Maximum zwischen dem 21. und 28. Imaginaltag. Bei älteren Flugbienen sinkt sie wieder ab (MAURIZIO, 1962 *b*). Die einzelnen Bienenrassen produzieren Invertase unterschiedlicher Aktivität (MAURIZIO, 1959, 1961, 1962 *a*, 1965 *b*). Es besteht eine Abhängigkeit der Enzymsynthese von Fütterung und Haltung der Bienen (MAURIZIO, 1962 *b*, 1965 *a*). Durch eiweissfreie Ernährung der Jungbienen wird die Bildung der Invertase beeinträchtigt. Sommer- und Winterbienen besitzen verschieden aktive Invertasen. Der in der Proteinproduktion beobachtbare Funktionswechsel der Drüsen am Ende des Ammenalters (10.-13. Imaginaltag) umfasst offenbar nicht die Synthese dieses Enzyms, da dessen Wirksamkeit vom Ausschlüpfen der Imago an kontinuierlich bis zum Maximum ansteigt und wieder abfällt (MAURIZIO, 1959, 1961, 1962 *b*). Eine weitere Information über die Proteine des Hypopharynxdrüsensekrets erbrachte die Untersuchung von GAUHE (1941), wonach Sammelbienen ein oxydierendes Enzym bilden, das Glucose in Gluconsäure umwandelt.

B. — MATERIAL UND METHODE

Die elektrophoretische Auftrennung des Hypopharynxdrüsensekrets wurde von PATEL, MAYDACK und GOCHNAUER (1960) auf Papier als Träger versucht. Ein Proteinextrakt von homogenisierten Drüsen ergab 4 breite Fraktionen, die sicher je eine Ansammlung verschiedenster Proteine darstellen. Für den Zweck der eigenen Untersuchung, einen Überblick über die Fluktuation der Sekretproteine

im Leben der Arbeiterinnen und im Verlauf des Jahres zu erlangen, schied die Papierelektrophorese wegen ihrer ungenügenden Ergebnisse aus. Als am besten geeignet erschien die Trennung in Acrylamidgel nach ÖRNSTEIN und DAVIS (1962) (Disc-Elektrophoresis). Mit diesem Verfahren wurden erstmals die Eiweisse des menschlichen Blutserums in ca. 30 scharfe Banden zerlegt. Die Auftrennung erfolgt in senkrecht stehenden Säulen von polymerisiertem Acrylamid. Die Länge einer Säule ist 50 mm, der Durchmesser 5 mm. Zur Herstellung wird 7,5 p. 100iges Gel in Glasröhrchen gegossen und zur Polymerisation gebracht. Über dieses eigentliche Analysen-Gel kommen 10 mm 2,5 p. 100iges sogenanntes Zwischen-Gel und nach Polymerisation desselben darüber 10 mm 2,5 p. 100iges Gel in dem die Analysenprobe aufgeschwemmt und einpolymerisiert ist. Die Säulen tauchen oben in das kathodische, unten in das anodische Pufferreservoir. Der pH-Wert der Gele ist auf pH 6,7 eingestellt, der des Elektrophoresepuffers auf pH 8,3. Im elektrischen Feld erfolgt durch den Einfluss der Pufferionen eine Konzentrierung der Eiweisse im Zwischen-Gel, so dass sie beim Eintritt in das Analysen-Gel in einer nur 15 μ dünnen Scheibe vorliegen. Hierauf und auf der Wirkung des Acrylamids als Molekularsieb beruht die Auftrennung in eine grosse Anzahl von Fraktionen. Einzelheiten der Methode werden hier nur soweit wiedergegeben, als sie von der Originalvorschrift abweichen. Es erwies sich als notwendig, für jede Trennung die Hypopharynxdrüsen mehrerer Arbeiterinnen zu verwenden. Bei Ammenbienen genügten 2, bei alten Flugbienen 20 Tiere für eine Analyse. Die Drüsen wurden nach der Präparation zur Entfernung der Hämolymphe mit H₂O abgespült, in 0,1 ml 1M Saccharoselösung übertragen und in mehrere Teile zerzupft. Zur Elektrophorese wurde die Gewebesaufschwemmung in den oberen freien Teil des Glasröhrchens mit dem Träger-Gel übertragen. Hierzu wurden 0,2 ml niedrigprozentiges Acrylamid (large-pore solution) ohne H₂O zugesetzt, verrührt und zur Polymerisation gebracht.

Die Trennung dauerte 40 min in einem Spannungsgefälle von 20 V/cm. Fixation und Färbung der Proteine erfolgte in essigsäurem Amidoschwarz. Jede Einzeluntersuchung wurde mehrfach durchgeführt und einige Male wiederholt.

Zur Probe, ob bei dem elektroosmotischen Vorgang, durch den die Sekretproteine aus dem Drüsenkanal austreten, auch in nennenswertem Mass Zellproteine der Drüsenzellen in das Pherogramm geraten, diente folgender Versuch: Präparierte Drüsen wurden teils dem beschriebenen Verfahren unterworfen, teils in Trispuffer (Glycin, Tris-(hydroxymethyl)-Aminomethan, pH 8,3) mehrfach eingefroren und aufgetaut und samt dem Puffer elektrophoriert. Nach der mikroskopischen Beobachtung waren die Acini der so behandelten Drüsen geplatzt. Der Vergleich zeigt, dass durch das Zerreißen der Basal- und Zellmembranen einige sehr dünne Banden mehr im Pherogramm auftreten (RF-Wert 0,2-0,4), als bei der üblichen Behandlung. Da diese Banden andere RF-Werte haben, als die sonst gefundenen, ist anzunehmen, dass erst nach der Zerstörung der Acini Zellproteine in grösserer Menge in das Pherogramm geraten.

Die untersuchten Bienen wurden den Institutsvölkern entnommen, die überwiegend der *Carnica*-Rasse angehören. Für die Untersuchung der Sommerbienen wurden im Brutschrank geschlüpfte Arbeiterinnen gezeichnet und in das (mit Brut versehene) Ursprungsvolk zurückgegeben. Die Aufzucht von ohne Brut gehaltenen Arbeitsbienen erfolgte in Gruppen von 50-100 in Käfigen bei einer Temperatur von 30°C. Das Futter bestand aus Honigwasser und eingetragener Mischpollen aus Pollenwaben, bzw. reiner 50 p. 100iger Saccharoselösung. Winterbienen wurden in verschiedenen Abständen von Januar bis März aus der Wintertraube entnommen, Flugbienen morgens vor dem Flugloch abgefangen.

C. — ERGEBNISSE

1° Veränderungen im Pherogramm der Hypopharynxdrüsen von Sommerbienen

Das Pherogramm des Sekrets der Hypopharynxdrüsen von Sommerbienen ändert sich im Verlauf der Imaginalentwicklung in charakteristischer Weise. Junge aus der Zelle geschlüpfte Arbeiterinnen mit noch unvollständig sklerotisierter Cuticula zeigen 28 bis 30 Fraktionen im Pherogramm. Diese bilden meist sehr dünne Banden, die sich nicht gleichmässig auf die Laufstrecke des Pherogramms verteilen, sondern in Zonen, in denen bei älteren Arbeiterinnen breite altersspezifische Banden auftreten, gehäuft liegen. Im Verlauf des 2. und 3. Imaginaltages vermindert sich die Zahl der Banden und es bildet sich statt dessen eine Reihe von stärkeren Frak-

tionen heraus. Möglicherweise beruht dies darauf, dass in den Drüsen Vorstufen zu den aktiven Proteinen kondensieren (Abb. 1). Die Drüsen 4 bis 10 Tage alter Bienen liefern ein Pherogramm, das offensichtlich typisch für das Ammenstadium ist. Die Anzahl der Proteinfractionen ist geringer als bei den Jungbienen, es sind im Durchschnitt 18 bis 20 Banden vorhanden. Einige Fraktionen sind sehr deutlich, durch sie ist das Pherogramm des Ammenbienenalters gegenüber dem anderer Altersstadien gekennzeichnet (Abb. 2 und 3). Einige schwache Banden haben den gleichen RF-Wert, wie charakteristische Banden älterer Stockbienen. Es ist daher möglich, dass Ammenbienen in geringem Mass Sekretproteine des Flugbienenalters produzieren.

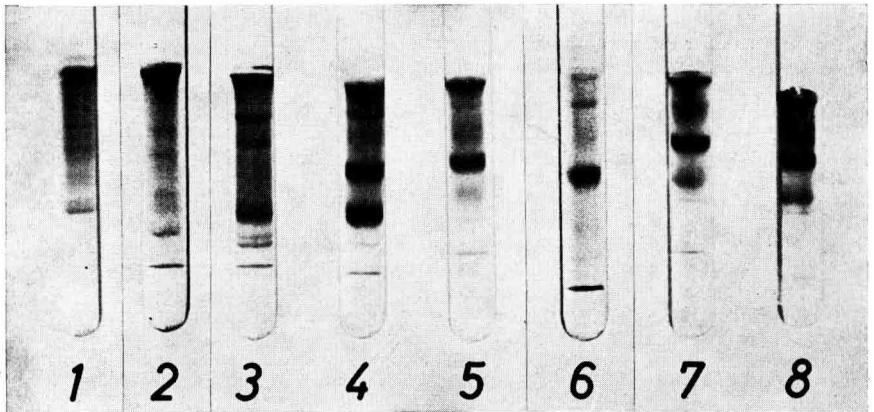


ABB. 1. — Elektropherogramme der Hypopharynxdrüsen von frisch geschlüpften Arbeiterinnen (1, 2), Ammenbienen (3), 15 Tage alten Stockbienen (4), 20 Tage alten Stockbienen (5), Flugbienen (6), Winterbienen (7) und gekäfigten Arbeiterinnen ohne Brut (8)

FIG. 1. — Électrophérogrammes des glandes hypopharyngiennes d'abeilles venant de naître (1, 2), d'abeilles nourricières (3), d'abeilles âgées de 15 jours (4), d'abeilles âgées de 20 jours (5), de butineuses (6), d'abeilles d'hiver (7) et d'ouvrières encagées sans couvain (8)

Die Banden, die für das Pherogramm des Drüsensekrets der Flugbienen kennzeichnend sind, treten zwischen dem 9. und 11. Imaginaltag auf. Die physiologische Umstellung der Hypopharynxdrüse nach dem Ende der Futtersaftsekretion vollzieht sich daher offenbar in einem kurzen Übergang innerhalb von 2 Tagen. Die Anzahl der Fraktionen im Pherogramm der Arbeiterin des 11. Imaginaltages beträgt 10 bis 12. Vermindert gegenüber dem vorhergehenden Stadium hat sich vor allem die Zahl der schwachen Fraktionen. Charakteristisch sind zwei breite Banden (Abb. 1), die im Sekretpherogramm der Ammenbienen nicht zu beobachten sind. Möglicherweise liegen hier die für Flugbienen wichtigen Glycosidasen vor. Im weiteren Verlauf der Imaginalentwicklung erfährt das Pherogramm keine sprunghafte Veränderung mehr. Die Mehrzahl der Proteinbanden beginnt sich mit dem 18. Tag nach dem Schlupf langsam in kleinere Fraktionen aufzulösen. Dieser Vorgang kann darauf beruhen, dass ein aus mehreren Einheiten bestehender Komplex durch Abnahme der Menge elektrophoretisch besser zu trennen ist. Es könnte aber auch sein, dass bei älteren Arbeiterinnen aktive Proteine wieder in inaktive Komponen-

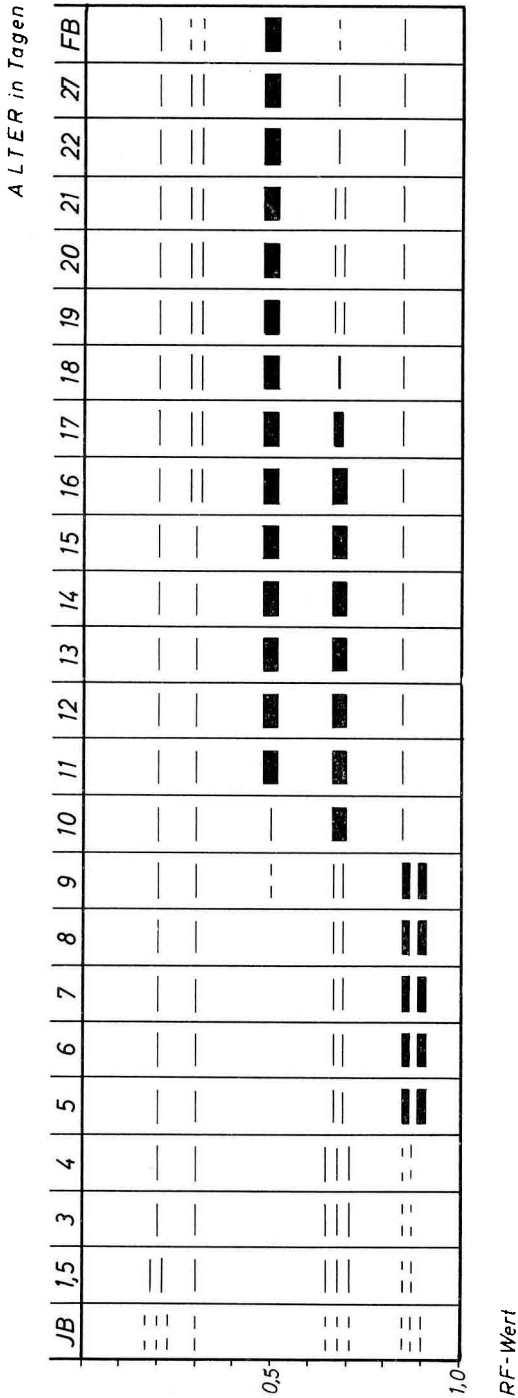


ABB. 2. — Veränderung des Elektropherogramms bei adulten Sommerbienen mit dem Alter (Es sind nur die wichtigsten Fraktionen eingezeichnet)

FIG. 2. — Modification de l'électrophérogramme avec l'âge chez les abeilles d'été adultes (Seules les fractions les plus importantes sont représentées)

ten zerfallen. Die Bande 8 (Tabelle) bleibt in nahezu gleicher Stärke bis zum 30. Imaginaltag erhalten, die gleichfalls für dieses Lebensalter charakteristische Bande 11 ist um den 19. Imaginaltag verschwunden. Ältere Sammelbienen sind daher sowohl

TABELLE

RF-Werte der charakteristischen Fraktionen bei Ammenbienen (AB), 15 Tage alten Stockbienen (SB 15), 20 Tage alten Stockbienen (SB 20), Flugbienen (FB), Winterbienen (WB) und gekäftigten Bienen ohne Brut (o Br). (Kleinere Fraktionen sind nicht angegeben.)

Nummer der Fraktion	AB	SB 15	SB 20	FB	WB	o Br
1	0,05	0,03	0,03	0,04	0,03	0,04
2	—	—	—	—	0,13	0,13
3	—	0,17	0,17	0,16	—	—
4	0,21	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	0,27	0,29
6	—	0,31	0,31	0,32	—	—
7	0,35	—	—	—	0,35	0,36
8	—	0,49	0,49	0,50	—	—
9	0,52	—	—	—	—	—
10	0,57	—	—	—	0,55	0,56
11	0,68	0,69	0,70	0,70	0,67	0,68
12	0,75	—	—	—	—	—
13	—	—	—	—	0,77	0,77
14	—	—	—	—	0,81	0,81
15	0,85	0,85	0,85	0,86	—	—
16	0,90	—	—	—	—	—
17	—	0,97	?	0,95	—	—

von Ammenbienen, als auch von jüngeren Flugbienen durch das Bild des Pherogramms der Kopfdrüsen zu unterscheiden (Abb. 1). Es fiel auf, dass Sammelbienen im August stärker entwickelte Banden besitzen, als im Frühjahr.

2° Das Pherogramm der Hypopharynxdrüsen von Winterbienen

Das Pherogramm der Hypopharynxdrüsen von aus der Wintertraube entnommenen Arbeiterinnen unterscheidet sich auch bei gleich gut entwickelten Drüsen

von dem der Sommerbienen. Dies bezieht sich sowohl auf Anzahl und relative Stärke der Fraktionen, als auch auf die RF-Werte (Abb. 1, 3, Tabelle). Das Pherogramm enthält etwa 8 Banden. Besonders auffallend ist eine Gruppe von drei dicht hintereinanderliegenden Eiweissen (2, 5 und 7 der Tabelle), die Sommerbienen fehlt. Die breite Bande in der Mitte des Pherogramms entspricht nicht einer ähnlichen Fraktion bei Flugbienen, da sie einen anderen RF-Wert besitzt (Bande 10, Tabelle). Dagegen kann auf Grund der Übereinstimmung der RF-Werte vermutet werden, dass Bande 11 bei Winter- und Sommerbienen identisch ist, insbesondere da auch beide Lebensphasen eine sich nur wenig unterscheidende Invertaseaktivität haben. Arbeitsbie-

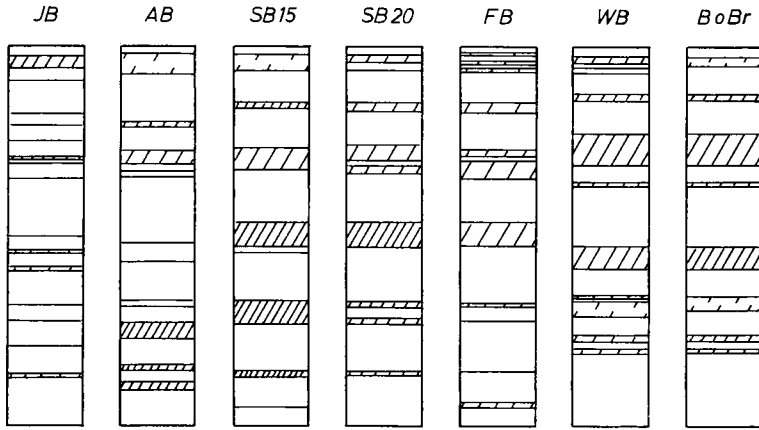


ABB. 3. — « Leitpherogramme » von frisch geschlüpften Arbeiterinnen (JB), Ammenbienen (AB), 15 Tage alten Stockbienen (SB 15), 20 Tage alten Stockbienen (SB 20), Flugbienen (FB), Winterbienen (WB) und geküfigten Arbeiterinnen ohne Brut (o Br)

FIG. 3. — « Pherogrammes de base » d'abeilles venant de naître (JB), d'abeilles nourricières (AB), d'abeilles âgées de 15 jours (SB 15), d'abeilles âgées de 20 jours (SB 20), d'abeilles butineuses (FB), d'abeilles d'hiver (WB) et d'ouvrières encüfigées sans couvain (o Br)

nen aus dem Spätwinter (Wintertraube, 26. 3. 1965) sind dem Drüsenpherogramm nach Winterbienen. Da die Banden des Pherogramms in dieser Jahreszeit insgesamt etwas schwächer ausfallen, ist anzunehmen, dass Bienen aus dem Spätwinter weniger Sekret bilden.

3° Das Pherogramm der Hypopharynxdrüsen von geküfigten Arbeiterinnen ohne Brut

Die Drüsen von Arbeiterinnen, die nach dem Schlüpfen in einen Käfig ohne Brut überführt wurden, weisen ein Pherogramm auf, das dem der Winterbienen in allen Einzelheiten gleicht (Abb. 1, Tabelle). Dieses Pherogramm bildet sich am 3. Imaginaltag aus und bleibt bis zum Lebensende der Versuchsbienen unverändert. Es wird dabei kein Stadium durchlaufen, das dem der Ammen- oder Flugbienen ähnlich wäre. Nach dem Pherogramm entstehen durch die brutlose Aufzucht demnach Arbeiterinnen, deren Hypopharynxdrüse die Sekretproteine der Winterbiene produziert. Zur Erzeugung dieses Pherogramms ist es nicht nötig, die Versuchstiere mit Pollen bzw. Eiweiss zu ernähren. Bei eiweissfreier Aufzucht mit Saccharose und dementsprechend unentwickelten Drüsen fällt das Pherogramm insgesamt

schwächer aus, die Anordnung der Banden und das Mengenverhältnis der Proteine bleibt unbeeinflusst. Es hat den Anschein, als ob durch das Fehlen von Eiweissnahrung die Proteinsynthese der Hypopharynxdrüse nur in quantitativer, nicht in qualitativer Weise verändert werden kann. Eine qualitative Beeinflussung erfolgt durch das Vorhandensein oder Fehlen von Brut. Wieweit dieser Faktor allein ausschlaggebend ist, müssen weiterführende Versuche zeigen.

D. — ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION

Die vorliegende erste Mitteilung berichtet über elektrophoretische Untersuchungen der Eiweisse des Hypopharynxdrüsensekrets der Bienenarbeiterinnen. Es wurde eine Auftrennung der im Drüsenkanal gespeichert Proteine in Fraktionen vorgenommen. Dabei ergaben sich Unterschiede im Proteinspektrum von Sommer- und Winterbienen und eine Übereinstimmung des Spektrums von ohne Brut im Käfig aufgezogenen Arbeiterinnen mit dem der Winterbienen.

Die Ergebnisse sind im Einzelnen :

1. Es ist nur bedingt möglich, von der äusserlichen Beschaffenheit der Hypopharynxdrüse Rückschlüsse auf die Funktion zu ziehen. Der Vergleich zwischen Ammenbienen einerseits und Winterbienen sowie brutlos aufgezogenen Bienen andererseits zeigt, dass die Drüsen dieser drei Gruppen jeweils voll entwickelt sind, die Pherogramme des Sekrets sich dagegen durch die Zahl und Art der Proteinfractionen unterscheiden.

2. Die Proteinzusammensetzung des Hypopharynxdrüsensekrets von Sommerbienen ändert sich im Lebensablauf der Bienenarbeiterin in charakteristischer Weise (Abb. 2). Einer grösseren Anzahl schwächerer Pherogrammfraktionen bei frisch geschlüpften und Ammenbienen steht eine geringere Anzahl stärkerer Fraktionen im Pherogramm der Flugbienen gegenüber.

3. Die Hypopharynxdrüse der Winterbienen sezerniert andere Proteine, als die der Sommerbienen (Abb. 3). Von den einzelnen Banden des Pherogramms entspricht nur Bande 11 (Tabelle) einer Bande im Pherogramm des Drüsensekrets von Sommerflugbienen, da sie den gleichen RF-Wert hat.

4. Das Proteinspektrum des Sekrets der Winterbienen ist nicht in erkennbarer Weise vom Alter der Bienen abhängig.

5. Die bisher gehegte Annahme, dass die Funktion der Kopfdrüsen von Winterbienen insgesamt derjenigen der Ammenbienen entspricht ist auf Grund der verschiedenen Sekretpherogramme sicher nicht zutreffend. Wieweit einzelne Fraktionen mit übereinstimmendem RF-Wert funktionsgleich sind, wird erst eine Untersuchung der Proteine selbst zeigen.

6. Durch die Aufzucht von Bienenarbeiterinnen ohne Brut wird die Hypopharynxdrüse veranlasst, die gleichen Sekretproteine wie bei Winterbienen zu bilden. Auch hier ist keine Abhängigkeit des Pherogramms vom Alter zu beobachten.

Im ganzen bestätigen die hier mitgeteilten Versuche in gewisser Weise die Aussagen von MAURIZIO (1962 *b*), wonach die Aktivität der im Drüsensekret enthaltenen Enzyme gesetzmässigen Veränderungen unterliegt.

Reçu pour publication en avril 1966.

REMERCIEMENTS

Herrn Dr W. STECHE sei für fachliche Ratschläge und kritische Durchsicht des Manuskripts, Herrn Dr W. CHRIST (Institut für Milchwirtschaft und Gärungswesen, Stuttgart-Hohenheim) sei für methodische Hinweise vielmals gedankt.

RÉSUMÉ

SUR LES PROTÉINES DES GLANDES HYPOPHARYNGIENNES DE L'ABEILLE OUVRIÈRE.

1. COMPARAISON PAR ÉLECTROPHORÈSE DES ABEILLES D'ÉTÉ,
DES ABEILLES D'HIVER ET DES ABEILLES ENCAGÉES

Le présent travail expose des recherches effectuées par électrophorèse sur les protéines de la sécrétion hypopharyngienne de l'abeille ouvrière. L'auteur a entrepris le fractionnement des protéines se trouvant dans le canal glandulaire. On constate des différences dans le spectre protéique des abeilles d'été et celui des abeilles d'hiver et d'autre part, une concordance entre le spectre des ouvrières élevées en cagette sans couvain et celui des abeilles d'hiver.

Les résultats détaillés sont les suivants :

1° On ne peut tirer des conclusions sur la fonction des glandes hypopharyngiennes d'après leur constitution externe que de façon limitée. Une comparaison entre les abeilles nourricières d'une part et les abeilles d'hiver ainsi que les abeilles élevées sans couvain d'autre part montre que les glandes de ces trois groupes sont chaque fois complètement développées, les phérogrammes de la sécrétion se différencient cependant par le nombre et le type des fractions protéiques.

2° La composition protéique de la sécrétion hypopharyngienne des abeilles d'été change au cours de la vie de l'ouvrière de façon caractéristique. A un nombre important de fractions faibles dans le phérogramme des abeilles venant d'éclorre et des abeilles nourricières, correspond un nombre réduit de fractions fortes dans le phérogramme des butineuses.

3° Les glandes hypopharyngiennes des abeilles d'hiver sécrètent d'autres protéines que celles des abeilles d'été (fig. 3). Parmi les différentes bandes du phérogramme seule la bande 11 correspond à une bande dans le phérogramme de la sécrétion glandulaire des abeilles d'été, les valeurs de Rf. étant identiques.

4° Le spectre protéique de la sécrétion des abeilles d'hiver ne paraît pas dépendre de l'âge des abeilles.

5° L'hypothèse jusqu'ici admise, à savoir que la fonction des glandes céphaliques des abeilles d'hiver correspond en tout point à celle des abeilles nourricières est certainement inexacte d'après les phérogrammes des sécrétions. Dans quelle mesure des fractions différentes ayant la même valeur de Rf. ont une fonction identique, seule une recherche des protéines le montrera.

6° L'élevage des ouvrières sans couvain provoque la sécrétion par les glandes hypopharyngiennes des mêmes protéines que chez les abeilles d'hiver. On ne remarque pas non plus ici d'influence de l'âge sur le phérogramme.

Dans leur ensemble les expériences décrites confirment les conclusions de MAURIZIO (1962 *b*) selon lesquelles l'activité des enzymes contenus dans la sécrétion glandulaire est soumise à des variations régulières.

SUMMARY

PROTEINS OF THE HYPOPHARYNGIAL GLANDS OF WORKER BEES.
I. COMPARISON BY ELECTROPHORESIS OF THE PROTEINS FROM SUMMER BEES,
WINTER BEES AND CAGED BEES

The proteins found in the glandular canal of worker bees were fractioned. Differences are shown between the protein spectra of summer bees and winter bees, but the spectra of winter bees and of worker bees bred in cages without a brood are similar.

The detailed results are as follows :

1. Only limited conclusions on the function of the hypopharyngeal glands can be drawn from their external appearance. A comparison between (1) nurse bees and (2) winter bees and bees bred without a brood shows that the glands of these three groups are fully developed. The pherograms of the secretion differ, however, in the number and type of protein fraction.

2. The protein composition of the hypopharyngeal secretion of summer bees changes in a characteristic manner during the life of the worker. A reduced number of strong fractions in the pherogram of foraging bees corresponds to a significant number of weak fractions in the pherograms of newly-hatched bees.

3. The hypopharyngeal glands of winter bees secrete different proteins from those of summer bees (fig 3). Among the various bands on the pherogram, only band 11 corresponds to a band in the pherogram of the glandular secretion of summer bees, the Rf values being identical.

4. The protein spectra of the secretion of winter bees does not seem to depend upon the age of the bees.

5. The hypothesis accepted up to now, namely that the cephalic glands of winter bees correspond in function at all points with those of nurse bees, is certainly inaccurate according to the pherograms of the secretions. To some extent, the different fractions with the same Rf value have an identical function. Only research into proteins will reveal what it is.

6. The raising of workers without a brood causes the secretion by the hypopharyngeal glands of the same proteins as in the winter bees. The effect of age on the pherogram is no longer pronounced here.

As a whole, the experiments described confirm the conclusions of MAURIZIO (1962 *b*) that the activities of the enzymes contained in the glandular secretion are subject to regular variations.

LITERATUR

- ALTMANN G., 1950. Ein Sexualwirkstoff bei Honigbienen. *Z. Bienenforsch.*, **1**, 24-32.
- AMMON R., ZOCH E., 1957. Zur Biochemie des Futtersaftes der Bienenkönigin. *Arzneimittelforsch.*, **7**, 699-702.
- ELSER E., 1929. Die chemische Zusammensetzung der Nahrungsstoffe der Biene. 67. *Wanderversammlung der Bienenwirte deutscher Zunge*. Graz.
- GAUHE A., 1941. Über ein glucoseoxydierendes Enzym in der Pharynxdrüse der Honigbiene. *Z. vergleich. Physiol.*, **28**, 211-253.
- GONTARSKI H., 1952. Fermentbiologische Studien an Bienen. I. Das physiko-chemische Verhalten der kohlenhydratspaltenden Fermente. a) invertierende Enzyme. *Verhandl. Dtsch. Gesellsch. angew. Entomol. Frankfurt.*, 186-197.
- GONTARSKI H., 1954. Untersuchungen über die Verwertung von Pollen und Hefe zur Brutpflege der Honigbiene. *Z. Bienenforsch.*, **2**, 161-180.
- KRATKY E., 1931. Morphologie und Physiologie der Drüsen im Kopf und Thorax der Honigbiene (*Apis mell.*). *Z. wissensch. Zool.*, **139**, 120-200.
- MAURIZIO A., 1959. Breakdown of sugars by inverting enzymes in the pharyngeal glands and the midgut of the honeybee. 2. Winter bees (*Carniolian* and *Nigra*). *Bee World*, **40**, 275-283.

- MAURIZIO A., 1961. Zuckerabbau unter der Einwirkung der invertierenden Fermente in Pharynxdrüsen und Mitteldarm der Honigbiene (*Apis Mellifica* L.). 3. Fermentwirkung während der Überwinterung bei Bienen der Ligustica Rasse. *Insectes Sociaux*, **8**, 125-175.
- MAURIZIO A., 1962 a. Zuckerabbau ... 4. Sommerbienen der Italienischen, Kaukasischen und Griechischen Rasse. *Insectes Sociaux*, **9**, 39-72.
- MAURIZIO A., 1962 b. Zuckerabbau ... 5. Einfluss von Alter und Ernährung der Bienen auf die Fermentaktivität der Pharynxdrüsen. *Ann. Abeille*, **5**, 215-232.
- MAURIZIO A., 1965 a. Zuckerabbau ... 6. Einfluss der Futterzusammensetzung auf die Fermentaktivität. *Ann. Abeille*, **8**, 113-128.
- MAURIZIO A., 1965 b. Zuckerabbau ... 7. Sommerbienen der Sahara, Marokkanischen, Portugisischen und Cyprischen Rasse. *Ann. Abeille* **8**, 167-203.
- ORNSTEIN L., DAVIS B. J., 1962. Disc Electrophoresis. Preprinted prior to journal publication for Canalco, Bethesda, Maryland.
- PATEL N. G., HAYDAK M. H., GOCHNAUER T. A., 1960. Electrophoretic components of the proteins in honeybee larval food. *Nature*, **186**, 633-634.
- REMBOLD H., HANSER G., 1964. Über den Weiselzellenfuttersaft der Honigbiene. 8. Nachweis des determinierenden Prinzips im Futtersaft der Königinnenlarven. *Hoppe-Selyer's Z. physiol. Chem.*, **339**, 251-254.
-