

**LES PROTÉINES DE L'HÉMOLYMPHE
CHEZ L'ABEILLE *APIS MELLIFICA MELLIFICA* L.**

I. — LARVES, NYMPHES ET ADULTES NAISSANTES

Die Proteine der Bienen-Hämolymphe (Apis mellifica mellifica L.)

I. — Maden, Puppen und Jungbienen

Michel BOUNIAS

avec la collaboration technique de Madame F. PARIS

*Station Expérimentale d'Apiculture,
Centre de Recherche d'Avignon, I.N.R.A.,
84140 Montfavet*

SUMMARY

THE PROTEINS OF THE HONEYBEE (*Apis mellifica mellifica* L.) HAEMOLYMPH.

I. — LARVAE, NYMPHAS AND NATIVE ADULTS.

The different components of the protein-pattern of Bees haemolymph have been qualitatively and quantitatively determined by polyacrylamide disc electrophoresis in workers, nymphas and native adults, as in worker drones; 22 fractions have been numbered and classified into 6 main groups. The variations of the relative concentrations of 15 bands have been determined at each stage. The results have shown the particular modification which appear during the development, and different types of protein spectras for a population at the same stage; in such conditions, the variations observed between the different types of spectras are rather quantitative.

RÉSUMÉ

Les différentes fractions constituantes des spectres de protéines de l'hémolymphe d'Abeille (*Apis mellifica, mellifica* L.) ont été classées et analysées qualitativement et quantitativement par électrophorèse sur gel de polyacrylamide, chez les larves, les nymphes et les ouvrières

naissantes, ainsi que chez les larves mâles. 22 fractions ont été ainsi dénombrées et réparties en 6 groupes; la variabilité des concentrations relatives de 15 d'entre elles, par rapport à l'ensemble du spectre a été déterminée à chaque stade. Les résultats ont permis de caractériser les modifications survenues au cours du développement et de faire apparaître différents types de spectres possibles au sein d'une population, pour un même stade. Dans ce cas, les variations observées sont essentiellement de nature quantitative.

INTRODUCTION

Les protéines de l'hémolymphe d'Abeille ont été isolées dès 1925 par BISHOP *et al.* au moyen d'une précipitation fractionnée. Plus tard, et principalement dans les 10 dernières années, des techniques de séparation de plus en plus fines ont été employées, depuis l'électrophorèse sur papier (TOMASZEWSKA, 1965 et 1969), sur gel d'amidon (LIU et DIXON, 1965, MESTRINER, 1969) et plus récemment sur gel de polyacrylamide (LENSKY, 1971 *b*, POPA et CRISAN, 1971). GILLIAM et VALENTINE, 1973 ont montré, en revanche l'inefficacité de l'acétate de cellulose comme support pour la séparation des diverses protéines de l'hémolymphe des Abeilles, alors que GILLIAM, 1972, utilisait avec succès la chromatographie sur gel de dextrane. Enfin, l'immuno-électrophorèse a été également employée par LENSKY (1971 *a* et *b*).

Certains travaux ont mis en évidence des variations du spectre protéique liées à l'évolution de la ruche (POPA et CRISAN, 1971) ainsi qu'à la nutrition (POLTEV et KARBASKOVA, 1969); d'autres ont fait apparaître des différences au cours du développement larvaire (FOTI *et al.*, 1969, TRIPATHI, 1972) tandis que MESTRINER, 1969 et 1970, décrivait un polymorphisme génétique dans deux races présentes au Brésil (*Ligustica* et *Adansonii*).

Enfin, certaines différences entre castes ont été étudiées par TOMASZEWSKA, 1969 et par REMBOLD et GRAF, 1972, mais ces derniers ont travaillé sur des extraits de l'insecte complet.

Malgré une littérature relativement abondante, très peu de concordances ressortent de l'ensemble des résultats, en particulier au niveau des protéines de poids moléculaire moyen, compris entre 50 et 250 000, aussi bien sur le plan qualitatif (nombre de fractions) qu'à l'échelle quantitative.

Les Abeilles de race noire méditerranéenne (*A. mellifica*, *mellifica* L.) n'ayant pratiquement pas été analysées du point de vue biochimique, il est apparu nécessaire de réunir un ensemble cohérent d'analyses destinées d'une part à préparer un approfondissement ultérieur de recherches déjà entreprises à l'aide de critères morphologiques sur la comparaison des races (RUTTNER et MACKENSEN, 1964, TOMASSONE et FRESNAYE, 1971) et d'autre part à ouvrir la voie à des travaux de génétique des populations faisant appel à des « traceurs » biochimiques, ainsi qu'à des recherches enzymologiques.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les Abeilles de race noire sélectionnée proviennent des élevages de la Station Expérimentale d'Apiculture de l'I.N.R.A. (Montfavet).

L'hémolymphe des larves, nymphes et adultes est ponctionnée à l'aide de microseringues de précision (Hamilton) d'une capacité de 10 à 20 µl, entre deux volumes d'eau, et injectée aussitôt à la surface des gels d'électrophorèse.

Les séparations sont conduites sur gels de polyacrylamide en tubes de 7 mm de diamètre et 65 mm de longueur. Les gels sont polymérisés à 15 °C avec une concentration de 7,5 % d'acrylamide en milieu tampon TRIS-Glycine 0,1 M à pH 8,5. Les migrations se déroulent dans le même tampon dilué 4 fois, sous une tension de 80 V pendant 50 mn aussitôt suivie de 35 mn à 160 V. Le démoulage est opéré en présence de glycérol à 10 %. Pour la révélation colorée des protéines, dans la limite des conditions opératoires réalisées au cours de ce travail, l'utilisation du Noir Amido 10 B a permis d'obtenir des courbes d'étalonnage offrant une relation linéaire entre la surface des pics après enregistrement, et le log de la quantité de protéines. Dans les mêmes conditions, le Bleu Brillant de Coomassie, quoique plus sensible, introduisait une légère erreur par défaut au niveau des fractions de plus fortes concentrations.

Les gels colorés sont conservés au réfrigérateur dans l'acide acétique à 2 % et photographiés. Les clichés donnent une image plane des gels permettant un enregistrement photométrique quantitatif en lumière blanche, à condition que la saturation de l'émulsion photographique ne soit atteinte pour aucune des bandes colorées lors du tirage.

L'examen comparé des photographies grandeur nature et des enregistrements permet de délimiter de façon précise la position de chaque bande et de conduire le fonctionnement de l'intégrateur dans de bonnes conditions. L'appareil utilisé est un photomètre enregistreur-intégrateur à double faisceau VERNON PHI-5.

Les Abeilles sont analysées individuellement. L'intervalle de confiance assigné à chaque moyenne est déterminé au seuil 5 % selon la formule :

$$i = \pm t. \frac{S}{\sqrt{N}}$$

dans laquelle N désigne le nombre de mesures et S l'écart type de l'échantillon.

RÉSULTATS

Ce travail a porté, dans une première étape, sur l'évolution qualitative et quantitative des spectres protéiques de l'hémolymphe chez les larves, puis les nymphes pour aboutir aux adultes naissantes.

L'étude des butineuses et des hivernantes fera l'objet d'une communication ultérieure.

Le tableau ci-dessous présente le poids moyen des insectes aux divers stades étudiés ici.

1. — *Etude des larves*

Le spectre protéique évolue très vite avec l'âge larvaire (POPA et CRISAN, 1971, LENSKY, 1971 b). Il nous a paru stable au 5^e stade (L 5) en fin de nourrissage et jusqu'à l'operculation, avec la présence constante de 18 à 22 bandes caractéristiques principales, arbitrairement classées en 6 groupes, selon leur mobilité électrophorétique (Fig. 1).

TABL. 1. — Poids moyen des larves, nymphes et adultes naissantes d'*Apis mellifica mellifica* utilisées pour l'analyse des protéines de l'hémolymphe. (N) indique le nombre de mesures.

TAB. 1. — Durchschnittsgewichte von Maden, Puppen und erwachsenen Bienen (*Apis mellifica mellifica* L.), die zur Analyse der Proteine der Hämolymphe benutzt wurden. (N) bezeichnet die Anzahl der Wägungen.

Stades du développement Entwicklungsstadien	Symboles Zeichen	Poids moyens Ø Gewicht	(N)
Larves du 5 ^e stade Maden 5. Stad.	L5	146,1 ± 5,2	(20)
Larves 5 ^e stade operculées desgl. verdeckelt	L5-OP	151,5 ± 5,5	(11)
Larves mûres reife Maden	LM	141,0 ± 4	(5)
Nymphes blanches, yeux blancs weisse Puppe, weisse Augen	N ₀	136,0 ± 3	(14)
Nymphes bl., yeux rose-marron weisse Puppe, braune Augen	N ₂	133 ± 3	(8)
Nymphes yeux violet foncé..... Puppe m. dunkelvioletten Augen	N ₃	124 ± 6	(11)
Nymphes brunes braune Puppe	N ₅	124 ± 5	(6)
Pré-imago immobile unbewegl. Präimago	A ¹	124 ± 5	(9)
Abeille naissante mobile alvéole operculé erwachsene, bewegl. Biene, Zelle verdeckelt	A ₀	116 ± 3	(6)
Larves mâles Drohnenmaden	L ₁	400 ± 20	(5)

Les protéines du groupe A sont les plus concentrées. L'analyse sur des gels préparés avec 5 % d'acrylamide a permis d'en dénombrer au moins 7. Pour les analyses quantitatives, chaque bande a été dosée isolément, à l'exception de celles du groupe A qui, trop rapprochées dans le cas des larves, ont été comptées dans leur ensemble (Tableau 2).

Parmi les ouvrières L 5, une distinction a dû être opérée entre les individus possédant les bandes D₁ et D₂ (série *d*) et ceux pratiquement dépourvus de fraction D₁ (type *m*). Chez les mâles au stade L 5 — Op, certains présentent une bande B₁ extrêmement concentrée (type *p*) tandis que chez les autres, cette fraction reste normale (type *s*). Le tableau 2 montre la comparaison des spectres moyens spécifiques de ces sous groupes, ainsi que le spectre caractéristique des larves mûres LM (allongées, en pré-nymphose). Les nombres indiqués sont la moyenne de 5 analyses individuelles.

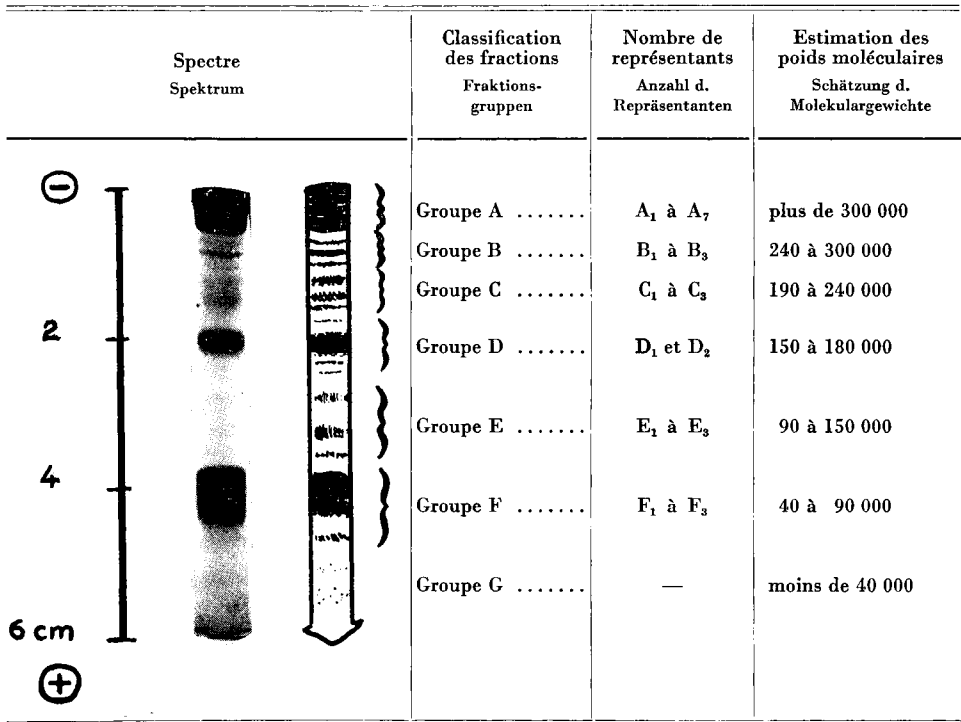


FIG. 1. — Spectre protéique caractéristique de l'hémolymphe des larves du 5^e stade L5 et L5-Op. Classification des fractions étudiées.

ABB. 1. — Charakteristisches Proteinspektrum der Hämolymphe der Maden des 5. Stadiums (L5 und L5-Op). Klassifizierung der untersuchten Fraktionen.

Les spectres d'ouvrières possédant respectivement une seule ou deux bandes du groupe D (types *m* et *d*.) ne diffèrent pas significativement par ailleurs.

La composition protéique des larves mûres montre une évolution caractéristique, avec augmentation de concentration des protéines du groupe C et E₁ qui annonce la nymphose.

Chez les mâles, la variabilité est plus grande, et des modifications quantitatives affectent en particulier les fractions des groupes C — D — E — F. Les types *s* et *p* qui se distinguent par la bande B₁ présentent également des différences au niveau des groupes E et F. Il est intéressant de remarquer que du type *s* au type *p*, la fraction B₁, de poids moléculaire voisin de 240 000, augmente de 10,3 % en même temps que les fractions F, de poids moléculaire voisin de 80 000, baissent de 10,4 %. (La protéinémie totale ne diffère pas significativement dans ces deux cas.)

TABLE 2. — Spectres protéiques de l'hémolymphe de larves d'Abeilles, ouvrières et mâles. La concentration de chaque fraction est exprimée en p. cent de la concentration totale.

TAB. 2. — Proteinspektren der Hämolymphe von Arbeiterinnen- und Drohnenmaden. Die Konzentration jeder Fraktion ist in Prozenten der Gesamtkonzentration ausgedrückt.

Fractions protéiques Proteinfraktionen	Larves d'ouvrières Arbeiterinnenmaden			Larves mâles Drohnenmaden	
	L 5 (n)	L 5 (d)	LM (m)	L 5 (s)	L 5 (p)
A	62 ± 4	64 ± 12	48 ± 5	65 ± 5	55 ± 7
B ₁	0,95 ± 0,16	0,94 ± 0,26	3,0 ± 0,5	0,7 ± 0,2	11 ± 1
B ₂	1,3 ± 0,2	0,8 ± 0,3	1,5 ± 0,2	0,8 ± 0,3	1,1 ± 0,6
B ₃	1,1 ± 0,2	0,8 ± 0,2	2,3 ± 0,3	0,9 ± 0,5	1,4 ± 0,7
C ₁	1,6 ± 0,3	1,4 ± 0,4	4,1 ± 0,4	1,9 ± 0,6	2,8 ± 2,1
C ₂	1,4 ± 0,3	1,0 ± 0,2	3,9 ± 0,3		
C ₃	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,4 ± 0,3	1,2 ± 0,3	1,2 ± 0,2
D ₁	0,4 ± 0,3	2,1 ± 0,5			
D ₂	4,7 ± 0,8	3,0 ± 0,3	6,4 ± 1,4	5,9 ± 0,9	6,5 ± 3,4
E ₁	0,7 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,7 ± 0,1	1,4 ± 0,9	8 ± 6
E ₂	2,1 ± 0,4	2,0 ± 0,4	5,4 ± 1,4		
E ₃	1,2 ± 0,4	1,0 ± 0,3	1,2 ± 0,1	0,8 ± 0,4	2,6 ± 2,3
F ₁	11,8 ± 2,0	11,7 ± 2,3	9,1 ± 0,2	8,2 ± 1,0	6,2 ± 3,0
F ₂	4 ± 2	5 ± 2	3,1 ± 0,2	11,8 ± 1,3	3,4 ± 2,0
F ₃	0,9 ± 0,5	1,1 ± 0,5	1,2 ± 0,2		

Une hypothèse séduisante consisterait à envisager la décomposition réversible d'un polymère $3n$ en ses trois monomères : rappelons que les structures polymérisées de protéines sont fréquentes, en particulier dans le domaine enzymatique.

2. — Étude des nymphes

Les spectres protéiques évoluent assez rapidement au cours de la nymphose. La teneur totale en protéines de l'hémolymphe diminue depuis les stades N_0 — N_1 jusqu'au stade N_5 (BOUNIAS, 1974) (**).

Le tableau présente les résultats moyens obtenus aux stades suivants : (N_0 à N_2), (N_3 à N_4), et (N_5 à N_6). La classification des fractions conserve les

** En cours de publication.

mêmes dénominations que dans le cas des larves : les analogies ont été établies en fonction de la mobilité électrophorétique (Fig. 1) sans que des relations physiologiques plus précises aient été démontrées pour l'instant.

TABL. 3. — *Spectres protéiques de l'hémolymphe d'Abeilles ouvrières à 3 périodes successives du développement nymphal.*

TABL. 3. — *Proteinspektren der Hämolymphe von Bienenarbeiterinnen in drei aufeinanderfolgenden Perioden der Puppenentwicklung.*

Fractions	Stades No à Ne	Stades N ₃ à N ₄	Stades N ₅ à N ₆
A	40,2 ± 5,8	46 ± 6	45,3 ± 6,8
B ₁	1,9 ± 1,0	2,0 ± 0,9	1,9 ± 6,8
B ₂	3,4 ± 1,0	4,7 ± 2,1	5,1 ± 3,3
B ₃	1,4 ± 0,7	4,5 ± 1,8	2,3 ± 1,1
C ₁ + ₂	6,3 ± 1,7	3,5 ± 1,1	2,1 ± 1,2
C ₃	2,4 ± 1,3	2,9 ± 1,5	3,6 ± 2,9
D ₁	6,1 ± 1,8	6,8 ± 2,0	4,7 ± 3,1
D ₂	6,6 ± 1,2	3,9 ± 1,0	5,3 ± 4,2
E ₁	2,4 ± 0,9	1,5 ± 1,0	1,5 ± 1,1
E ₂	6,8 ± 1,7	6,8 ± 2,0	2,1 ± 2,1
E ₃	3,3 ± 0,75	2,9 ± 0,7	1,2 ± 0,6
F ₁	5,1 ± 0,6	5,1 ± 2,0	7,0 ± 2,9
F ₂	1,4 ± 0,2	1,7 ± 0,3	2,1 ± 0,4
F ₃	6,7 ± 1,8	3,3 ± 1,5	6,6 ± 2,8
Total relatif.	100 %	68 ± 15 %	43 ± 5 %

Des variations importantes de concentrations peuvent affecter certaines fractions, en particulier celles des groupes C, D et E₂ chez les nymphes âgées. Cependant, au stade actuel de l'analyse, une classification des individus basée sur les variations de plusieurs fractions protéiques resterait extrêmement complexe.

L'évolution annoncée au stade des larves mûres se confirme au niveau des groupes C et E; l'augmentation de concentration de la fraction E₂, la diminution du groupe A et celle de la fraction F₂ annoncent l'Abeille naissante.

3. — *Étude des naissantes*

La concentration protéique de l'hémolymphe des Abeilles naissantes est voisine de celle des nymphes âgées. Les spectres observés constituent

l'aboutissement de l'évolution amorcée chez les larves mûres, sous réserve de ne prendre en considération que les insectes ailés, mais encore enfermés dans les alvéoles operculés.

Il est important de souligner que dès sa sortie du rayon, l'Abeille peut acquérir très rapidement, selon les circonstances, des caractères biochimiques propres aux adultes.

Les résultats présentés dans le tableau 4 indiquent les moyennes obtenues dans le cas d'imagos encore immobiles (A_0) ainsi que chez les individus actifs, prêts à percer l'opercule (A_4).

TABLE 4. — Spectres protéiques de l'hémolymphe d'Abeilles ouvrières naissantes, à deux stades précédant l'ouverture de l'opercule.

TABLE 4. — Proteinspektren der Hämolymphe von erwachsenen Arbeiterinnen in zwei Stadien, die dem Öffnen des Zellockels vorausgehen.

Fractions protéiques	Stade A_0	Stade A_4
A I	28,5 ± 4,0	26,5 ± 6,3
A II	21,5 ± 4,0	18,0 ± 0,5
Groupe A	44,0 ± 2,5	44,5 ± 10,0
B ₁		0,4 ± 0,2
B ₂	2,6 ± 1,5	4,2 ± 2,0
B ₃	1,6 ± 0,7	3,7 ± 2,5
C ₁		1,8 ± 0,4
C ₂	3,0 ± 2,4	10,7 ± 0,4
C ₃	0,8 ± 0,4	0,5 ± 0,1
D ₁ + D ₂	2,8 ± 0,2	0,7 ± 0,4
E ₁	0,5 ± 0,2	0,1 ± 0,05
E ₂	5,4 ± 2,0	1,3 ± 1,5
E ₃	1,0 ± 1,0	
F ₁	4,9 ± 1,2	0,2 ± 0,1
F ₃	1,5 ± 1,5	0,9 ± 0,3

Le spectre protéique de l'Abeille naissante présente encore, au stade A_0 , beaucoup d'analogies avec celui des nymphes; mais ensuite, très rapidement, la fraction C_1 (P. M. voisin de 220 000) et le groupe B (P. M. 260 à 290 000) vont augmenter respectivement de 3,7 et 7 % au détriment de E_2 (P. M. voisin de 110 000) ainsi que de F_1 et F_3 (P. M. 50 à 80 000) qui baissent au total de 9,5 à 10 %.

La diminution de concentration des protéines à haut poids moléculaire du groupe A, déjà réalisée chez les nymphes, se maintient. Il apparaît chez les

naissantes deux fractions bien séparées A I et A II avec parfois, de part et d'autre, quelques bandes complémentaires de très faible concentration.

Ainsi au terme du développement nymphal, il se produit un phénomène inverse de celui qui provoque chez les jeunes larves en cours de croissance, une augmentation du nombre de fractions associée à une réduction de leur poids moléculaire (POPA et CRISAN, 1971).

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Le spectre protéique de l'Abeille varie donc de façon très appréciable au cours du développement, des larves aux naissantes, comme le montre la comparaison des concentrations respectives de 15 fractions différentes du spectre. Cette comparaison est illustrée par la fig. 2 montrant la superposition des enregistrements de gels caractéristiques obtenus aux divers stades.

Le nombre de fractions protéiques analysées au cours de ce travail est supérieur à celui obtenu par POPA et CRISAN, 1971, qui ont signalé 6 fractions de P. M. compris entre 150 et 250 000 chez les larves mûres. Nos résultats sont plus proches de ceux de LENSKY, 1971 *a*, avec un total de 21 fractions dont une quinzaine assez nettes. Pour l'instant il paraît difficile d'établir une comparaison plus détaillée, l'auteur ayant utilisé des Abeilles de race différente (*Ligustica*) et des gels concentrés (10 % d'acrylamide) donnant des spectres plus contractés; les 6 premières bandes pourraient cependant coïncider avec notre groupe A, la bande n° 7 ou n° 10 selon les cas, au groupe D et la bande n° 15 ou n° 21 au groupe F.

L'estimation de la proportion de chaque fraction séparée et l'analyse de la variabilité des résultats constituait une première étape nécessaire en vue de travaux ultérieurs portant, en particulier, sur la comparaison des races et la génétique des populations.

Certaines indications polymorphiques sont apparues d'ores et déjà, avec des résultats plus homogènes chez les larves L 5 (séries de types *n* et *d* ou S et P). Elles montrent qu'il est possible de comparer la fréquence de chaque type au sein de diverses populations, mais à condition de travailler sur des résultats quantitatifs. D'autre part, le processus de modification du spectre protéique depuis les larves L 5 jusqu'aux naissantes est maintenant suffisamment défini pour permettre d'éviter toute erreur d'interprétation au cas où l'un de ces stades s'avèrerait plus favorable à l'étude de certaines populations.

Les étapes suivantes de ce travail sont consacrées à la caractérisation précise des spectres protéiques de l'hémolymphe d'adultes butineuses et hivernantes, puis à la comparaison de quelques races européennes.

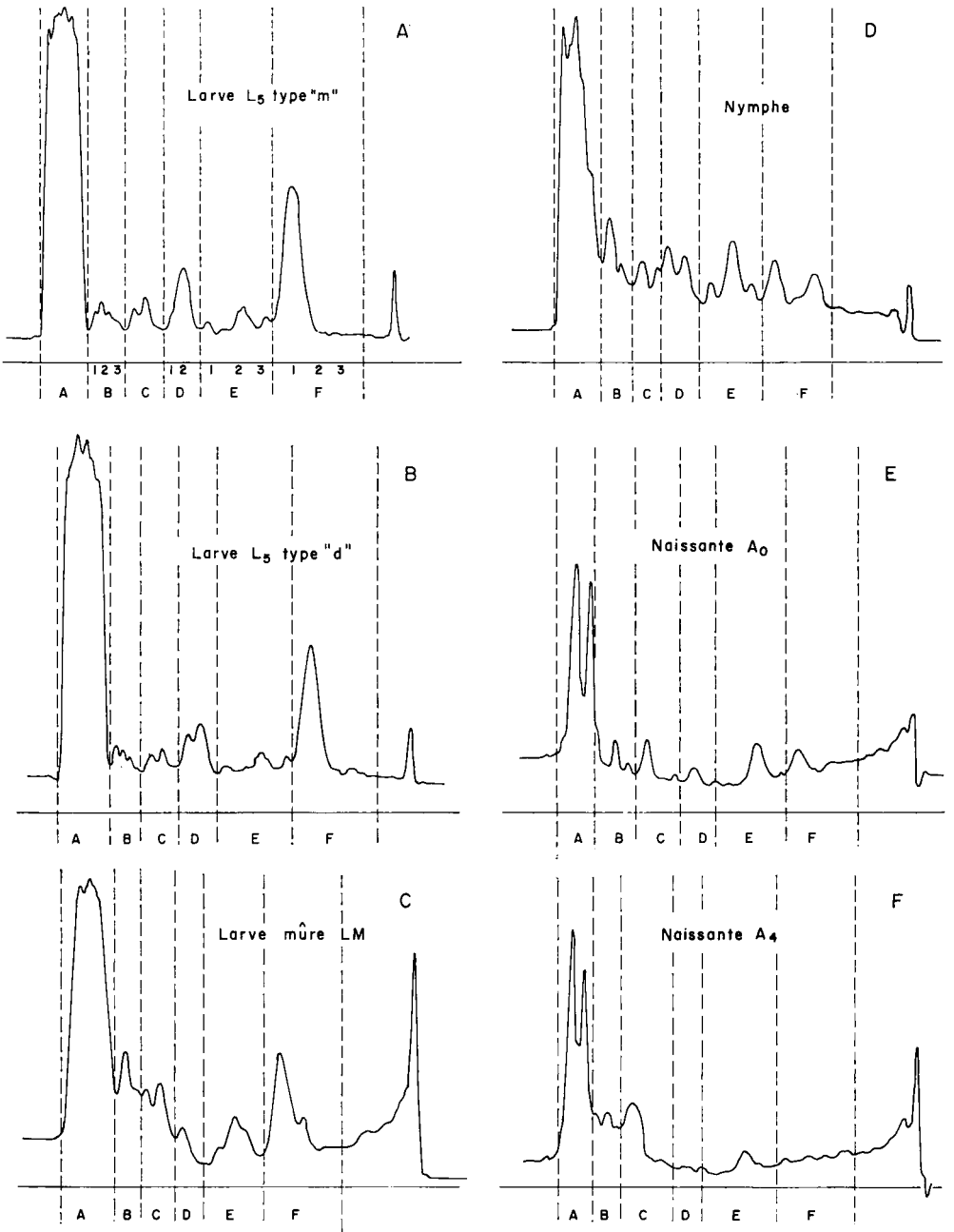


FIG. 2. — Comparaison des fractions protéiques de l'hémolymphe au cours du développement de l'Abeille : enregistrements photo-densitométriques.

ABB. 2. — Vergleich der Proteinfractionen im Verlauf der Bienenentwicklung : Photodensitometrische Aufzeichnungen.

A — Larve L₅ type « m » ; Made 5. Stad. « m » Typ.

B — Larve L₅ type « d » ; Made 5. Stad. « d » Typ.

C — Larve mûre LM ; reife Made

D — Nymphe ; Puppe

E — Naissante A₁ ; erwachsen Biene

F — Naissante A₃ ; erwachsene Biene

Nos recherches s'orienteront ensuite vers l'étude du rôle biochimique de certaines fractions, ce qui permettra peut-être d'approfondir encore la connaissance de l'évolution du spectre protéique. Les résultats actuels, dont la précision est limitée par les performances de l'appareillage utilisé, pourront être améliorés par la suite grâce à l'utilisation de techniques plus précises, telles que l'électrophorèse sur plaques de gels avec gradient de concentration de polyacrylamide.

Reçu pour publication en avril 1975

Eingegangen im April 1975.

REMERCIEMENTS

L'auteur exprime ses remerciements à M. FRESNAYE, responsable du programme d'insémination artificielle ainsi qu'à MM. PARIS et M. BLANC chargés de l'entretien des ruchers, pour la fourniture des Abeilles sélectionnées, à M. LAVIE pour la contribution de sa Station aux frais de fonctionnement et locaux, à Mme PLATZ qui a assuré la dactylographie des textes, et à M. DELANGUE, auteur des photographies.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Vergleich von Rassen und Ökotypen von Bienen sowie genetische Arbeiten über die Populationen, die auf biochemische Methoden zurückgreifen, erfordern die genaue Kenntnis bestimmter Kriterien, unter denen die Proteinspektren schon mit Erfolg bei anderen Organismen verwendet wurden.

Die eingehende Untersuchung der Proteinkomponenten der Hämolymphe ist bei *Apis mellifica mellifica* L. vorrangig bei Maden, Puppen und erwachsenen Bienen durchgeführt worden und zwar elektrophoretisch auf Polyacrylamid-Gel.

Das vollständige Spektrum umfasst bis zu 22 Proteinfractionen. Diese sind in sechs Klassen zusammengefasst, die entsprechend ihrer elektrophoretischen Motilität mit den Buchstaben A bis F bezeichnet werden. Ihre Molekulargewichte nehmen in Richtung von A bis F von 350 000 bis 50 000 ab.

Jede Gruppe enthält durchschnittlich zwei bis drei Hauptfraktionen, von denen 15 im Verlauf der Entwicklung quantitativ analysiert wurden. Die Gruppe A enthält eine Anzahl von Komponenten, die von einem zum anderen Stadium verschieden sind.

Bei den Arbeiterinnen-Maden des 5. Stadiums traten zwei Typen von Spektren auf, die sich durch ihre Konzentration von den Proteinen der Gruppe D unterscheiden, während die Drohnen in zwei anderen Gruppen Unterschiede des Spektrums aufweisen.

Die Proteinzusammensetzung der Hämolymphe entwickelt sich praktisch fortlaufend von einem Stadium zum anderen. Die ausgewachsenen Maden bilden einen Übergang zwischen den Maden des 5. Stadiums und den Puppen, während die verdeckelten, noch unbeweglichen, erwachsenen Bienen eine Zusammensetzung aufweisen, die zwischen der der Puppen und der geschlüpften Biene liegt.

Die Proteinzusammensetzung der Bienen-Hämolymphe ist jetzt mit ausreichender Genauigkeit bestimmt, um Vergleiche innerhalb eines Bienenvolkes und zwischen Bienenvölkern verschiedener Rassen durchführen zu können. Das 5. Madenstadium scheint aufgrund seiner Homogenität dazu am besten geeignet. Die festgestellten Unterschiede zwischen Individuen des gleichen Stadiums sind von quantitativer, nicht qualitativer Art.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BISHOP G. H., BRIGGS A. P., RONZONI E., 1925. Osmotic effects of haemolymph constituents in bee larva. *J. Biol. Chem.*, **66**, 77-88.
- FOTI N., POPA L., CRISAN I., 1969. Variability of the protein components of the hemolymph in bees, in accordance with age, season and activity. *Apicultura*, **22**, 11-17.
- GILLIAM M., 1972. Gel filtration of the hemolymph of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Experientia*, **28**, 341.
- GILLIAM M., JACKSON K. K., 1972. Proteins of developing worker honey bee *Apis mellifera*. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, **65**, 516-517.
- GILLIAM M., VALENTINE D. K., 1973. Unusual electrophoretic behavior of proteins from honey bee hemolymph. *Comp. Biochem. Physiol.*, **45**, 463-466.
- LENSKY Y., 1971 a. Haemolymph proteins of the honey bee. I. separation and characterisation of haemolymph proteins of worker larvae. *Comp. Biochem. Physiol.*, **38**, 129-139.
- LENSKY Y., 1971 b. Haemolymph proteins of the honey bee. II-Differentiation during the development of bee workers. *Comp. Biochem. Physiol.*, **39**, 335-341.
- LIU T. P., DIXON S. E., 1965. Studies in the mode of action of royal jelly in honey bee development. VI-Haemolymph protein changes during caste development. *Can. J. Zool.*, **43**, 873-877.
- MARTIN P., 1965. Electrophoretische Untersuchungen an der Hämolymphe von Bienen. *Berl. und Münch. Tierarztliche Wsch.*, **78**, 16-17.
- MESTRINER M. A., 1969. Biochemical polymorphism in bees. *Nature*, Lond., **223**, 188-189.
- MESTRINER M. A., 1970. Protein polymorphism in a haploid-diploid system (*Apis mellifera* L.) Thèse Doctorat, Univ. de Sao Paulo, Brésil, 70 p.
- POLTEV V. I., KARBASKOVA V. B., 1969. Protein deficiency in *Apis mellifera* and the effect of some protein feeds on its prevention. *Dokl. Vses. Akad. Sel'Sko-Khoz. Nauk.*, **4**, 34-36. in : *Apicult. Abstr.*, **24**, 127 (1973).
- POPA L., CRISAN I., 1971. Contribution à la connaissance de la structure des protéines de l'hémolymphe chez les Abeilles pendant l'hiver. *Anale S.C.A.S.*, **IX**, 53-61.
- REMBOLD H., GRAF H., 1972. Isolation and charaterisation of a caste specific protein from honey bees. *Z. Physiol. Chem.*, **353**, 1615-1624.
- RUTTNER F., MACKENSEN O., 1964. The genetics of the honey bee. *Bee World*, **33**, 53-62, 71-79.
- TOMASSONE R., FRESNAYE J., 1971. Étude d'une méthode biométrique et statistique permettant la discrimination et la classification de populations d'Abeilles (*Apis mellifica* L.) *Apidologie*, **2**, 49-65.
- TOMASZEWSKA B., 1965. Rozdział białek hemolimfy pszczoły miodnej (*Apis mellifica* L.) metoda elektroforezy bibulowej. *Med. Wet.*, **21**, 562-563.
- TOMASZEWSKA B., 1969. Hemolymph proteins of the honey bee (*Apis mellifica*) as found in normal individuals and in those from colonies affected by a disease. *Zool. Pol.*, **19**, 469-493.
- TRIPATHI R. K., 1972. Changes in haemolymph enzymes during the caste development in female honey bee larvae (*Apis mellifera* L.) — *Diss. Abstr. Internat. Ser B*, **32**, 4650-4651.