

STRUKTURELLE GRUNDLAGEN DER RESORPTION UND PASSAGE  
VON MAKROMOLEKÜLEN DURCH DEN MITTELDARM DER BIENEN-  
KÖNIGIN (APIS MELLIFICA L.)

Martin Lacombe, Zoologisches Institut der Universität Münster/Westf.,  
Deutschland.

Ausgehend von der Hypothese über den interindividuellen Proteintransfer bei Apis mellifica (Engels, 1971), sollten folgende Fragen untersucht werden: 1. Ist ultrastrukturell die Möglichkeit eines Transportes von Makromolekülen durch Insektenepithelien, speziell durch die Mitteldarmwand, gegeben? 2. Läßt sich an Hand von Tracern oder Modellsubstanzen ein solcher Transport lokalisieren und darstellen? Kurz zusammengefaßt besagt die Hypothese des interindividuellen Proteinaustausches bei Apis folgendes: Bei hoher Legeleistung der Bienenkönigin ist diese nicht imstande, selbst genügend Dotterprotein (die pro Tag erzeugte Eimasse kann das Körpergewicht übertreffen) zu synthetisieren (Ruttner, 1960; Zander & Weiss, 1964; Engels, 1971, 1972). Sie erhält dieses Dotterprotein von den Ammenbienen im Futtersaft in makromolekularer Form als Sekret der Hypopharynxdrüsen (Halberstadt, 1966, 1967). Die Aufnahme der Futtersaft-Proteine erfolgt durch das Mitteldarmepithel in die Haemolymphe der Königin. Die Dotterproteine könnten somit direkt in die wachsenden Oocyten eingelagert werden.

Zu diesem Aspekt des Transports durch das Mitteldarm-Epithel wurden folgende Untersuchungen durchgeführt: 1. Ultrastruktur des Mitteldarms adulter Bienenköniginnen unter besonderer Berücksichtigung von für den Transport verantwortlichen Strukturelementen, und 2. Fütterungsversuche mit radioaktiven Tracern und makromolekularen Modellsubstanzen.

Feinstruktur des Mitteldarms

Lichtmikroskopische Untersuchungen zur Anatomie und Histologie des Apis-Darmes liegen in großer Zahl vor (u. a. Shinoda, 1927; Weil, 1935; Cruz-Landim, 1967), elektronenoptische nur sehr wenige (Vecchi, 1965; Vidano, 1971), sie wurden sämtlich unter anderen Aspekten vorgenommen. Daher folgt hier eine kurze Beschreibung der Ultrastruktur einer resorptionsaktiven Mitteldarmepithelzelle: Die der Basalmembran aufliegende Zellmembran bildet das für resorbierende Zellen typische Bild eines Basalen Labyrinths. Es schließt sich apicalwärts eine mit Vesikeln unterschiedlicher Größe und Dichte angefüllte Zone an. Das endoplasmatische Retikulum zieht von der basalen Zellregion an dem im mittleren Zellbereich liegenden Kern vorbei bis in die apicale Zone.

Oberhalb des Kerns lassen sich außer dem Golgi-Apparat mehrere für Resorptions- und Transportvorgänge wichtige Zellorganellen unterscheiden: Mikrofilamentbündel und Mikrotubuli, die sich in Längsrichtung der Zelle erstrecken, Endocytosevesikel direkt unterhalb des Zellapex und multivesikuläre Körper, die nach Smith et al., (1969) zusammen mit den Endocytosevesikeln und den homogenen elektronen-

durchlässigen Vesikeln einen "metabolic pool" der Protein-Nahrung auf dem Weg vom Darmlumen in die Haemolymph darstellen. Ein besonderes Merkmal der Mitteldarmzellen von Apis sind die außerordentlich langen Mikrovilli. Sie verzüngen sich vom Ansatz zum Darmlumen hin und bilden als dichter Saum einen Abschluß zum Darmlumen hin und zu den darin befindlichen peritrophischen Membranen. Die enorme Länge der Apis Mikrovilli (Verhältnis Durchmesser: Länge = 1: 80 bis 1: 200; bei den meisten anderen untersuchten Insekten-Arten dagegen nur 1: 9 bis 1: 40) und ihre große Anzahl pro Zelle ergeben eine starke Vergrößerung der Zelloberfläche und vermutlich eine besonders hohe Resorptionsfähigkeit des Königinnen-Darmes. (Abb. 1).

#### Fütterungs-Versuche

Bei den Tracer-Experimenten handelte es sich um Königinnen, die während einer bestimmten Inkubationszeit (6 - 48h) von kontaminierten Ammen mit radioaktivem Futtersaft versorgt wurden. Den Arbeiterinnen war 24 h vorher ein  $^{14}\text{C}$ -Aminosäuren-Gemisch injiziert worden, so daß sie markierte Futtersaft-Proteine verfütterten und synthetisierten. Da sich dieser Versuch nicht als Puls-, sondern nur als Dauerfütterungs-Experiment durchführen ließ, lassen sich nur grobe Aussagen über den Zeitbedarf der Resorption machen.

Nach Inkubationszeiten von 6 - 17 h zeigt im Autoradiogramm das Darmlumen mit dem Nahrungsbrei und den peritrophischen Membranen eine starke Markierung, das Mitteldarmepithel eine schwache. Nach 24 h sind Inhalt und Epithel ungefähr gleich stark markiert. Bei noch längeren Inkubationen sind im Darmlumen nur noch die peritrophischen Membranen schwach markiert, das Epithel und die im Haemocoel gelegene Muscularis dagegen stark. Ein intracellulärer Markierungsgradient vom apicalen zum basalen Zellende ist nur beim 6 h-Versuch zu erkennen.

Die Tracer-Ergebnisse lassen zwar den Transport von Futtersaft-Proteinen von den Ammenbienen zur Königin erkennen und bestätigen so diesen Teil der Proteintransfer-Hypothese, lassen aber noch keinen Schluß auf die Art des Transportgutes - ob makromolekular oder nicht - auf dem Wege durch das Mitteldarmepithel zu.

Die Fütterungsversuche mit Modellsubstanzen (Ferritin, Myofer) wurden folgendermaßen durchgeführt: Eine 3 h hungernde Königin wurde innerhalb eines Zeitraumes von 2 h mehrere Male per Pipette mit einer Mischung aus Gelée royale und der Modellsubstanz gefüttert = Inkubationsbeginn. Es folgte die eigentliche Inkubationszeit, während der bei längerer Dauer mit Honigwasser nachgefüttert wurde. Lichtmikroskopisch ausgewertet wurden Paraffin-Schnitte des Mitteldarmes nach Durchführung der Berliner-Blau-Reaktion auf Eisen.

Die eisenhaltigen Modellsubstanzen werden in folgendem Zeitmuster aufgenommen: Nach 3 h ist der Darminhalt samt peritro-

phischen Membranen stark markiert. Nach 6 h befindet sich der Großteil der Markierung im apicalen Plasma der Epidermiszellen. Im basalen Plasma finden sich nur einzelne Grana. Nach 12 h läßt sich dann der Marker granulär in größeren Mengen im basalen Zellbereich nachweisen. Geringe Mengen befinden sich bereits zwischen Bindegewebe und Muskelzellen. Nach 18 h zeigt sich ein ähnliches Bild wie nach 12 h mit einer noch stärkeren Markierung im basalen Bereich. Auch nach Langzeitinkubationen (25 h - 78 h) erhält man dieses Markierungsbild, wobei allerdings infolge der Dauerfütterung mit dem Marker auch Bindegewebe und Muskulatur mit angefärbt erscheinen. (Abb. 2 - 4).

Aus den Versuchsergebnissen ist ablesbar, daß bei den Bienenköniginnen die Nahrung spätestens nach 3 h im Darm angekommen ist, und daß innerhalb von 8 - 9 h ein Transport durch das Darmepithel stattfinden kann. Vergleicht man diese Aufnahmege-  
schwindigkeit mit Literaturwerten bei anderen Insekten, so erweist sich der Vorgang der Aufnahme makromolekularer Modellsubstanzen als extrem langsam. Weitere Untersuchungen zur Transportgeschwindigkeit anderer Substanzen sind in Vorbereitung.

Setzt man voraus, daß Ferritin und Myofer während des gesamten Experimentes als Makromoleküle erhalten bleiben, so wäre durch die Fütterungsversuche der Nachweis eines makromolekularen Transports durch die Mitteldarmwand von Apis-Königinnen erbracht.

Aufgrund der Ultrastrukturbefunde ist darüber hinaus anzunehmen, daß die Voraussetzungen für eine Resorption und Passage von Makromolekülen von der Seite der Zellorganelle ebenfalls gegeben sind. Beides bedeutet aber noch nicht, daß Dotterproteins tatsächlich makromolekular die Darmwand passieren.

Grundsätzlich scheint bei Insekten ein Transport von Makromolekülen durch Epithelien nicht so selten zu sein. Schon Wigglesworth (1943) beschrieb die Aufnahme von Säuger-Haemoglobin in die Haemolymph von Rhodnius. Miles & Sloviak fanden bei Eumecopus die Passage eines Proteins (MG ca. 40000) durch das Speicheldrüsengewebe. Auch Tsao & Shuel (1967) weisen auf die Möglichkeit einer makromolekularen Aufnahme von Proteinen aus dem Gelée royale hin.



Abb. 1: *Apis mellifica*, Mitteldarmepithel quer. Elektronenmikroskopische Übersichtsaufnahme, Primärvergr. 1600 x.

Die elektronendichten Zellen der Regenerationskrypten sind von den ausdifferenzierten hellen Epithelzellen zu unterscheiden. Sie sind von einem Mikrovilli-Saum enormer Länge besetzt.

M = Mikrovilli, RK = Regenerationskrypte, RE = resorptionsaktive Epithelzelle, B = Basalmembran, H = Haemocoel, Ms = Muscularis, D = Darmlumen

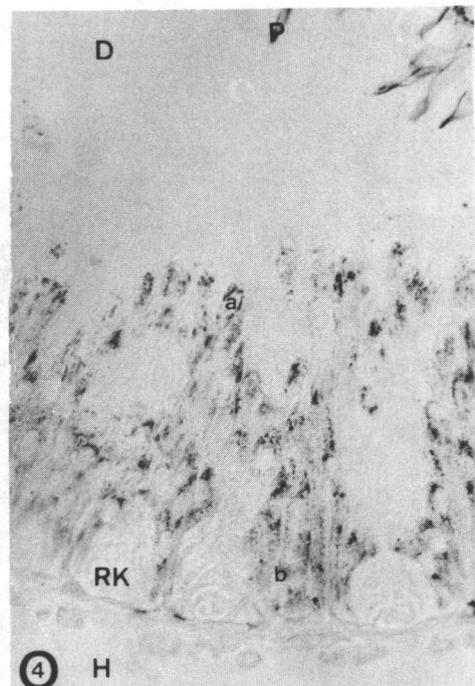
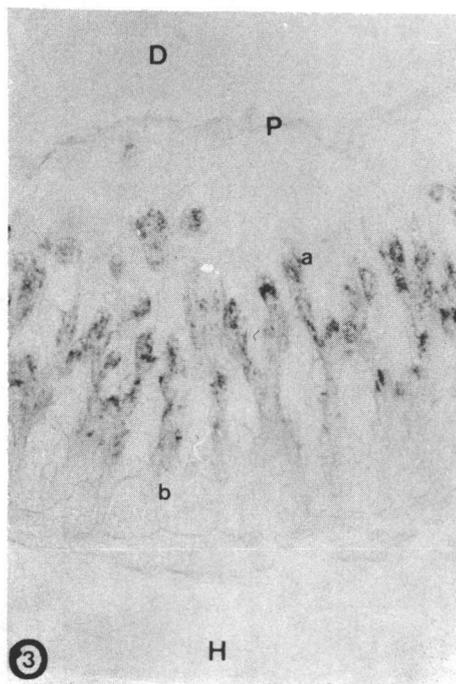


Abb. 2-4: Transport von Myofer durch das Mitteldarm -  
epithel, Berliner-Blau-Reaktion, Vergr. 500 x

Inkubationszeiten: Abb. 2 : 3 h, Abb. 3 : 6 h, Abb.  
4 : 12 h.

P = peritrophische Membranen, a = apicaler Bereich  
der resorptionsaktiven Epithelzellen, b = basaler Be-  
reich, RK = Regenerationskrypte, H = Haemocoel, D =  
Darmlumen.

## LITERATUR

- CRUZ-LANDIM, C. & RODRIGUES, L. (1967). Comparative anatomy and histology of the alimentary canal of adult Apinae. J. Apicult. Res. 6: 17-28.
- ENGELS, W. (1971). Die Bildung von Reservestoffen in der Oogenese der Honigbiene, Apis mellifica. Habilitationsschrift, Münster.
- ENGELS, W. (1972). Quantitative Untersuchungen zum Dotterprotein-Haushalt der Honigbiene (Apis mellifica). Wilhelm Roux' Arch. Entw. Mech. Org. 171: 55-86.
- HALBERSTADT, K. (1967). Über die Proteine der Hypopharynxdrüse der Bienenarbeiterin. I. Elektrophoretischer Vergleich von Sommer-, Winter- und gekäfigten Bienen. Ann. Abeille 9: 153-163 (1966).
- II. Elektrophoretische Untersuchungen der Sekretproteine bei Schwarmbienen und Arbeiterinnen aus brutschwachen Völkern. Annls. Abeille 10: 119-132.
- MILES, P.W. & SLOVIK, D. (1970). Transport of whole protein molecules from blood to saliva of a plant-bug. Experientia 26: 611.
- RUTTNER, F. (1960). Fortpflanzung und Vererbung. in: Büdel, A. Herold, E.: Biene und Bienenzucht. München.
- SHINODA, A. (1927). Contributions to the knowledge of intestinal secretion in insects. II. A comparative histo-cytology of the mid-intestine in various orders of insects. Z. Zellforsch. 5: 278-292
- SMITH, D.S. et al., (1969). Cellular organization and ferritin uptake in the mid-gut epithelium of a moth, Epehestia kühniella. J. Morph. 127: 41-72.
- TSAO, W. & SHUEL, R.W. (1968). Breakdown of the royal jelly protein in the midgut of the larval honeybee. J. Apicult. Res. 7: 119-128.
- VECCHI, M.A. & BRAGAGLIA, M.M. (1965). Osservazioni preliminari sull' ultrastruttura del mesointestino dell'ape mellifica (Apis m. ligustica Spin.) Arch. Zool. Ital. 50: 19-24.
- VIDANO, C. (1971). Darmzotten bei Honigbienen und anderen Insekten. Apimondia-Kongress Moskau.
- WEIL, E. (1935). Vergleichend morphologische Untersuchungen am Darmkanal einiger Apiden und Vespiden. Z. Morph. Ökol. Tiere 30: 438-478.
- WIGGLESWORTH, V.B. (1943). The fate of hemoglobin in Rhodnius prolixus and other blood sucking arthropods. Proc. R. Soc. B 131: 313-339.
- ZANDER, E. & WEISS, K. (1964). Das Leben der Biene. Stuttgart.