

ARBEITERINNEN DER HONIGBIENE (*APIS MELLIFERA* L.) KÖNNEN STÄRKE IM FLUGSTOFFWECHSEL VERWERTEN, DROHNEN JEDOCH NICHT

N. HRASSNIGG, R. BRODSCHNEIDER, P. FLEISCHMANN¹, K. CRAILSHEIM

Institut für Zoologie an der Karl-Franzens-Universität in Graz,
Universitätsplatz 2, A-8010, Graz, ÖSTERREICH
E-mail: norbert.hrassnigg@uni-graz.at

Tel.: ++43 (0)316 380 5617, Fax: ++43 (0)316 380 9875

¹Institut für Biomedizinische Technik, Technische Universität Graz,
Krenngasse 37, A-8010 Graz, ÖSTERREICH

Resümee

Wenn Sammlerinnen, die von einem Futterplatz genommen wurden, eine 2 molare Glukoselösung bekamen, die zusätzlich lösliche Stärke enthielt, die in der Menge einer 1 molaren Glukoselösung entsprach, verlängerten sie ihre Flugzeit im Flugkarussell um 24%. Fliegende Drohnen, die die gleichen Mengen Zucker und Stärke erhielten, verlängerten ihre Flugzeit nicht, sondern verkürzten sie signifikant um 23,6% gegenüber der Fütterung von reiner 2 molarer Glukoselösung. Die zwei Fütterungsarten veränderten weder die durchschnittliche Fluggeschwindigkeit der Arbeiterinnen noch die der Drohnen. Unsere Resultate zeigen, dass die Arbeiterinnen die Stärke während des Fluges verwerten können, die Männchen jedoch nicht. Dies zeigt, dass das Enzym Amylase, welches in den Schlunddrüsen (Hypopharynxdrüsen) der älteren Arbeiterinnen vorkommt, deren Fähigkeit, komplexe Kohlenhydrate zu verwerten, steigert, und es unterstreicht auch die bedeutende Rolle der Arbeiterinnen als Futterverarbeiter im hochentwickelten sozialen System des Honigbienenvolkes.

Stichwörter: Drohn/Flugstoffwechsel/Stärke/Enzym/Verdauung

Einleitung

Die hochentwickelte Arbeitsteilung schließt bei den Honigbienen zahlreiche Aufgaben ein, die von ihrem Alter abhängen und zu denen unter anderem auch die Verdauung gehört. Die Arbeiterinnen, die sich im Ammenalter befinden, verbrauchen den Großteil des Pollens, der von den Sammelbienen eingetragen wird, und erzeugen in ihren Futtersaftdrüsen ein proteinreiches Sekret, den Futtersaft. Dieser wird an die Brut, wie auch an die anderen Arbeiterinnen, die Drohnen und die Bienenkönigin verteilt (CRAILSHEIM, 1992; CRAILSHEIM et al., 1992; HRASSNIGG und CRAILSHEIM, 1998 a,b). Die Arbeiterinnen verdauen das aufgenommene Futter, das aus Nektar und Pollen besteht, sehr effektiv. Diese Tatsache spiegelt sich wider in der Herstellung von kohlenhydratspaltenden Enzymen, wie der Saccharase (SIMPSON et al., 1968) oder der Amylase, in den Hypopharynxdrüsen (Schlunddrüsen), wie auch im Vorhandensein von proteolytischen Enzymen in ihrem Mitteldarm, die vor allem zum Abbau der Pollenproteine dienen (MORITZ und CRAILSHEIM, 1987). Die Produktion dieser Enzyme hängt stark von der Tätigkeit der Arbeiterinnen ab. Bei den Jungbienen (Ammenbienen) stellen die Hypopharynxdrüsen vor allem den proteinreichen Futtersaft her, bei älteren Bienen (Sammelbienen) hingegen verändert sich ihre Synthesetätigkeit und sie stellen vor allem kohlenhydratverdauende Enzyme her (HALBERSTADT, 1980; KUBO et al., 1996). Amylase und Saccharase bauen die komplexen Kohlenhydrate in ihre Monomere ab, während die Glukoseoxidase durch die Herstellung von kleinen Mengen Wasserstoffperoxid zur besseren Konservierung des Honigs beiträgt. Diese kohlenhydratspaltenden Enzyme kommen auch in dem in den Waben gelagerten Honig vor.

Das männliche Geschlecht besitzt keine Hypopharynxdrüsen (SNODGRASS, 1956). Die Drohnen beteiligen sich auch nicht am Sammeln und der Verarbeitung der Futterreserven eines Bienenvolkes. Ihre Hauptaufgabe, soweit bekannt eigentlich die einzige Aufgabe, ist die Produktion von Spermien und die Paarung mit der Bienenkönigin. Um diese Aufgabe erfüllen zu können, sind sie starke und kräftige Flieger (GMEINBAUER und CRAILSHEIM, 1993). Die Energie für diese Flüge beziehen sie aus dem Honig, den sie aus den Vorräten im Bienenvolk aufnehmen.

Es ist bekannt, dass die Arbeiterinnen Stärke verdauen können, doch ist noch nicht klar, ob dieser Vorgang schnell genug ist, um den Flugstoffwechsel aufrechtzuerhalten. Außerdem ist noch nicht bekannt, ob die Drohnen Stärke verdauen und ob sie diese für den Flug nutzen können. Folglich stellt sich die Frage: Können die Arbeiterinnen und die Drohnen der Honigbiene Stärke in ihrem Flugstoffwechsel verwerten?

Material und Methode

Zur Untersuchung des Flugstoffwechsels wurden Arbeiterinnen und Drohnen zum Flug im Karussell vorbereitet, so wie von HRASSNIGG und CRAILSHEIM (1999) beschrieben. Wenn die Bienen die Stärke in ihrem Flugstoffwechsel verwenden, dann würde die zusätzliche Verfütterung von Stärke in einer Glukoselösung ihre Flugzeit und/oder auch die Zahl an Flugrunden vergrößern, die die Bienen im Flugkarussell unternehmen. Falls die Stärke nicht genutzt werden kann, dann wird auch keine Steigerung der Flugzeit festgestellt werden.

Die Arbeiterinnen stammten von einem Futterplatz, der sich in der Nähe des Bienenvolkes befand und der eine 1 molare Zuckerlösung enthielt. Die Drohnen wurden von den seitlichen Waben eines Volkes genommen, dort, wo sich gewöhnlich ältere Drohnen aufhalten. Die Bienen wurden für die Befestigung am Arm eines Karussells vorbereitet. Zunächst wurden die Bienen stimuliert, Flüge ohne zusätzlicher Fütterung zu unternehmen, um ihre Energiereserven (z.B. Zucker) zu erschöpfen. Danach erhielten sie bestimmte Mengen von Glukose- oder Glukose-Stärke-Lösungen und wurden erneut zum Flug stimuliert. Jede Flugrunde der Biene wurde mit einem Computer registriert, wobei die gesamte Flugzeit auch mit einer Stoppuhr bestimmt wurde, sodass in den folgenden Berechnungen nur die aktive Flugzeit berücksichtigt wurde.

Nach dem ersten Flug erhielten Arbeiterinnen und Drohnen 10 µl reine Glukoselösung (2M). Nach 5 Minuten Ruhezeit wurden sie zum Flug stimuliert. Sobald sie erschöpft waren, wurden sie vom Karussellarm genommen und erhielten eine Glukose-Stärke-Lösung (Glukosekonzentration – 2M, Stärkekonzentration, als Anhydroglukose berechnet – 1M). Bei den Versuchen verwendeten wir reine Glukose und lösliche Stärke (nach ZULKOWSKY) von Merck. Die Stärkemenge wurde anhand ihrer Monomere als Anhydroglukose ($C_6H_{10}O_5$) mit einem Molekulargewicht von 162 g berechnet. Wir vergrößerten die Stärkemenge um 10%, um das physikalisch an sie gebundene Wasser zu kompensieren.

Ergebnisse

Nach der Verfütterung der gleichen Glukosemenge (10 µl, 2M) war die Flugzeit der Arbeiterinnen im Karussell um 19% länger als die der Drohnen (Abb.1).

Erhielten die Drohnen eine reine Glukoselösung (10 µl, 2M Glukose), dann flogen sie signifikant viel länger als nach der Fütterung von Glukose + Stärke (10 µl, 2M Glukose und 1M Anhydroglukose). Auf diese Weise verminderte sich die Flugzeit der Drohnen, denen zusätzlich auch Stärke verfüttert wurde, um 23,6% (Abb.1).

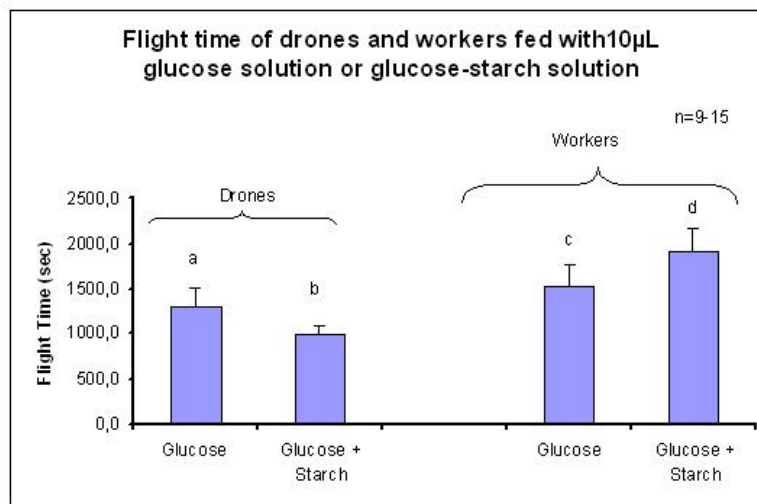


Abb.1 – Gesamte Flugzeit von Drohnen und Arbeiterinnen, gefüttert entweder mit 2M Glukoselösung oder mit 10 µl einer 2M Glukose+ Stärke-Lösung, die einer 3M Glukoselösung entspricht. Unterschiedliche kleine Buchstaben über den Säulen zeigen statistisch signifikante Unterschiede an (ANOVA; $P < 0,05$).

Die mit der gleichen Glukose- und Stärkemenge gefütterten Arbeiterinnen verlängerten ihre Flugzeit im Vergleich mit denjenigen, die nur Glukose erhielten, um 24,2% (Abb. 1). Jedoch zeigte sich keine signifikante Differenz in der Gesamtflugzeit, wenn die Arbeiterinnen mit 10 µl einer 3M Glukoselösung oder 10 µl einer Lösung von 2M Glukose und 1M Anhydroglukose gefüttert wurden (3 molare Glukosekonzentration ist in der Abb.1 nicht dargestellt).

Die im Karussell zurückgelegte Distanz war bei den glukosegefütterten Arbeiterinnen (10 µl, 2M) signifikant kürzer als bei den Arbeiterinnen, die Glukose plus Stärke (10 µl, 2M Glukose und 1M Anhydroglukose) erhalten hatten, d.h.: $1665,0 \pm 199,1$ m ($n = 11$) bzw. $2249,4 \pm 331,1$ m ($n = 15$) (U-Test, $P < 0,001$). Das gleiche Futterregime veranlasste die Drohnen mit Glukose eine Distanz von $1727,0 \pm 357,3$ m ($n = 9$) zurückzulegen und mit Glukose + Stärke eine signifikant kürzere Distanz, d.h. $1380,7 \pm 153,1$ m ($n = 9$) (U-Test $P < 0,05$). Während die Arbeiterinnen und die Drohnen, die reine Glukoselösungen erhalten hatten, fast gleich lange Distanzen zurücklegten ($P = 0,70$), flogen die Drohnen, die zusätzlich auch Stärke bekommen hatten, signifikant kürzere Strecken ($P < 0,001$).

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die enzymatische Ausstattung der Arbeiterinnen, diesen nicht nur die Verwendung von Zuckern, sondern auch von Stärke für ihren intensiven Flugstoffwechsel erlaubt. Wobei

dies bei Drohnen nicht der Fall ist, da deren Flugdauer und Flugstrecke nach der Stärkeverfütterung sogar gesunken ist.

Diskussion

Die Stärke ist kein Hauptbestandteil des Futters der Honigbienen. Sie ist im Pollen in verschiedenen Mengen vorhanden; für *Zea mays* wurde ein relativ hoher Stärkegehalt – 22,4%, berichtet (STANLEY und LINSKENS, 1985). Es wird angenommen, dass ein Honigbienenvolk jährlich durchschnittlich 80 kg Honig und 20 kg Pollen verbraucht (SEELEY, 1985). Würde die Stärke im Pollen durchschnittlich 10% seines Trockengewichts betragen, würde das eine zusätzliche Menge von 2 kg Anhydroglukose bedeuten, was ungefähr 2,6 kg Honig entsprechen würde. Dies ist aber wahrscheinlich noch zu hoch eingeschätzt, da es voraussetzt, dass die gesamte im Pollen vorhandene Stärke verdaut und absorbiert wird. Im Vergleich zur Gesamtmenge an Kohlenhydraten (z.B. 82,6 kg: Honig plus Stärke) macht das energetische Äquivalent der Stärke nur ungefähr 3,1% aus. Es scheint relativ wenig zu sein und ist vermutlich noch weniger, wenn in Betracht gezogen wird, dass die entomophilen Pflanzen weniger Stärke erzeugen als die aerophilen (nach STANLEY und LINSKENS, 1985). Somit können wir annehmen, dass die Amylase der Honigbienenarbeiterinnen nicht nur für die Steigerung der Energieversorgung von Bedeutung ist, sondern dass sie auch eine Rolle bei der Pollenverdauung spielt.

Dennoch können die Arbeiterinnen im Unterschied zu den Drohnen die Stärke in ihrem Flugstoffwechsel verwerten, was ihre Energieeffizienz im Vergleich zu der der Drohnen steigert. Außerdem ergaben unsere Resultate, dass die Drohnen speziell an ein vorverdautes Futter angepasst sind, Futter das sie aus den Zellen der Honigwaben nehmen, sodass sie keine Amylase für die Verdauung von Stärke produzieren müssen. Dies stimmt auch mit der Tatsache überein, dass die Drohnen nur sehr kleine Mengen Pollen aufnehmen, was auch durch den niedrigen Spiegel an proteolytischen Enzymen in ihrem Verdauungstrakt gezeigt wird (SZOLDERITS und CRAILSHEIM, 1993). Es wäre noch zu untersuchen, ob die Bienenköniginnen, die zu dem reproduktiven weiblichen Bienenwesen gehören, im Stande sind, Stärke zu verdauen.

Die herabgesetzte Flugdauer und Flugstrecke der Drohnen im Rahmen unseres Versuches fusst wahrscheinlich auf der Absorption der Glukose durch die Moleküle der aufgenommenen Stärke. Unter natürlichen Bedingungen versorgen sich die Drohnen vor dem Flug mit Honig aus den Wabenzellen. Auf diese Weise nehmen sie auch die von den Arbeiterinnen hergestellten Enzyme auf. Dieses war nicht der Fall beim vorliegenden Versuch, in welchem die Drohnen mit reiner Zucker- oder reiner Zucker-Stärke-Lösung gefüttert worden sind. Folglich könnte es möglich sein, dass die Drohnen die unter natürlichen Bedingungen aufgenommene Stärke durch die Enzyme nutzen, die sie mit dem Honig oder dem Arbeiterinnenfutter erhalten haben. Diese Tatsache ihrerseits unterstreicht jedoch ebenso die bedeutende Funktion, welche die Arbeiterinnen in der Verarbeitung des Futters und in der Unterstützung des männlichen Geschlechts erfüllen.

Unsere Ergebnisse sind ein zusätzlicher Beleg der hochentwickelten Arbeitsteilung im Honigbienenvolk, in welchem sich die Arbeiterinnen nicht nur mit dem Sammeln des Futters beschäftigen, sondern dieses Futter für die anderen Mitglieder des Bienenvolkes sogar auch vorverdauen.

L I T E R A T U R

- Gmeinbauer R, Crailsheim K (1993): Glucose utilization during flight of honeybee (*Apis mellifera*) workers, drones and queens. *J Insect Physiol* 39: 959-967.
- Crailsheim K. (1992) The flow of jelly within a honeybee colony. *J Comp Physiol B* 162: 681-689.
- Crailsheim K., Schneider L.H.W., Hrassnigg N., Bühlmann G., Brosch U., Gmeinbauer R. and Schöffmann B. (1992) Pollen consumption and utilization in worker honeybees (*Apis mellifera carnica*): Dependence on individual age and function. *J Insect Physiol* 38: 409-419.
- Halberstadt K (1980) Elektrophoretische Untersuchungen zur Sekretionstätigkeit der Hypopharynxdrüse der Honigbiene (*Apis mellifera* L.). *Insectes Sociaux* 27: 61-77.
- Hrassnigg N, Crailsheim K (1998a) The influence of brood on the pollen consumption of worker bees (*Apis mellifera* L.). *J Insect Physiol* 44: 393-404.
- Hrassnigg N, Crailsheim K (1998b) Adaptation of hypopharyngeal gland development to the brood status of honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. *J Insect Physiol* 44: 929-939.
- Hrassnigg N, Crailsheim K (1999) Metabolic rates and metabolic power of honeybees in tethered flight related to temperature and drag (Hymenoptera: Apidae). *Entomol Gener* 24: 23-30.
- Kubo T, Sasaki M, Nakamura J, Sasagawa H, Ohashi K, Takeuchi H, Natori S (1996) Change in the expression of hypopharyngeal gland proteins of the worker honeybees (*Apis mellifera* L.) with age and/or role. *J Biochem* 119: 291-295
- Moritz B, Crailsheim K (1987) Physiology of protein digestion in the midgut of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *J Insect Physiol* 33: 923-931.
- Seeley TD (1985) *Honeybee Ecology*. Princeton University Press. Princeton, New Jersey pp202.
- Simpson J, Riedel IBM, Wilding N (1968) Invertase in the hypopharyngeal glands of the honeybee. *J Apic Res* 7: 29-36.
- Snodgrass R. E. (1956) *Anatomy of the honey bee*. Cornell University Press, Ithaca, London.
- Stanley RG, Linskens HF (1985) *Pollen*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Szolderits MJ, Crailsheim K (1993) A comparison of pollen consumption and digestion in honeybee (*Apis mellifera carnica*) drones and workers. *J Insect Physiol* 39: 877-881.