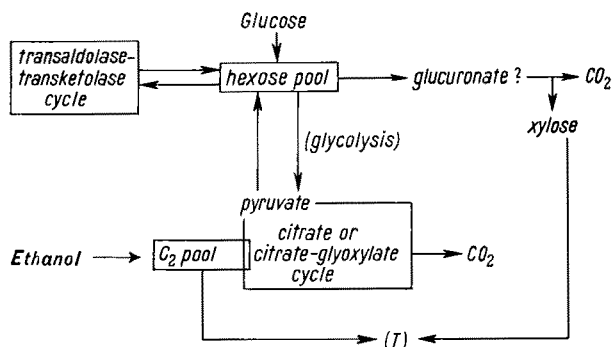


for a substantial section of the carbon metabolism of B-841, which can be summarised as shown in the Figure.



In confirmation it may be added that more direct evidence, to be described in detail elsewhere, indicates that most, though not all, of the respiratory carbon dioxide evolved by B-841 is in fact formed by way of glycolysis (from glucose) and the citrate or citrate-glyoxylate cycle (from glucose or ethanol).

J. D. BU'LOCK and H. GREGORY

University Chemical Laboratory, Manchester, June 26, 1959.

Zusammenfassung

Der Einbau von [1-¹⁴C]-Acetat bei der Biosynthese von Xylose aus Äthanol durch die Basidiomycete B-841 beweist das Vorhandensein von drei verschiedenen Wegen des Zuckerstoffwechsels in diesem Pilz: 1. Glycolyse, 2. Transaldolase-Transketolase-Zyklus, 3. Abbau von Glucose zu Glucuronat und Pentose.

and REMBOLD from 'royal jelly' ¹. Proof that the crystals seen in the contents of a mandibular gland after freezing were identical with 10-hydroxy- Δ^2 -decanoic acid was obtained by X-ray powder photographs (Fig. 2).

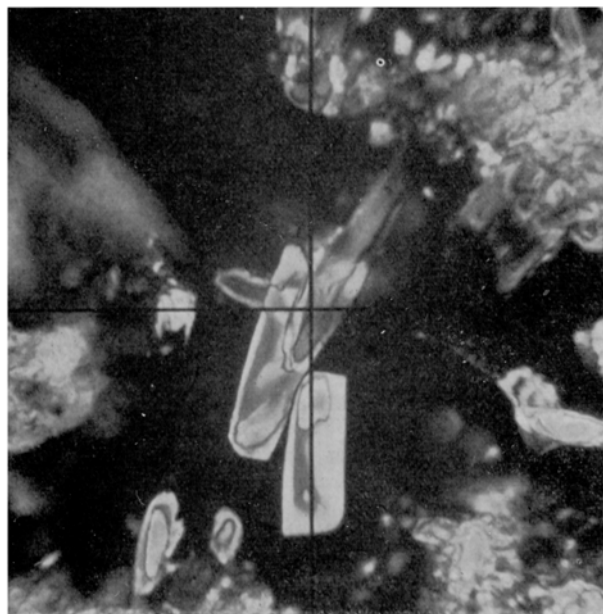


Fig. 1. - Crystals from mandibular gland of the honeybee. Crossed Polaroid, $\times 540$.

It is thus clearly indicated that the 10-hydroxy- Δ^2 -decanoic acid in 'royal jelly' comes from the mandibular glands of the worker bee. The contents of these glands contain little protein⁴, so the belief, based on strong cir-

10-Hydroxy- Δ^2 -decanoic Acid in the Honeybee (*Apis mellifera*)

10-Hydroxy- Δ^2 -decanoic acid has been isolated from 'royal jelly', the food of queen larvae, and is also present in the food of worker-bee larvae¹. Its absence from nectar and pollen² suggested that it must come from the salivary glands of worker bees. Of these, the mandibular pair contain a suspension of liquid globules, soluble in sodium bicarbonate solution and reprecipitated by acids, which, in bees stored in a refrigerator, deposits masses of crystals that do not melt at room temperature³ (Fig. 1). During work on a related problem, a crystalline fraction was obtained from an extract of the heads of worker bees. The idea that both these crystalline materials were 10-hydroxy- Δ^2 -decanoic acid was supported by finding that the contents of fifty worker-bee mandibular glands yielded by solvent extraction and fractionation a crystalline acid, which by the criteria of infrared absorption, rate of flow on a paper chromatogram and rate of travel in a paper electrophoresis, was identical with the material extracted from worker-bees' heads and with authentic 10-hydroxy- Δ^2 -decanoic acid extracted by the method of BUTENANDT

¹ A. BUTENANDT and H. REMBOLD, Hoppe-Seylers Z. 308, 204 (1957).

² S. A. BARKER, A. B. FOSTER, D. C. LAMB, and N. HODGSON, Nature 183, 996 (1959).

³ J. SIMPSON, J. ins. Physiol. 4, (1960), in press.

Fig. 2. - X-ray powder photographs
(a) Crystals from mandibular gland.
(b) 10-Hydroxy- Δ^2 -decanoic acid extracted from royal jelly.

⁴ E. KRATKY, Z. wiss. Zool. 139, 120 (1931).

cumstantial evidence⁵, that the hypopharyngeal glands supply the protein in larval food needs no revision. The presence of mandibular gland secretion in the food of worker larvae diminishes the likelihood that these glands are the source of the substance^{6,7} that causes female larvae to develop as queens.

Fifty mandibular glands, ground with sand, were extracted with ether and the ethereal extract (2 mg) worked up by the method of BUTENANDT and REMBOLD¹. The strong-acid fraction weighed 1.4 mg (A).

Worker-bees' heads were extracted for another purpose and the yield cannot be stated exactly. From a portion of an alcoholic extract of 1830 heads an acidic fraction was obtained. This was partitioned between ethanol and light petroleum. The ethanol-soluble fraction on a reverse-phase paper chromatogram (kerosene-30% aqueous *n*-propanol) gave a spot which, eluted with ethanol, yielded crystalline material (B).

About 1 g of royal jelly yielded 22 mg crystalline strong-acid fraction (C), m. p. 45–51°C.

Materials (A), (B), and (C), incorporated in KCl plates, gave essentially identical infra-red absorption spectra (Perkin-Elmer double-beam instrument, Model 21, NaCl prism) and the absorption bands agreed with the descriptions in the literature^{1,2}. When chromatographed on Whatman No. 1 paper with the Bush system toluene: ethyl acetate: methanol: water: 9:1:5:5, materials (A), (B), and (C) gave spots at the same distance from the origin, *R_f* 0.50 and, in the Bush system, toluene: methanol: water: 4:3:1, spots at the same distance from the origin, *R_f* 0.20. Paper electrophoresis in 0.1 *M* phosphate buffer, pH 8 gave spots moving at the same rate with (A), (B), and (C).

Dr. OLGA KENNARD very kindly took the X-ray powder photographs in Figure 2. The left side (a) is of the material from a mandibular gland, and right side (b) is of authentic material from royal jelly. Coincidence of the principal lines indicates identity of the two materials, but the glandular material appears to be somewhat contaminated.

We are indebted to Mr. M. YOUNG for the photomicrograph in Figure 1.

R. K. CALLOW, N. C. JOHNSTON, and J. SIMPSON

National Institute for Medical Research, Mill Hill, London and Rothamsted Experimental Station, Harpenden (Herts.), July 13, 1959.

Zusammenfassung

Die Mandibulardrüsen der Honigbienen-Arbeiterinnen enthalten 10-Hydroxy- Δ^2 -decensäure. Es wird angenommen, dass diese Drüsen die Quelle der im Weisel- und Arbeiterinnenlarvenfutter vorkommenden 10-Hydroxy- Δ^2 -decensäure sind.

⁵ Reviewed by C. R. RIBBANDS in *The Behaviour and Social Life of the Honeybee* (Bee Research Association, London 1953).

⁶ W. VON RHEIN, Arch. Entw. Mech. Org. 129, 601 (1933).

⁷ N. WEAVER, Science 121, 509 (1955).

Über die Grenzen der metabolischen Adaptationsfähigkeit von *Aspergillus niger*

Nach einer früheren Mitteilung¹ vermag das «Succinodehydrogenasegift» Malonsäure den Abbau von Zitronen- bzw.

¹ K. TÄUFEL und H. RUTTLOFF, Exper. 14, 276 (1958). – Vgl. auch K. TÄUFEL und H. RUTTLOFF, Nahrung 3 (1959), im Druck.

Tabelle

Einwirkung von fertigen Myzeldecken von *A. niger* auf Malonsäure bzw. verschiedene Derivate ohne bzw. mit Zusatz von 3% Zitronensäure (dargestellt anhand chromatographischer Untersuchungen)

Säurekomponente	kein Zitronensäurezusatz		Zitronensäurezusatz			
	10 ⁻¹ M/l	3·10 ⁻¹ M/l	10 ⁻¹ M/l	Zitronensäure	3·10 ⁻¹ M/l	Zitronensäure
1	2	3	4	5	6	7
Malonsäure	+	+	+ *	+	+ *	+
Methylmalonsäure	+	+	+ *	+	–	–
Äthylmalonsäure	(+)	(+)	(+)	+	–	–
Propylmalonsäure	–	–	–	–	–	–
Dimethylmalonsäure	–	–	–	+	–	–
Diäthylmalonsäure	–	–	–	(+)	–	–

Erläuterungen: + Säure wird dissimiliert.
(+) Säure wird wenig dissimiliert.
– Säure wird nicht dissimiliert.
+ * Säure wird in Gegenwart von Zitronensäure beschleunigt dissimiliert.

Bernsteinsäure durch *A. niger* nicht nur nicht zu hemmen, sondern es wird selbst – zum Beispiel einer vorgebildeten Myzeldecke als einzige C-Quelle dargeboten – weitgehend metabolisiert. Bei Oxalsäure erfolgt der Umsatz nur in Gegenwart einer zusätzlichen dissimilierbaren Kohlenstoffverbindung. Wir deuteten dies mit einer Decarboxylierung der Malon- zu Essigsäure und deren stoffwechselchemischer Einbeziehung entweder in den Zitronensäurezyklus (Energiegewinnung) oder in den Glyoxylsäurezyklus (Bildung von Kohlenhydrat bzw. zelleigener Substanz).

Der Befund der metabolischen Verwertung von Malonsäure durch *A. niger* legt die Frage nahe, ob und inwieweit Derivate der Malonsäure mit Seitenkette, zum Beispiel ihre Mono- und Dialkylverbindungen, in den Stoffwechsel einbezogen werden. Mit dieser Zielsetzung wurden die Methyl-, Dimethyl-, Äthyl-, Diäthyl- und Propylsubstitutionsprodukte der Malonsäure allein wie in Gegenwart von Zitronensäure «fertigen» Myzeldecken von *A. niger* angeboten.

Präparate und Methoden. Die Darstellung der Malonsäurederivate erfolgt in der üblichen Weise mittels Alkyljodid über die Mono- bzw. Dinatriumverbindungen der Ester unter nachfolgender Verseifung².

Die mikrobiologische Technik bedient sich des Prinzips der Kultur der fertigen Pilzdecken¹ auf einer Nährlösung nach H. HAEHN (Saccharosebasis). Die vorgebildeten Myzelien (jeweils 5 Parallelansätze) werden auf die zur Untersuchung vorgesehene Nährlösung (nach HAEHN) übertragen, wobei statt der Saccharose nunmehr das zu testende Substrat als Kohlenstoffquelle eingesetzt wird; eine pH-Einstellung erfolgt nicht. Anschliessend werden die Ansätze bei 30°C bebrütet; über experimentelle Einzelheiten unterrichtet die Tabelle.

Analytik. In bestimmten Zeitabständen (0, 5, 10, 15, 25, 30 Tage) werden jeweils etwa 3 ml der Untersuchungs-lösung steril entnommen. Man titriert 2 ml hiervon nach

² L. GATTERMANN und H. WIELAND, Die Praxis des organischen Chemikers, 33. Aufl. (Verlag Walter de Gruyter & Co., Berlin 1948), S. 229; Beilstein's Handbuch der Organischen Chemie, Bd. II, 4. Aufl. (Verlag J. Springer, Berlin 1920), S. 648. – K. WINTERFELD, Praktikum der organisch-präparativen pharmazeutischen Chemie, 3. Aufl. (Verlag Th. Steinkopff, Dresden und Leipzig 1950), S. 87, 155.