

ciliary arteries<sup>3</sup>; 2. the constant demonstration of valve-like intimal pads at branching sites of the anterior ciliary and lateral iridial arteries suggest similar regulatory mechanisms for the supply of the iris and ciliary body.

**Zusammenfassung.** Klappenähnliche Intimapolster sind im Hundeauge (Rasse Beagles) konstant an Ästen der A. ciliaris posterior (Cilio-retinal-Arterien) und an Astabgängen der A. ciliaris anterior und A. iridis lateralis nahe der Basis des Proc. ciliaris sowie gelegentlich im

Verlauf der A. ciliaris anterior durch die Sklera nachweisbar. Nach Lage und Aufbau handelt es sich um Regulationsmechanismen für die Blutversorgung von Retina, Iris und Ziliarkörper.

K. JELLINGER

Abteilung für spezielle Neuropathologie,  
Neurologisches Institut der Universität,  
Schwarzspanierstrasse 17, A-1090 Wien (Austria),  
23 July 1973.

### Étude des variations individuelles des protéines de l'hémolymphé du Lépidoptère *Galleria mellonella*: mise en évidence de groupes sériques

Les variations physiologiques ou pathologiques de la composition protéique de l'hémolymphé d'insecte ont fait l'objet de nombreux travaux. L'intérêt taxonomique du protéinogramme de l'hémolymphé est également reconnu. Récemment, la mise en évidence par ODIER et VAGO<sup>1</sup> d'une immunité acquise chez les larves du Lépidoptère *Galleria mellonella* vis à vis d'un parvovirus: le virus de la denso-nucléose à la suite de divers stimuli, a souligné à la fois l'importance des facteurs individuels sur la composition de l'hémolymphé et le manque de données à ce sujet.

Dans cette note nous présentons, en étude préliminaire, les résultats de l'analyse des variations individuelles des protéines de l'hémolymphé de *G. mellonella*. Nous mettons en particulier en évidence la présence de deux variants génétiques d'une des protéines.

**Matériel et méthodes.** Elevage des *Galleria*: Il se pratique dans des bocaux maintenus à 28°. L'alimentation est à base de cire et de pollen. Les générations se succèdent tous les 2 mois. Dans chaque nouveau bocal on met en présence 2 mâles et 3 femelles vierges choisis dans des familles différentes. Deux fois par an, au printemps et à l'automne on introduit dans l'élevage des géniteurs récoltés dans la nature pour éviter la consanguinité.

Prélèvements d'hémolymphé: L'hémolymphé des larves de troisième stade est prélevée individuellement en

sectionnant une fausse patte. Une goutte d'hémolymphé est mélangée à une goutte de tampon ascorbate *tris* pH 7,4. Les prélèvements sont immédiatement congelés et conservés à -20°C jusqu'à analyse.

**Electrophorèse:** L'électrophorèse est pratiquée en gel d'amidon selon la technique de POULIK<sup>2</sup>. Les protéinogrammes sont révélés par du noir amido B 10.

**Croisements:** Des chrysalides provenant des divers bocaux sont isolées individuellement dans des tubes. Le jour suivant l'émergence, le sexe des papillons est déterminé et les couples sont constitués selon le plan d'expérience<sup>3</sup>.

**Résultats.** Les protéinogrammes d'hémolymphé de *Galleria* sont peu différents d'une larve à l'autre. Ils se composent de 8 à 9 bandes bien individualisées (numérotées sur la Figure). 7 bandes sont communes. Parmi celles-ci, les bandes 5 et 6 constituent les zones électrophorétiques majeures. Les autres zones sont moins importantes, les zones 2 et 8 en particulier sont très peu marquées et peu visibles sur certains protéinogrammes. L'importance relative des différentes zones électrophorétiques ne varie pas d'une manière sensible d'une hémolymphé à une autre.

La variation individuelle la plus remarquable porte sur les bandes numérotées 3R et 3L sur la Figure. A ce niveau on reconnaît 3 types de protéinogrammes. Le premier est

Tableau I. Répartition des différents types de protéinogrammes parmi les 17 familles de frères et sœurs

Familles	Nombre de larves	Types de protéinogrammes		
		1	2	3
		3 R/3 R	3 L/3 L	3 R/3 L
1	12	5		7
2	10	3		7
3	12		8	4
4	11	5		6
5	11	2	3	6
6	12	3		9
7	11	3	2	6
8	11		2	9
9	12	6	1	5
10	12	2		10
11	12	7		5
12	12			12
13	12	3	3	6
14	12		4	8
15	11	1	7	3
16	10	5	5	
17	12	12		

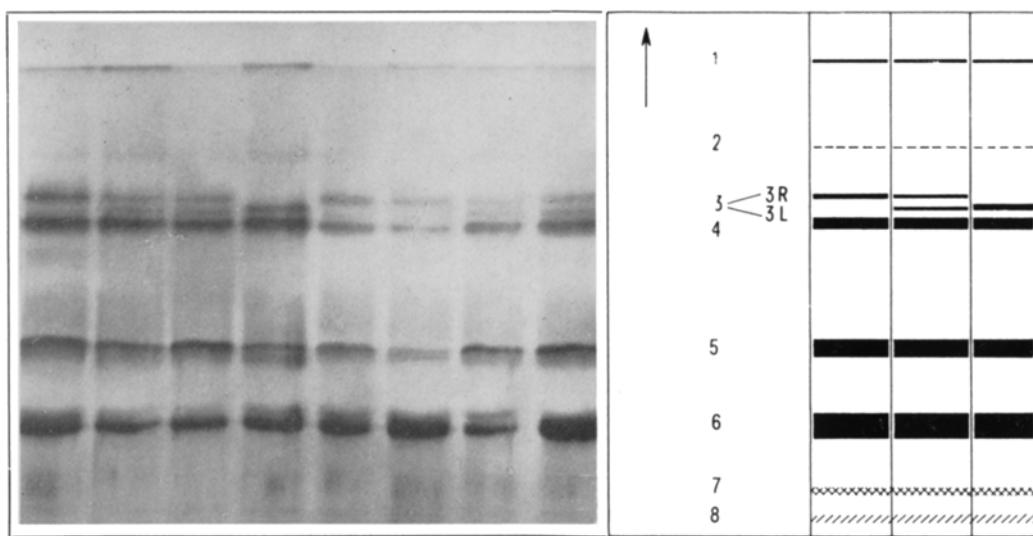
Tableau II. Analyse génétique des croisements entre individus des familles 12 et 17

Croisements	Nombre de descendants	Types de protéinogrammes et génotypes		
		1 3 R/3 R	2 3 L/3 L	3 3 R/3 L
17×17	12			
3 R/3 R×3 R/3 R				
17×17	12			
3 R/3 R×3 R/3 R				
17×17	12			
3 R/3 R×3 R/3 R				
12×17	10			
3 R/3 L×3 R/3 R				
12×12	23	6	2	15
3 R/3 L×3 R/3 L				

<sup>1</sup> F. ODIER et C. VAGO, C. r. Acad. Sci., 277, 1257 (1973).

<sup>2</sup> M. D. POULIK, Nature 180, 1477 (1957).

<sup>3</sup> O. LYSENKO, J. Invert. Pathol. 19, 335, (1972).



caractérisé par la présence de la bande 3R; le second par la présence de la bande 3L; le troisième possède ces 2 bandes. On remarque que la largeur des bandes 3R et 3L sur le protéinogramme du troisième type est plus réduite que celle des bandes de même mobilité des protéinogrammes des deux autres types.

Ces différences individuelles évoquent l'existence de 2 variants d'une protéine (protéine 3), sous le contrôle de 2 gènes allèles (gènes 3R et 3L).

La répartition des 3 types de protéinogrammes correspondant à des individus issus de 17 familles de frères et sœurs est indiquée dans le Tableau I.

Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons procédé à des appariements entre sujets des familles 12 et 17 du tableau I. Les résultats et l'interprétation de ceux-ci figurent dans le Tableau II. La répartition des 3 types de protéinogrammes dans les 5 familles analysées est conforme à l'hypothèse proposée.

*Discussion et conclusion.* L'hémolymph de *Galleria* est un fluide biologique complexe et instable, particulièrement sujet à mélénisation. La résolution de ses constituants dépend très largement des conditions expérimentales<sup>3</sup>. La technique que nous mettons en œuvre conduit à des résultats reproductibles; elle est suffisamment sensible pour permettre d'observer les modifications induites par la présence d'agents pathogènes<sup>4,5</sup> ou d'évaluer l'influence réelle de tout autre traitement sur la composition en protéine majeure de l'hémolymph.

Cette étude met en évidence l'importance des variations héréditaires des protéines dans la définition du protéino-

gramme d'un insecte et constitue un des rares exemple de groupes sériques chez un invertébré.

*Summary.* The haemolymph proteinogram of *Galleria mellonella* larvae in the L3 stage is formed by 8 or 9 zones according to the larvae. The relative importance of various proteins shows only some slight individual differences. However, 3 distinct types of proteinogram relating to the presence or absence of near zones 3R and 3L are noted. The genetic analysis shows that these 3 phenotypes are induced by 2 codominant autosomal allelic genes. This work reveals the occurrence of blood groups in an experimental strain of Lepidoptera.

G. CROIZIER et F. ODIER<sup>6</sup>

Station de Recherches Cytopathologiques I.N.R.A.-C.N.R.S., 30380 Saint-Christol, et Laboratoire de Pathologie Comparée E.P.H.E., Université des Sciences et Techniques du Languedoc, 34000 Montpellier (France), 30 July 1973.

<sup>4</sup> S. Y. YOUNG III and J. S. LOVELL, J. Invert. Pathol. 17, 410 (1971).

<sup>5</sup> J. WEISER and O. LYSENKO, Acta Entomol. bohem. 69, 97 (1972).

<sup>6</sup> Nous remercions Madame L. CROIZIER et Monsieur P. MAZELLIER pour leur efficace collaboration.

## The Effect of 2,3-DPG on Red Cell Enzymes

In 1971<sup>1,2</sup> we reported that several enzymes of glucose metabolism, viz. hexokinase, phosphoglucomutase, phosphofructokinase, aldolase and glyceraldehyde phosphate dehydrogenase were inhibited by 2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG). On the other hand, we found that glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, glucose-phosphate isomerase, triosephosphate isomerase, phosphoglycerate kinase, monophosphoglyceromutase, enolase, pyruvate kinase, glutathione reductase, and lactate dehydrogenase were not affected by 2,3-DPG.

Since our original report, most of our findings have been confirmed by others but some observations which

may seem to contradict some of our conclusions, have been published. We should now like to explain these apparent discrepancies, and evaluate the possible physiologic role of some of the other points of inhibition which have been described.

The reports to which we refer include those of STAAL<sup>3</sup> claiming that phosphofructokinase is not inhibited by 2,3-DPG, YOSHIDA<sup>4</sup> reporting that 6-phosphogluconate dehydrogenase is inhibited by 2,3-DPG, ARNOLD et al.<sup>5</sup> who finds inhibition of glucose-phosphate isomerase and PONCE et al.<sup>6</sup> who discovered inhibition of phosphoglycerate kinase and pyruvate kinase in their studies.