

Efecto de la sustancia real de la abeja (ácido (*E*)-9-oxo-2-decenoico) sobre la cucaracha *Blattella germanica*

X. CERDÁ, D. PASTOR y X. BELLÉS

En el presente trabajo se ha estudiado el efecto de la sustancia real de la abeja (ácido (*E*)-9-oxo-2-decenoico) sobre la cucaracha *Blattella germanica* con el objetivo de averiguar si tiene una actividad inhibitora del desarrollo de los ovarios, como ocurre en las obreras de la abeja.

Los ensayos fueron realizados con hembras vírgenes de *B. germanica* recién emergidas a adulto, utilizando dos sistemas de administración: por aplicación tópica y por ingestión. Cuando la sustancia real es aplicada tópicamente induce cierta inhibición en el desarrollo de los oocitos y glándula colateral izquierda. Sin embargo, si es ingerida, tiene un efecto fagoestimulante que acelera el desarrollo general de la cucaracha.

X. CERDÁ, D. PASTOR y X. BELLÉS. Dpto. Química Orgánica Biológica, CID (C.S.I.C.). c/ J. Girona, 18-26 - 08034 Barcelona.

Palabras clave: Acido (*E*)-9-oxo-2-decenoico, *Blattella germanica*, desarrollo ovárico, inhibición.

INTRODUCCION

En la abeja de la miel, *Apis mellifera* L. (*Hymenoptera*, *Apidae*) la reina emite una sustancia biológicamente activa, denominada sustancia real, que actúa sobre las obreras (BUTLER, 1954; PAIN, 1954) y cuyo componente principal fue identificado químicamente por BARBIER & LEDERER (1960) y CALLOW & JOHNSTON (1960) como ácido (*E*)-9-oxo-2-decenoico (Figura 1).

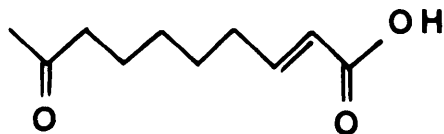


Fig. 1.—Estructura del componente principal de la sustancia real de la abeja, ácido (*E*)-9-oxo-2-decenoico.

El hecho de que la sustancia real, entre otras funciones, ejerza un efecto inhibitor sobre el desarrollo de los ovarios de las obreras de la colonia (cf. BARBIER, 1982), ha motivado numerosos estudios sobre su acción, particularmente en abejas (VOOGT, 1955; PAIN, 1956, 1961), pero también en otros artrópodos (MITLIN & BAROODY, 1958; NAYAR, 1963; TOROSIAN, 1965).

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar si la sustancia real de la abeja tiene algún efecto esterilizante sobre la cucaracha doméstica *Blattella germanica* (L.) (*Dictyoptera*, *Blattellidae*). Dicho estudio presenta un doble interés, por una parte porque puede aportar información sobre los mecanismos de control de la reproducción en insectos, y por otra un interés más aplicado, al poder incidir en el campo del diseño biorracional de insecticidas (véase BELLÉS, 1988).

MATERIAL Y METODOS

Los ejemplares de *Blattella germanica* utilizados para los ensayos procedían de una colonia mantenida en el laboratorio, en condiciones constantes de temperatura ($30 \pm 1^\circ \text{C}$), humedad (70% HR) y en oscuridad. Para su alimentación se administraba pienso PANLAB-125 y agua *ab libitum*.

Las pruebas se realizaron con grupos inicialmente formados por diez hembras adultas, vírgenes, y recién emergidas (menos de 24 h. de vida adulta). En estas condiciones, el primer ciclo gonadotrópico tiene una duración de siete días (BELLÉS *et al.*, 1987).

La sustancia real (SR), ácido (*E*)-9-oxo-2-decenoico fue amablemente cedida por el Prof. P. Cassier (Dept. Cytophysiologie des Arthropodes, Univ. P. et M. Curie, París, Francia). El compuesto se aplicó sobre *B. germanica* por dos vías:

Vía tópica

Se utilizó una disolución de SR en acetona de concentración 10 mg SR/ml. Los insectos fueron inmovilizados manteniéndolos sobre hielo unos 5 minutos y, mediante una jeringa Hamilton, se les aplicó 1 μl de la disolución en los últimos terguitos abdominales (accesibles al haber cortado previamente el ápice de las alas). La frecuencia de las aplicaciones varió según las pruebas (véase Cuadro 1).

En todas las pruebas se llevaron a cabo, paralelamente, tratamientos de control con 1 μl de acetona, con la misma frecuencia que los realizados con la SR.

Ingestión

Los ejemplares experimentales fueron alimentados con 500 mg. de pienso (PANLAB-125) impregnados con 0,2 ml. de disolución acetónica de SR a diferentes concentraciones según la prueba (véase Cuadro 2). Dicha porción de alimento tratado fue ofrecida a los insectos experimentales después de la evaporación total de la acetona.

Excepto en el ensayo A5 (Cuadro 1),

que se esperó hasta la formación de la ooteca, la disección de los ejemplares se realizó el quinto día de vida adulta.

Se extrajeron los dos ovarios y la glándula colateral izquierda para cuantificar (con un micrómetro adaptado al ocular del microscopio estereoscópico):

1. La longitud media del oocito basal (LOB), obtenida a partir de la medida de la longitud de seis oocitos basales (tres de cada ovario).

2. El diámetro medio de la glándula colateral izquierda (GCI) obtenido a partir de la medida del diámetro, en la parte distal, de seis túbulos de la glándula.

Para comprobar el posible efecto de la operación de cortar las alas y de la administración de acetona, se compararon los controles de la prueba A4 (cuatro aplicaciones de 1 μg de acetona: véase Cuadro 1) con otro grupo con las alas intactas y sin ningún tipo de tratamiento.

También se comprobó la bondad del control B1 (véase Cuadro 2) comparándolo con ejemplares alimentados con pienso sin tratar con disolvente.

Cuadro 1.—Metodología de los ensayos de aplicación tópica de la sustancia real sobre *Blattella germanica*.

Prueba n.º	N.º aplicaciones 10 μg SR	Días de aplicación	Día de disección
A1	1	1	5
A2	2	1,3	5
A3	3	1,3,4	5
A4	4	1,2,3,4	5
A5*	2	1,3	—

* No hubo disección.

Cuadro 2.—Metodología de los ensayos de administración de la sustancia real por ingestión sobre *Blattella germanica*.

Prueba n.º	Dosis SR en 0,5 g de pienso	Dosis/hembra
B1	0,2 ml acetona	—
B2	5 μg SR	0,5 μg SR
B3	50 μg SR	5 μg SR
B4	100 μg SR	10 μg SR

RESULTADOS

Aplicación tópica de la sustancia real

Los resultados de las pruebas realizadas aplicando tópicamente, con diferente frecuencia, 10 µg de SR sobre *B. germanica* se resumen en la Figura 2 y Cuadro 3.

En primer lugar, conviene señalar que la comparación de los ejemplares control, con las alas cortadas y tratados con acetona en la prueba A4, respecto a los ejemplares que no sufrieron ningún tipo de tratamiento, no reveló diferencias significativas (*t* de Student, $P > 0.05$), ni en lo que se refiere a la longitud del oocito basal (Figura 2: 0) ni en cuanto al diámetro de los túbulos de la glándula colateral izquierda.

Por lo que respecta a la influencia de la SR sobre el desarrollo de los ovarios (Figura 2), puede observarse que en todas las pruebas la longitud del oocito basal es inferior en las hembras tratadas con SR que en los controles. Estas diferencias son significativas en los casos A2 (aplicaciones el primer y tercer día del primer ciclo gonadotrópico; *t* Student, $P = 0,001$) y A3 (1.º, 3.º y 4.º día; *t* Student, $P = 0,0198$).

En cuanto al efecto de estas aplicaciones de SR sobre el desarrollo de la glándula colateral izquierda, los resultados son más variables (Cuadro 3). En dos casos (A2, dos aplicaciones, y A4, cuatro aplicaciones de 10 µg de SR) el diámetro de los túbulos en hembras tratadas es significativamente menor que el de los controles (*t* de Student, $P = 0,009$ y $P = 0,003$, respectivamente).

Estos resultados ponen de manifiesto que la mayor inhibición en el desarrollo de los ovarios se da en el grupo de hembras tratadas con dos aplicaciones de SR (primer y tercer día del ciclo). Por este motivo se escogió esta frecuencia de aplicación para valorar el efecto de la SR en la formación de la ooteca.

En la Figura 3 se puede observar que la ooteca se forma con más retraso en el caso de las hembras tratadas con SR (por ejemplo, el día 11 sólo dos habían formado la ooteca) que controles (el día 11 seis de ellas habían formado la ooteca).

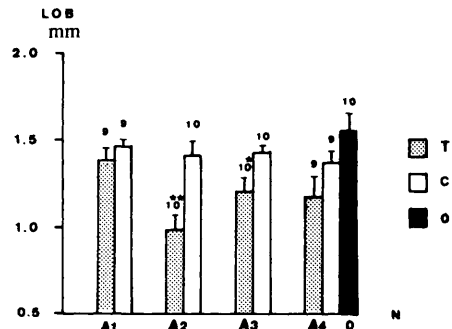


Fig. 2.—Efecto de la sustancia real aplicada tópicamente (A1-A4: tipo de prueba, véase Cuadro 1) sobre el desarrollo de los ovarios de *Blattella germanica* (LOB, mm: longitud del oocito basal al quinto día de vida adulta). T: tratados, C: controles, O: no tratados. Las barras verticales y el número que se indica sobre cada columna representan la SEM y el número de réplicas, respectivamente. Los niveles de significación de las diferencias entre tratados y controles (test *t* de Student) se indican: * ($P < 0.01$) y ** ($P < 0.001$).

Cuadro 3.—Efecto de la sustancia real aplicada tópicamente sobre el desarrollo de la glándula colateral izquierda de *Blattella germanica* al quinto día de vida adulta. Ø GCI: diámetro medio de los túbulos de la glándula colateral izquierda.

Prueba*	Ø GCI ($\bar{x} \pm SD, \mu m$) (n)		<i>t</i> Student (P)
	Tratados	Control	
A1	130.4 ± 13.1 (7)	126.7 ± 13.0 (10)	0.581
A2	93.7 ± 30.3 (10)	125.4 ± 16.6 (10)	0.009
A3	124.1 ± 18.2 (9)	125.4 ± 9.1 (10)	0.883
A4	100.9 ± 14.2 (9)	127.4 ± 15.2 (7)	0.003

* Véase Cuadro 1.

Ingestión de la sustancia real

Como paso previo para estudiar el efecto por ingestión de la SR en *B. germanica*, fue necesario cuantificar el consumo de alimento de esta especie. El resultado fue que la cantidad media de pienso ingerido por individuo, durante cinco días, es de $55,4 \pm 5,3$ mg ($n=5$).

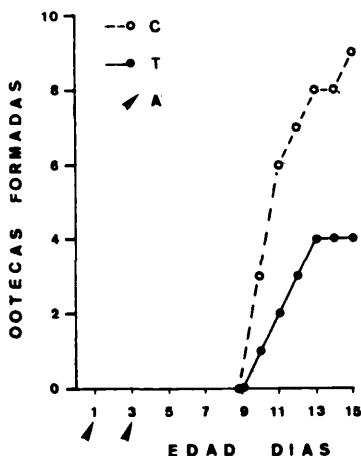


Fig. 3.—Efecto de la sustancia real aplicada tópicamente (A: aplicaciones de $10 \mu\text{g}$, día 1 y 3) sobre la formación de la ooteca de *Blattella germanica*. Los gráficos para los ejemplares control (C) y tratados (T) representan el número acumulado de ootecas formadas entre los días 9 y 15.

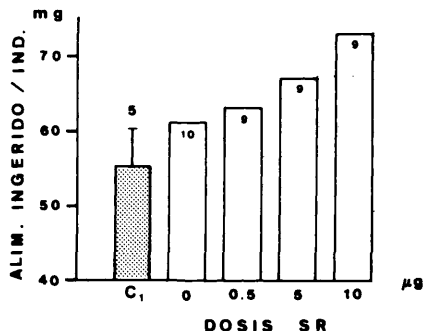


Fig. 4.—Dieta ingerida (mg.) a lo largo del primer ciclo gonadotrópico de hembras vírgenes de *Blattella germanica* tratadas (ingestión) con diferentes dosis de sustancia real (μg SR). C₁: no tratados. El número indicado en la parte superior de las columnas blancas representa los ejemplares utilizados en los experimentos respectivos.

La comparación de los ejemplares del control B1 (pienso tratado con acetona) con ejemplares alimentados con pienso sin ningún tipo de tratamiento (Figura 5: C2), no aportó diferencias significativas en cuanto a la longitud del oocito basal (t Student, $P > 0.05$).

En cuanto a la aplicación de SR sobre el alimento, los resultados sugieren un efecto fagoestimulante (Figura 4): cuanto mayor es la dosis de SR aplicada en el pienso, mayor es el consumo de éste por parte de las hembras experimentales.

Además del efecto fagoestimulante, la ingestión de la SR también provoca algunos cambios fisiológicos:

a) Hay un efecto positivo sobre el desarrollo de los ovarios: a mayor dosis de SR ingerida, mayor crecimiento de ovario (Figura 5A). La longitud del oocito basal de las hembras tratadas es significativamente mayor que la de las hembras control en los casos B3 (dosis $5 \mu\text{g}$ de SR/hembra; t de Student, $P=0,0007$) y B4 (dosis $10 \mu\text{g}$; t de Student, $P=0,0332$).

b) En cuanto al desarrollo de la glándula colateral izquierda, aunque el diámetro de los túbulos aumenta conforme aumenta la dosis de SR (Figura 5B), en ningún caso las diferencias respecto a los controles son significativas (t de Student, $P > 0,05$).

DISCUSION

Los resultados obtenidos por la aplicación tópica de la SR (ácido (*E*)-9-oxo-2-decenoico) sobre la cucaracha *Blattella germanica* (Fig. 2, Cuadro 3) indican una cierta actividad inhibitoria de esta sustancia sobre el desarrollo de los ovarios y de la glándula colateral izquierda.

La actividad antigonadotrópica de la SR ya ha sido descrita en otros trabajos, tanto en insectos sociales como no sociales. Así, en hormigas (donde las obreras están sujetas a una inhibición, probablemente del mismo tipo, a causa de la presencia de la reina), CARLISLE & BUTLER (1956) observan que la SR inhibe el desarrollo de los ovarios de las obreras de

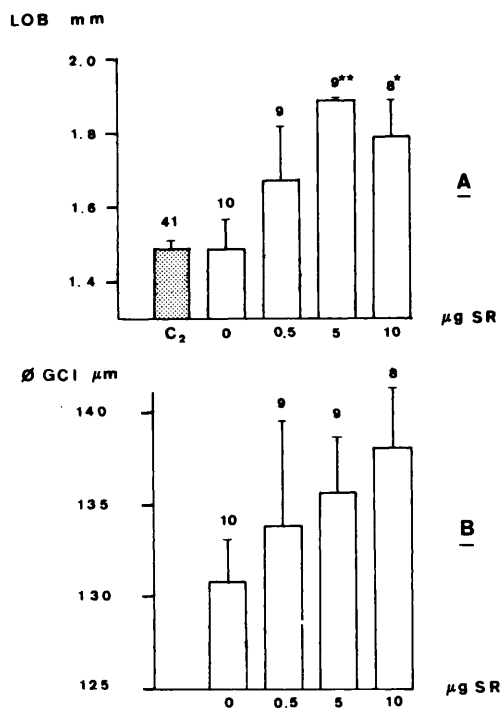


Fig. 5.—Efecto de la sustancia real administrada por ingestión (μg SR) sobre el desarrollo de ovarios (A) y de la glándula colateral izquierda (B) de *Blattella germanica* al quinto día de vida adulta. LOB, mm: longitud del oocito basal, Ø GCI, μm : diámetro de los túbulos de la glándula colateral izquierda. C₂: no tratados. Las barras verticales y el número que se indica sobre cada columna representan la SEM y el número de réplicas, respectivamente. Los niveles de significación de las diferencias entre tratados y controles (aceptona: O) (test *t* de Student) se indican: ** ($P < 0.01$) y * ($P < 0.05$).

Formica fusca; TOROSSIAN (1965) señala que en *Dolichoderus quadripunctatus* provoca una débil inhibición de la puesta de obreras de colonias huérfanas; y en *Myrmica rubra* (especie en que la presencia de la reina no impide la puesta de las obreras), la SR no inhibe el desarrollo ovárico de las obreras, pero sí tiene un efecto similar —aunque de menor intensidad— al ejercido por la reina de la especie: modifica el ritmo de crecimiento de las larvas (BRIAN & HIBBLE, 1963). También en la termita *Kaloterms flavicollis* hay un efecto inhibitorio de la SR al retardar

la formación de reproductores suplementarios (HRDÝ *et al.*, 1960).

En cuanto a los insectos no sociales, MITLIN & BARODY (1958), trabajando con extracto de abejas reina, no aprecian efecto alguno sobre *Musca domestica*; en cambio NAYAR (1963) encuentra un efecto inhibitorio de la SR (sintética) sobre los ovarios de la misma especie. Este último autor, asimismo, postula que la presencia continua de una cierta cantidad de SR en el cuerpo del insecto es necesaria para la completa inhibición de su desarrollo ovárico, ya que la SR es metabolizada o excretada rápidamente y es necesaria su aplicación a intervalos regulares para que tenga efecto. Esto concuerda con el resultado de que la mayor actividad de inhibición del desarrollo ovárico en *B. germanica* se da con dos aplicaciones tópicas de 10 μg de SR; pero según NAYAR (1963), cuanto mayor sea el número de aplicaciones mayor será el efecto inhibitorio, y en nuestras pruebas con cuatro aplicaciones (A4) no se observa un efecto inhibitorio significativo sobre el ovario, aunque sí sobre la glándula colateral izquierda.

En las abejas, el mecanismo de acción de la SR ha sido estudiado por LUSCHER & WALKER (1963), quienes consideran que inhibe el desarrollo de los *corpora allata* de las obreras (por cuanto estas glándulas, en las obreras, aumentan de tamaño algunos días después de ser separadas de la influencia de la reina; véase también GAST, 1967) y postulan que hay una actividad supresora de la secreción de hormona gonadotrófica. En *B. germanica* es la hormona juvenil, segregada por los *corpora allata*, la que controla el crecimiento de los oocitos (ROTH & STAY, 1959, 1963; BELLES *et al.*, 1987) y el desarrollo de las glándulas colaterales (ZALOKAR, 1968), por lo que es plausible que, en nuestros experimentos, la SR haya provocado algún efecto inhibitorio en los *corpora allata*.

La débil actividad inhibitoria de la SR sobre *B. germanica* pudiera ser debida a la ausencia de otros componentes, ya que el ácido (*E*)-9-oxo-2-decenoico es el componente principal de la SR pero hay

otros, y parece que el fenómeno del sinergismo debe jugar un papel muy importante. Según PAIN (1961), en abejas la SR no asegura ella sola la inhibición de la puesta de las obreras, sino que hay que añadir otras sustancias volátiles extraídas de las glándulas mandibulares. En el mismo sentido, BUTLER (1963), describe que la SR inhibe por sí sola la puesta de una manera estadísticamente significativa, pero que el efecto inhibitorio es menor que el provocado por una reina viva.

Otra posibilidad sería que el método de aplicación tópica no fuese el adecuado, ya que en las abejas, además de una quimiorrecepción de contacto, hay una ingestión del producto (PAIN, 1961). Las obreras son atraídas por la reina y, tras lamer el cuerpo de la misma, se transmiten unas a otras por trofalaxia (intercambio de alimento líquido boca-a-boca) las sustancias así obtenidas. Es por ello que se plantearon las pruebas de administración de la SR a través de la dieta de *B. germanica*.

Los resultados de estas pruebas por ingestión (Figuras 4 y 5) son, aparentemente, contradictorios con los obtenidos por aplicación tópica: la SR, cuando es ingerida por las cucarachas, muestra un efecto estimulador sobre su desarrollo ovárico. Aunque TOROSSIAN (1968) describe que la SR no es atractiva como alimento para las hormigas, en el caso de *B. germanica* pa-

rece tener una actividad fagoestimulante (Figura 4). Ello puede optimizar el desarrollo del adulto, de manera que el débil efecto inhibitorio demostrado en las pruebas de aplicación tópica quede enmascarado por el crecimiento más rápido de los oocitos, hasta el extremo de que en un caso una hembra de cinco días llegó a formar la ooteca (Figura 5: 10 µg SR), cuando lo habitual, en nuestras condiciones de laboratorio, es que lo haga a los siete días (PIULACHS & BELLES, 1988).

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al Prof. P. Cassier (Université P. et M. Curie, París) la donación del ácido (*E*)-9-oxo-2-decenoico; a Joan Lloria el mantenimiento de la colonia de *B. germanica*; a Núria Pascual su colaboración en la parte experimental; a Dolores Company su ayuda y consejos en la redacción del manuscrito y a la Dra. M. D. Piulachs la comunicación de datos inéditos.

Este trabajo se ha visto beneficiado por una Beca Postdoctoral del CSIC (X.C.), una "Ayuda a Jóvenes Investigadores" de la CIRIT (X.C.) y sendos proyectos de la CAICYT (n.º 84-0087) y del CSIC (n.º 263-8).

ABSTRACT

CERDÁ, X.; D. PASTOR y X. BELLÉS, 1990: Efecto de la sustancia real de la abeja (ácido (*E*)-9-oxo-2-decenoico) sobre la cucaracha *Blattella germanica*. *Bol. San. Veg. Plagas*, 16 (1): 347-353.

The effect of queen substance of honeybee (*E*-9-oxo-2-decenoic acid) was studied on the German cockroach *Blattella germanica* to ascertain if it could induce an inhibitory effect on ovarian development, as it occurs in worker honeybees.

Queen substance was tested during the first gonadotropic cycle of *B. germanica* virgin females, by using two different systems of administration: topical application and ingestion. When topically applied (2 or 3 successive doses of 10 µg each), the queen substance induced a weak inhibition of oocyte growth and left colleterial gland development. However, when administered by ingestion (doses of ca. 5 or 10 µg) it induced a phagostimulatory effect which provoked a faster general development. Therefore, this effect counteracted the inhibitory activity showed through topical application assays.

Key words: (*E*)-9-oxo-2-decenoic acid, *Blattella germanica*, ovarian development inhibition.

REFERENCIAS

- BARBIER, M., 1982: *Les phéromones. Aspects biochimiques et biologiques*. Masson éd., Paris.
- BARBIER, M. & LEDERER, 1960: Structure chimique de la substance royale de la reine d'abeille (*Apis mellifera*). *C. R. Acad. Sc.*, **250**: 4467-4469.
- BELLES, X., 1988: Las hormonas endocrinas de los insectos. Bases conceptuales para el diseño de insecticidas biorracionales. In: *Insecticidas biorracionales* (X. Belles, coord.): 15-67. CSIC, Madrid.
- BELLES, X. & PIULACHS, M. D., 1983: Desarrollo de los corpora allata, oocitos y glándulas colaterales durante el primer ciclo gonotrófico de *Blattella germanica* (L.). *Rev. Esp. Fisiol.*, **39**: 149-154.
- BELLES, X., CASAS, J., MESSEGUER, A. & PIULACHS, M. D., 1987: *In vitro* biosynthesis of JH III by the corpora allata of adult females of *Blattella germanica* (L.). *Insect Biochem.*, **17** (7): 1007-1010.
- BRIAN, M. V. & HIBBLE, J., 1963: 9-oxodec-trans-2-enoic acid, and *Myrmica* queen extracts tested for influence on brood in *Myrmica*. *J. Insect Physiol.*, **9**: 25-34.
- BUTLER, C. G., 1954: The method and importance of the recognition by a colony of honeybees (*A. mellifera*) of the presence of its queen. *Trans. R. Ent. Soc. London*, **105**: 11-29.
- BUTLER, C. G. & FAIREY, 1963: The role of the queen in preventing oogenesis in worker honeybees (*A. mellifera*). *J. Apic. Res.*, **2**: 14-18.
- CALLOW, R. K., & JOHNSTON, N. C., 1960: The chemical constitution and synthesis of queen substance of honeybees (*A. mellifera*). *Bee World*, **41**: 152-153.
- CARLISLE, D. B. & BUTLER, C. G., 1956: The queen substance of honeybees and the ovary inhibiting hormone of crustaceans. *Nature*, **177**: 276-277.
- GAST, R., 1967: Untersuchungen über den Einfluss des Königinnensubstanz auf die Entwicklung der endokrinen Drüsen bei der Arbeiterin der Honigbiene (*Apis mellifica*). *Insect. Soc.*, **14** (1): 1-12.
- HRDÝ, I., NOVÁK, V. J. A. & SKROBAL, D., 1960: Influence of the queen inhibitory substance of honeybee on the development of supplementary reproductives in the termite *Kaloterms flavicollis*. In: *The ontogeny of insects* (I. HRDÝ, ed.): 172-174. Publ. House of the Czechoslovak Academy of Science, Praga.
- LUSCHER, M. & WALKER, I., 1963: Zür Frage der Wirkungsweise der Königinpheromone bei der Honigbiene. *Rev. Suisse Zool. Genève*, **70**: 304-311.
- MITLIN, N. & BAROODY, A. M., 1958: The effect of some biologically active compounds on growth of House fly ovaries. *J. Econ. Entom.*, **51**: 384-385.
- NAYAR, J. K., 1963: Effect of synthetic "queen substance", on the ovary development of the house fly *Musca domestica* L. *Nature*, **197**: 923-924.
- PAIN, J., 1954: La "substance de fécondité" dans le développement des ovaires des ouvrières d'abeilles (*Apis mellifica* L.). Critique des travaux de Müssbichler. *Insect Soc.*, **1**: 59-69.
- PAIN, J., 1956: Le développement des ovaires des ouvrières d'abeilles et l'ectohormone des reines. *Experientia*, **12**: 354-357.
- PAIN, J., 1961: Absence du pouvoir d'inhibition de la phéromone I, sur le développement ovarien de jeunes ouvrières d'abeilles. *C. R. Acad. Sc.*, **252**: 2316-2317.
- PIULACHS, M. D. & BELLES, X., 1988: Influencia de la cópula en la duración del primer ciclo gonotrófico y en la formación de la ooteca de *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera, Blattellidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **14**: 357-362.
- ROTH, L. M. & STAY, B., 1959: Control of oöcyte development in cockroaches. *Science*, **130**: 271-272.
- ROTH, L. M. & STAY, B., 1962: Oocyte development in *Blattella germanica* and *Blattella vaga* (Blattaria). *Ann. Ent. Soc. Amer.* **55** (6): 633-642.
- TOROSSIAN, C., 1965: L'action de l'acide céto-9-décène-trans oïque sur la fertilité des ouvrières orphelines de la fourmi *Dolichiderus quadripunctatus*. *C. R. Soc. Biol.*, **159** (12): 512-518.
- TOROSSIAN, C., 1968: Recherches sur la biologie et l'éthologie de *Dolichoderus quadripunctatus* (L.) (Hym. Form. Dolichoderidae). VII. Etude des mécanismes permettant l'inhibition de la ponte des ouvrières en présence de leur reine: rôle des phéromones. *Insect Soc.* **15** (2): 105-144.
- VOOGT, C., 1955: Inhibition of ovary development in workerbees by extraction fluid of queen. *Experientia*, **11**: 181-182.
- ZALOKAR, M., 1968: Effect of CA on protein and RNA synthesis in colleterial glands of *Blattella germanica*. *J. Insect Physiol.*, **14**: 1177-1184.