



HAL
open science

PARAMÈTRES CINÉTIQUES DE L'ACTIVITÉ α -GLUCOSIDASIQUE * DE L'HÉMOLYMPHE CHEZ L'ABEILLE OUVRIÈRE (*Apis mellifica mellifica* L.)

Michel Bounias, Madame F. Paris

► **To cite this version:**

Michel Bounias, Madame F. Paris. PARAMÈTRES CINÉTIQUES DE L'ACTIVITÉ α -GLUCOSIDASIQUE * DE L'HÉMOLYMPHE CHEZ L'ABEILLE OUVRIÈRE (*Apis mellifica mellifica* L.). *Apidologie*, 1976, 7 (3), pp.263-275. hal-00890408

HAL Id: hal-00890408

<https://hal.science/hal-00890408>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**PARAMÈTRES CINÉTIQUES
DE L'ACTIVITÉ α -GLUCOSIDASIQUE * DE L'HÉMOLYMPHE
CHEZ L'ABEILLE OUVRIÈRE (*Apis mellifica mellifica* L.)**

*Kinetische Parameter der α -Glukosidase-Aktivität der
Hämolymphe bei Arbeiterinnen von *Apis mellifica mellifica* L.*

Michel BOUNIAS

avec la collaboration technique de Madame F. PARIS

*Station Expérimentale d'Apiculture
et Laboratoire de Biochimie
Centre de recherches d'Avignon. I.N.R.A.,
84140 Montfavet*

SUMMARY

**KINETICS PARAMETERS OF THE α -GLUCOSIDASE ACTIVITY
OF WORKER BEES' HAEMOLYMPH (*Apis mellifica mellifica* L.)**

The α -glucosidases of worker-bees' haemolymph have been studied at the different stages of the development, by means of para Nitro Phenyl- α -D-Glucopyranoside as chromogenic specific substrate.

The optimum pH value is 6,75 with phosphate buffer, whereas TRIS buffers strongly inhibit the reaction.

The analysis by polyacrylamide-gel electrophoresis show 5 active fractions in larvae and 2 fractions in nymphae and adults-haemolymph.

Kinetics parameters (maximum velocity, affinity constant and order of the reaction) have been determined at each stage of the development : the lowest activity is observed in larvae, and the highest in foraging adults with an order of reaction slightly upper than 1.

RÉSUMÉ

Les α -glucosidases de l'hémolymphe d'Abeilles ouvrières ont été analysées aux divers stades du développement, au moyen du para Nitro Phényl α -D-Glucopyranoside utilisé comme substrat chromogène spécifique.

* E.C. 3-2-1-20

— Le pH optimal de l'activité se situe vers 6,75 en milieu tampon phosphate; les tampons TRIS sont de puissants inhibiteurs.

— Les paramètres cinétiques quantitatifs (vitesse maximale, constante d'affinité apparente et ordre de la réaction) ont été déterminés à chaque stade du développement: l'activité la plus faible est observée chez les larves et la plus élevée chez les adultes butineuses, avec un ordre de réaction légèrement supérieur à 1.

— L'analyse par électrophorèse en gel de polyacrylamide fait apparaître 5 fractions actives chez les larves et deux chez les nymphes et les adultes.

INTRODUCTION

Les premiers travaux sur les glucosidases de l'Abeille remontent à une cinquantaine d'années: NELSON et COHN, (1924), ont d'abord étudié l'invertase libérée dans le miel, tandis que BERTHOLF (1927) recherchait l'activité des osidases intestinales de l'insecte sur divers glucides. Après une mise au point de GOTTSCHALK, en 1958, paraissent les travaux de DALQUIST, (1959) sur la thermoinactivation de l'invertase, de la maltase et de la tréhalase. C'est ensuite en 1967 que WHITE et KUSHNIR, après avoir préalablement étudié la séparation des isozymes par électrophorèse sur gel d'amidon (1966) ont identifié, dans le miel, une dizaine de fractions actives dans une zone de poids moléculaire voisine de 50 000.

Chez l'abeille elle-même, l'activité α -glucosidasique a été analysée principalement dans les glandes pharyngiales, en 1968 par SIMPSON *et al.*, en 1972 par HALBERSTADT et en 1973 par ÉCHIGO et TAKENAKA.

Dans l'hémolymphe, les α -glucosidases ont été très peu étudiées jusqu'ici. C'est pourquoi les modifications d'activité récemment mises en évidence au cours du développement nymphal (BOUNIAS, 1975) ont paru justifier une étude plus complète de l'évolution des propriétés cinétiques de l'enzyme au cours du développement de l'abeille. Les travaux ont été effectués à partir de l'hémolymphe d'abeilles ouvrières de race noire, aux stades de larves du cinquième stade, nymphes, adultes naissantes et butineuses.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

L'hémolymphe est prélevée dans le vaisseau dorsal des Abeilles au moyen de microseringues de précision (HAMILTON) puis injectée dans des microtubes (\varnothing 2 mm \times 25 mm) sous une couche d'heptane; l'ensemble est maintenu au bain marie à 0 °C. Dans certains cas (chez les nymphes en particulier) le prélèvement doit être suivi d'une centrifugation de 5 mm à 4 000 g destinée à éliminer les éléments cellulaires entraînés avec l'hémolymphe.

L'activité enzymatique est mesurée par enregistrement en continu à 450 nm de la coloration du para Nitro Phénol (p.N.P.) libéré par l'enzyme à partir du para Nitro Phényl- α -glucopyranoside (p.N.P.G.) utilisé comme substrat chromogène spécifique.

La réaction s'effectue dans des cuves photométriques de 250 μ l en présence du tampon à la concentration finale de 0,04 M, du substrat (à concentrations croissantes) et d'hémolymphe introduite au moment de la réaction: 5 μ l dans le cas des larves, 2,5 μ l dans le cas des nymphes et des naissantes et 1 à 2 μ l dans le cas des adultes.

Le photomètre à double faisceau (VERNON PHI-5) est équipé d'un enregistreur dont l'échelle de densité optique est ajustée entre 0 et 0,5 et la vitesse de déroulement du papier à 1 cm par mn.

L'étude des variations de la vitesse de réaction (v) en fonction des concentrations en substrat (s) permet de définir la vitesse maximum (V_M) correspondant à la saturation de l'enzyme. Dans le cas d'une cinétique d'ordre 1, la courbe de saturation est de type hyperbolique :

$$v = \frac{V_M S}{K + S}$$
 (équation de Michaelis) la constante K (ou constante de Michaelis apparente) traduisant l'affinité entre l'enzyme et le substrat.

La valeur V_M , de nature asymptotique, est difficile à préciser de manière directe. Sa détermination est opérée à partir de la représentation de LINEWEAVER et BURK ou droite des inverses: $v^{-1} = f(S^{-1})$ qui coupe l'axe des ordonnées au point V_M^{-1} et l'axe des abscisses au point $-(K)^{-1}$. La valeur de K est donc également obtenue de cette manière, ainsi que sur la courbe directe au point d'ordonnée : $\frac{1}{2} V_M$.

Ce mode de calcul n'étant valable que pour les cinétiques d'ordre 1, l'ordre de la réaction (n) est vérifié au moyen de l'équation de HILL : $\text{Log} \frac{v}{V_M - v} = f(\text{Log } S)$ qui se traduit dans tous les cas par une droite dont la pente est égale à n et dont l'intersection avec l'axe des ordonnées donne la valeur $-(\text{Log. } K)$.

Pour chaque courbe de saturation $v = f(S)$, les vitesses de réaction sont mesurées avec au moins 8 concentrations différentes du substrat, chaque point de la courbe faisant l'objet de 3 déterminations ($N = 24$).

Les paramètres cinétiques sont ensuite calculés statistiquement au moyen des équations de régression.

Les mesures ont été reproduites au cours de 2 années consécutives, aux mêmes périodes (mai-juin) sur deux souches de race pure (*mellifica*) obtenues par insémination artificielle à la Station Expérimentale d'Apiculture I.N.R.A. d'Avignon. Les résultats ont été groupés car les différences de moyennes entre les 2 colonies ne se sont pas montrées significatives.

Enfin, la séparation des différentes fractions protéiques présentant une activité α -glucosidase a été réalisée par électrophorèse en gel de polyacrylamide selon des techniques décrites ailleurs (BOUNIAS, 1975 a et b). La révélation de l'activité enzymatique est ensuite obtenue par incubation à 35 °C, en présence de β Naphyl- α -D-Glucopyranoside et de NBT (Nitro-Bleu Tétrazolium), des gels préalablement rincés dans le tampon correspondant au pH optimal de l'activité.

RÉSULTATS

1. — Recherche du pH optimal d'activité

Le pH optimal des α -glucosidases de levures et de végétaux se situe le plus souvent au voisinage de 6,8 à 7,2 (BARMAN, 1969). Les travaux de HALBERSTADT, sur la saccharase et la maltase des glandes pharyngiennes ont fait apparaître un maximum d'activité entre pH 5 et pH 7. La fig. 1 illustre les résultats obtenus à partir de l'hémolymphe de larves 5^o stade et d'adultes butineuses, en milieu tampon phosphate de SÖRENSEN.

Dans les deux cas, le maximum d'activité est observé entre pH 6,5 et pH 7, plus précisément de 6,75 à 6,80. La concentration du tampon a montré peu d'influence dans la zone comprise entre 0,04 et 0,1 M.

En milieu tampon à base de Tris (hydroxyméthyl) amino méthane (Tris), l'activité est pratiquement nulle pour les mêmes valeurs de pH. A pH 8 elle est

de 0,072 n moles de p.N.P.P. hydrolysé par mn par μ l d'hémolymphe d'ouvrière butineuse soit 10 fois moins qu'en présence de tampon phosphate.

Les analyses de l'activité α -glucosidasique ont donc été effectuées par la suite, dans tous les cas, en présence de tampon phosphate à pH 6,75.

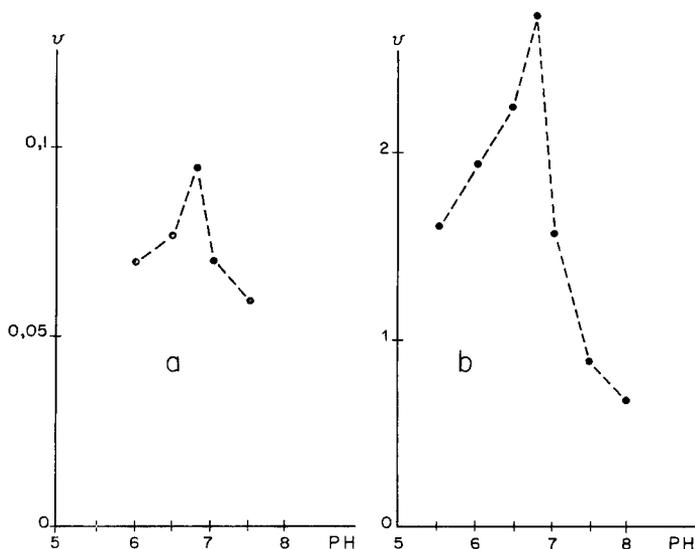


FIG. 1. — *Activité α -glucosidasique en fonction du pH, en milieu tampon phosphate 0,1 M.*
La concentration en substrat est fixée dans ce cas à : 4 mM.

- a) larves du 5^e stade,
b) abeilles butineuses.

ABB. 1. — *α -Glucosidase-Aktivität in Abhängigkeit vom pH auf Phosphatpuffer 0,1 M.*
Die Konzentration des Substrats ist hier auf 4 mM fixiert.

- a) Maden des 5. Stadiums; b) Trachtbienen.

2. — *Activité α -glucosidasique des larves*

A. *Paramètres cinétiques.*

Les analyses ont été opérées sur des larves du cinquième stade d'un poids moyen de 120 ± 20 g ($N = 15$). Le tableau 1 indique les valeurs moyennes des paramètres cinétiques; un exemple de courbe de saturation et de représentation des inverses est illustré par la fig. 2 a.

L'ordre de la réaction n'est pas significativement différent de l'unité et les différents modes de calcul de K donnent des valeurs voisines.

B. *Supports protéiques de l'activité enzymatique.*

L'analyse par électrophorèse en gel de polyacrylamide suivie de la révélation de l'activité *in situ* au moyen du Naphtyl- α -D-glucoside fait apparaître 5 fractions actives illustrées par l'enregistrement photométrique de la fig. 2 b.

TABLE 1. — Paramètres cinétiques de l'activité α -glucosidasiqve des larves d'Abelles du 5^e stade.
N désigne le nombre de déterminations.

TABLE 1. — Kinetische Parameter der -Glukosidase-Aktivität bei Bienenmaden des 5. Stadiums.
N = Anzahl des Bestimmungen.

Paramètres Parameter	Moyenne Durchschnitt	Écart-type Abweichtyp	N
Vitesse maximale (V_M) n moles/mn par μ l Höchstgeschwindigkeit	0,17	0,053	5
Constante d'affinité (K) nM Affinitätskonstante	3,51	0,43	6
Ordre de la réaction (n) Reaktionsgrad	0,978	0,0797	5

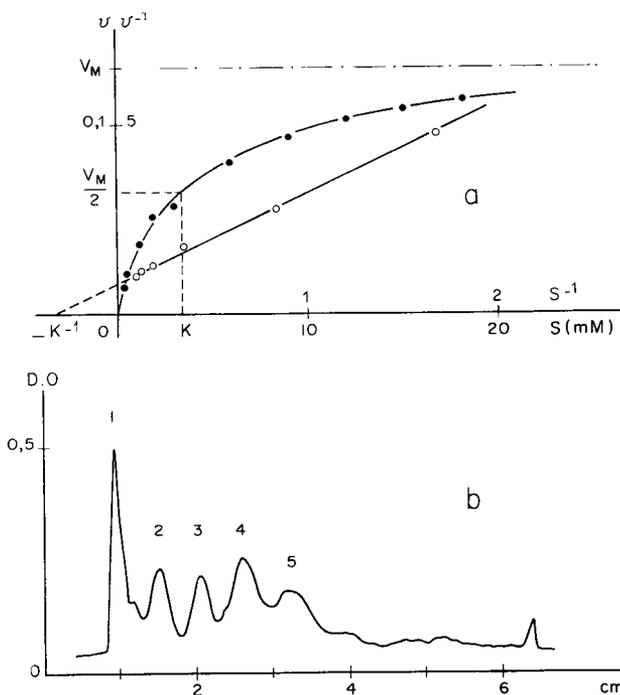


FIG. 2. — Activité α -glucosidasiqve de l'hémolymphe des larves 5^e stade :

- a) Courbe de saturation et courbe des inverses.
- b) Fractions actives séparées sur gel de polyacrylamide. (10 μ l d'hémolymphe.)

ABB. 2. — α -Glukosidase-Aktivität der Hämolymphe von Maden des 5. Stadiums.

- a) Sättigungs- und Umkehrkurven,
- b) Aktive Fraktionen, auf Polyacrylamid-Gel getrennt (10 μ l Hämolymphe).

L'activité enzymatique mesurée chez les larves pourrait donc résulter du concours de plusieurs isoenzymes dont l'étude se poursuit par comparaison au spectre protéique préalablement défini chez les individus de même stade (BOUNIAS, 1971 a).

3. — *Activité α -glucosidasique des nymphes*

A. Paramètres cinétiques.

Les différents stades de l'évolution nymphale sont désignés par les symboles suivants :

N 0 = corps blanc, yeux blancs	N 4 = corps orangé clair, yeux violets
N 1 = corps blanc, yeux rose clair	N 5 = corps marron
N 2 = corps blanc, yeux marrons	N 6 = stade transitoire vers l'adulte naissante
N 3 = corps blanc, yeux violets	

Les modifications d'activité observées au cours de travaux antérieurs (BOUNIAS, 1975 a) ont été retrouvées. Le tableau 2 indique les moyennes obtenues au cours des deux années suivantes, à partir de deux souches.

TABL. 2. — *Paramètres cinétiques de l'activité α -glucosidasique des nymphes d'Abeilles à 3 périodes de leur développement.*

(Les stades ayant été regroupés par classes de valeurs cinétiques comparables.)

TABL. 2. — *Kinetische Parameter der Glukosidase-Aktivität bei Bienenpuppen in drei Entwicklungsstadien. (Die Stadien wurden nach Klassen vergleichbarer kinetischer Werte zusammengestellt.)*

Stades Stadien	Vitesses max. V_M (n. moles/mn/ μ l) Höchstgeschwindigkeit			Constante K (nM) Konstante K			Ordre n Grad			Poids moyen (mg) Ø Gewicht	
	\bar{x}	(N)	sx	\bar{x}	(N)	sx	\bar{x}	(N)	sx	\bar{x}	(N)
N 0	1,00	(6)	0,21	3,30	(7)	1,17	0,91	(4)	0,19	142	(24)
N 2 à N 3	2,80	(8)	0,47	2,90	(10)	1,27	1,00	(5)	0,05	137,5	(21)
N 4 à N 5	1,40	(7)	0,46	3,16	(9)	0,88	0,99	(4)	0,13	124	(20)
N 6	1,09	(4)	0,10	4,40	(3)	0,26	1,04	(4)	0,03	124	(20)

Aux stades N 2 et N 3 l'activité enzymatique atteint son maximum pour diminuer ensuite et devenir minimale au stade N 6, au moment de la métamorphose (BOUNIAS, 1975 d).

Ces modifications d'activité s'opèrent sans changement significatif de la constante K dont les valeurs moyennes ont été un peu plus élevées au cours des dernières années.

B. Supports protéiques de l'activité enzymatique.

La figure 3 illustre les enregistrements photométriques de l'activité enzymatique observée après séparation des protéines par électrophorèse.

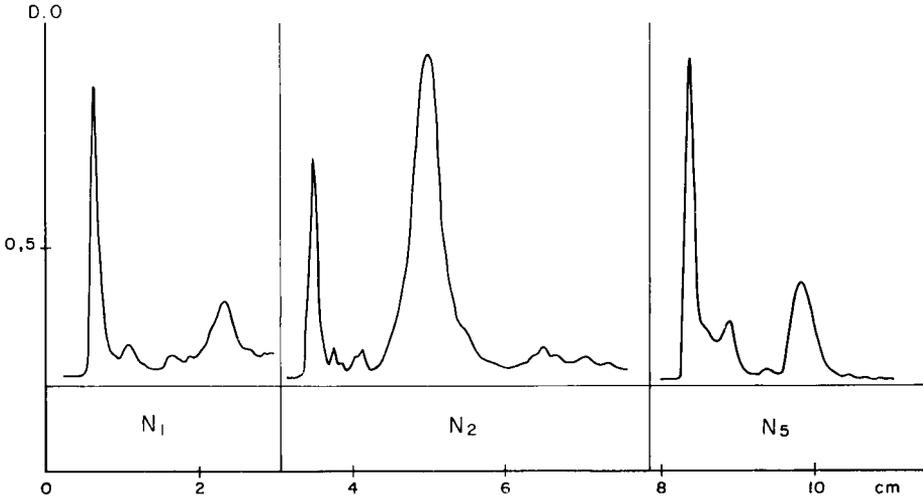


FIG. 3. — *Activité α -glucosidasique de l'hémolymphe des nymphes d'abeilles à 3 stades successifs : analyse des fractions séparées sur gel de polyacrylamide. (10 μ l d'hémolymphe).*

ABB. 3. — *α -Glukosidase-Aktivität der Hämolymphe von Puppen in drei aufeinanderfolgenden Stadien. Analyse der auf Polyacrylamid-Gel getrennten Fraktionen (10 μ l Hämolymphe).*

Des 5 fractions observées chez les larves il ne subsiste que 4 dont les deux principales correspondent respectivement aux fractions A 1 et C 2 du spectre protéique (BOUNIAS, 1972 b). La fraction correspondant à C 2 paraît être la principale responsable des modifications d'activité.

4. — *Activité α -glucosidasique des abeilles naissantes*

A. Paramètres cinétiques.

Les abeilles sont prélevées sur les rayons au moment où elles percent l'opercule de leur alvéole. Leur poids moyen est de 123 mg. 10 abeilles sont utilisées pour chaque détermination.

Le tableau 3 indique les valeurs moyennes de paramètres cinétiques pour l'ensemble des mesures, et la figure 4 illustre un exemple de courbe de saturation.

La vitesse maximum mesurée au cours des différentes expériences est très stable; en ce qui concerne la constante d'affinité, les fluctuations sont rela-

tivement plus importantes, en particulier d'une année à l'autre, ce qui se traduit par un coefficient de variation plus élevé.

TABL. 3. — Paramètres cinétiques de l'activité α -glucosidasique des Abeilles naissantes.

\bar{x} désigne les moyennes, (N) le nombre de mesures et sx les écarts-types.

TABL. 3. — Kinetische Parameter der α -Glukosidase-Aktivität der Hämolymphe bei schlüpfenden Bienen.

\bar{x} = Durchschnittswerte; (N) = Anzahl der Messungen; sx = Abweichtypen.

Paramètres	\bar{x}	sx	N
Vitesse maximale V_M (n moles/mn/ μ l) . Höchstgeschwindigkeit V_M	0,645	0,082	13
Constante d'affinité K (nM) Affinitätskonstante	3,92	1,370	18
Ordre de la réaction Reaktionsgrad	0,987	0,042	3

Cette constatation pourrait refléter la présence fluctuante, dans l'hémolymphe, d'un inhibiteur compétitif de l'activité enzymatique. La fig. 4 montre un exemple de cinétique de saturation accompagnée de la courbe des inverses correspondante.

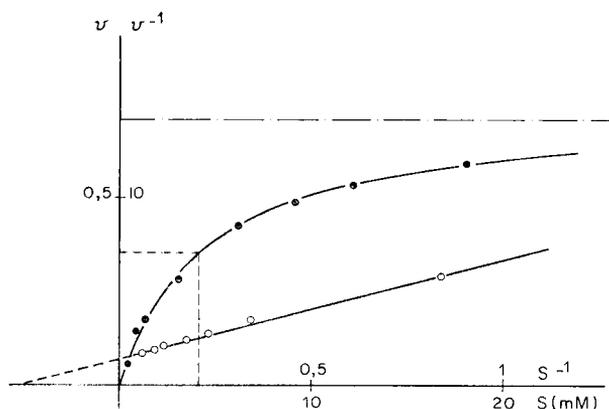


FIG. 4. — Activité α -glucosidasique de l'hémolymphe des abeilles naissantes : courbe de saturation et courbe des inverses.

ABB. 4. — α -Glukosidase-Aktivität der Hämolymphe schlüpfender Bienen Sättigungs- und Umkehrkurve.

B. Supports protéiques de l'activité enzymatique.

Chez l'abeille naissante, l'activité est localisée sur deux fractions, principalement sur la première (A 1) avec 64 pour cent et sur C 2 pour 24 pour cent. Cependant, cette dernière se présente alors sous forme d'un pic étalé (fig. 5).

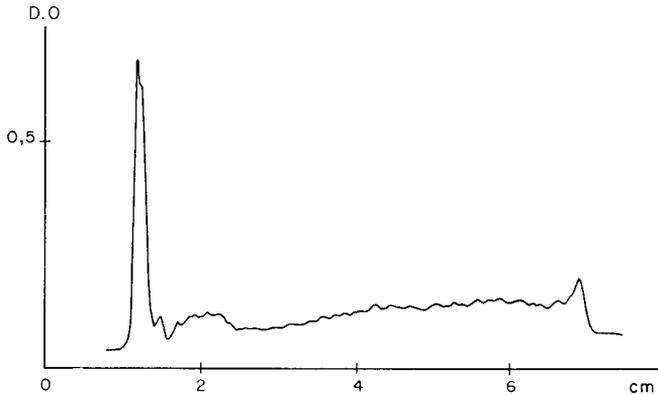


FIG. 5. — *Activité α -glucosidasique des protéines de l'hémolymphe d'abeilles naissantes, après séparation sur gel de polyacrylamide (7 μ l d'hémolymphe).*

ABB. 5. — *α -Glukosidase-Aktivität der Hämolymphe schlüpfender Bienen nach der Trennung auf Polyacrylamid-Gel (7 μ l Hämolymphe).*

5. — *Activité α -glucosidasique des adultes*

Les analyses ont été effectuées sur des abeilles butineuses capturées au sortir de la ruche, à la même période que les prélèvements de naissantes et de couvain.

A. *Paramètres cinétiques.*

Les résultats obtenus précédemment (BOUNIAS, 1975 d) ont été confirmés et précisés : le tableau 4 indique les moyennes générales obtenues à la suite des 3 campagnes successives.

TABL. 4. — *Paramètres cinétiques de l'activité α -glucosidasique de l'hémolymphe des Abeilles butineuses.*

\bar{x} désigne les moyennes, (N) le nombre de déterminations et sx les écarts-types correspondants.

TAB. 4. — *Kinetische Parameter der α -Glukosidase-Aktivität der Hämolymphe von Trachtbienen.*

\bar{x} = Durchschnittswerte; (N) = Anzahl der Bestimmungen; sx = entsprechende Abweichtypen.

Paramètres Parameter	Vitesse maximale (V_M) n moles/mn/ μ l Höchstgeschwindigkeit	Constante d'affinité K nM Affinitätskonstante	Ordre Grad
\bar{x}	10,00	3,77	1,070
(N)	20	28	22
sx	2,257	0,622	1,164

La constante d'affinité K a conservé une valeur stable, peu éloignée de celle mesurée chez les naissantes, et la vitesse maximum se situe toujours, chez les butineuses, à un niveau nettement supérieur à celui atteint au cours des autres stades du développement.

L'ordre de la réaction est resté supérieur à l'unité : la comparaison de la moyenne de 22 mesures à la valeur théorique $n = 1$ montre que la différence est significative : $t = 2,821 > t/5 \%$ ($\nu = 21$) = 2,080.

La fig. 6 illustre un exemple de cinétique de saturation accompagnée de la courbe des inverses (non linéaire) et de la droite de HILL (de pente n).

B. Supports protéiques de l'activité enzymatique.

Comme dans le cas des nymphes et celui des naissantes, l'analyse par électrophorèse en gel de polyacrylamide ne révèle plus que deux fractions actives correspondant toujours aux fractions A 1 et C 2 du spectre (fig. 7). La fraction C 2 domine très nettement avec 73 pour cent de l'activité totale.

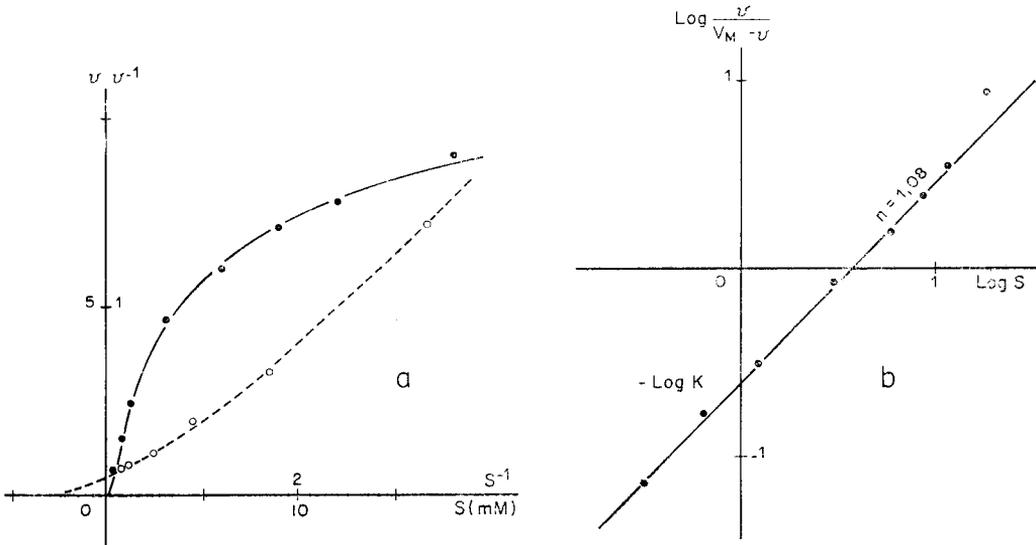


FIG. 6. — *Activité α -glucosidasique de l'hémolymphe d'abeilles butineuses :*

- a) Courbe de saturation et courbe des inverses.
- b) Droite de HILL (pente n = ordre de la réaction).

ABB. 6. — *α -Glukosidase-Aktivität der Hämolymphe von Trachtbienen.*

- a) Sättigungs- und Umkehrkurve,
- b) Gerade nach HILL (Neigung n = Reaktionsgrad).

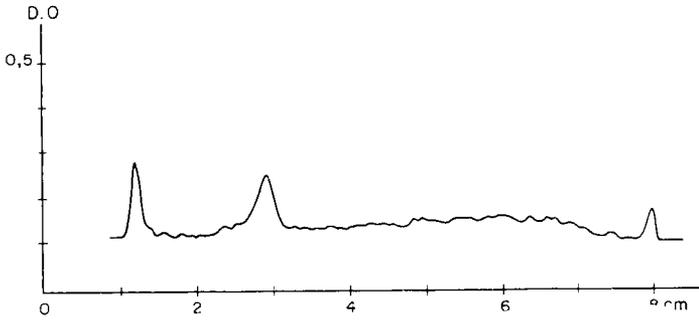


FIG. 7. — *Activité α -glucosidasique des protéines de l'hémolymphe d'abeilles butineuses après séparation sur gel de polyacrylamide (4 μ l d'hémolymphe).*

ABB. 7. — *α -Glukosidase-Aktivität der Proteine der Hämolymphe von Trachtbienen nach Trennung auf Polyacrylamid-Gel (4 μ l Hämolymphe).*

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Au cours de la métamorphose de l'abeille, il semble que l'on assiste à une simplification du spectre d'activité α -glucosidasique, avec 5 fractions au stade larvaire, 2 à 4 chez les nymphes et 2 chez les adultes.

Chez les butineuses, l'hypothèse d'une transition allostérique n'est pas à écarter, puisque les nombreuses mesures effectuées ont montré dans tous les cas un ordre de réaction supérieur ou égal à 1, les valeurs s'échelonnant entre 1,0 et 1,3.

L'une des caractéristiques des enzymes allostériques est de comporter plusieurs monomères ou oligomères (en principe : 4) dont l'effet coopératif (coopérativité positive) et la diversification des sites récepteurs permettent un contrôle de l'activité enzymatique et une capacité de régulation très importante (COHEN, 1967, PENASSE, 1974).

Les modifications de structure de la molécule complète sous l'action d'agents naturels ou effecteurs peuvent se traduire par une modification des paramètres cinétiques et de l'ordre de la réaction : de sorte qu'il n'est pas exclu que les fractions C 2 et A 1 communes aux divers stades permettent de rencontrer à chacun d'eux plusieurs types de cinétiques en fonction des conditions physiologiques du moment. Cependant, en moyenne, l'activité α -glucosidasique des adultes est plus importante par sa vitesse maximale et offre vraisemblablement des possibilités de régulation mieux adaptées que lors des stades précédents, aux conditions de vie de l'abeille butineuse : en effet, celle-ci est soumise à des facteurs extérieurs (climatiques, nutritionnels) très variables, tandis que les larves sont nourries de façon plus homogène par des abeilles nourricières et que les nymphes vivent sur les réserves accumulées après le cinquième stade larvaire.

L'augmentation passagère d'activité observée chez les nymphes pourrait résulter d'un besoin accru de glucose libre à un stade donné de l'évolution nymphale, ce qui nous amènera à examiner, au cours des prochaines expériences, l'évolution de la glycémie et ses relations avec l'activité α -glucosidase chez l'abeille, au cours des différentes phases du développement.

Reçu pour publication en mai 1976.

Eingegangen im Mai 1976.

REMERCIEMENTS

L'auteur exprime ses remerciements à Monsieur le Professeur LAVIOLETTE pour ses conseils dans la rédaction du manuscrit, ainsi qu'à Monsieur LAVIE pour sa contribution matérielle et budgétaire, à Monsieur FRESNAYE qui a assuré les inséminations artificielles, à Messieurs PARIS Alain, PARIS René et BLANC Jean pour l'entretien des ruchers, et à Madame BOUNIAS pour sa collaboration à diverses étapes du travail.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Eigenschaften der α -Glukosidasen (E.C. 3-2-1-20) der Hämolymphe der Bienenarbeiterinnen (*Apis mellifica mellifica* L.) wurden an Maden des fünften Stadiums, an Puppen, schlüpfenden Bienen und Trachtbienen mit Hilfe von p-Nitrophenyl- α -D-Glukopyranosid als spezifisch chromogenes Substrat untersucht.

Das pH-Optimum der Aktivität liegt beim Phosphatpuffer (von 0,004 - 0,1 M) bei 6,75, während die Tris-Puffer sich als stark inhibitorisch erwiesen.

Die Höchstgeschwindigkeit der Reaktion ist bei Maden und schlüpfenden Bienen sehr gering; sie nimmt zeitweilig bei den weissen Puppen mit lila Augen zu. Die höchsten Werte sind bei den Trachtbienen festzustellen.

Die Affinitätskonstante ändert sich im Verlauf der Entwicklung nur wenig, und der Reaktionsgrad, der zwischen Madenstadium und Schlüpfstadium sehr nahe bei 1 liegt, ist bei den Trachtbienen leicht höher als 1.

Die elektrophoretische Analyse auf Polyacrylamid-Gel zeigt fünf aktive Fraktionen bei den Maden und nur zwei bei Puppen und Adulten.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BARMAN T.E., 1969. — *Enzyme hand-book*, Vol. II, 576-577, Springer Verlag, Berlin.
- BERTHOLF L.M., 1927. — The utilization of carbohydrates as food by honeybee larvae. *J. Agric. Res.*, **35**, 1927, 429-452.
- BOUNIAS M., 1975 a. — Modifications d'activité des α -glucosidasés (E.C. 3-2-1-20) de l'hémolymphe au cours de la nymphose chez l'abeille. *C.R. Acad. Sc.* Sous presse.
- BOUNIAS M., 1975 b. — Les protéines de l'hémolymphe chez l'abeille. I - Larves, nymphes et naissantes. *Apidologie*, **6** (3), 207-218.
- BOUNIAS M., 1975 c. — Les protéines de l'hémolymphe chez l'abeille. II - Adultes butineuses et hivernantes. *Apidologie*, **6** (3), 219-232.

- BOUNIAS M., 1975 *d.* — Modifications d'activité de quelques enzymes de l'hémolymphe au cours du développement chez l'Abeille noire : *Apis mellifica, mellifica* L. *C.R. II^o Coll. Physiol. Insectes*, « Physiologie du développement », Strasbourg 2-3 Mai 1975, 4 p.
- COHEN G., 1967. — *Le métabolisme cellulaire et sa régulation*. Masson Éd., Paris.
- DAHLQUIST A., 1959. — Studies on the heat inactivation of intestinal invertase, maltase and trehalase. *Acta Chem. Scand.* **13**, 945-953.
- ECHIGO T., TAKENAKA T., 1973. — Changes in erlose contents by honeybee invertase, (en japonais) *Nippon Nogei Kagaku Keishi*, **47,3**, 177-183.
- GOTTSCHALK A., 1958. — The enzymes controlling hydrolytic, phosphorolytic and transfer reactions of the oligo saccharides. In : RUHLAND Hrsg., *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, Springer Verlag, Berlin, Bd. 6, p. 87.
- HALBERSTADT K., 1972. — Zum pH-Optimum der Saccharase- und Maltaseaktivität des Pharynxdrüsensekrets der Bienenarbeiterin *Apidologie*, **3**, 3, 247-261.
- NELSON J.M., COHN D.J., 1924. — Invertase in honey. *J. Biol. Chem.*, **61**, 193-224.
- PENASSE L., *Les enzymes : cinétiques et mécanisme d'action*. Masson et Cie, Paris. 227 p.
- SIMPSON J., RIEDEL I.B.M., WILDING N., 1968. — Invertase in the hypopharyngeal glands of the honey bee. *J. Apic. Res.*, **7**, 1, 29-36.
- WHITE J.W., KUSHNIR I., 1966. — Enzyme resolution in starch gel electrophoresis. *Anal. Biochem.*, **16**, 2, 302-313.
- WHITE J.W., KUSHNIR I., 1967. — The enzymes of honey : examination by ion-exchange chromatography, gel filtration and starch gel electrophoresis. *J. Apic. Res.*, **6**, 2 69-89.
-