

COMPOSITION CHIMIQUE COMPARÉE
DES FORMATIONS SQUELETTIQUES
CHEZ LES LOPHOPHORIENS ET LES ENDOPROCTES,

PAR

Ch. JEUNIAUX.

L'auteur fait le point des connaissances actuelles sur la composition chimique des formations anhistes exosquelettiques chez les différentes classes de Lophophoriens (Phoronidiens, Bryozoaires, Ectoproctes, Brachiopodes) et chez les Endoproctes. Des données précises sont disponibles en ce qui concerne les sels minéraux et la chitine, à la fois sur le plan quantitatif et sur le plan qualitatif. La fraction protéique, souvent très importante, est beaucoup moins bien connue, sauf dans le cas des Brachiopodes.

Comparative chemical composition of cuticular and shell structures in Lophophorates.

Data concerning the chemical composition of exoskeletal structures in Lophophorates (Phoronida, Bryozoa, Brachiopoda) and in Entoprocta are presented and discussed. The inorganic composition is generally well established, as well as chitin distribution and quantitative importance. Proteins, which are often the most abundant constituents, are poorly known, except in the case of Brachiopod shells.

1. — Introduction.

La connaissance de la nature chimique exacte des structures anhistes (cuticules, squelettes, coquilles, tubes, etc...) est d'un intérêt évident pour les zoologistes, non seulement pour comprendre les particularités de la physiologie et la biochimie de chaque groupe, mais encore dans un but phylogénétique. Moyennant diverses précautions, on peut, en effet, et dans certaines limites, utiliser l'argument de la composition chimique pour confirmer les caractères d'homologie de diverses structures, et pour discuter la parenté phylétique des organismes qui les fabriquent (JEUNIAUX, 1975).

C'est également une information indispensable si l'on veut situer correctement chaque espèce animale dans son écosystème, et évaluer l'importance et la nature des interventions de chaque espèce dans le cycle biogéochimique de chaque élément biogène.

Il est donc utile de faire le point de nos connaissances à ce sujet dans le phylum des Lophophoriens, même si cela doit nous conduire, souvent, à souligner notre ignorance. Nous nous attacherons plus spécialement à clarifier la question de la distribution et de la localisation de la chitine dans ce phylum, auquel nous comparerons celui des Endoproctes.

2. — Quelques précisions d'ordre technique préalable.

a) LA CHITINE.

Pendant longtemps, seule la composition minérale des structures exosquelettiques a pu être analysée sans trop de peine. La difficulté inhérente à l'identification des matières organiques, par contre, a conduit beaucoup de zoologistes, et de paléontologues a fortiori, à décrire les structures anhystes cuticulaires et squelettiques par des qualificatifs imprécis, tels que « corné », « cartilagineux », « chitineux », « chitinoïde », « pseudochitineux », etc. Nombre de traités généraux se contentent encore de ces termes descriptifs. D'approximation en approximation, on en est arrivé à dénaturer le sens de certains termes. Ainsi, « chitine » est devenu synonyme de « structure anhyste dure » et les entomologistes, notamment, emploient encore souvent le terme « chitinisé » pour « sclérifié ».

Cette confusion, dénoncée déjà par RICHARDS (1951) et HYMAN (1958), ne pouvait être levée que par une analyse chimique rigoureuse. L'histochimie est en effet d'un piètre secours en la matière, la seule réaction relativement spécifique étant celle dite « du chitosane » (ou « chitosane - iodine color test » de CAMPBELL, 1929). Cette méthode donne malheureusement des résultats décevants quand il s'agit de structure contenant peu de chitine. Le test du chitosane n'a jamais permis de découvrir la chitine du kyste des Ciliés, par exemple (BUSSERS et JEUNIAUX, 1973), ni celle de la nacre des Mollusques (JEUNIAUX, 1963), mais donne parfois des colorations qu'on peut interpréter comme positives avec certaines structures dépourvues de chitine (SUNDARA-RAJULU et al., en préparation).

La mise en évidence et le dosage rigoureux de la substance organique à laquelle on doit réserver le nom de « chitine » (c'est-à-dire un haut polymère linéaire d'unités de N-acétyl-D-glucosamine liées par des ponts β -1,4 glycosidiques) peuvent être réalisés grâce à une méthode enzymatique (JEUNIAUX, 1963, 1965). Cette méthode est basée sur 2 réactions hautement spécifiques : une réaction d'hydrolyse enzymatique, et une réaction colorimétrique du produit final de l'hydrolyse enzymatique. Plusieurs conditions sont toutefois requises pour l'application correcte de cette méthode : la structure étudiée doit être au préalable traitée de manière à « démasquer » toute la chitine, et la rendre accessible à l'action hydrolytique des chitinases purifiées (distinction d'une fraction « chitine libre » et « chitine liée » : JEUNIAUX, 1963, 1964, 1965) ; les chitinases doivent être rigoureusement purifiées ; le milieu d'incubation enzymatique doit

être complété par des chitobiases, et l'échantillon doit être soumis éventuellement à plusieurs traitements enzymatiques successifs.

Moyennant ces conditions, la méthode enzymatique permet non seulement de mettre en évidence, mais aussi de doser la chitine dans une structure anhyste, et d'en exprimer la teneur par rapport au poids sec, total ou déminéralisé, de la structure étudiée.

Si le matériel disponible est de trop petite taille ou trop peu abondant pour permettre une pesée préalable correcte, on peut se contenter d'un test enzymatique qualitatif, c'est-à-dire observer la dissolution de la structure étudiée (après démasquage préalable de la chitine) dans une solution de chitinases purifiées (sans dosage consécutif des produits d'hydrolyse).

Une autre méthode permet de déceler la présence de chitine avec une assez grande spécificité : c'est l'analyse du spectre de diffraction des rayons X (RUDALL, 1955), mais de toute façon, cette méthode n'est nullement quantitative.

Précision que le qualificatif de « chitineux » est utilisé dans la présente revue pour désigner une structure dont la matrice organique contient de la chitine, si peu que ce soit. Ce terme n'implique nullement qu'il puisse s'agir d'une structure entièrement constituée de chitine ; on n'en connaît d'ailleurs pas.

b) PROTÉINES.

Si la présence de protéines au sens large est facile à mettre en évidence, c'est une donnée qui n'a évidemment pas de signification en biochimie comparée et en chimiotaxonomie. L'identification de la nature des protéines concernées nécessite des méthodes biochimiques fines, notamment l'analyse des acides aminés constitutifs, et si possible leur séquence, par chromatographie sur colonne échangeuse d'ions. Ces méthodes ne sont pas d'un usage difficile, mais elles ne peuvent donner de résultats valables que si on les applique à des protéines préalablement isolées et purifiées, ou du moins à des structures morphologiques définies et isolées (JEUNIAUX, 1975). Dans le cas d'Invertébrés de petite taille, comme la plupart de ceux que nous étudions ici, ces conditions sont rarement rencontrées, et les informations concernant la fraction protéique des structures anhystes des Lophophoriens sont peu abondantes et peu précises, sauf dans le cas de la coquille des Brachiopodes.

Cette introduction était nécessaire pour situer le problème à son niveau technique. Sachant donc dans quelles limites une étude comparée de la composition chimique des cuticules et structures squelettiques peut être envisagée à l'heure actuelle, examinons les différentes classes de Lophophoriens, et voyons s'il est possible de dégager quelques conclusions d'ensemble. Nous compléterons ce tour d'horizon par les Endoproctes, en raison des hésitations qui ont longtemps prévalu au sujet de leurs relations avec les Ectoproctes.

3. — Les Phoronidiens.

Le tube que sécrètent les Phoronidiens est d'aspect parcheminé ; des débris et des grains de sédiment y sont souvent enrobés. Ce tube est sécrété par des cellules glandulaires d'origine épidermique. Le corps de l'animal ne porte ni cuticule ni soies, ni autres formations anhistes d'aucune sorte.

Les tubes de *Phoronis pallida* et de *Phoronopsis viridis*, étudiés par HYMAN (1958), donnent un résultat nettement positif au test du chitosane. La présence de chitine a été confirmée par la méthode enzymatique, appliquée à des tubes de *Phoronis hippocrepi* (JEUNIAUX, 1963). La chitine totale constitue en moyenne 13,6 % du poids de matière organique. Par contre, la chitine libre ne représente que 1,7 % du poids de matière organique, soit 12,5 % de la chitine totale. La majeure partie de la chitine est donc « masquée », et pourrait être liée à des protéines, puisque la dégradation des protéines par la soude à chaud rend la chitine accessible à l'action des chitinases purifiées. On ne possède aucune donnée sur les autres constituants organiques du tube.

Il convient de souligner la profonde différence de composition chimique entre le tube des Phoronidiens et ceux des Polychètes sédentaires tubicoles, pourtant morphologiquement et fonctionnellement comparables. Chez les Polychètes, les tubes calcifiés ou non, sont de nature protéique ou mucoprotéique, et ne contiennent jamais de chitine (VOVELLE, 1965 ; DEFRETIN, 1971). Par contre, le tube des Pogonophores est bien de nature chitinoprotéique (FOUCART, BRICTEUX-GREGOIRE et JEUNIAUX, 1965), mais il ne faut voir là, à notre avis, qu'une convergence dans l'utilisation d'un matériel organique dont la biosynthèse est très répandue au niveau des cellules épidermiques des Invertébrés Diblastiques, Pseudocœlomates et Spiralia.

4. — Les Bryozoaires Ectoproctes.

L'ectocyste des Bryozoaires Ectoproctes est homologue d'une cuticule. Seul, l'ectoderme du cystide sécrète cette cuticule, le polypide restant toujours nu.

a) DISTRIBUTION ET IMPORTANCE QUANTITATIVE DE LA CHITINE.

Libbye HYMAN (1958) a rappelé tous les essais des auteurs qui ont cherché à identifier la chitine chez les Ectoproctes par diverses techniques histochimiques. Utilisant systématiquement le test du chitosane, HYMAN (l.c.) a étudié la localisation de ce polysaccharide chez 3 espèces de Phylactolèmes (*Plumatella emarginata*, *P. repens* et *Federicella sultana*), chez un Gymnolème d'eau douce (*Paludicella articulata*), chez 5 espèces de Cténostomes (appartenant aux genres *Amathia*, *Anguinella*, *Zoobotryon* et *Alcyonidium*) et chez 10 espèces de Chilostomes (appartenant aux genres *Aetea*, *Bugula*, *Schizopo-*

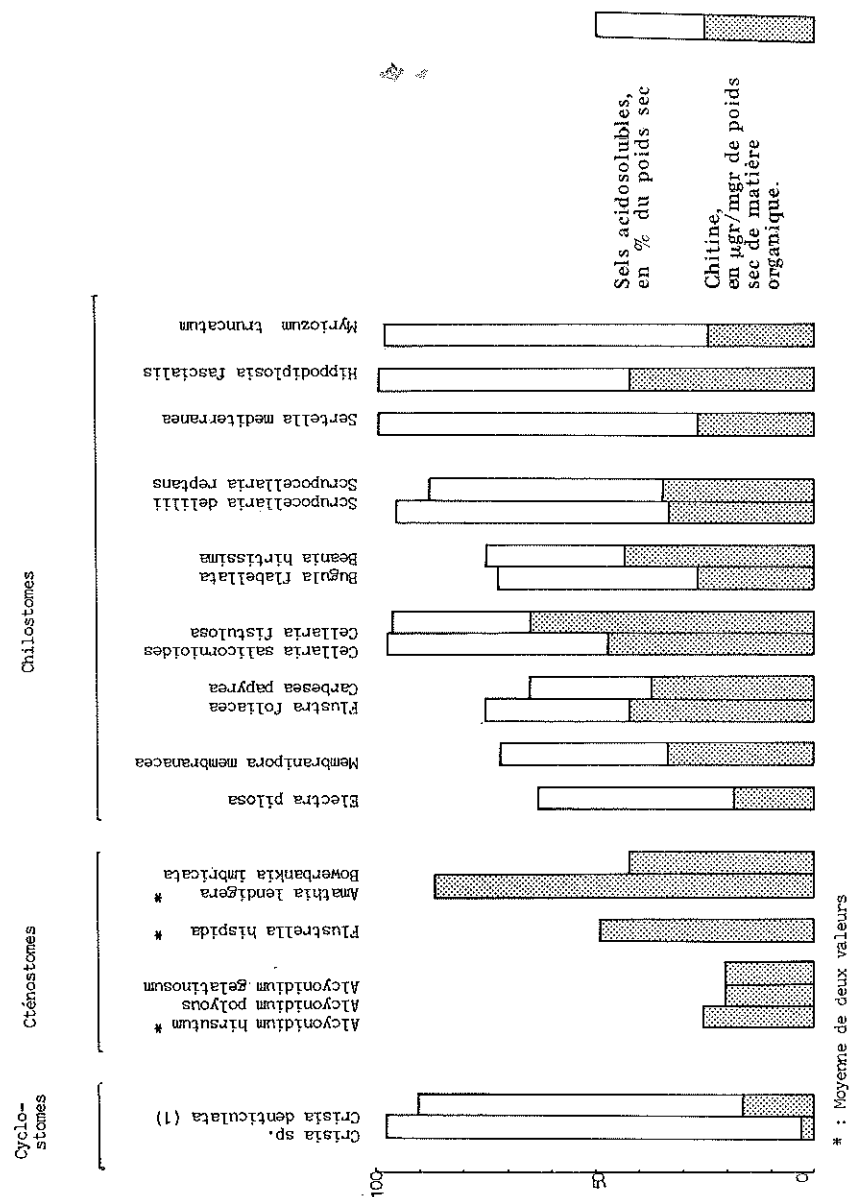


Fig. 1: Taux de calcification et teneur en chitine chez 21 espèces de Bryozoaires Gymnolèmes (d'après C. RADERMACHER et CH. JEUNIAUX, inédit).

La hauteur totale des rectangles correspond au

rella, *Thalamoporella*, *Membranipora*, *Conopeum*, *Hippothoa* et *Parasmittina*). Elle conclut de cette étude que, chez toutes ces espèces, « l'exosquelette tout entier est constitué de chitine », y compris, chez les Chilostomes, les aviculaires, Popercule et la membrane frontale. Seul, le Cyclostome *Crisia eburnea* donna un résultat négatif, que HYMAN se garda cependant de généraliser, souhaitant que d'autres espèces pussent être analysées auparavant.

Travaillant sur *Bugula turbinata* (Chilostome), et employant le même test du chitosane, SCHNEIDER (1957, 1958) arrivait aux mêmes conclusions quant à la présence de chitine dans l'ectocyste de cette espèce.

Un doute quant à la nature de la trame polysaccharidique persistait néanmoins après les travaux de SAUDRAY et BOUFFANDEAU (1955, 1958), qui, analysant plusieurs espèces (*Flustra foliacea*, *Bugula turbinata*, *Membranipora membranacea*) croyaient devoir conclure que l'ectocyste contient une substance « qui présente de nombreuses ressemblances avec la chitine, mais n'en est certainement pas, sa teneur en azote étant très supérieure à celle de la chitine des arthropodes considérée comme chitine de référence » (*l.c.*, 1958). Le résidu insoluble après traitement par une lessive de potasse à chaud contenait en effet 10.2 à 10.7 % d'azote.

Nous avons cependant pu confirmer définitivement la présence de chitine « authentique » dans l'ectocyste des Bryozoaires Ectoproctes au moyen de notre méthode enzymatique, appliquée à 3 espèces de Chilostomes (JEUNIAUX, 1963). Par la même occasion, nous avons montré la présence de chitine chez un Cyclostome (*Crisia denticulata*), mais en faible quantité (1.5 % du poids sec décalcifié), ce qui peut expliquer le résultat négatif obtenu par Miss HYMAN en appliquant le test du chitosane, beaucoup moins sensible.

Sur le plan quantitatif, les premières données sont dues aux travaux déjà cités de SCHNEIDER et de SAUDRAY et BOUFFANDEAU. SCHNEIDER (1957, 1958) obtient une proportion de chitine égale à environ 10 % du poids décalcifié, chez *Bugula turbinata*. SAUDRAY et BOUFFANDEAU (1958) donnent des valeurs comprises entre 15 et 20 % du poids décalcifié chez *Flustra foliacea*, *Membranipora membranacea* et *Bugula sp* ; ces valeurs sont assurément anormalement élevées, et probablement dues à des résidus de protéines liés à la chitine, comme le suggère la haute teneur en azote du résidu insoluble après traitement par KOH.

En utilisant la méthode enzymatique plus rigoureuse, nous avons constaté (JEUNIAUX, 1963), pour 3 espèces de Chilostomes, que la proportion de chitine était relativement basse (de 3.4 mg pour 100 mg de poids décalcifié chez *Scrupocellaria reptans* à 6.4 mg/100 mg chez *Cellaria fistulosa*). Dans un travail, actuellement sous presse, en collaboration avec Mademoiselle RADERMACHER, nous avons repris, au moyen de la méthode enzymatique, l'étude quantitative de la participation de la chitine à la constitution de la matrice

organique de l'ectocyste des Bryozoaires Gymnolèmes, chez 18 espèces différentes. Ces résultats, condensés dans la figure 1 où apparaît également le taux de calcification, confirment que la quantité de chitine est très faible chez les Cyclostomes, faible et de valeur assez constante dans l'ensemble des Chilostomes (entre 2.5 et 4.5 mg/100 mg de matière organique sèche). Chez les Cténostomes, la proportion de chitine semble plus variable. Elle passe de 2 à 2.5 % chez les Alcyonidiidae à 8.5 % chez un Vesiculariidae. Il faut évidemment rappeler que ces résultats quantitatifs sont exprimés par rapport au poids sec total du bryarium entier ou au poids de matière organique sèche après décalcification. Ces poids de référence comprennent donc non seulement le poids de l'ectocyste, mais aussi celui de tout ou partie des tissus vivants. Les valeurs présentées dans le tableau I sont donc des valeurs par défaut.

On n'observe donc aucune relation directe entre la proportion de chitine et le degré de calcification. De même, le caractère particulier de l'ectocyste des *Alcyonidium*, de consistance gélatineuse, n'est pas en relation avec un taux de chitine notablement différent de celui des autres espèces. Il est donc évident que c'est au niveau d'autres composants organiques qu'il faudra chercher l'explication des particularités de structure et de consistance du support squelettique du bryarium.

En conclusion, la distribution de la chitine est donc tout à fait générale chez les Bryozoaires Ectoproctes ; ce polysaccharide ne participe toutefois que dans une faible mesure (1 à 9 %) à l'édification de la matrice organique des ectocystes.

Ajoutons enfin que les proportions de chitine libre semblent varier considérablement, non seulement d'une espèce à l'autre, mais au sein de la même espèce, d'un échantillon à l'autre (RADERMACHER et JEUNIAUX, en préparation). Il est possible que le taux de chitine libre varie avec l'âge des cystides.

b) PROTÉINES.

Compte tenu de la faible quantité de chitine identifiée dans la matrice organique, on a admis volontiers que la fraction protéique de l'ectocyste devait être importante, mais celle-ci n'a d'abord fait l'objet que d'observations histochimiques (BOBIN, citée par BOBIN et PRENANT, 1968 ; LUTAUD, 1961). D'après GASSER (1962), les couches superficielles de l'ectocyste des Phylactolèmes présentent une réaction chromaffine suggérant l'existence de protéines tannées par des composés phénoliques, ce que BOBIN et PRENANT (1968) retrouvent chez divers Gymnolèmes. Pour KRISHNAN et RAJULU (1965), les protéines de l'ectocyste de *Scrupocellaria bertholeti* seraient constituées de collagène.

Il n'est pas étonnant de constater que l'analyse chimique des protéines cuticulaires des Bryozoaires n'ait guère tenté les chercheurs : il est en effet presque impossible de préparer, en quantité appréciable, des ectocystes débarrassés des tissus vivants.

Dans un volumineux travail consacré surtout à la fraction minérale, SCHOPF et MANHEIM (1967), paléontologues, publient cependant les premières informations quantitatives concernant la composition en acides aminés de la composante protéique de plusieurs espèces actuelles, sur la base d'analyses réalisées par E. T. DEGENS. Ces auteurs reconnaissent que les analyses portent à la fois sur les squelettes et les polypides, mais admettent néanmoins que la majeure partie des acides aminés dérive du squelette « because polypides remained in only a small percentage of the individual skeletons ». C'est évidemment faire bon marché des tissus vivants (ectoderme, mésoderme, funiculaire,...) des cystides.

Les résultats publiés par ces auteurs sont de ce fait difficiles à interpréter. Il faut tenir compte d'ailleurs d'une variation relativement importante d'un échantillon à l'autre pour une même espèce. Chez *Parasmittina nitida*, par exemple, le pourcentage molaire (c'est-à-dire le nombre de résidus d'acides aminés pour 100 acides aminés) varie de 16.3 à 21.8 pour l'acide aspartique, de 10.9 à 17.2 pour l'acide glutamique, de 2.0 à 4.6 pour l'arginine ; d'autres acides aminés par contre sont plus stables.

On peut cependant retenir les faits suivants :

a) On ne trouve de l'hydroxyproline (1.3 moles/100 moles) que chez *Bugula simplex*, ce qui suggère la présence de collagène (ce que proposent aussi KRISHNAN et RAJULU, 1965, pour *Scrupocellaria bertholeti*).

b) La composition en acides aminés des protéines de *Bugula simplex* et de *Tubulipora liliacea* est relativement semblable : la glycine est l'acide aminé le plus abondant (13 à 17 moles/100 moles) suivi de l'acide aspartique (10 à 12.5), l'acide glutamique (9 à 11), l'alanine (8.8 à 9.4), la sérine (5.8 à 10.0). Par contre, *Parasmittina nitida* se singularise par des proportions plus élevées de l'acide aspartique (16.3 à 22) et peut être aussi de l'acide glutamique (10 à 17).

c) Les acides aminés soufrés (cystéine et méthionine) sont présents, bien qu'en faible quantité (0.5 à 2.5 moles/100 moles dans chaque cas).

Les autres conclusions proposées par ces auteurs, suggérant une relation de la composition en acides aminés avec le degré de calcification, nous paraissent pour le moins prématurées.

Plus intéressante est l'analyse réalisée par HUNT (1972) sur *Frusta foliacea*, car l'ectocyste a été soigneusement débarrassé des tissus et des détritrus par un traitement prolongé aux ultrasons. Les résultats montrent une haute proportion de glycine (28.5 moles/100 moles d'acides aminés) ; viennent ensuite l'acide aspartique (14 moles/100) et l'acide glutamique (10.4 moles/100), suivis par la sérine (8.8) et l'alanine (8.4). Aucune trace de cystéine, de méthionine ni d'histidine n'a pu être décelée. Il s'agit donc de scléroprotéines, bien caractérisées par la haute teneur en glycine et par l'importance des acides

aminés non polaires, mais qui diffèrent néanmoins des autres protéines de structure des cuticules et coquilles d'Invertébrés, y compris celles des coquilles de Brachiopodes, soit par la haute teneur en glycine, soit par la haute teneur en acides aminés dicarboxyliques.

Sur la base du dosage des acides aminés, HUNT (1972) estime que la fraction protéique constitue 14 % du poids de l'exosquelette de la colonie, ce qui représente 93 % de la matrice organique.

Soulignons enfin que l'on ne sait rien de l'existence éventuelle de phénomènes de tannage quinonique, si ce n'est la réaction argentaffine observée par GASSER (1962) chez les Phylactolèmes.

c) MINÉRALISATION.

Cet aspect de l'analyse chimique du bryarium a fait l'objet d'une revue approfondie de la part de SCHOPF et MANHEIM (1967). Nous tenterons ici une courte synthèse des données principales.

Chez les Phylactolèmes, l'ectocyste n'est pratiquement pas minéralisé.

Chez les Gymnolèmes, les Cténostomes sont considérés comme non calcifiés, mais il est préférable de dire qu'on n'y connaît pas de cristallisations calcitiques caractérisées (BOBIN et PRENANT, 1968), encore que KRAEPELIN (1887) parle de grains de carbonate de calcium dans la paroi de *Paludicella*, et que LOMAS (1889) aurait observé des spicules calcaires dans la masse « gélatineuse » du bryarium de *Alcyonidium gelatinosum*. De toute manière, le bryarium des Cténostomes contient des quantités variables (mais toujours inférieures à 25 % du poids sec) de carbonates et de phosphates de calcium et de magnésium, peut-être aussi de sulfates de calcium (CLARKE et WHEELER, 1922 ; SAUDRAY et BOUFFANDEAU, 1958).

L'ectocyste des Cyclostomes est toujours fortement minéralisé (en moyenne : 97 % du poids sec total sont dus aux sels minéraux). D'après CLARKE et WHEELER (1922), il s'agit presque exclusivement de CaCO_3 chez *Fron dipora verrucosa*, mais, chez d'autres genres (*Crisia*, *Idmonea*, *Tubulipora*) on trouve de 4 à 5 % de MgCO_3 et 0.4 à 0.6 % de SrCO_3 (SCHOPF et MANHEIM, 1967).

Ce sont évidemment les Chilostomes qui ont été le plus étudiés. Dans leur synthèse des nombreuses données disponibles, SCHOPF et MANHEIM (1967) proposent de distinguer, outre les Bryozoaires non ou très peu minéralisés (Phylactolèmes et Cténostomes) (« Groupe I »), les Bryozoaires dont le taux de minéralisation se situe entre 50 et 75 % (« Groupe II »), et ceux chez lesquels ce taux dépasse 75 % (« Groupe III »). Suivant ces auteurs, le « groupe II » comprendrait surtout des genres dont le bryarium est dressé et ramifié (« bushlike » ; exemple : *Bugula*) ; la fraction minérale comporte du CaCO_3 , uniquement sous forme de calcite, ainsi que des phosphates en quantité appréciable. La quantité de MgCO_3 est relativement élevée (9 à 13 %) tandis que la teneur en SrCO_3 ne dépasse pas 0.5 %. La présence de sels de Fe dépend principalement des conditions du milieu.

Le « groupe III » comprend, outre les Cyclostomes, les Chilostomes les plus calcifiés « that require free stable surfaces for growth » (*Cryptosula*, *Flustra*, *Membranipora*, *Parasmittina*, *Schizoporella*, etc.). Le CaCO_3 existe soit sous forme aragonitique, soit sous forme calcilique. En général, la teneur en phosphates y est plus faible. On y trouve également SrCO_3 et MgCO_3 , dont les proportions varient suivant la nature cristallographique du CaCO_3 : les exosquelettes purement aragonitiques contiennent plus de SrCO_3 ($\pm 1.4\%$) et moins de MgCO_3 ($\pm 0.6\%$) tandis que l'on constate l'inverse dans les exosquelettes purement calcitiques.

La localisation des dépôts minéraux a fait l'objet de controverses. Il semble bien (BOBIN et PRENANT, 1968) que la cuticule minéralisée est recouverte d'une pellicule externe non calcifiée, et que le calcaire occupe toute l'épaisseur de la couche profonde, du moins chez *Electra verticillata*, sauf au niveau de l'aréa membraneuse.

d) STATOBLASTES.

L'enveloppe des statoblastes est un autre type de structure anhiste, propre aux Phylactolèmes ; elle est élaborée par des cellules ectodermiques. L'enveloppe des statoblastes est réputée de nature chitineuse. C'est ce que semble confirmer l'observation de HYMAN (1958) qui constate que le « flotteur » de *Pectinatella magnifica* résiste à un traitement par KOH saturé à 160°C , et donne une réaction nettement positive au test du chitosane. La méthode enzymatique montre toutefois que la teneur en chitine est faible (0.5 à 0.6 % du poids total des statoblastes de *Plumatella repens* (GOETHALS et VOSS-FOUCART, en préparation).

4. — Les Brachiopodes.

La subdivision de la classe des Brachiopodes sur la base des relations mécaniques entre les deux valves sépare également deux types d'organisation chimique nettement distincts. Les Articulés ont une coquille bivalve fortement calcifiée par du CaCO_3 , et dont la matrice organique ne représente que 0.5 % du poids ; elle est de nature protéique et ne contient pas de chitine. Au contraire, les Inarticulés ont une coquille bivalve moins fortement minéralisée, contenant surtout des phosphates de calcium ; la matière organique représente près de 35 % du poids, dont près d'un tiers est constitué par de la chitine (sauf dans une famille). Examinons plus en détail les particularités chimiques de ces deux types de coquilles et des autres formations anhistes de l'ectoderme.

a) VALVES COQUILLIÈRES.

L'absence de chitine dans les valves coquillières des Articulés est connue depuis longtemps sur la base de la réaction négative au test du chitosane (WESTER, 1910 ; KUNIKI, 1925 ; HYMAN, 1958). Ces observations ont été confirmées par l'absence de libération d'acétyl-

glucosamine sous l'action des chitinases purifiées (JEUNIAUX, 1963). Les faibles valeurs de glucosamine observées par JOPE (1965) dans des hydrolysats acides ne peuvent pas être interprétés comme indiquant nécessairement la présence de traces de chitine, la glucosamine pouvant provenir d'autres constituants organiques.

Par contre, la composition de la coquille des Inarticulés est moins homogène. Au moyen du test du chitosane, HYMAN (1958) a confirmé l'opinion classique au sujet de la nature chitineuse de la coquille de *Lingula* sp., et obtint également un résultat positif avec celle de *Discinisca lamellosa*. Par contre, le test du chitosane reste négatif avec la coquille de *Crania anomala*.

Nous avons confirmé la présence de chitine dans les valves de *Lingula anatina* par la méthode enzymatique ; la proportion de chitine est de 7.84 % du poids sec total, soit 29 % du poids de la matière organique, ce qui est remarquablement élevé.

Pour autant que la glucosamine dosée par chromatographie dans des hydrolysats acides de coquilles (JOPE, 1965) puisse être attribuée à la chitine, on peut calculer des proportions de chitine du même ordre de grandeur pour *Glottidia pyramidata*, et des quantités 2 à 5 fois plus faibles chez *Discinisca lamellosa*. Les hydrolysats de coquilles de *Crania anomala* contiennent très peu ou pas de glucosamine.

La chitine de la coquille se présente sous la forme cristalline β (RUDALL, 1955). Elle est présente au niveau de la couche principale comme au niveau du périostracum, où PETERS (1967) a montré l'existence d'un réseau de microfibrilles chitinoprotéiques.

La fraction protéique des coquilles a été étudiée de façon très approfondie par Margaret JOPE (1967 a et b ; 1969 ; 1973 ; 1977). La majeure partie de cette fraction protéique peut être mise en solution dans l'urée 8 M, ce qui suggère que les protéines sont liées entre elles principalement par des ponts hydrogène.

Il existe de profondes différences entre la composition en acides aminés des protéines des coquilles chez les Brachiopodes, non seulement en fonction de la position systématique, mais aussi en fonction de la strate considérée.

Les protéines du périostracum ont une composition fort semblable dans les divers groupes de Brachiopodes et sont tannées par des ponts quinoniques. Les protéines des couches calcifiées sont des scléroprotéines présentant une haute proportion de glycine, mais c'est à peu près le seul caractère qu'elles ont en commun. JOPE (1977) a résumé les principaux résultats qu'elle a obtenus en un tableau synthétique, dont nous reproduisons les conclusions principales dans le tableau I. On y voit que les protéines des strates coquillières constituent un excellent caractère taxonomique biochimique, confirmant la profonde séparation entre Articulés et Inarticulés, et mettant en évidence l'isolement des Craniidae au sein de cette deuxième sous-classe. Les protéines coquillières des Articulés ont une haute teneur en glycine, et ne contiennent pas d'hydroxyproline ; les principaux groupements N-terminaux sont constitués par de l'histidine. Les pro-

téines coquillières des Inarticulés, au contraire, contiennent de l'hydroxyproline, contiennent relativement peu de glycine, et beaucoup d'alanine, et leurs groupements N-terminaux sont principalement constitués par l'arginine. Les Craniidae présentent des caractères intermédiaires. JOPE (1977) souligne que la présence de protéines contenant de l'hydroxyproline va de pair avec la minéralisation par dépôts de phosphates.

TABLEAU I.

Quelques caractères biochimiques comparés des coquilles des Brachiopodes (légèrement modifié d'après JOPE, 1977).

	Articulés	Inarticulés	
		Crania	Autres
CALCIFICATION :			
CaCO ₃	+	+	-
Phosphates	-	-	+
CHITINE	-	- ou + ?	+
PROTÉINES (composition en acides aminés)			
Hydroxyproline	-	-	+
Alanine >	-	-	+
Glycine <	-	+	+
Asparagine >	-	+	-
Sérine >	-	+	-
Principaux groupements N-terminaux			
Histidine	+	+	-
Arginine	-	-	+

> : proportion élevée, en moles pour 100 moles d'acides aminés.
< : proportion faible, idem.

b) CUTICULE DU PÉDONCULE.

Chez les Articulés comme chez les Inarticulés, le pédoncule (quand il existe) est entouré d'une gaine cuticulaire, même au niveau des prolongements filamenteux par lesquels le pédoncule prend ancrage sur le substrat. Cette gaine cuticulaire est de nature chitineuse chez tous les Brachiopodes examinés à ce point de vue. Cette conclusion est basée sur l'analyse de la diffraction des rayons X (chitine « β » ; RUDALL, 1955), sur la réaction positive au test du chitosane (HYMAN, 1958), sur l'hydrolyse en acétylglucosamine sous l'action des chitinases purifiées (JEUNIAUX, 1963) et sur la libération de glucosamine par hydrolyse acide (JOPE, 1965). Ces deux dernières méthodes permettent de mesurer la teneur en chitine : 3.8 % du poids sec total

de la cuticule du pédoncule chez *Terebratulina caput-serpentis* (JEUNIAUX, 1963), mais 20 à 26 % chez *Lingula sp.* et *Glottidia pyramidata* (JOPE, 1965), si l'on admet que la glucosamine de l'hydrolysate acide provient toute de la chitine.

c) SOIES.

Le manteau des *Lingula* porte des soies qui présentent beaucoup d'analogies avec celles des Annelides Polychètes. Le spectre de diffraction des rayons X (RUDALL, 1965) suggère que ces soies contiennent de la chitine, comme celles des Polychètes.

5. — Endoproctes.

La position phylétique des Endoproctes est une des plus controversées. Il était donc tentant de tirer argument de la composition chimique de la cuticule du pédoncule et du calice. Les données disponibles jusqu'ici, basées sur des réactions de coloration peu spécifiques, suggéraient que la cuticule des Endoproctes était uniquement protéique, et dépourvue de chitine (KUNIKI, 1925 ; HYMAN, 1956). Une étude plus minutieuse, basée notamment sur l'emploi de chitinases purifiées comme réactif spécifique, a montré la présence de chitine dans la cuticule d'*Urnatella gracilis*, de *Pedicellina cernua* et de *Barentsia gracilis* (BAY, 1969 ; BAY et JEUNIAUX, en préparation). La proportion de chitine est toutefois particulièrement faible (0.45 mg/100 mg chez *Urnatella gracilis* et 0.06 mg/100 mg chez *Pedicellina cernua*). L'application de tests histochimiques (réactions chromaffine et argentaffine, méthode de l'azan) indique que la cuticule est principalement constituée de protéines, localement tannées, probablement par des ponts quinoniques (BAY, 1969).

7. — Conclusions.

Le tableau II résume très schématiquement l'état de nos connaissances sur la composition chimique des divers types de formations anhistes élaborées par des Lophophoriens.

Les Lophophoriens ont réalisé une étonnante variété de structures anhistes d'origine épidermique, à fonction de protection exosquelettique, qui convergent avec des types d'exosquelettes que l'on trouve dans d'autres groupes zoologiques, où ils sont alors exploités de manière exclusive. Cette remarquable radiation adaptative des structures exosquelettiques n'a d'égale que celle que l'on observe chez les Cnidaires.

En effet, les Lophophoriens élaborent soit des tubes, soit des cuticules d'une seule venue, qui constituent l'enveloppe des individus mais aussi le support collectif des colonies, soit encore des coquilles bivalves, et même des soies.

Ces formations exosquelettiques diffèrent presque autant les unes des autres du point de vue chimique que du point de vue morpholo-

TABLEAU II.
Synthèse des connaissances actuelles sur la composition chimique des formations cuticulaires et exosquelettiques des Lophophoriens.

	% poids sec			Acides aminés protéiques : moles/100 moles							Chitine % mat. organ.	
	Sels minéraux			Protéines	OH-Pro	Glu	Asp	Ala	Gly	Ser		Thr
	CaCO ₃	-PO ₄	MgCO ₃									
Phoronidiens	0	0 ?	0 ?	+								13.5
Bryozoaires	0	0 ?	0 ?	+								18
ectocyste	95	0.5	4	+								1
Ctenostomes	20	?	?	+							4	2-9
Chilostomes	80-98	0-5	1-12	14	0	10	14	8	29	9	4	2-4.5
Brachiopodes												
coquille		75		20 ?	4-13	5	11	18	13-22	6	3	29
		?		20 ?	0	9	18	6	14	13	5	0 ?
				1	0	6	10	5-10	19-40	7	4	0
cuticule				+								20-26
pédoncule				+								3.8
soies				+								+

gique et fonctionnel. Si la tendance générale est l'utilisation d'une trame organique chitinoprotéique, on trouve néanmoins des exceptions chez les Brachiopodes. Les proportions de chitine et de protéines varient énormément : la teneur en chitine, par rapport à la matière organique, représente moins de 1 % chez les Cyclostomes, mais atteint près de 30 % dans la coquille et la cuticule du pédoncule des Brachiopodes Inarticulés, soit autant que dans la cuticule de beaucoup d'Insectes.

Les protéines de structure sont encore bien mal connues ; le peu qu'on en sait indique déjà de profondes différences de composition et, probablement, de propriétés.

Quant à la fraction minérale, quand elle existe, elle est à base de carbonate de calcium cristallisant soit en aragonite soit en calcite, ou à base de Ca₃(PO₄)₂, voire de MgCO₃ et même d'hydroxyapatite. Il n'y a guère que l'utilisation de silice qui n'ait pas tenté les Lophophoriens.

Il est donc impossible, dans cet état de nos connaissances, de faire usage des caractères de la composition chimique des exosquelettes pour tenter de discuter les relations phylétiques des Lophophoriens entre eux et avec les autres phylums du règne animal. La nature chitineuse des exosquelettes de la plupart des Lophophoriens ne peut être invoquée comme un argument à l'encontre d'un rapprochement avec les Endoproctes, dont la cuticule du pédoncule contient de la chitine, en faible quantité il est vrai, mais pas beaucoup moins que celle des Cyclostomes. Par ailleurs, la nature souvent chitineuse des formations cuticulaires des Lophophoriens les montre, sous cet aspect, bien différents des Stomochordés.

Il faudra attendre l'isolement des protéines cuticulaires et l'identification des séquences d'acides aminés pour trouver, au niveau de la composition chimique, un éventuel fil conducteur phylétique entre ces groupes énigmatiques.

Laboratoires de Morphologie, Systématique et Ecologie animales,
Institut de Zoologie, Université de Liège, Quai Van Beneden, 22,
B-4020 Liège, Belgique.

BIBLIOGRAPHIE.

- BAY, D. (1969). — Morphologie et composition chimique des structures cuticulaires de quelques Endoproctes. *Mémoire Lic. Sc. Zoologiques, Univ. de Liège*, 82 pp.
- BAY, D. et JEUNIAUX, Ch. (1981). — Localisation et importance quantitative de la chitine chez trois espèces d'Endoproctes, *en préparation*.
- BUSSERS, J. C. et JEUNIAUX, Ch. (1973). — Structure et composition de la cuticule de *Macrobotus* sp. et de *Milnesium tardigradum*. *Ann. Soc. Roy. Zool. Belg.*, 103, 271-279.
- BOBIN, G. et PRENANT, M. (1968). — Sur le calcaire des parois autozoéciales d'*Electra verticillata* (Eil. et Sol.), bryozoaire chilostome, *anasca*. *Arch. zool. exp. gén.*, 109, 157-191.

- CAMPBELL, F. L. (1929). — The detection and estimation of insect chitin, and the relation of chitinization to hardness and pigmentation of the cuticula of the American Cockroach. *Periplaneta americana* L. *Ann. entom. Soc. Am.*, 22, 401-426.
- CLARKE, F. W. et WHEELER, W. C. (1922). — The inorganic constituents of marine invertebrates. *U.S. Geol. Survey Prof. Paper*, 124, 62 pp.
- DEFRETIN, R. (1971). — The tubes of Polychaete Annelids, in Florin et Stotz, éd., *Comprehensive Biochemistry*, 26 C, 713-747.
- FOUCART, M. F., BRICTEUX-GREGOIRE, S. et JEUNIAUX, Ch. (1965). — Composition chimique du tube d'un Pogonophore (*Siboglinum* sp.) et des formations squelettiques de deux Ptérobranches. *Sarsia*, 20, 36-41.
- GASSER, F. (1962). — L'épiderme du cystide de *Plumatella repens* (L.) (Bryzoaire Phylactolème). Précisions histologiques, cytologiques et histochimiques. *Arch. Zool. exp. gén.*, 101, 1-13.
- HUNT, S. (1972). — Scleroprotein and chitin in the exoskeleton of the ectoproct *Flustra foliacea*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 43 B, 571-577.
- HYMAN, L. H. (1958). — The occurrence of chitin in the Lophophorate phyla. *Biol. Bull.*, 114, 106-112.
- JEUNIAUX, Ch. (1963). — *Chitine et chitinolyse*. Paris, Masson éd., 183 pp.
- JEUNIAUX, Ch. (1964). — Chitine « libre » et chitine « masquée » dans les structures squelettiques d'invertébrés. *Arch. Internat. Physiol. Bioch.*, 72, 329-330.
- JEUNIAUX, Ch. (1965). — Chitine et phylogénie : application d'une méthode enzymatique de dosage de la chitine. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 47, 2267-2278.
- JEUNIAUX, Ch. (1975). — Principes de Systématique biochimique et application à quelques problèmes particuliers concernant les Aschelminthes, les Polychètes et les Tardigrades. *Cahiers Biol. Marine*, 16, 597-612.
- JOPE, M. (1965). — Composition of Brachiopod Shell. in « *Treatise on Invertebrate Paleontology* », Moore R. C. édité, Vol. H (Brachiopoda), 156-164, Univ. of Kansas Press, Kansas.
- JOPE, M. (1967 a). — The protein of Brachiopod shell. I : Amino acid composition and implied protein taxonomy. *Comp. Biochem. Physiol.*, 20, 593-600.
- JOPE, M. (1967 b). — The protein of Brachiopod shell II : Shell protein from fossil Articulates : amino acid composition. *Comp. Biochem. Physiol.*, 20, 601-605.
- JOPE, M. (1969). — The protein of Brachiopod shell. III. Comparison with structural protein of soft tissue. *Comp. Biochem. Physiol.*, 30, 209-224.
- JOPE, M. (1973). — The protein of Brachiopod shell. V : N-terminal end groups. *Comp. Biochem. Physiol.*, 45 B, 17-24.
- JOPE, M. (1977). — Brachiopod Shell Proteins : Their Functions and Taxonomic significance. *Amer. Zool.*, 17, 133-140.
- KRAEPELIN, K. (1887). — Die deutschen Süßwasser bryozoen. I : Anatomischer systematischer Teil. *Abh. Geb. Naturw. Ver. Hamburg.*, 10, 1-168.
- KRISHNAN, G. and RAJULU, G. S. (1965). — Nature and composition of the cuticle of the ectoproct polyzoan *Scrupocellaria bertholeti*. *Biol. Zbl.*, 84, 359-369.
- KUNIKE, G. (1925). — Nachweis und Verbreitung organischer Skeletsubstanzen bei Tieren. *Z. Vergl. Physiol.*, 2, 233-253.
- LOMAS, J. (1889). — On the occurrence of internal calcareous spicules in Polyzoa. *Proceed. Liverpool Geol. Soc.*, 5, 241-243.
- LUTAUD, G. (1951). — Contribution à l'étude du bourgeonnement et de la croissance des colonies de *Membranipora membranacea* (L.) (Bryzoaire chilostome). *Ann. Soc. Roy. Zool. Belg.*, 91, 1-151.
- PETERS, W. (1967). — Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Chitinhaltigen Strukturen. *Verh. Deutsch. Zool. Ges. Heidelberg.*, 681-695.

- RICHARDS, A. G. (1951). — *The integument of Arthropods*, Univ. of Minnesota Press, Minneapolis, 411 pp.
- RUDALL, K. M. (1955). — The distribution of collagen and chitin. in R. Brown and J. F. Danielli (eds) : *Fibrous proteins and their biological significance. Symposia Soc. Expt. Biol.*, 9, 49-71.
- SAUDRAY, Y. et BOUFFANDEAU, M. (1955). — Quelques données sur la composition chimique du système tégumentaire de deux Bryozoaires Gymnolémides : *Membranipora membranacea* et *Flustra foliacea*. *C. R. Soc. Biol.*, 149, 1901-1903.
- SAUDRAY, Y. et BOUFFANDEAU, M. (1958). — Sur la composition chimique du système tégumentaire de quelques Bryozoaires. *Bull. Inst. Océanogr. Monaco*, n° 1119, 1-13.
- SCHNEIDER, D. (1957). — Orientiertes Wachstum von Calcit-Kristallen in der Cuticula mariner Bryozoen. *Verhandl. Deutsch. Zool. Gesell. Groz.*, 250-255.
- SCHNEIDER, D. (1958). — Calcitwachstum und Phototropismus bei *Bugula* (Bryozoa). *Institut f. d. Wissenschaftlichen Film*, B. 762, 1-14.
- SCHOPF, T. J. M. et MANHEIM, F. T. (1967). — Chemical composition of Ectoprocta (Bryozoa). *J. Paleontol.*, 41, 1197-1225.
- SUNDARA-RAJULU, G., JEUNIAUX, Ch., POULICEK, M. et VOSS-FOUCART, M. F. — Sur les limites d'interprétation du test du chitosane pour l'identification de la chitine (en préparation).
- VOVELLE, J. (1965). — Le tube de *Sabellaria alveolata* (L.). *Arch. Zool. Expt. Gén.*, 106, 1-180.
- WESTER, D. H. (1910). — Ueber die Verbreitung und Lokalisation des Chitins im Tierreiche. *Zool. Jahrb. Syst.*, 28, 531-588.

Addendum :

Depuis le dépôt du manuscrit de cette revue, le Bryzoaire Phylactolème *Plumatella repens* a fait l'objet de nouvelles observations dans notre laboratoire. La teneur en chitine de l'ectocyste, mesurée par la méthode enzymatique, est nettement plus élevée que chez les Gymnolèmes (18 % du poids sec de l'ectocyste isolé : GÆTHALS et VOSS-FOUCART, inédit).