

LA CHITINE DANS LE RÈGNE ANIMAL.

PAR

Charles JEUNIAUX.

La chitine, haut polymère linéaire β -1,4 de la N-acétyl-D-glucosamine, est largement utilisée dans le règne animal comme trame organique de structures exosquelettiques et cuticulaires. Une méthode enzymatique, rigoureusement spécifique, permet de détecter la chitine, de mesurer son importance quantitative, et de reconnaître l'existence de liaisons avec d'autres constituants (chitine « masquée » et chitine « libre »). Elle se présente principalement sous forme de microfibrilles (complexes glycoprotéiques).

La chitine participe à l'édification de structures diverses élaborées par les Protozoaires, surtout Ciliés (membranes kystiques, fourreaux). Chez les Métazoaires Diblastiques, elle est sécrétée par l'ectoderme de la grande majorité des Hydrozoaires, de quelques Octocoralliaires et Scyphozoaires (scyphistome). Elle manque totalement chez les Spongiaires et Cténaïres.

La chitine est fréquemment élaborée par l'ectoderme des Triblastiques Spiralia, tant Pseudocoelomates (surtout au niveau des enveloppes des œufs) que Coelomates Protostomiens (dans les cuticules, coquilles, soies, opercules, écailles, spicules, etc...), à l'exception des Siponculiens. On ne connaît par contre aucun cas de sécrétion de chitine chez les Acoelomates. La membrane péritrophique des Arthropodes et des Annélides est la seule structure chitineuse qui semble d'origine endodermique, de même que diverses formations cuticulaires de l'estomac de nombreux Mollusques.

Si la chitine est très souvent sécrétée par l'ectoderme des Lophophoriens (tubes, ectocystes, coquilles), des Pogonophores et des Chaetognathes, elle manque par contre chez tous les Echinodermes, Stomocordés et Cordés, sauf au niveau de la membrane péritrophique des Tuniciers.

La biosynthèse de la chitine est donc un caractère biochimique que l'on doit utiliser avec prudence dans les problèmes de phylogénie et de parenté systématique.

Chitin in the animal kingdom.

Chitin, a high linear polymer composed of N-acetylglucosamine residues attached by β -1,4 glycosidic linkages, is often used in the animal kingdom as an organic support of cuticular and exoskeletal structures. A specific enzymatic method allows the detection and quantitative measurement of chitin, and may be suitable for pointing out the existence of some linkage to other constituents (« free » and « bound » chitin). Chitin is mainly organised, at the ultrastructural level, in microfibrils (glycoprotein complex).

Chitin is a constituent of diverse structures, built up by Protozoa, mainly Ciliates (kystic membranes, sheaths). In Diblastic Metazoa,

chitin is secreted by the ectoderm of most Hydrozoa and of some Octocorallia and Scyphozoa, but is completely lacking in Porifera and Ctenophora.

Among Triblastic Metazoa, chitin is frequently secreted by the ectoderm of Spiralia, as well Pseudocoelomates (mainly in egg envelopes) as Protostomian Coelomates (in cuticles, shells, setae, operculae, scales, spicules, etc.), with the exception of Sipunculida. Chitin does not seem to be secreted at all by Acoelomates. Peritrophic membranes of Arthropoda and Annelida seem to be of endodermic origin, as well as different types of cuticular formations in the stomach of many Molluscs.

Chitin is a frequent constituent of ectodermic productions in Lophophorates (tubes, ectocyst, shells), in Pogonophora (tubes) and in Chaetognatha. The secretion of this polysaccharide is entirely lacking in Echinoderms, Stomochordates and Chordates, with the remarkable exception of the peritrophic membrane in Tunicates.

Chitin biosynthesis thus appears as a biochemical characteristic, which must be used with care when discussing the systematic position and phylogenetic relationships.

Introduction.

Depuis la publication de mon ouvrage « Chitine et chitinolyse » (JEUNIAUX, 1963), les recherches sur la chitine n'ont cessé de se développer. L'intérêt manifesté pour l'étude de la chitine tant par les chimistes et les physiciens que par les biologistes et les biochimistes s'est encore singulièrement accru depuis que diverses applications industrielles de ce polysaccharide et de ses dérivés se sont révélées prometteuses, voire même rentables (pour revue, voir MUZZARELLI, 1977), au point de justifier l'organisation d'une conférence internationale sur la chitine et le chitosane (MUZZARELLI et PARIZER, 1978). Il était donc opportun de faire un nouveau point de nos connaissances sur la distribution, le rôle et l'importance quantitative de la chitine dans le règne animal, et je remercie les organisateurs des journées de la Société Zoologique de France à Dijon de m'avoir invité à traiter ce sujet dans le cadre d'un colloque sur « le tégument et le squelette chez les Invertébrés ». L'ampleur du sujet ne me permettra toutefois que d'évoquer les aspects chimiques, physicochimiques et ultrastructuraux, plus amplement discutés ailleurs (JEUNIAUX, 1971 a ; HUNT, 1970 ; MUZZARELLI, 1977), pour consacrer l'essentiel de cette revue à préciser la distribution zoologique de la chitine et la localisation des structures de nature chitineuse, que je situerai principalement dans une perspective phylogénétique, autant qu'il est possible.

J'aimerais donc commencer cette revue sans autre préambule, mais je ne puis m'abstenir de regretter, une fois de plus, l'ignorance manifestée par certains zoologistes pour les propriétés de la chitine et pour la définition chimique de ce terme. Qu'on ait employé, dans le passé, des termes vagues comme « chitinoïde » ou « pseudochitine » pour désigner la nature de structures anhistes mal connues, on peut le comprendre. Mais il est regrettable que des zoologistes,

des entomologistes ou des paléontologues continuent à qualifier de « chitinisées » des structures qui sont en réalité sclérifiées ou durcies, ou s'obstinent à considérer que « chitine » est synonyme de « cuticule », quand celle-ci possède certaines propriétés de résistance ou de colorabilité.

La chitine est un haut polymère linéaire de la N-acétyl-D-glucosamine, où les unités sont liées par des ponts covalents β -1,4 glycosidiques (nonobstant la possibilité de liaisons hydrogène intramoléculaires, et la possibilité de l'existence de restes de glucosamine à la place de la N-acétylglucosamine, en quantité variable). La chitine, ainsi définie, n'a aucune des propriétés des cuticules d'insectes : elle n'est ni dure, ni rigide, ni élastique, ni imperméable. Ce sont les protéines ou lipoprotéines qui lui sont associées qui confèrent ces qualités à certains types de cuticules chitineuses.

Précisons que le qualificatif « chitineux » signifie simplement « qui contient de la chitine » et n'implique nullement qu'il puisse s'agir d'une structure constituée exclusivement de chitine.

Méthodes pour la caractérisation et le dosage de la chitine.

La seule méthode disponible fut pendant longtemps la méthode de CAMPBELL (1929) dite « du chitosane ». Elle fut employée avec succès par divers auteurs pour une étude qualitative de la présence de chitine dans des structures anhistes (HYMAN, 1958). Cette méthode manque malheureusement de spécificité, et donne parfois des résultats fallacieux notamment lorsque la quantité de chitine est faible, ou en présence de certaines associations de protéines et de sucres aminés (SUNDARA-RAJULU, JEUNIAUX, VOSS-FOUCART et POULICEK, 1982).

La diffraction des rayons X (RUDALL, 1963) permet de reconnaître avec certitude la présence de chitine dans les structures où elle est présente en quantité suffisante. Cette méthode permet en outre de distinguer les trois variétés cristallographiques α , β et γ sous lesquelles la chitine peut se présenter, suivant l'orientation des chaînes macromoléculaires au sein du microcristallite (RUDALL, 1962, 1963). Cette méthode spécifique ne permet toutefois pas de mesurer la quantité de chitine présente dans la structure étudiée.

Le spectre infrarouge de la chitine (DARMON et RUDALL, 1950 ; PEARSON et al., 1960) semble assez caractéristique pour que cette méthode puisse également être utilisée pour mettre la chitine en évidence, mais c'est aussi une méthode purement qualitative.

L'hydrolyse acide de la chitine libre de la glucosamine, qu'on peut doser par colorimétrie ou par chromatographie sur colonne de résine échangeuse d'ions, mais la glucosamine peut provenir d'autres substances, polysaccharides ou glycoprotéines notamment, ce qui prive cette méthode analytique de toute spécificité !

L'hydrolyse enzymatique de la chitine, au contraire, est une réaction hautement spécifique, qui de plus permet de réaliser un dosage

quantitatif. Les chitinases purifiées n'hydrolysent en effet que les poly- β (1,4)-N-acétylglucosaminoglycanes, c'est-à-dire la chitine. Des chitinases ont été hautement purifiées à partir de filtrats de culture de diverses espèces de *Streptomyces* (BERGER et REYNOLDS, 1958 ; JEUNIAUX, 1957, 1958, 1959) ou d'*Aspergillus* (OTAKARA, 1961 a et b). Elles hydrolysent la chitine à pH 5.2 jusqu'au stade chitobiose ou chitotriose (BERGER et REYNOLDS, 1958, JEUNIAUX, 1963). Ces oligomères peuvent ensuite être hydrolysés par des chitobiasés (ou β -N-acétylglucosaminidases) en N-acétyl-D-glucosamine libre, qu'on dose spécifiquement par une méthode colorimétrique au moyen de diméthyl-para-aminobenzaldéhyde, par exemple celle de REISSIG et al. (1955). Plusieurs incubations successives, avec renouvellement de la solution de chitinase, peuvent être nécessaires pour obtenir l'hydrolyse complète du matériel étudié. C'est sur ce principe qu'est basée la méthode enzymatique que nous avons mise au point (JEUNIAUX, 1963, 1965), et que nous avons utilisée systématiquement pour l'étude de la localisation et de l'importance quantitative de chitine. Compte tenu de la présence possible de résidus non acétylés dans la molécule de chitine, cette méthode fournit des valeurs par défaut.

Il convient d'insister sur le fait que l'action des chitinases purifiées sur une structure anhiste « native » (intacte) se limite à l'hydrolyse de la chitine « libre ». La plupart des molécules de chitine sont protégées de l'hydrolyse enzymatique par d'autres substances (notamment protéines et sels calcaires) ; cette fraction « liée » de la chitine ne peut être hydrolysée par les chitinases purifiées qu'après « démasquage » préalable, par décalcification et traitement par des alcali dilués (NaOH 0.5 N) à 100°C (JEUNIAUX, 1963, 1964, 1982a). Nous reviendrons sur ce point dans un paragraphe suivant.

La méthode enzymatique peut également être employée comme microméthode qualitative, lorsque la quantité de matériel disponible est très faible. On se borne dans ce cas à contrôler, sous le microscope optique ou même électronique, la résistance du matériel étudié après traitement par NaOH à chaud, en repérant la structure résistante par une coloration signalétique, par exemple au Rouge Congo, et à observer son hydrolyse dans une solution de chitinases purifiées à pH 5.2 (JEUNIAUX, 1963 ; DEPORTERE et MAGIS, 1967).

Signalons enfin l'intérêt d'une méthode microfluorimétrique, mise au point tout récemment, basée sur l'affinité de dérivés fluorescents des agglutinines du germe de blé (WGA) pour la N-acétyl-D-glucosamine (BURGER et GOLDBERG, 1973) et pour son polymère, la chitine (PRIVAT *et al.*, 1974), même lié à d'autres constituants organiques comme dans les cuticules fortement sclérifiées (MAUCHAMP et SCHREVEL, 1977). Cette technique permet notamment la localisation directe de la chitine sur coupes par observation au photomicroscope à fluorescence.

La chitine au niveau ultrastructural.

Beaucoup de structures chitineuses étudiées jusqu'ici au niveau ultrastructural ont révélé l'existence d'un feutrage microfibrillaire.

Ces microfibrilles, dont le diamètre varie de 2.4 à 5 nm ont été bien observées et décrites non seulement dans la cuticule des Insectes et des Crustacés (LOCKE, 1964 ; RUDALL, 1965 ; BOULIGAND, 1965 ; NEVILLE, 1970 ; BLACKWELL et WEIH, 1980) mais aussi dans le flotteur de *Velella* (PETERS, 1967), dans la nacre des coquilles de Mollusques (GOFFINET, 1969 ; PETERS (1967), dans les membranes péritrophiques d'Arthropodes et de Tuniciers (PETERS, 1966, 1967, 1968), dans le tube d'un Pogonophore (BLACKWELL et al, 1965) ainsi que chez des Diatomées (BLACKWELL, et al, 1967).

Cette organisation correspond incontestablement à un complexe macromoléculaire chitinoprotéique. Dans le cas de la membrane péritrophique des Insectes comme dans celui de la nacre du Nautilé, la déprotéinisation partielle (par les alcali à chaud ou par protéolyse enzymatique) laisse en place les microfibrilles, que les chitinases purifiées dégradent ensuite rapidement (GOFFINET, 1969). Les fibrilles de chitine sont donc incluses dans une matrice protéique. La structure de ces complexes chitinoprotéiques et la relation des microfibrilles avec l'organisation microcristalline de la chitine ont été longuement analysées et discutées par RUDALL et KENCHINGTON (1973) et par BLACKWELL et WEIH (1980).

Ces microfibrilles sont souvent disposées en lits superposés, l'orientation des fibrilles étant constante dans un lit, mais variant progressivement d'un lit à l'autre. Cette disposition, rappelant celle des fibres cholestériques, a été bien interprétée par BOULIGAND (1965).

La biosynthèse de la chitine.

A ma connaissance, le système biosynthétique qui conduit à la formation de la chitine n'a été recherché et identifié jusqu'ici que chez les levures et les champignons (GLASER et BROWN, 1957 ; PORTER et JAWORSKI, 1966), les Insectes (JAWORSKI *et al.*, 1963, 1965) et les Crustacés (CANDY et KILBY, 1962 ; CAREY, 1965 ; SURHOLT, 1975). Dans tous les cas, les auteurs ont reconnu l'existence d'une chitine synthétase catalysant le transfert d'un reste de N-acétyl-D-glucosamine sur un récepteur, probablement une chitodextrine, à partir d'uridine-diphosphate-N-acétyl-glucosamine (UDPAG), fonctionnant comme donneur. La chitine synthétase (ou mieux, chitine UDP acétylglucosaminyltransférase) a un pH optimum de 6.1. Le système est complété par le jeu d'activateurs spécifiques ou non spécifiques (comme Mg⁺⁺) et d'inhibiteurs spécifiques de nature protéique.

Aucune chitine synthétase ne semble avoir été purifiée jusqu'ici, et on n'en connaît donc pas la séquence amino-acide. Les informations dont on dispose sont donc extrêmement fragmentaires, et on ne peut émettre que des hypothèses au sujet du caractère d'homologie que pourraient présenter les chitine-synthétases provenant de groupes taxonomiques différents. L'idée selon laquelle la chitine-synthétase correspondrait à un seul gène ancestral, présent chez les ancêtres des métazoaires, qui se serait transmis ou aurait été perdu

dans les différentes lignées (JEUNIAUX, 1963, 1971 b), reste une hypothèse de travail féconde, mais n'a toujours pas reçu de confirmation.

Remarquons que les recherches progressent plus vite en ce qui concerne les levures, où le système biosynthétique de la chitine semble plus compliqué qu'on ne le pensait d'abord. D'après CABIB *et al.*, (1971, 1973), chez les levures, la chitine synthétase proviendrait de l'activation d'un zymogène inactif, sous l'action d'un activateur (qui peut être remplacé par la trypsine). Cet activateur est lui-même contrôlé par un inhibiteur spécifique. Un tel système n'a pas encore été décrit chez les animaux. L'intérêt économique de diverses substances insecticides (diflubenzylon, polyoxine D, etc.), qui pourraient agir en tant qu'inhibiteurs sur la biosynthèse de la chitine, semble stimuler depuis quelque temps les recherches dans ce domaine, du moins chez les Arthropodes.

Le mécanisme intracellulaire de la biosynthèse de la chitine a été largement élucidé chez un champignon, *Mucor rouxii*, par BARNICKI-GARCIA et ses collaborateurs (RUIZ-HERRERA *et al.*, 1977 ; BRACKER *et al.*, 1976).

D'après ces auteurs, la biosynthèse de la chitine se déroulerait au niveau d'organites sphériques, de 45 à 65 nm de diamètre, qu'ils ont dénommés « chitosomes ». Ces sphérules contiendraient un agrégat de granules de chitine-synthétase zymogènes. Incubés dans un milieu adéquat, contenant notamment l'UDP-acétylglucosamine et les activateurs, le chitosome élabore la chitine sous la forme d'un filament qui se déroule et s'étend dans le milieu. Aucun mécanisme semblable n'a été observé jusqu'ici chez les animaux, et ces observations contribuent singulièrement à remettre en cause l'homologie des systèmes biosynthétiques de la chitine, en tout cas entre les animaux et les champignons.

La chitine en tant qu'espèce moléculaire.

On a de bonnes raisons d'hésiter à considérer que la chitine existe en tant qu'espèce moléculaire bien définie, dans la nature. Pour le chimiste, déjà, la chitine est une espèce mal définie (RICHARDS, 1951 ; MUZZARELLI, 1976), notamment en raison de l'incertitude qui persiste au sujet du degré de déacétylation. D'autre part, la plupart des auteurs admettent que la chitine est liée à divers autres constituants organiques. Le concept le plus communément accepté aujourd'hui est celui d'un « complexe chitine-protéine » (RUDALL, 1963), c'est-à-dire d'une famille de glycoprotéines où la chitine constitue une trame macromoléculaire à laquelle sont liées des chaînes protéiques, par des moyens divers et d'ailleurs mal définis.

Plusieurs chercheurs ont essayé de préciser la nature des liaisons entre la chitine et les autres constituants au sein des structures squelettiques et cuticulaires. La chitine est liée à des caroténoïdes, dans la carapace de certains crabes, par des ponts carboxylamine

(Fox, 1973). Chitine et arthropodines sont très probablement liées par des ponts hydrogène dans la cuticule des Insectes et des Crustacés (RUDALL et KENCHINGTON, 1973 ; HACKMAN, 1971, 1976). Pour HACKMAN (*l.c.*), chitine et protéines seraient également associées par des liaisons covalentes, par l'intermédiaire de résidus aspartyl- et histidyl-. D'autres types de liaisons covalentes sont proposés par LIPKE et ses collaborateurs dans le cas du puparium de *Sarcophaga* et de la cuticule de *Periplaneta*, y compris via un sucre neutre. Dans ces derniers cas, la chitinase seule est presque totalement incapable d'hydrolyser la chitine de ces complexes (LIPKE *et al.*, 1965 a, b ; LIPKE et GEOGHEGAN, 1970, 1971).

La chitine liée à d'autres constituants offre donc une grande résistance à l'hydrolyse enzymatique par les chitinases purifiées employées isolément. Cette particularité peut être mise à profit pour distinguer la fraction « chitine libre », directement hydrolysable par les chitinases purifiées, de la « chitine masquée », qui ne peut être hydrolysée qu'après « démasquage », c'est-à-dire après destruction ou extraction des substances qui lui sont associées, comme les protéines (JEUNIAUX, 1963, 1964) et le carbonate de calcium dans le cas des cuticules calcifiées (JEUNIAUX, 1982a, RADERMACHER, VOSS et JEUNIAUX, en préparation).

La proportion de chitine libre, par rapport à la chitine totale, varie considérablement et semble à première vue constituer un caractère biochimique taxonomique. En effet, la proportion de chitine libre est toujours basse dans le péricarde des Hydrozoaires (3 à 17 %), dans les soies d'Annélides (0.4 à 2.2 %) et dans la cuticule des Insectes, tandis qu'elle est élevée (40 à 85 %) dans toutes les formations squelettiques (coquilles, cérames, bouclier gastrique, dents stomacales) des Mollusques (JEUNIAUX, 1963 ; ARNOULD et JEUNIAUX, 1977). Ce caractère dépend cependant beaucoup de la fonction, de la position et du degré de calcification de la structure envisagée. Ainsi, chez les Insectes comme chez les Crustacés, la membrane péritrophique diffère des cuticules par la proportion élevée de chitine libre. Chez le Homard, la chitine de la cuticule externe (calcifiée) de la lame branchiostège est protégée de l'action hydrolytique des chitinases par le carbonate de calcium, mais est très peu protégée par les protéines, tandis que dans la mince cuticule interne (non calcifiée) de la même lame branchiostège, la chitine est surtout protégée par les protéines (JEUNIAUX, 1982a, RADERMACHER, JEUNIAUX et VOSS-FOUCART, en préparation).

La chitine comme support organique des structures squelettiques et cuticulaires chez les invertébrés.

À côté des aspects chimiques et ultrastructuraux que nous venons d'examiner brièvement, la chitine intéresse le biologiste à bien d'autres titres. C'est un matériau organique aux propriétés sans

doute remarquables, puisque, au cours de l'évolution, les animaux en ont bien souvent tiré parti en l'utilisant pour l'édification des structures les plus diverses.

A travers l'inventaire des groupes zoologiques qui sont capables de synthétiser la chitine et de la liste des structures édifiées à base de chitine, c'est le problème de l'évolution de la biosynthèse de la chitine, et partant, de l'évolution du règne animal qui fascine le zoologiste.

Les conclusions générales auxquelles m'avait conduit mon enquête sur la distribution de la chitine (JEUNIAUX, 1963) peuvent se résumer comme suit. La biosynthèse de la chitine serait une propriété ancestrale, commandée par des gènes qui faisaient partie de l'équipement génétique des animaux les plus primitifs, probablement déjà au niveau de la souche unicellulaire. Cette propriété aurait été exploitée d'abord pour fabriquer des membranes métaplasmatiques temporaires (des kystes). Au cours de l'évolution, deux tendances se seraient manifestées. L'une se traduit par une exploitation de plus en plus poussée de la chitine, et se manifeste progressivement en passant des Diblastiques aux Triblastiques Protostomiens, pour prendre tout son développement chez les Arthropodes (nonobstant l'existence, dans cette lignée, de quelques classes où cette faculté de biosynthèse semble avoir été abandonnée). La deuxième tendance aurait consisté dans la perte, apparemment définitive, de la biosynthèse de la chitine (phénomène d'« enzymaphérèse » selon FLORKIN) chez les Deutérostomiens, probablement dès la base de la bifurcation de cette lignée.

Cette hypothèse était basée, évidemment, sur le postulat d'un seul et même système biosynthétique, catalysé par des enzymes parfaitement homologues, ce qui, nous l'avons vu, n'est toujours pas démontré.

Les progrès réalisés depuis 1963 dans l'identification et l'analyse des structures chitineuses chez les animaux conduisent à nuancer les conclusions rappelées ci-dessus. Ils permettent de préciser si les observations, limitées jusqu'ici à quelques espèces d'un groupe donné, peuvent être généralisées à l'ensemble du groupe, qu'il s'agisse de confirmer la présence de chitine dans une structure, ou au contraire de reconnaître l'absence de synthèse de chitine dans un groupe zoologique déterminé.

C'est à une synthèse des principaux progrès réalisés dans ce domaine que sera consacrée la suite de cette revue.

1. — PROTOZOAIRES.

L'observation de la présence de chitine chez les Rhizopodes Thécamoebiens Plagiopyxidae et chez le Foraminifère *Allogromia oviformis* (JEUNIAUX, 1963) me paraît aujourd'hui contestable. En effet, la quantité très faible de chitine décelée pourrait être due à la présence de chitine d'origine alimentaire dans le cytoplasme. Une étude approfondie du test de sept espèces de Thécamoebiens (SAUCIN-MEU-

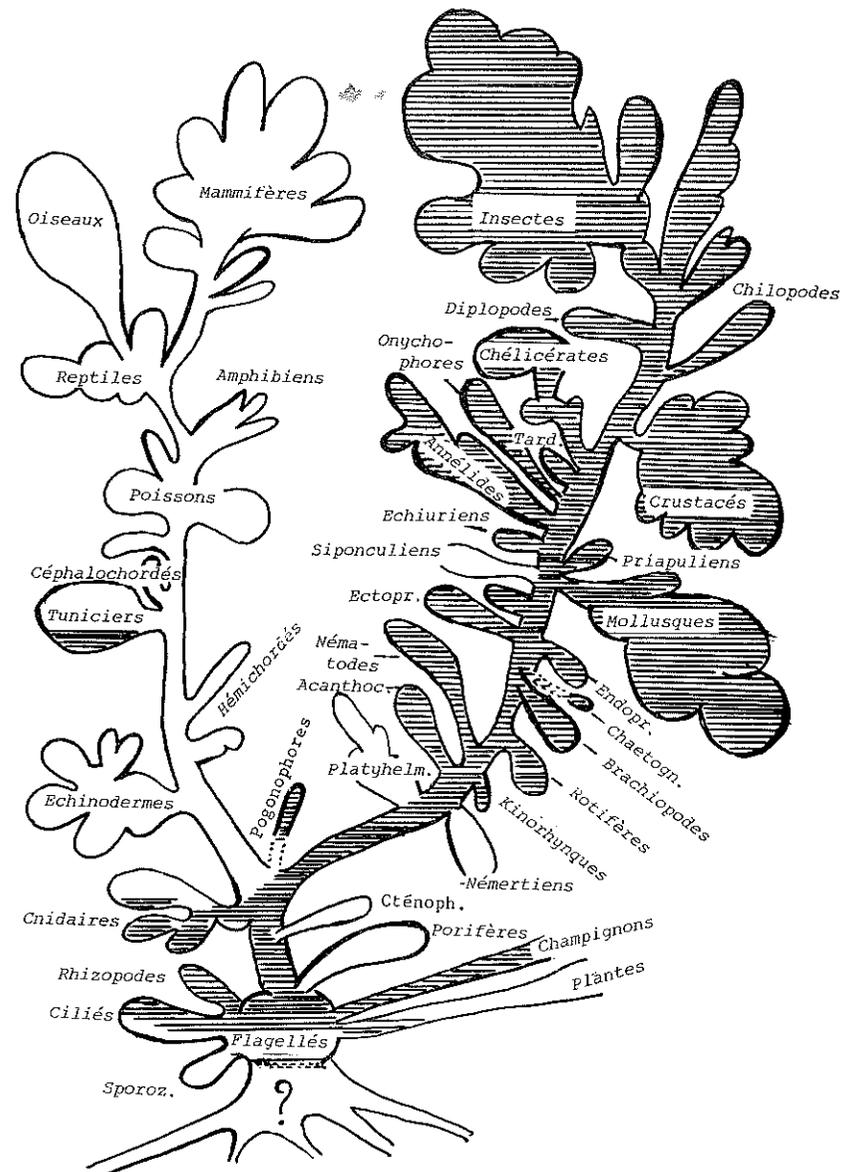


FIG. 1. — Distribution de la chitine dans le règne animal, présentée sur l'arbre phylogénétique de CUENOT (1952), (version corrigée de la figure publiée antérieurement, JEUNIAUX, 1963, p. 103).

Les zones hachurées correspondent à des groupes où la biosynthèse de la chitine a été effectivement démontrée.

LENBERG, BUSSERS et JEUNIAUX, 1973) n'a pas permis d'y trouver trace de chitine pas plus que de cellulose d'ailleurs. L'étude détaillée de la nature chimique de la trame organique du test des Foraminifères est reprise actuellement dans mon laboratoire (BUSSERS et DUBOIS, en préparation).

Mais, par ailleurs, l'hypothèse du caractère ancestral de la biosynthèse de la chitine et de l'utilisation de ce système biosynthétique par les Protozoaires se trouve pleinement confirmée par toute une série d'observations récentes. Le kyste de l'amibe *Pelomyxa illinoensis* (SACHS, 1954) et l'enveloppe des spores de 3 espèces de Microsporidées (VAVRA, 1967) contiennent incontestablement de la chitine. Chez les Ciliés, la biosynthèse de la chitine est largement utilisée, puisque, sur 22 espèces étudiées (BUSSERS et JEUNIAUX, 1974), 14 élaborent des membranes plasmatiques dont une ou plusieurs strates sont de nature chitineuse, soit sous forme d'enveloppes kystiques, soit, dans certains cas, sous forme de thèque ou de fourreau.

Ces espèces appartiennent notamment à des familles ou à des ordres considérés comme primitifs. C'est au niveau du mésokyste, et souvent de l'endokyste, que la chitine est localisée ; elle manque dans l'ectokyste ainsi que dans le bouchon de micropyle (BUSSERS, 1976).

2. — SPONGIAIRES.

Le cas des Spongiaires est difficile. Chez les Démonspongiaires, les cavités du spongocoele abritent une quantité considérable de petits animaux endobiontes, au point qu'il est malaisé de distinguer, lors d'une analyse chimique, si la chitine que l'on mesure provient de la faune endobionte ou des tissus de l'éponge. Dans tous les cas étudiés en détail, les tissus et spicules des Démonspongiaires sont bien dépourvus de chitine (BOUTIQUE et JEUNIAUX, en préparation).

Chez les Calcispongiaires, les gemmules de Spongillidae d'eau douce semblent contenir un peu de chitine (JEUNIAUX, 1963), mais nous n'avons jamais pu localiser cette substance au sein de la coque gemmulaire. La possibilité d'une contamination par des corps étrangers n'est donc pas à exclure, et je préfère considérer que le cas de la chitine des Spongillidae reste douteux.

3. — CNIDAIRES.

La nature chitineuse du périsarc des Hydrozoaires Calyptoblastiques et Gymnoblastiques a été confirmée chez de nombreuses espèces, tant au niveau des hydrothèques et des hydrocaules qu'au niveau des hydrophizes (HYMAN, 1966 ; JEUNIAUX et WILMOTTE, en préparation). L'utilisation de la chitine chez les Hydrozoaires s'étend aussi au coenosteum des Millepores (RAJULU et GOWRI, 1967 ; WILFERT et PETERS, 1969) et au flotteur des Chondrophidiidae (VELELLES) (HYMAN, 1966 ; PETERS, 1967, JEUNIAUX, 1978) qui n'est rien d'autre que le périsarc chitineux d'un grand gastéropode primaire.

L'idée suivant laquelle la synthèse de chitine serait, chez les Cnidaires, un caractère biochimique taxonomique opposant les Hydrozoaires aux deux autres classes, doit être abandonnée. En effet, il semble bien que l'exosquelette de certains Anthozoaires Hexacoralliaires soit de nature chitineuse (*Pocillopora damicornis* : WAINWRIGHT, 1962 ; *Astrangia danae*, *Favia fragum*, *Pocillopora ligulata* : WILFERT et PETERS, 1969). Une réaction positive au test du chitosane suggère par ailleurs la présence de chitine dans l'enveloppe du bourgeon de résistance (podocyste) du scyphistome de la méduse *Aurelia aurita* (CHAPMAN, 1968).

La synthèse de chitine apparaît donc plutôt comme une propriété ancestrale de l'ectoderme des Cnidaires, que les Hydrozoaires ont exploité de manière générale, tandis que les Anthozoaires et les Scyphozoaires manifestent une nette tendance à abandonner l'utilisation de ce polysaccharide.

4. — ACOELOMATES.

Parmi les Triblastiques de la lignée des Spiralia, le phylum des Platyhelminthes et celui des Némertiens se caractérisent par l'absence totale de synthèse de chitine. Il est vrai que les animaux appartenant à ces groupes sont toujours nus, ciliés et libres, et que les formations durcies se limitent à certaines pièces copulatrices, aux stylets perforants de la trompe, et aux enveloppes des œufs. Jusqu'à plus ample information, ces dernières structures n'ont jamais révélé trace de chitine. Les Acoelomates apparaissent donc comme ayant cessé d'utiliser la biosynthèse de la chitine. Il n'est évidemment pas possible d'affirmer qu'ils ont vraiment perdu les gènes du système biosynthétique de la chitine. Si tel était le cas, il serait difficile de voir dans les Platyhelminthes, et notamment dans les Turbellariés, un groupe ancestral d'où seraient issues des lignées où la biosynthèse de la chitine est présente et largement utilisée, comme celui des Mollusques, contrairement à certaines vues récentes (SALVINI-PLAWEN, 1980).

5. — PSEUDOCOELOMATES.

On sait que le caractère pseudocoelomate se retrouve chez toute une série de petits groupes taxonomiques très isolés : les Rotifères, les Gastrotriches, les Nématodes, les Acanthocéphales, les Gordiacés, les Kinorhynques (ou Echinodères) et enfin, les Endoproctes. Miss HYMAN (1951) les a rapprochés en un phylum des Aschelminthes, en isolant toutefois les Acanthocéphales et les Endoproctes.

J'ai eu l'occasion de reconsidérer récemment l'intérêt des caractères de la composition chimique des cuticules et des autres formations anhistes pour discuter les parentés phylétiques au sein du phylum des Aschelminthes (JEUNIAUX, 1975).

Si l'on écarte les Gordiacés, pour lesquels tout reste à faire à ce sujet, il apparaît que, du point de vue de la participation de la chitine à l'élaboration des structures anhistes, la situation est à peu près

identique chez les Acanthocéphales et la plupart des Aschelminthes, à l'exception des Kinorhynques.

En effet, chez les Nématodes, Gastrotriches, Rotifères et Acanthocéphales, les cuticules larvaires et adultes sont de nature protéique (surtout collagène) et ne renferment jamais de chitine. Les enveloppes embryonnaires sont au contraire de nature chitinoprotéique, du moins une ou deux d'entre elles, le plus internes, lorsque l'œuf embryonné est entouré de plusieurs enveloppes.

Les Kinorhynques sont très différents, car ils possèdent une cuticule typiquement chitinoprotéique qui, comme celle des Arthropodes, est d'une seule venue, s'invagine en un stomodeum et présente une segmentation superficielle. Ces particularités constituent un argument sérieux à l'encontre d'une parenté phylétique entre les Kinorhynques et les autres Acoelomates.

En ce qui concerne les Endoproctes, et contrairement à l'opinion classique, la cuticule du pédoncule renferme de la chitine, bien qu'en très faible quantité (BAY et JEUNIAUX, inédit, cité par JEUNIAUX, 1982 b). On ne peut donc plus parler sur ce caractère pour opposer les Endoproctes aux Bryozoaires Ectoproctes, pas plus bien sûr que pour les en rapprocher.

6. — ECHIURIENS, SIPONCULIENS ET PRIAPULIENS.

L'opinion des zoologistes est des plus hésitante au sujet de la position phylétique de ces trois petites classes d'animaux vermiformes, qui appartiennent incontestablement aux Spiralia Coelomates, mais qui ne présentent pas de segmentation. D'aucuns estiment actuellement que ces classes sont relativement proches, une opinion qui rejoint celle, longtemps abandonnée, de DELAGE et HEROUART (1901).

L'analyse chimique des structures cuticulaires chez ces trois groupes ne semble cependant pas apporter d'arguments favorables à cette hypothèse.

L'épaisse cuticule des Priapuliers, soumise à des mues périodiques, semble constituée de chitine et de protéines, mais on ne dispose pas d'informations nouvelles, à ma connaissance, depuis celles de CARLISLE (1958) basées sur le test du chitosane et sur l'analyse chromatographique des hydrolysats acides.

Au contraire, la cuticule des Siponculiens et celle des Echiuriens présentent beaucoup de similitudes avec la cuticule des Annélides Polychètes, tant au point de vue ultrastructural qu'au point de vue chimique (absence de chitine, abondance de collagène, compositions en acides aminés des protéines cuticulaires assez voisines) (VOSS-FOUCART *et al.*, 1978 b, GOFFINET *et al.*, 1978).

La synthèse de chitine se retrouve cependant chez les Echiuriens, au niveau des seuls chaetoblastes qui sécrètent les deux soies en forme de crochets, si caractéristiques chez *Thalassema neptuni*, et si semblables aux soies d'Annélides (JEUNIAUX, 1963). Aucune trace de formation chitineuse n'a pu, par contre, être décelée chez

les Siponculiens, même chez les espèces cavernicoles comme *Aspidosiphon clavatus* et *Phascalion strombi*, dont la cuticule présente des zones d'épaississement et de durcissement très caractéristiques (VOSS-FOUCART *et al.*, 1978 a). Les crochets de l'introvert de ces mêmes espèces sont également dépourvus de toute trace de chitine. Chez une espèce voisine, *Cloosiphon* sp., les crochets de l'introvert donnent cependant une réaction assez typique avec le test du chitosane (SUNDARA-RAJULU, communication personnelle), mais nous avons pu vérifier que ces structures, après traitement par la soude, ne subissent aucune altération pendant une incubation prolongée dans des solutions de chitinases purifiées (SUNDARA-RAJULU, JEUNIAUX, POULICEK et VOSS-FOUCART, 1982).

Si on peut donc comprendre sans trop de difficulté le système cuticulaire des Siponculiens comme celui d'un Echiurien ayant perdu les chaetoblastes de type annélidien, il n'en reste pas moins que, parmi les Coelomates Spiralia, les Siponculiens constituent la seule classe où la biosynthèse de chitine fait complètement défaut.

7. — TARDIGRADES.

Malgré un certain nombre de caractères arthropodiens, les Tardigrades ont été pendant longtemps écartés des Pararthropodes en raison de l'opinion de MARCUS (1927, 1928) qui prétendait que la cuticule et les griffes de ces animaux étaient dépourvues de chitine. C'est encore une opinion semblable que l'on trouve dans le travail de CROWE *et al.* (1971) sur *Macrobotus areolatus*.

La méthode enzymatique, appliquée à diverses espèces de Tardigrades par BACETTI et ROSATI (1971) et par BUSSERS et JEUNIAUX (1973, a, b) démontre cependant que la cuticule des Tardigrades est bien uniformément de nature chitinoprotéique. A ce point de vue, les Tardigrades peuvent donc sans difficultés être rapprochés des Onychophores, dont la cuticule chitinoprotéique est bien connue.

8. — MOLLUSQUES.

Les progrès réalisés depuis 10 ans dans l'étude de la composition chimique et de la structure des coquilles de Mollusques sont remarquables, et il se confirme que la chitine est un constituant presque constant de la matrice organique des coquilles et d'autres formations squelettiques. Une revue de synthèse sur la distribution de la chitine dans les structures coquillières des Mollusques a été présentée récemment (POULICEK *et al.*, sous presse). Je me limiterai ici à souligner les aspects les plus généraux de ce problème.

Chez les Mollusques les plus primitifs, qui précèdent les Conchifères dans l'évolution, la chitine participe à l'édification non seulement des cérames chez les Chitons, mais également de la cuticule et des spicules ou écailles, tant chez les Aplacophores que chez les Polyplacophores (JEUNIAUX, 1963 ; PETERS, 1972 ; SALVINI-PLAWEN et NOPP, 1974 ; POULICEK, en préparation).

Dès l'apparition des Conchifères, c'est-à-dire chez les Monoplacophores comme *Neopilina galathea*, la coquille proprement dite est constituée de nacre et de prismes, dont la matrice organique contient de la chitine, recouverts d'un périostracum sans chitine (POULICEK et JEUNIAUX, 1981).

La chitine est présente dans la coquille des Gastéropodes comme dans celle des Lamellibranches où sa participation à la constitution de la matrice organique varie sensiblement (GOFFINET et JEUNIAUX, 1979). De manière générale, la teneur en chitine tend à diminuer au cours de l'évolution chez les Prosobranches, tandis qu'on observe une tendance inverse chez les Opisthobranches et chez les Pulmonés (POULICEK, 1979). Les coquilles internes sont d'ailleurs nettement plus riches en chitine, mais, chez les Limacidae, la proportion de chitine se modifie au cours des saisons, ce qui suggère un rôle de réserve (POULICEK, 1980 a ; POULICEK et VOSS-FOUCART, 1981).

Chez les Lamellibranches, la chitine est surtout abondante dans la trame organique des nacres, mais on la trouve aussi, en moindre proportion, dans celle des couches prismatiques et du périostracum. La coquille tend à s'appauvrir en chitine dans la lignée des Anisomyaires, tandis que, chez les Adapédontes, adaptés à la vie fouisseuse, la teneur en chitine est généralement nettement plus élevée (GOFFINET et JEUNIAUX, 1979). Autour des siphons de ces Lamellibranches limicoles, un revêtement cuticulaire souple et de consistance gélatineuse semble prolonger le périostracum, mais sa teneur en chitine est considérablement plus élevée (45 % du poids chez *Lutraria lutraria* : HUNT, 1973).

Chez les Céphalopodes, la teneur en chitine, déjà importante dans la nacre de la coquille des Nautilus (3 à 6 % du poids de la matière organique : GOFFINET et JEUNIAUX, 1979) tend à augmenter encore dans les coquilles internes des Seiches et des Calmars (jusque 41.8 % du poids de matière organique, chez *Loligo vulgaris* : HUNT et NIXON, 1981).

Mais la chitine participe également à l'édification d'autres structures. C'est le cas du ruban radulaire et des mâchoires, tant chez les Gastéropodes que chez les Céphalopodes. C'est le cas aussi des opercules de certains Gastéropodes, lorsqu'ils sont calcifiés, alors qu'ils ne sont formés que de scléroprotéines lorsqu'ils sont simplement cornés (POULICEK, 1980 b).

Tout récemment, HUNT et NIXON (1981) ont découvert que le disque des ventouses d'*Octopus vulgaris* est constitué de chitine à raison de 51.2 % du poids de la matrice organique, où elle est associée à des protéines. Ceci constitue le premier exemple de structure chitineuse externe chez les Céphalopodes Dibranchiaux.

Plus surprenante encore, peut-être, est la confirmation de la nature chitinoprotéique de ces formations cuticulaires que l'on trouve dans l'estomac des Bivalves et des Opisthobranches, et qui semblent donc bien d'origine endodermique, à savoir le bouclier gastrique et les dents géiales. Ces structures épaisses qui contiennent respectivement 28 et 37 % de chitine sont parcourues par une

multitude de canalicules, qui semblent bien constituer les voies de passage d'hydrolases sécrétées par la muqueuse gastrique sous-jacente (ARNOULD, 1976 ; ARNOULD et JEUNIAUX, 1977).

9. — LOPHOPHORIENS.

Une revue détaillée de la composition chimique des structures squelettiques et cuticulaires chez les Lophophoriens a été présentée à l'occasion d'une table ronde de la Société Zoologique de France organisée à Paris (JEUNIAUX, 1982 b). Les Lophophoriens constituent un phylum où la chitine a été largement exploitée. On trouve en effet ce polysaccharide dans le tube des Phoronidiens, et dans l'ectocyste de tous les Bryozoaires Ectoproctes étudiés jusqu'ici (y compris les Cyclostomes où HYMAN, 1958, n'en avait pas décelé). La chitine, mesurée par méthode enzymatique, ne représente cependant que 4 à 9 % du poids décalcifié des colonies de Bryozoaires (JEUNIAUX, 1982 b ; RADERMACHER et JEUNIAUX, en préparation).

Tous les Brachiopodes fabriquent une cuticule chitinoprotéique autour du pédoncule et de ses prolongements. Mais la composition des valves coquillères diffère du tout au tout : les Brachiopodes Articulés ont une coquille totalement dépourvue de chitine, tandis que celle des Inarticulés en contient, en proportion remarquablement élevée (± 30 % du poids de matière organique, soit autant que dans la cuticule de beaucoup d'Insectes).

10. — LA « LIGNÉE DES DEUTÉROSTOMIENS ».

L'hypothèse d'une perte de la faculté de synthétiser la chitine à la base de la lignée deutérostomienne (JEUNIAUX, 1963) est remise en question par la découverte d'une membrane péritrophique constituée de microfibrilles chitinoprotéiques chez les Tuniciers, par PETERS (1966), observation confirmée récemment par la méthode enzymatique (ARNOULD, GOFFINET et JEUNIAUX, en préparation).

La synthèse de chitine est surprenante chez les Tuniciers, car ce polysaccharide n'a jamais pu être observé dans aucune structure squelettique ou cuticulaire appartenant à un Echinoderme, un Ptérobranche ou un Entéropneuste, ni d'ailleurs à un Tunicier (à l'exception de la membrane péritrophique) ou à un Vertébré. Les Tuniciers nous apparaissent aussi aberrants par la conservation de la biosynthèse de la chitine, qui semblait jusqu'ici la propriété des *Spiralia*, que par leur aptitude à réaliser la biosynthèse de la cellulose dans la tunique, apanage des végétaux.

Les autres Deutérostomiens, par contre, n'élaborent pas de cuticules ni de squelette chitineux. Les Ptérobranches habitent des « tubes » qui rappellent un peu, par leur aspect, l'ectocyste des Bryozoaires ou le tube des Phoronidiens. Mais les tubes de *Cephalodiscus* sont constitués principalement de protéines et ne contiennent pas de chitine (FOUCART *et al.*, 1965). Chez un *Rhabdopleura sp.* de l'Inde, le « tube » contient un matériel polysaccharidique qui donne, lors de l'application du test du chitosane, une coloration que l'on

peut prendre pour celle qui caractérise la chitine (SUNDARA-RAJULU et GOWRI, 1977) ; nous avons pu vérifier, par la méthode enzymatique, que ce matériel ne contient pas de chitine (SUNDARA-RAJULU, JEUNIAUX, POULICEK et VOSS-FOUCART, 1982).

On sait que certains arguments, notamment l'origine du mésoderme et l'organisation apparemment tricœlomique, plaident en faveur d'un rapprochement phylétique des Deutérostomiens primitifs, ou Archicœlomates, et des Lophophoriens en un ensemble dénommé « Archimérates » par EMIG (1976). Sans vouloir discuter ici le bien fondé de cette théorie par ailleurs séduisante, je constate que la nature chimique des structures exosquelettique ne constitue pas un argument en faveur de ce rapprochement.

Je me permettrai d'évoquer rapidement ici le cas des deux groupes les plus isolés du règne animal, les Pogonophores et les Chaetognathes. Le tube des Pogonophores est formé de microfibrilles chitinoprotéiques (BRUNET et CARLISLE, 1958 ; BLACKWELL *et al.*, 1965) ; la teneur en chitine y est élevée : 33 % de la matière organique (FOUCART *et al.*, 1965). On ne connaît pas encore la composition chimique des soies d'accrochage. Quant aux Chaetognathes, la présence de chitine dans les crochets et les dents a été suggérée par HYMAN (1958) sur la base du test du chitosane, mais n'a pas été vérifiée depuis lors.

La chitine chez les organismes fossiles.

La découverte de substances organiques, notamment de protéines, dans divers fossiles (ABELSON, 1956, 1957 ; GREGOIRE, 1958, 1959 ; FLORKIN *et al.*, 1961) a permis d'envisager la possibilité d'appliquer les méthodes de la biochimie comparée aux organismes disparus. Les travaux de JOPE (1967, 1969) sur la biochimie comparée des protéines des Brachiopodes fossiles et récents et leur implication en systématique en constituent un excellent exemple. La grande résistance offerte par la chitine des organismes actuels à la dégradation par les procédés chimiques usuels suggère que ce polysaccharide pourrait avoir supporté les conditions drastiques de la fossilisation au moins aussi bien que les protéines dont on peut retrouver les traces et même analyser la composition en acides aminés. Dans certains cas, effectivement, la chitine est bien conservée chez les fossiles, surtout quand il s'agit de fossiles relativement récents et protégés par des conditions très particulières d'enfouissement, comme dans le cas des Coléoptères de l'ambre de la Baltique, de l'époque tertiaire (ABDERHALDEN et HEYNS, 1933).

La découverte de chitine dans des tubes d'*Hyalithellus*, qu'on suppose appartenir à un Pogonophore et qui datent du Cambrien, rapportée par CARLISLE (1964), semblerait confirmer que la chitine résiste remarquablement bien à la fossilisation, et ce pendant de très longues périodes géologiques. On pouvait donc en déduire que l'observation certaine de l'absence de chitine dans un fossile, par ailleurs

riche en substances organiques préservées, signifiait que l'espèce ou la structure concernée ne contenait effectivement pas de chitine « à l'état vivant ». En se basant sur ce principe, l'absence de chitine jointe à la mise en évidence d'acides aminés d'origine protéique chez des Graptolithes du Silurien et de l'Ordovicien a été interprétée comme l'indication du manque de chitine dans les formations exosquelettiques des organismes appartenant à cette classe (FOUCART *et al.*, 1965), argument favorable au rapprochement des Graptolithes et des Ptérobranches suggéré par KOZŁOWSKI (1948) sur la base de considérations d'ordre morphologique. De même, la non détection de chitine par la méthode enzymatique dans les restes fossiles des Chitinozoaires nous a conduit à conclure que ce groupe fossile énigmatique ne produisait pas de thèque chitineuse, malgré le nom qui lui a été donné (VOSS-FOUCART et JEUNIAUX, 1972).

Il semble cependant que la résistance de la chitine aux agents de la diagenèse pendant la fossilisation soit beaucoup plus faible que ce qu'on admettait. Des fossiles d'organismes dont les téguments étaient certainement chitineux à l'origine se sont révélés totalement dépourvus de chitine : c'est le cas des cuticules de Crustacés Phyllocarides du Silurien moyen (ROLFE, 1962) et de celles d'Euryptérides du même étage (FOUCART, in BRUMIOUL et VOSS-FOUCART, 1977). Dans la carapace et la pince de quatre espèces de Crustacés Décapodes fossiles, provenant de l'Oligocène, de l'Eocène ou du Crétacé, BRUMIOUL et VOSS-FOUCART (1977) n'ont pu doser que d'infimes quantités de chitine par la méthode enzymatique, alors que ces mêmes fossiles contenaient des quantités non négligeables de protéines ou de peptides, ainsi que de glucosamine.

Il semble donc bien que la chitine soit plus sensible que les protéines aux facteurs de dégradation qui accompagnent la fossilisation, bien que, expérimentalement, la chitine de la nacre du Nautilé puisse manifester une bonne résistance à un traitement prolongé (53 jours) à 160°C et sous pression, facteurs physiques susceptibles de reproduire certaines conditions de la diagenèse (VOSS-FOUCART *et al.*, 1974). L'absence de chitine dans des fossiles appartenant à des groupes zoologiques aujourd'hui éteints ne peut donc pas être interprétée comme une preuve de son absence dans les structures squelettiques ou cuticulaires de ces organismes avant leur fossilisation.

Conclusion.

Le polysaccharide chitine possède des qualités plastiques exceptionnelles, dont nous sommes loin d'avoir compris toutes les propriétés. Il n'est pas étonnant qu'il ait été utilisé par un nombre élevé de groupes zoologiques, et à des fins souvent très différentes et diversifiées.

La distribution de la chitine dans le règne animal peut être schématisée en utilisant comme canevas un arbre phylogénétique, par exemple celui de CUENOT (1952). La figure 1 est une représentation corrigée de la distribution de la chitine et des relations phylogénétiques présentées antérieurement (JEUNIAUX, 1963, p. 103).

La distribution zoologique de la chitine peut difficilement être discutée plus longtemps tant que le mécanisme biochimique de sa biosynthèse n'aura pas été éclairci dans tous les groupes zoologiques où l'utilisation de ce polysaccharide a été reconnue. En l'absence de ces données, on peut conjecturer qu'il est peu probable que des systèmes biosynthétiques différents aient été mis en œuvre pour élaborer une seule et même substance, tout au moins au sein du règne animal. On devrait, dans ce cas, continuer à interpréter la distribution zoologique de la chitine comme la conservation d'une propriété ancestrale. Le problème qui se pose aux zoologistes, dès lors, n'est pas tellement de comprendre pourquoi les animaux ont utilisé la chitine pour l'édification de telle ou telle structure, mais plutôt comment, ou à la suite de quoi, certains groupes zoologiques ont perdu la faculté de réaliser la synthèse de ce remarquable matériau organique, ou pourquoi ils l'ont abandonnée ?

Si, au contraire, la chitine peut être biosynthétisée par des systèmes enzymatiques fondamentalement différents, nous devrions reconnaître dès lors l'existence d'un remarquable phénomène de convergence. Mais la vaste distribution de la chitine chez les Protozoaires, les Diblastiques et les Triblastiques Spiralia, pratiquement sans hiatus, me paraît rendre fragile une telle hypothèse. Il convient cependant de ne pas la rejeter trop hâtivement, notamment dans le cas des Tuniciers, où on assiste à une « réapparition » de la biosynthèse de deux polysaccharides apparemment « perdus » depuis longtemps : la cellulose et la chitine.

Au point de vue des interprétations phylogénétiques, la présence de chitine est un caractère qui doit être utilisé avec la plus grande circonspection. Si deux structures homologues appartenant à des groupes phylogénétiquement voisins ont souvent des compositions chimiques voisines, il existe cependant des exceptions remarquables, comme les valves des coquilles des Brachiopodes, qui sont riches en chitine chez les Inarticulés, et en sont complètement dépourvues chez les Articulés.

Nonobstant cet exemple, je crois qu'il reste vrai que l'absence totale de production de structures chitino-protéiques dans un groupe donné va à l'encontre des hypothèses qui prétendent trouver dans ce groupe les ancêtres de lignées où l'utilisation de la chitine est tout à fait générale. A ce titre, les Spongiaires se situent bien en dehors de la lignée des autres Métazoaires, ce qui est admis très généralement aujourd'hui. Mais les Acoelomates, Platyhelminthes et Némertiens, apparaissent eux aussi comme singulièrement isolés par rapport à l'énorme majorité des autres groupes de Spiralia, et surtout par rapport aux Mollusques, dont certains auteurs voudraient trouver l'origine ancestrale chez certains Turbellariés.

Laboratoire de Morphologie, Systématique et Ecologie Animales,
Université de Liège, Institut Zoologique Ed. Van Beneden,
22, Quai Van Beneden, B-4020 Liège, (Belgique).

BIBLIOGRAPHIE.

- ABDERHALDEN, E. et HEYNS, K. (1933). — Nachweis von Chitin in Flügelresten von Coleopteren des oberen Mitteleocäns. *Biochem. Zeitsch.*, 259, 320-321.
- ABELSON, P. H. (1956). — Paleobiochemistry. *Scient. Amer.*, 195, 83-88.
- ABELSON, P. H. (1957). — Some aspects of Paleobiochemistry. *Ann. N. Y. Acad. Sc.*, 69, 276-285.
- ARNOULD, Ch. (1976). — Chemical composition of the gastric shield of a Bivalve, *Zyrrhæa crispata*, and of the teeth of the gizzard of a Gastropod Opisthobranch, *Aplysia punctata*. *Biochem. System. Ecol.*, 4, 117-121.
- ARNOULD, Ch. et JEUNIAUX, Ch. (1977). — Caractères morphologiques du revêtement cuticulaire du premier gésier d'*Aplysia punctata* Cuv. (Mollusque Opisthobranch) et homologie avec le bouclier gastrique des Bivalves. *Cah. Biol. Mar.*, 19, 465-473.
- BACETTI, B. et ROSATI, F. (1971). — Electron microscopy on Tardigrada. III : The integument. *J. Ultrastr. Res.*, 34, 214.
- BERGER, L. R. et REYNOLDS, D. M. (1958). — The chitinase system of a strain of *Streptomyces griseus*. *Biochim. Biophys. Acta*, 29, 522-534.
- BLACKWELL, J., PARKER, K. D. et RUDALL, K. M. (1965). — Chitin in Pogonophore tubes. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 45, 659-661.
- BLACKWELL, J., PARKER, K. D. et RUDALL, K. M. (1967). — Chitin fibres of the Diatoms *Thalassiosira fluviatilis* and *Cyclotella cryptica*. *J. Mol. Biol.*, 28, 383-385.
- BLACKWELL, J. et WEIH, M. A. (1980). — Structure of chitin-protein complexes : ovipositor of the Ichneumon Fly *Megarhyssa*. *J. Mol. Biol.*, 137, 49-60.
- BOULIGAND, Y. (1965). — Sur une architecture torsadée répandue dans de nombreuses cuticules d'Arthropodes. *C. R. Séances Acad. Sc.*, Paris, 261, 3665-3668.
- BRACKER, C. E., RUIZ-HERREIRA, J. et BARTNICKI-GARCIA, S. (1976). — Structure and transformation of chitin synthetase particles (chitosomes) during microfibril synthesis *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 73, 4570-4574.
- BRUMIOUL, D. et VOSS-FOUCART, M. F. (1977). — Substances organiques dans les carapaces de Crustacés fossiles. *Comp. Biochem. Physiol.*, 57B, 171-175.
- BURGER, M. M. et GOLDBERG, A. R. (1973). — Identification of a tumor-specific determination on neoplastic cell surfaces. *Proceed. Nat. Acad. Sc. USA*, 57, 359-366.
- BUSSERS, J. C. (1976). — Structure et composition du kyste de résistance de 4 Protozoaires Ciliés. *Protistologica*, 12, 87-100.
- BUSSERS, J. C. et JEUNIAUX, Ch. (1973 a). — Chitinous cuticle and systematic position of Tardigrada. *Biochem. System.*, 1, 77-79.
- BUSSERS, J. C. et JEUNIAUX, Ch. (1973 b). — Structure et composition de la cuticule de *Macrobotus* sp. et de *Milnesium tardigradum* (Tardigrades). *Ann. Soc. Roy. Zool. Belg.*, 103, 271-279.
- BUSSERS, J. C. et JEUNIAUX, Ch. (1974). — Recherche de la chitine dans les productions métaboliques de quelques Ciliés. *Protistologica*, 10, 43-46.
- CABIB, E. et FARKAS, V. (1971). — The control of morphogenesis : an enzymatic mechanism for the initiation of septum formation in yeast. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 68, 2052-2056.
- CABIB, E., FARKAS, V., ULANE, R. E. et BOWERS, B. (1973). — *in* VILLANNEVA, J. R., GARCIA-ACHA, I., GASCON, F. et URUBURU, F., eds. : *Yeast, Mould Plant protoplasts*. Academic Press, New-York.

- 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*. *Ann. Entom. Soc. Am.*, 22, 401-426.
- CANDY, D. J. et KILBY, B. A. (1962). — Chitin synthesis in the desert locust. *J. Exper. Biol.*, 39, 129-140.
- CAREY, F. G. (1965). — Chitin synthesis *in vitro* by Crustacean enzymes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 16, 155.
- CARLISLE, D. B. (1958). — On the exuvia of *Priapulus caudatus* Lamarck. *Arkiv. Zool.*, 12, 79-81.
- CARLISLE, D. B. (1964). — Chitin in a cambrian fossil : *Hyolithellus*. *Biochem. J.*, 90, 1c-2c.
- CHAPMAN, D. M. (1968). — Structure, histochemistry and formation of the podocyst and cuticle of *Aurelia aurita*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 48, 187-208.
- CROWE, J. H., NEWELL, I. M. et THOMSON, V. W. (1971). — Fine structure and chemical composition of the cuticle of the Tardigrade *Macrobiotus areolatus* Murray. *J. Microscopie*, 11, 107.
- CUENOT, L. (1952). — Phylogénèse du règne animal, in Grassé, P. P. (éd.). *Traité de Zoologie*, 1, 1-33.
- DARMON, S. E. et RUDALL, K. M. (1950). — Infrared and X-ray studies on chitin. *Discuss. Faraday Soc.*, 9, 251-260.
- DELAGE, Y. et HEROUARD, E. (1901). — *Traité de Zoologie concrète*, Librairie H. Le Soudier, Paris.
- DEPOORTERE, H. et MAGIS, N. (1967). — Mise en évidence, localisation et dosage de la chitine dans la coque des œufs de *Brachionus leydigii* Cohn et d'autres Rotifères. *Ann. Soc. Roy. Zool. Belg.*, 97, 187-195.
- EMIG, Ch. C. (1976). — Phylogénèse des Phoronida. *Zeitsch. Zool. System. Evolutionforsch.*, 14, 10-24.
- FLORKIN, M., GREGOIRE, Ch., BRICTEUX-GREGOIRE, S. et SCHOFFENIELS, E. (1961). — Conchiolines de nacres fossiles. *C. R. Hebd. Séances Acad. Sc. Paris*, 252, 440-442.
- FOUCART, M. F., BRICTEUX-GREGOIRE, S., JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1965 a). — Fossil proteins of Graptolithes. *Life Sci.*, 4, 467-471.
- FOUCART, M. F., BRICTEUX-GREGOIRE, S. et JEUNIAUX, Ch. (1965 b). — Composition chimique du tube d'un Pogonophore (*Siboglinum* sp.) et des formations squelettiques de deux Pterobranches. *Sarsia*, 20, 35-41.
- FOX, D. L. (1973). — Chitin-bound keto-carotenoïds in a crustacean carapace. *Comp. Biochem. Physiol.*, 44 B, 953-962.
- GLASER, L. et BROWN, D. H. (1957). — Synthesis of chitin in cell-free extracts of *Neurospora crassa*. *J. Biol. Chem.*, 228, 729-742.
- GOFFINET, G. (1969). — Etude au microscope électronique de structures organisées des constituants de la conchioline de nacre du *Nautilus macrophalus* Sowerby. *Comp. Biochem. Physiol.*, 29, 835-839.
- GOFFINET, G. et JEUNIAUX, Ch. (1979). — Distribution et importance quantitative de la chitine chez les coquilles de Mollusques. *Cah. Biol. Mar.*, 20, 341-349.
- GOFFINET, G., VOSS-FOUCART, M. F. et BARZIN, S. (1978). — Ultrastructure of the cuticle of the Sipunculans *Golfingia vulgaris* and *Sipunculus nudus*. *Trans. Amer. Microsc. Soc.*, 97, 512-523.
- GREGOIRE, Ch. (1958). — Essai de détection au microscope électronique de dentelles organiques dans les nacres fossiles (ammonites, nautilides, gastéropodes et pélicypodes). *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, 66, 674-676.
- GREGOIRE, Ch. (1959). — Conchiolin remnants in mother of pearl of fossil Cephalopoda. *Nature*, London, 184, 1157-1158.
- HACKMAN, R. H. (1971). — The integument of Arthropoda. in FLORKIN and SCHEER, ed., *Chemical Zoology*, 6, part B, 1-62.

- HACKMAN, R. H. (1976). — The interactions of cuticular proteins and some comments on their adaptation to function, in Hepburn, H. R. (ed.), *The Insect integument*, Elsevier Sc. Pub. Cy, 107-120.
- HUNT, S. (1970). — *Polysaccharide-protein complexes in Invertebrates*. Academic Press, London.
- HUNT, S. (1973). — Chemical and physical studies of the chitinous siphon sheath in the Lamellibranch *Lutraria lutraria* L. *Comp. Biochem. Physiol.*, 45 B, 311-323.
- HUNT, S. et NIXON, M. (1981). — A comparative study of protein composition in the chitin-protein complexes of the beak, pen, suckerdisc, radula and oesophageal cuticle of cephalopods. *Comp. Biochem. Physiol.*, 68 B, 535-546.
- HYMAN, L. H. (1951). — *The Invertebrates*, vol. III : *Acanthocephala, Aschelminthes and Entoprocta*. Mac Graw-Hill Book Cy, New-York.
- HYMAN, L. H. (1958). — The occurrence of Chitin in the Lophophorate Phyla. *Biol. Bull.*, 114, 106-112.
- HYMAN, L. H. (1966). — Further notes on the occurrence of chitin in invertebrates. *Biol. Bull.*, 130, 94.
- JÄGERSTEN, G. (1972). — *Evolution of the Metazoan Life Cycle*. Academic Press, 282 pp.
- JAWORSKI, E., WANG, L. et MARCO, G. (1963). — Synthesis of chitin in cell-free extracts of *Prodenia eridania*. *Nature*, 198, 790.
- JAWORSKI, E., WANG, L. et CARPENTER, W. D. (1965). — Biosynthesis of chitin in cell-free extracts of *Venturia inaequalis*. *Phytopathol.*, 55, 1309-1312.
- JEUNIAUX, Ch. (1957). — Purification of a *Streptomyces* chitinase. *Biochem. J.*, 66, 98.
- JEUNIAUX, Ch. (1958). — Recherches sur les chitinases. I. Dosage néphélogométrique et production de chitinase par des Streptomycètes. *Arch. Internat. Physiol. Bioch.*, 66, 408-427.
- JEUNIAUX, Ch. (1959). — Recherches sur les chitinases. II. Purification de la chitinase d'un Streptomycète et séparation électrophorétique de principes chitinolytiques distincts. *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, 67, 586-596.
- JEUNIAUX, Ch. (1963). — *Chitine et chitinolyse, un chapitre de la biologie moléculaire*. Paris, Masson.
- JEUNIAUX, Ch. (1964). — Chitine « libre » et chitine « masquée » dans les structures squelettiques d'Invertébrés. *Arch. Internat. Physiol. Bioch.*, 72, 329-330.
- JEUNIAUX, Ch. (1971 a). — Chitinous structures, in M. Florkin et E. H. Stotz, eds., *Comprehensive Biochemistry*, 26 C, Elsevier (Amsterdam), 595-632.
- JEUNIAUX, Ch. (1971 b). — On some biochemical aspects of regressive evolution in animals, in E. Schoffeniels (ed.), *Biochemical Evolution and the origin of Life*, Elsevier (North-Holland), 304-313.
- JEUNIAUX, Ch. (1975). — Principes de systématique biochimique et application à quelques problèmes particuliers concernant les Aschelminthes, les Polychètes et les Tardigrades. *Cah. Biol. Mar.*, 16, 597-612.
- JEUNIAUX, Ch. (1978). — Distribution and quantitative importance of chitin in animals. *Proceed. First Internat. Conf. Chitin/Chitosan*, Muzzarelli and Pariser ed., MIT Sea Great Program, n° 78-7, p. 5-10.
- JEUNIAUX, Ch. (1982a). — « Free » and « bound » chitin. in BeMiller, J. N. (ed.), *Methods in Carbohydrate Chemistry*, vol. IX, sous presse.
- JEUNIAUX, Ch. (1982b). — Composition chimique comparée des formations squelettiques chez les Lophophoriens et les Endoproctes. *Bull. Soc. Zool. France*, 107, 233-249.
- JOPE, M. (1967). — 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. IV — Shell protein from fossil inarticulates : amino acid composition and disc electrophoresis of fossil articulates shell protein. *Comp. Biochem. Physiol.*, 30, 225-232.
- KOZŁOWSKI, R. (1948). — Les Graptolithes et quelques nouveaux groupes d'animaux du Trémadoc de la Pologne. *Palaentologia Polonica*, 3, 1-235.
- LIPKE, H., GRAINGER, M. et SIAKOTOS, A. (1965 a). — Polysaccharide and glycoprotein formation in the cockroach. I. Identity and titer of bound monosaccharides. *J. biol. Chem.*, 240, 594-600.
- LIPKE, H., GRAVES, B. et LETO, S. (1965 b). — Polysaccharide and glycoprotein formation in the cockroach. II — Incorporation of D-glucose-¹⁴C into bound carbohydrate. *J. biol. Chem.*, 240, 601-608.
- LIPKE, H. et GEOGHEGAN, T. (1971). — Enzymolysis of sclerotized cuticle from *Periplaneta americana* and *Sarcophaga bullata*. *J. Insect Physiol.*, 17, 415-425.
- LOCKE, M. (1964). — The structure and formation of the integument in Insects, in Rockstein, M. (ed.). *The Physiology of Insecta*, 3, Academic Press, N.Y., 380-
- MARCUS, E. (1927). — Zur Oekologie und Physiologie der Tardigraden. *Zool. Jahrb. Allg. Zool.*, 44, 323-370.
- MARCUS, E. (1928). — Zur Vergleichenden Anatomie und Histologie der Tardigraden. *Zool. Jahrb. Allg. Zool.*, 45, 99-158.
- MAUCHAMP, B. et SCHREVEL, J. (1977). — Observations en microscopie à fluorescence de la cuticule des Insectes : une méthode faisant appel aux propriétés spécifiques de la WGA vis-à-vis des glycoconjugués de la chitine. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 285, 1107-1110.
- MUZZARELLI, R. A. A. (1976). — Biochemical modifications of chitin, in H. R. Hepburn (éd.) : *The Insect Integument*, Elsevier, Sci. Pub. Cy, 63-87.
- MUZZARELLI, R. A. A. (1977). — *Chitin*, Pergamon Press, 309 pp.
- MUZZARELLI, R. A. A. et PARISER, (ed.) (1978). — *Proceedings of the First International conference on Chitin/Chitosan*. MIT Sea Grant Program (Massachusetts Institute of Technology, Cambridge), n° 78.7, 648 pp.
- NEVILLE, A. C. (1970). — Cuticle ultrastructure in relation to the whole insect, in Neville, A. C. (ed.). *Insect Ultrastructure*, Oxford, Blackwell, 17-39.
- OTAKARA, A. (1961 a). — Studies on the chitinolytic enzymes of the black-koji Mold. 1. Viscosimetric determination of chitinase activity. *Bull. Agric. Chem. Soc. Japan*, 25, 50-61.
- OTAKARA, A. (1961 b). — Studies on the chitinolytic enzymes of the black-koji mold. 3. Liquefying activity and saccharifying activity of the chitinase preparation. *Bull. Agric. Chem. Soc. Japan*, 25, 494-499.
- PEARSON, F. G., MARCHESSAULT, R. H. et LYANG, C. Y. (1960). — Infrared spectra of crystalline polysaccharides : V : Chitin. *J. Polym. Sc.*, 43, 101-116.
- PETERS, W. (1966). — Chitin in Tunicata. *Experientia*, 22, 820-821.
- PETERS, W. (1967). — Elektronenmikroskopische Untersuchungen an chitinhaltigen Strukturen. *Verh. Deutsch. Zool. Gesell. Heidelberg*, 681-695.
- PETERS, W. (1968). — Vorkommen, Zusammensetzung und Feinstruktur peritrophischer Membranen im Tierreich. *Z. Morph. Oekol. Tiere*, 62, 9-57.
- PETERS, W. (1972). — Occurrence of chitin in Mollusca. *Comp. Biochem. Physiol.*, 41 B, 541-550.
- POULICEK, M. (1978). — *Etude morphologique et chimique comparée de l'évolution régressive de la coquille dans quelques lignées de Gastéropodes Euthyneures*. Mémoire Licence Sc. Zoologiques, Faculté des Sciences, Université de Liège, 61 pages.

- POULICEK, M. (1980 a). — Cycle saisonnier de la coquille interne des limacidae *Agriolimax reticulatus* (Müller) et *Limax maximus* Linné. *Haliotthis*, 10, 116.
- POULICEK, M. (1980 b). — La matrice organique des opercules calcifiés. *Haliotthis*, 10, 117.
- POULICEK, M. et JEUNIAUX, Ch. (1981). — Matrice organique de la coquille et position phylétique de *Neopilina galathea* (Mollusques, Monoplacophores). *Ann. Soc. roy. Zool. Belg.*, 111, 143-150.
- POULICEK, M. et VOSS-FOUCART, M. F. (1980). — Variations saisonnières de la composition chimique de la coquille d'*Agriolimax reticulatus* (Müller, 1774). *Arch. Zool. Exp. Gén.*, 121, 77-86.
- POULICEK, M., VOSS-FOUCART, M. F. et JEUNIAUX, Ch. — Distribution de la chitine dans les structures coquillières des Mollusques. *Malacological Reviews*, soumis pour publication.
- PORTER, C. A. et JAWORSKI, E. G. (1966). — The synthesis of chitin by particulate preparations of *Allomyces macrogynus*. *Bioch. J.*, 5, 1149-1154.
- PIRVAT, J. P., DELMOTTE, F. et MONSIGNY, M. (1974). — Protein — sugar interactions. Association of wheat germ agglutinin (lectin) and O — (4-methyl-umbelliferyl) - glycosides. *FEBS Letters*, 46, 229-232.
- RAJULU, G. S. et GOWRI, N. (1967). — Nature of chitin of the coenosteum of *Millepora sp. India*. *J. Exp. Biol.*, 5, 180-181.
- REISSIG, J. L., STROMINGER, J. L. et LOLOIR, L. F. (1955). — A modified colorimetric method for the estimation of N-acetyl-aminosugars. *J. Biol. Chem.*, 217, 959-966.
- RICHARDS, A. G. (1971). — *The integument of Arthropods*, Univ. Minnesota Press, Minneapolis.
- ROLFE, W. D. I. (1962). — The cuticle of some Middle Silurian Ceratiocaridid Crustacea from Scotland. *Palaentology*, 5, 30-51.
- RUDALL, K. M. (1962). — The Scientific Basis of Medicine. *Annual Reviews*, Athlone London, p. 203.
- RUDALL, K. M. (1963). — The chitin/protein complexes of insect cuticles. *Adv. Insect Physiol.*, 1, 257-313.
- RUDALL, K. M. (1965). — Skeletal structure in Insects, in T. W. Goodwin ed., *Aspects of Insect Biochemistry*. Academic Press, London, 83-92.
- RUDALL, K. M. et KENCHINGTON, W. (1973). — The chitin system. *Biol. Rev.*, 48, 597-636.
- RUIZ-HERRERA, J., LOPEZ-ROMERO, E. et BARTNICKI-GARCIA, S. (1977). — Properties of chitin synthetase in isolated chitosomes from yeast cells of *Mucor rouxii*. *J. Biol. Chem.*, 252, 3338-3343.
- SACHS, J. B. (1954). — The chemical nature of the cyst membrane of *Pelomyxa illinoisensis*. *J. Protoz.*, 1, suppl. 8.
- SALVINI-PLAWEN, L. v. (1980). — A reconsideration of systematics in the Mollusca. *Malacologia*, 19, 249-278.
- SALVINI-PLAWEN, L. v. et NOPP, H. (1974). — Chitin bei Caudofoveata (Mollusca) und die Ableitung ihres Radulaapparates. *Zeitsch. Morph. Oekol. Tiere*, 77, 76-86.
- SAUCIN-MEULENBERG, M., BUSSERS, J. C. et JEUNIAUX, Ch. (1973). — Composition chimique de la thèque de quelques Thécamoebiens (Protozoaires). *Bull. Biol., France Belgique*, 107, 107-113.
- SUNDARA RAJULU, G. et GOWRI, N. (1978). — Chitin from marine organisms and its use as an adhesive in Muzzarelli and Pariser ed., *Proceed. First Internat. Conference Chitin/Chitosan*, MIT Sea Grant Program, n° 78.7, 430-436.
- SUNDARA RAJULU, G., JEUNIAUX, C., POULICEK, M. et VOSS-FOUCART, M. F. (1982). — Comparative value of Chitosan test and enzymatic method for chitin detection, in *Chitin and Chitosan*, Proceed. Internat. Conference Chitin Chitosan, Sapporo (Japan), p. 1-4.

- SURHOLT, B. (1975). — Studies *in vivo* and *in vitro* on chitin synthesis during the larval-adult molting cycle of the migratory locust *Locusta migratoria*. *J. Comp. Physiol.*, B-102, 135-147.
- VAVRA, J. (1967). — Hydrolyse enzymatique des spores de microsporidies. *J. Protozool.*, 14, suppl., 49.
- VOSS-FOUCART, M. F., BARZIN, S., JEUNIAUX, Ch. et BUSSERS, J. C. (1978a). — Etude comparée de la composition chimique des régions souples et durcies de la cuticule de quatre espèces de Siponculiens. *Cah. Biol. mar.*, 19, 135-145.
- VOSS-FOUCART, M. F., BARZIN, S. et TOUSSAINT, C. (1978b). — Etude comparée de la composition en acides aminés d'extraits peptidiques de la cuticule de Siponculiens et d'Annélides Polychètes. *Arch. Zool. exp. gén.*, 118, 457-470.
- VOSS-FOUCART, M. F. et JEUNIAUX, Ch. (1972). — Lack of chitin in a sample of Ordovician Chitinozoa. *J. Paleont.*, 46, 769-770.
- VOSS-FOUCART, M. F., JEUNIAUX, Ch. et GREGOIRE, Ch. (1974). — Résistance de la chitine de la nacre du Nautille (Mollusque Céphalopode) à l'action de certains facteurs intervenant au cours de la fossilisation. *Comp. Biochem. Physiol.*, 48B, 447-451.
- WAINWRIGHT, S. A. (1962). — An anthozoan chitin. *Experientia*, 18, 18-19.
- WILFERT, M. et PETERS, W. (1969). — Vorkommen von Chitin bei Coelenteraten. *Z. Morph. Tiere*, 64, 77-84.