

Extrait de :

TRAITE de ZOOLOGIE (P.P. GRASSE, Editeur), 1975.
Tome VIII, fasc. III (Insectes : Téguments, Système
nerveux, organes sensoriels). p. 31-44.

III. — CHITINE ET COMPLEXES
CHITINO-PROTÉIQUES DE LA CUTICULE

par

Charles JEUNIAUX

Université de Liège, Institut E. Van Beneden

GÉNÉRALITÉS

La cuticule des Insectes, comme celle des autres Arthropodes apparemment sans exception, contient de la chitine, et représente donc un type de « structure chitineuse ». Elle contient également d'autres substances organiques, souvent en proportion plus importante que la chitine, mais on peut extraire, dissoudre ou dégrader ces constituants autres que la chitine sans altérer la forme générale et la plupart des détails de structure de la cuticule. La chitine constitue donc la « matrice organique » de la cuticule.

La sécrétion de chitine par les cellules épidermiques n'est pas un caractère biochimique propre aux Arthropodes. C'est au contraire une propriété ancestrale de la cellule animale (Jeuniaux, 1963). La figure 29 résume l'état actuel de nos connaissances concernant la distribution de la chitine dans le règne animal. Au cours de l'évolution des organismes triblastiques, la synthèse de la chitine a été abandonnée par les clades appartenant à la lignée deutérostomienne (à l'exception des Pogonophores et des Chétognathes).

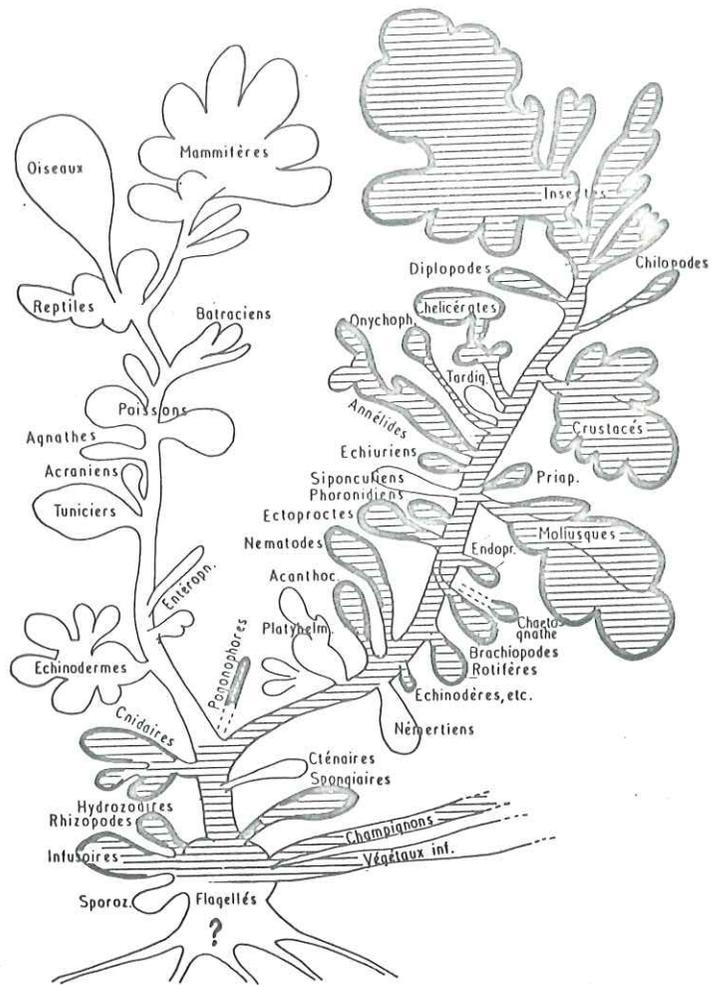


FIG. 29. — Distribution de la chitine dans le règne animal et relations phylogénétiques selon CUÉNOT (1952). Les zones hachurées indiquent les clades dont au moins quelques représentants élaborent de la chitine. Les contours de l'arbre phylogénétique de CUÉNOT ont été simplifiés ; les Pogonophores ont été introduits à la base de la bifurcation des Deutérostomiens.

Elle a, par contre, été conservée, au niveau de l'ectoderme, par la plupart des Invertébrés protostomiens. Toutefois, dans bien des cas en dehors des Arthropodes, la chitine n'est élaborée que par un stade particulier du développement (embryons des Rotifères et des Nématodes, par exemple) ou n'est synthétisée que par un nombre limité de cellules épidermiques ; dans ce cas, les structures chitineuses sont localisées et ne protègent pas entièrement l'épiderme (soies des Annélides, coquille des Mollusques, ectocyste des Bryozoaires, par exemple). Chez les Arthropodes, au contraire, la chitine est un produit de synthèse et de sécrétion de toutes les cellules épidermiques ; elle forme donc une cuticule d'une seule venue, sans solution de continuité, se prolongeant au niveau des invaginations proctodéales et stomodéales, ainsi qu'au niveau des trachées.

Une des caractéristiques principales de l'évolution des Arthropodes réside donc dans la conservation, par l'épiderme, de la propriété ancestrale de synthétiser la chitine, dans l'utilisation généralisée de cette propriété, et dans la mise en jeu cyclique, sous contrôle hormonal, d'un système enzymatique permettant la dégradation de la cuticule au moment de chaque mue.

La chitine n'est pas uniformément distribuée dans toute l'épaisseur de la cuticule. Elle manque au niveau de l'épicuticule. Sa présence caractérise la procuticule. Il semble bien, d'autre part, que la membrane basale soit également constituée de chitine, de même que la membrane ecdysiale. La membrane pérित्रophique est aussi une structure chitineuse.

La procuticule des Insectes, comme les autres structures chitineuses connues, n'est jamais constituée de chitine seule. La majeure partie de la chitine est liée à des protéines sous la forme de complexes glycoprotéiques. Ce sont les propriétés des complexes chitino-protéiques qui confèrent aux cuticules leurs propriétés particulières de rigidité ou de souplesse, selon que les protéines de ces complexes sont tannées (sclérotines) ou non. On comprend, par conséquent, que le terme « chitinisé », employé fréquemment par les entomologistes pour désigner une pièce cuticulaire rigide, doit être banni du vocabulaire scientifique et remplacé par « sclérifié » ou « sclérotisé ».

CONSTITUTION CHIMIQUE DE LA CHITINE

Le terme « chitine » a été proposé par Odier en 1823 pour désigner le matériel organique obtenu en traitant une cuticule d'Insecte par de la potasse

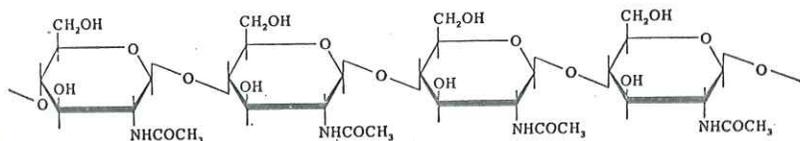


FIG. 30. — Chitine : formule de structure.

à chaud. La présence d'azote a été établie par Children (1825). On sait aujourd'hui que la chitine est un homoglycane de structure linéaire, haut polymère de la N-acétyl-D-glucosamine (ou plus exactement du 2-acétamido-2-déoxyglucose). Les unités d'acétylglucosamine sont liées entre elles par des ponts β -(1,4)-glycosidiques, comme les unités de glucose au sein de la molécule de cellulose (fig. 30). En fait, on peut considérer la chitine comme le dérivé acétamidé de la cellulose ; ces deux polysaccharides de structure possèdent d'ailleurs beaucoup de propriétés en commun.

La chitine est classée tantôt parmi les homopolysaccharides (Horton et Wolfrom, 1962), tantôt parmi les mucopolysaccharides (Hunt, 1970), parce qu'elle est composée d'acétylglucosamine.

L'hydrolyse acide ménagée de la chitine fournit un diholoside de la N-acétyl-D-glucosamine, auquel Zechmeister et Toth (1931) ont donné le nom de chitobiose (fig. 31). On obtient également un trimère, le chitotriose. Les

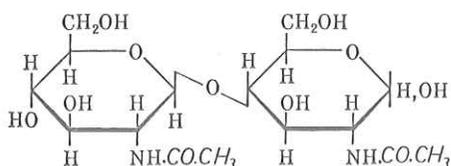


FIG. 31. — Chitobiose : formule de structure.

mêmes oligosaccharides sont obtenus au cours de l'hydrolyse enzymatique de la chitine par des préparations purifiées de chitinase exemptes de chitobiasés (Berger et Reynolds, 1958 ; Jeuniaux, 1963).

La chitine est donc en fait un polymère de chitobiose. On peut, par des procédés chimiques, préparer toute une série de petits polymères du chitobiose ou chitodextrines, plus ou moins solubles dans l'eau mais insolubles dans l'alcool éthylique (Barker et coll., 1958).

La teneur de la chitine pure en azote est théoriquement de 6,89 %. Toutefois, comme la chitine n'existe pas dans la nature à l'état isolé, on ne peut l'obtenir qu'en soumettant des structures chitineuses à des traitements chimiques relativement drastiques (voir ci-dessous). Les chitines isolées par ces procédés présentent des teneurs en azote généralement plus faibles (6,1 à 6,7 %, selon les auteurs) que la valeur théorique. Ces différences peuvent s'expliquer par la persistance de molécules d'eau fermement liées aux molécules de chitine, par la déacétylation partielle au cours des traitements de purification, et par le fait que la chitine est un adsorbant énergétique (cette dernière propriété est d'ailleurs exploitée en chromatographie).

Certains auteurs admettent actuellement que la chitine pourrait ne pas posséder la structure idéale d'une polyacétylglucosamine, classiquement admise. Pour Giles et ses collaborateurs (1958), la chitine purifiée par les procédés les moins énergiques (permettant d'éviter au maximum la déacétylation) contiendrait un résidu de glucosamine pour six ou sept résidus d'acétylglucosamine. L'étude des diagrammes de diffraction des rayons X a conduit Rudall (1963) à la même conclusion, mais Hunt (1970), appliquant une méthode de dinitrophénylation à l'analyse de la cuticule d'un Diptère, n'a pas pu mettre ces groupes aminés libres en évidence. La question n'est donc pas résolue.

ISOLEMENT ET PURIFICATION

La remarquable résistance chimique de la chitine est, depuis longtemps, mise à profit pour isoier et purifier cette substance, notamment à partir de cuticules d'Insectes. L'absence de sels calcaires dans ces cuticules permet d'éviter la décalcification. Les cuticules sont traitées pendant 24 heures par de la soude (NaOH) ou de la potasse (KOH) normales, à 100 °C, ce qui a pour effet de détruire les protéines, même les sclérotines. On n'évite pas toutefois une légère dégradation de la chitine, notamment une déacétylation partielle (Hackman, 1954). Les pigments (notamment les mélanines) résistent en partie à ce traitement; on les élimine par une oxydation ménagée par KMnO_4 0,02 pour cent à 60 °C pendant 20 minutes, suivie de décoloration par le métabisulfite de sodium (solution saturée) pendant quelques minutes. La purification est achevée par une série d'extractions par l'eau bouillante, l'alcool éthylique et l'éther.

Ces manipulations ne donnent de bons résultats que lorsque le matériel cuticulaire n'est pas trop sclérifié, ou a été préalablement finement divisé.

PROPRIÉTÉS CHIMIQUES ET MÉTHODES HISTOCHIMIQUES

La chitine est insoluble dans l'eau, dans les acides organiques ou inorganiques dilués (2 N par exemple), dans les solutions alcalines diluées ou concentrées, même à 100 °C, dans l'alcool, l'éther et tous les solvants organiques usuels. Elle peut être mise en solution dans certains acides forts concentrés (acide sulfurique 21 N, ou acide phosphorique concentré) à 0 °C, sans subir d'hydrolyse poussée, mais un raccourcissement des chaînes macromoléculaires; on peut reprécipiter ensuite la chitine en fines particules en diluant rapidement la solution par dix fois son volume d'eau. On obtient une suspension colloïdale (appelée souvent « chitine reprécipitée »), utilisée pour la réalisation de milieux de culture bactérienne (Beneke, 1905; Bucherer, 1935) ou pour le dosage des chitinases par néphélométrie (Jeuniaux, 1958).

Contrairement à la cellulose, la chitine ne se dissout pas dans la liqueur de Schweitzer. Elle est soluble dans les solutions saturées de thiocyanate de lithium et de calcium.

Dans la soude ou la potasse concentrée (10 N) à chaud (100 à 160 °C), la chitine est partiellement déacétylée et est transformée en une série de substances de composition variable; ce produit global de dégradation alcaline de la chitine est appelé « chitosane ». Les propriétés du chitosane sont employées en histochimie pour déceler la présence de chitine.

La « méthode du chitosane », mise au point par Van Wisselingh (1910), puis modifiée et améliorée par Campbell (1929), consiste en un traitement de la pièce étudiée par la potasse concentrée à 160 °C pendant 15 minutes en tube scellé. Après refroidissement, le chitosane obtenu se colore en brun dans le mélange de lugol (iode en solution

dans l'iodure de potassium), puis prend une teinte violette en présence d'acide sulfurique à 1 pour cent. Enfin, ce matériel se dissout lentement dans l'acide acétique à 3 pour cent. Cette méthode, d'un usage fréquent, ne présente toutefois pas les garanties de spécificité et de reproductibilité qui lui ont été attribuées; pour une discussion détaillée de cette méthode, voir Richards (1951).

Les autres méthodes histochimiques sont encore moins spécifiques. Une méthode enzymatique (Jeuniaux, 1963), basée sur les propriétés hautement spécifiques des chitinases purifiées et consistant à suivre au binoculaire l'hydrolyse enzymatique de la structure étudiée, préalablement traitée par la soude normale à 100 °C et colorée par le Rouge Congo, a été appliquée avec succès à la mise en évidence de chitine dans diverses structures de petite taille (enveloppe de l'œuf des Rotifères : Depoortere et Magis, 1967; membranes kystiques de Ciliés : Bussers et Jeuniaux, 1970), mais n'a pas encore été adaptée à l'étude de coupes histologiques.

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES DE LA CHITINE

La chitine est un solide amorphe qui peut se présenter soit sous la forme du matériel cuticulaire dont on a extrait toutes les impuretés, soit, après dissolution dans un acide fort ou dans LiSCN et réprécipitation, sous la forme de particules microscopiques en suspension colloïdale. Dans les deux cas, elle est incolore, ou de couleur blanche sous une épaisseur suffisante.

La chitine ne présente pas les propriétés remarquables des cuticules d'insectes dont elle constitue la matrice organique. Les cuticules de chitine *pure* sont souples, déformables, mais peu élastiques; elles sont perméables à l'eau et aux gaz; elles possèdent une résistance relativement élevée à la traction (Module de Young : 10 à 58 kg/mm² pour du matériel sec; 2 kg/mm² pour du matériel hydraté : Herzog, 1926; Thor et Henderson, 1940), mais néanmoins très inférieure à celle des mêmes cuticules avant manipulation.

STRUCTURE MACROMOLÉCULAIRE DE LA CHITINE DANS LES CUTICULES D'INSECTES

La chitine présente une configuration microcristalline très voisine de celle de la cellulose. D'après Meyer et ses collaborateurs (1928, 1935), le cristal est

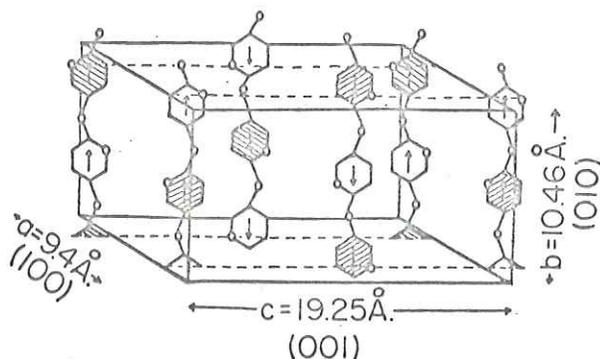


FIG. 32. — Structure microcristalline de la chitine (d'après MEYER et PANKOW, 1935).

orthorhombique et possède les dimensions suivantes : $a = 9,40 \text{ \AA}$, $b = 10,46 \text{ \AA}$ et $c = 19,25 \text{ \AA}$ (fig. 32). Les chaînes de chitine sont allongées parallèlement à l'axe b ; deux chaînes voisines sont orientées dans des directions opposées. Des valeurs légèrement différentes ont été proposées récemment et ont donné lieu à des interprétations diverses au point de vue stéréochimique (Carlström, 1957, 1962; Dweltz, 1960, 1961).

Trois types de diagrammes de diffraction des rayons X peuvent être observés avec des préparations de chitine d'origine différente (Rudall, 1963). Ces trois « variétés » cristallographiques (chitines α , β et γ) ne sont pas dues à des différences de composition chimique, mais correspondent à des organisations microcristallines différentes, d'après le nombre de chaînes par cellule microcristalline et leur direction respective (fig. 33). Chez les Arthropodes, la chitine cuticulaire correspond toujours au type α qui est le plus fréquent et le plus stable (la chitine β des soies de Polychètes, par exemple, dissoute dans l'acide formique et reprecipitée par dilution, adopte les caractères cristallographiques de la chitine α).

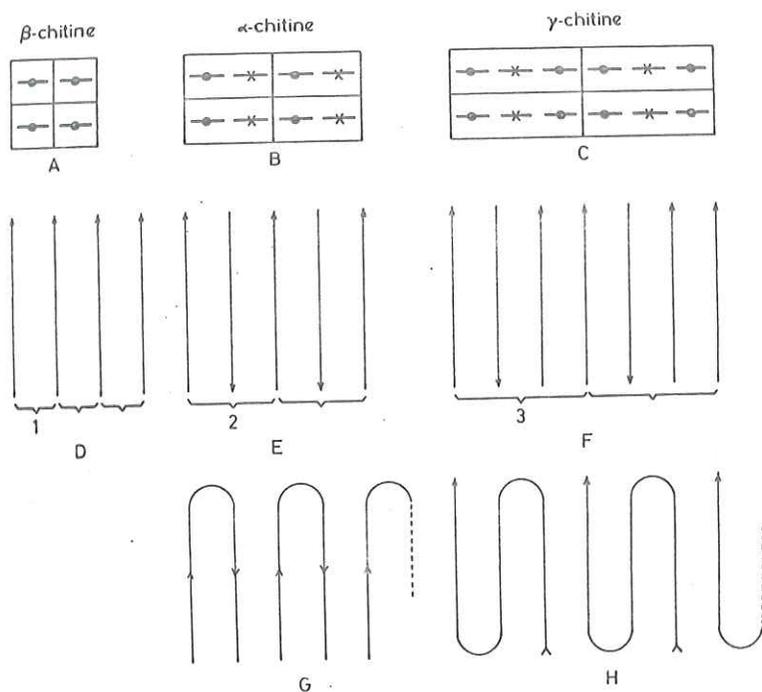


FIG. 33. — Orientation des chaînes moléculaires dans les variétés cristallographiques α , β et γ de la chitine. Les chaînes sont parallèles dans le cas de la chitine β (schémas A et D), antiparallèles dans le cas de la chitine α (schémas B et E). Le schéma G est une explication plausible de la transformation de la chitine β en chitine α , par pliage de chaque chaîne sur elle-même. Dans la variété cristallographique γ , les chaînes sont à la fois parallèles et antiparallèles (schéma F), ce qui peut s'expliquer par le schéma H .

Une chitinase bactérienne, isolée à partir de filtrats de culture de *Streptomyces antibioticus*, a été purifiée (Jeuniaux, 1959, 1963). Il s'agit d'une holoprotéine, dont le poids moléculaire est voisin de 30 000, sans groupement prosthétique ni cofacteurs, dont l'activité ne semble pas liée à la présence de groupes thiols. Son pH optimal est voisin de 5,2; son activité est fortement réduite en dessous de ce pH, et est pratiquement nulle à pH 3, tandis qu'elle reste élevée du côté des pH alcalins. La température optimale est de 40 °C.

L'épiderme des Insectes sécrète de la chitinase et de la chitobiase au moment des mues (Passonneau et Williams, 1953; Jeuniaux et Amanieu, 1955). Les propriétés des chitinases exuviales des Insectes sont apparemment identiques à celles de la chitinase de *S. antibioticus*.

Tableau 1. — IMPORTANCE QUANTITATIVE DE LA CHITINE DANS DIVERS TYPES DE CUTICULES D'INSECTES

Espèce	Matériel cuticulaire	Chitine (a) (g/100 g de cuticule sèche)	Référence
CHÉLEUTHOPTÈRES <i>Carausius morosus</i>	Thorax	36,5	FRAENKELL et RUDALL, 1947
DICTYOPTÈRES <i>Periplaneta americana</i>	Tergites abdominaux	48,6	LAFON, 1948
ORTHOPTÈRES <i>Locusta migratoria</i>	Fémurs	36,9	FRAENKELL et RUDALL, 1947
COLÉOPTÈRES <i>Cantharis fusca</i>	Elytres	26,8	LAFON, 1943
<i>Tenebrio molitor</i>	Elytres	29,0	LAFON, 1943
Autres espèces (b)	Elytres	33,2 à 40,0	LAFON, 1943
<i>Tenebrio molitor</i>	Sternites abdominaux	29,3	LAFON, 1943
<i>Tenebrio molitor</i>	Pronotum	28,8	LAFON, 1943
<i>Tenebrio molitor</i>	Cuticule larvaire	28,0	LAFON, 1943
LÉPIDOPTÈRES <i>Galleria mellonella</i>	Cuticule larvaire	33,7	LAFON, 1943
<i>Bombyx mori</i>	Cuticule larvaire	34,4 (c)	JEUNIAUX, 1963
DIPTÈRES <i>Calliphora erythrocephala</i>	Cuticule larvaire	54,8	LAFON, 1943
Diverses espèces (d)	Puparium	32,5 - 36,8	LAFON, 1943
HÉTÉROPTÈRES <i>Pyrhocoris apterus</i>	Hémélytre	27,0	LAFON, 1943

(a) Résidu chitineux, après traitement des cuticules par la soude ou la potasse à chaud.

(b) *Leptinotarsa decemlineata*, *Melolontha melolontha*, *Lucanus cervus*, *Carabus catenulatus*, *Dytiscus marginalis*, *Hydrophilus piceus*.

(c) Soit 30,8 % de chitine pure, d'après un dosage réalisé par la méthode enzymatique.

(d) *Calliphora erythrocephala*, *Lucilia sericata*, *Phormia regina*.

IMPORTANCE QUANTITATIVE DE LA CHITINE DANS LES CUTICULES D'INSECTES

La part prise par la chitine dans la composition chimique globale des cuticules d'Insectes est résumée dans le tableau 1, où sont repris quelques

résultats représentatifs sélectionnés parmi les nombreuses données analytiques disponibles, notamment grâce aux travaux de Lafon (1943, 1948).

La teneur en chitine varie relativement peu d'un type de tégument à l'autre. La chitine représente en général un tiers du poids total de matière organique. Comme le soulignait déjà Lafon (1943), la proportion de chitine est particulièrement constante pour une espèce donnée, quelles que soient la région de la cuticule étudiée et les propriétés (souplesse ou rigidité) de celle-ci (comparer par exemple les valeurs concernant l'abdomen, le pronotum, les élytres et la cuticule larvaire de *Tenebrio molitor*, tableau 1).

Les cuticules des Insectes se distinguent des cuticules calcifiées des Crustacés et des Diplopodes par la proportion nettement moins élevée de la chitine par rapport aux protéines cuticulaires.

La chitine libre, déterminée par la méthode enzymatique, ne représente qu'une faible portion de la chitine totale, même dans les cuticules très peu sclérifiées, comme celles des larves (1,7 % du poids de cuticule sèche, soit 5 à 6 % de la quantité totale de chitine, chez la chenille de *Bombyx mori*, Jeuniaux, 1963). Il est clair que, dans leur grande majorité, les molécules de chitine sont liées à des molécules de protéines.

COMPLEXES CHITINO-PROTÉIQUES DE LA CUTICULE DES INSECTES

Dans les cuticules d'Insectes, la chitine peut être associée à trois types de composés de nature protéique : les arthropodines, les sclérotines et les résilines.

Arthropodines. — Les arthropodines sont solubles dans l'eau chaude et dans le tampon au borate de Trim (1941, *a* et *b*). Leur composition en acides aminés (Trim, 1941*b*; Hackman et Goldberg, 1958) est caractérisée par l'absence d'acides aminés soufrés, la faible proportion de glyco-colle et la proportion élevée de tyrosine. D'après Hackman et Goldberg (1958), on peut isoler, à partir de la cuticule larvaire du Coléoptère *Agrianome spinicollis*, plusieurs fractions d'arthropodines, distinctes par leurs propriétés de solubilité et leur mobilité électrophorétique, mais dont la composition en acides aminés est peu différente. Le poids moléculaire des arthropodines de la cuticule larvaire de *Sarcophaga crassipalpis* est de 7 à 8 000 (Moorefield, 1953).

Les arthropodines constituent la fraction protéique dominante, sinon exclusive, des membranes intersegmentaires, des procuticules ou des endocuticules. Dans l'exocuticule, elles sont, en tout ou partie, remplacées par les sclérotines.

Liaison entre chitine et arthropodine. — L'hypothèse d'une liaison chimique entre chitine et arthropodine au sein des cuticules a été avancée par Frankell et Rudall (1947) et par Richards (1951) sur la base de la grande similitude entre la structure microcristalline de la chitine et celle des arthro-

podines, dont le diagramme de diffraction des rayons X révèle une configuration du type β , inhabituelle pour les protéines de structure. Cette hypothèse a été largement confirmée par la mise en évidence de liaisons de covalence entre chitine et arthropodine par Hackman (1955), Hackman et Goldberg (1958) et Foster et Hackman (1957). La chitine formerait avec les arthropodines (et avec les sclérotines après tannage de ces dernières) des complexes glycoprotéiques plus ou moins stables, principalement grâce à des liaisons établies au niveau de résidus d'acide aspartique et d'histidine (Hackman, 1960). Ces deux acides aminés seraient, en effet, toujours fermement liés aux préparations de chitine isolée par digestion alcaline à partir de cuticules d'Insectes.

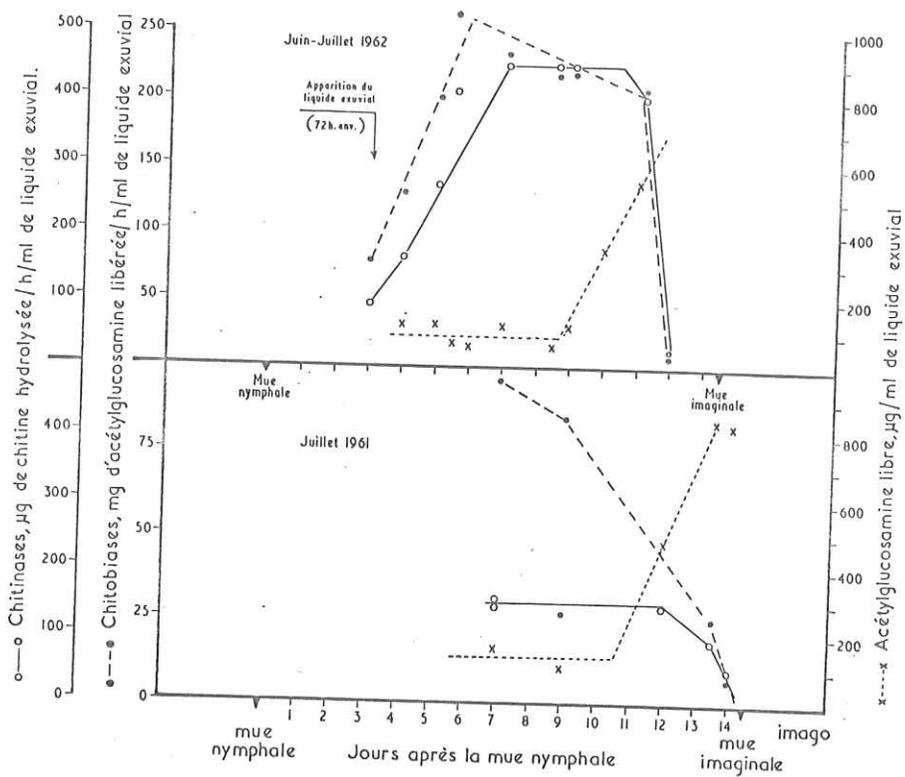
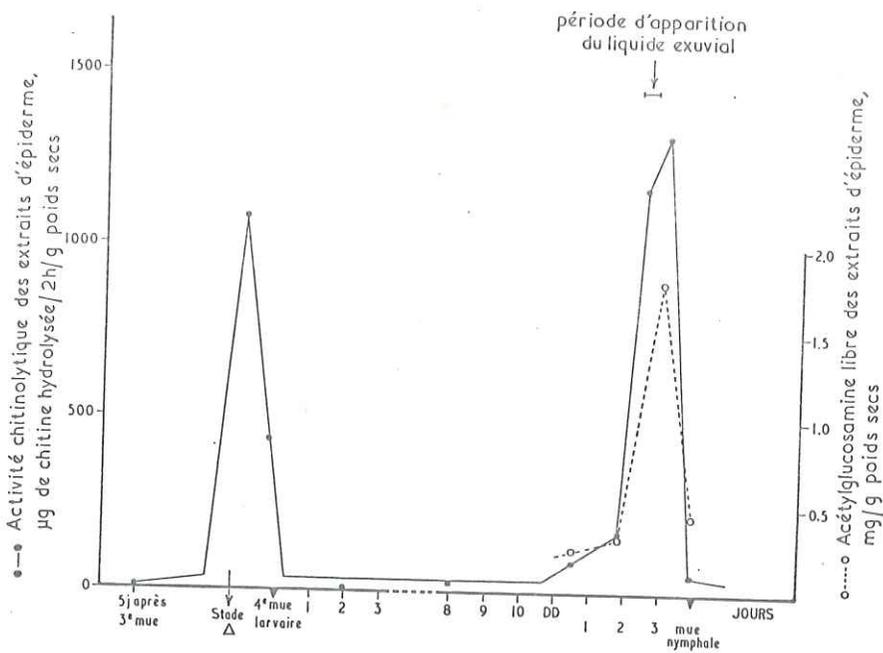
Cette conclusion n'est toutefois pas admise par Attwood et Zola (1967) qui n'auraient pas réussi à obtenir l'isolement de tels complexes chitino-protéiques.

La nature des liaisons entre chitine et arthropodines a été envisagée par Hackman et Goldberg (1958) dans le cas de la cuticule larvaire d'*Agrianome spinicollis* : 56 % des protéines seraient liées à la chitine par covalence ; 3 % par électrovalence, 25 % par des ponts hydrogène et 2 % par forces de Van der Waal. Le reste des protéines serait à l'état libre.

Sclérotisation. — Les complexes chitine-arthropodine sont stabilisés par la transformation des chaînes d'arthropodines en sclérotines. Ce processus, connu sous le nom de sclérotisation, consiste en un tannage d'une pro-sclérotine (vraisemblablement l'arthropodine elle-même) par des quinones, surtout des orthoquinones. La nature exacte des orthoquinones qui interviennent dans cette réaction n'est pas élucidée, mais il semble bien établi qu'elles résultent de l'oxydation de phénols (tyrosine ou phénylalanine prélevées par l'épiderme dans l'hémolymphe, Dennell, 1947) sous l'action de phénolases (ou polyphénoloxydases). Cette réaction se déroule peu après l'exuviation, à la limite entre la procuticule et l'épicuticule. Les quinones diffusent ensuite vers l'intérieur et la réaction de tannage progresse ainsi vers l'épiderme, ce qui entraîne la transformation des strates externes de la procuticule en exocuticule (Dennell, 1944, 1947, 1958). Les propriétés de rigidité propres à l'exocuticule sont donc dues à la mise en place d'un réseau de protéines tannées liées aux chaînes moléculaires de la matrice de chitine par des liaisons de covalence et des ponts hydrogène. Le degré de sclérotisation détermine le degré de rigidité, de stabilité et de « dureté » du sclérite.

D'un point de vue biochimique, le processus de sclérotisation n'est pas bien élucidé. Il est établi, toutefois, que la sclérotisation est indépendante de la mélanisation, bien que les matériaux organiques mis en œuvre soient semblables et que les deux processus se déroulent souvent concomitamment. Pour une étude détaillée de ces processus, voir Mason (1955), Pryor (1962), Hackman (1964) ou Brunet (1965).

Le tannage quinonique des protéines cuticulaires différencie la procuticule en exocuticule et endocuticule. On distingue aisément ces deux strates sur coupes histologiques après coloration par le procédé de l'Azan (méthode



de Schleicher à l'azocarmin-bleu d'aniline-orange G) qui colore l'exocuticule en rouge et l'endocuticule en bleu.

C'est l'épaisseur relative de l'exocuticule, résultant d'une sclérotisation plus ou moins poussée de la procuticule, qui détermine le degré de rigidité du tégument. La rigidité flexionnelle des élytres des Coléoptères, par exemple, varie considérablement d'une espèce à l'autre (de 102 mg . mm² à 357 000 mg . mm² pour une flèche de 15 %), en raison des différences d'épaisseur de l'exocuticule (Krzelj, 1969), et non en raison de modifications de la nature chimique des matériaux cuticulaires. Le module de Young de ces cuticules élytrales est en effet compris entre 500 et 1 300 kg/mm² (Krzelj et Jeuniaux, 1968)⁽¹⁾.

Résiline. — Certaines zones cuticulaires privilégiées possèdent des propriétés élastiques assez exceptionnelles, qui ont conduit Weis-Fogh (1960) à les appeler « rubber-like cuticles ». Il s'agit par exemple du ligament articulaire entre l'apodème pleural et les sclérites axillaires de l'aile des Criquets, ou des tendons des muscles pleuro-subalaires des Libellules. Ces cuticules contiennent une protéine particulière, la résiline, insoluble dans l'eau, dont les propriétés rappellent celles de l'élastine des Vertébrés. La résiline est probablement liée à la chitine (Weis-Fogh, 1960). La composition chimique de la résiline est assez voisine de celle de l'élastine de bœuf et comprend, pour 100 résidus d'acides aminés, environ 37 résidus de glycocole, 11 d'alanine et 10 d'acide aspartique (Bailey et Weis-Fogh, 1961). A l'état naturel, les chaînes de résiline sont liées entre elles par des résidus de dityrosine et de trityrosine, ce qui explique l'insolubilité de cette protéine (Andersen, 1963, 1964).

HYDROLYSE DES CONSTITUANTS CUTICULAIRES AU COURS DE LA MUE

Au moment où l'épiderme se rétracte, les cellules épidermiques élaborent des chitinases, des chitobiasés et des enzymes protéolytiques, qui sont sécrétées au niveau du pôle apical dans le liquide exuvial. Ces enzymes hydrolysent rapidement la chitine et les arthropodines de l'endocuticule, ce qui entraîne la libération d'acétylglucosamine et d'acides aminés dans le liquide exuvial. On a démontré, grâce à l'injection d'acides aminés marqués dans l'espace exuvial, que ces produits d'hydrolyse sont rapidement absorbés

⁽¹⁾ Le Module de Young des sclérites du Criquet *Schistocera gregaria* est de 960 kg/mm² (JENSEN et WEIS-FOGH, 1962).

FIG. 35. — Synthèse et sécrétion cycliques de chitinase exuviale par l'épiderme du Ver à soie (*Bombyx mori* L.), au cours de la fin de la vie larvaire (d'après JEUNIAUX, 1963).
FIG. 36. — Variation d'activité des chitinases (o—o) et des chitobiasés (*—*), et variations de concentration de l'acétylglucosamine (x---x) dans le liquide exuvial, au cours de la mue imaginale de *Bombyx mori* L. (d'après JEUNIAUX, 1963).

par l'épiderme et réintroduits dans le métabolisme général de l'Insecte (Passonneau et Williams, 1953). Les chitinases cessent d'être sécrétées par l'épiderme peu de temps avant l'exuviation proprement dite (soit, chez *Bombyx mori*, entre le « stade du triangle » et l'ecdysis dans le cas d'une mue larvaire, un jour avant l'exuviation dans le cas d'une mue nymphale, et environ deux jours avant l'éclosion de l'adulte, Jeuniaux, 1963) (fig. 35 et 36).

D'après Passonneau et Williams (1953), qui ont étudié la mue imaginale de *Platysamia cecropia*, l'épiderme sécréterait d'abord un « gel » exuvial, inactif au point de vue enzymatique, qui se transformerait en « sol » à la fin du stade nymphal, soit quatre jours avant l'éclosion du papillon. La transformation gel → sol coïnciderait avec l'apparition des activités enzymatiques. Ce processus ne doit pas être généralisé hâtivement. En effet, chez *Bombyx mori*, il n'y a pas sécrétion de gel exuvial au cours des mues larvaires, mais d'un liquide; chez la nymphe, un gel exuvial apparaît bien, environ 72 heures après la mue nymphale, mais cet état ne dure guère, et il ne semble pas y avoir de relation directe entre l'état de sol et l'activité enzymatique (Jeuniaux, 1963).

La synthèse de chitinase par l'épiderme est un phénomène cyclique. Il a été bien mis en évidence chez le Ver à soie *Bombyx mori*, chez lequel l'épiderme ne synthétise ni chitinase active ni précurseur enzymatique pendant toute la durée des intermues (Jeuniaux, 1957, 1963). Un des aspects du contrôle hormonal des mues réside donc dans l'activation cyclique des processus de biosynthèse de la chitinase par l'épiderme (ou de la levée de la répression éventuelle de cette synthèse).

Les extraits aqueux des exuvies fraîchement récoltées sont très riches en chitinases, chitobiases et enzymes protéolytiques (Hamamura et coll., 1940; Jeuniaux, 1955, *a* et *b*). Les hydrolases du liquide exuvial sont donc fermement adsorbées à leurs substrats respectifs au niveau de la cuticule en voie de dégradation, de sorte que le liquide exuvial, peu avant l'ecdysis, ne contient que peu d'enzymes (Jeuniaux, 1957). Ce fait explique probablement, en partie du moins, que l'absorption des produits d'hydrolyse du liquide exuvial par l'épiderme puisse se dérouler à travers la nouvelle cuticule en voie d'élaboration, sans que celle-ci soit endommagée par les hydrolases.