

COMMUNICATION BRÈVE

Reçu le 22 décembre 1961.

Sur les substances organiques constituant la membrane péritrophique des Insectes, par R. DE METS et Ch. JEUNIAUX (*Institut Léon Fredericq, Biochimie, Université de Liège*).

Chez les Insectes, une membrane péritrophique entoure le bol alimentaire dans l'intestin moyen et l'intestin postérieur. On considère généralement que cette membrane est constituée de chitine et de protéines (WIGGLESWORTH, 1947; MERCER et DAY, 1952). La présence de chitine a été mise en évidence par le test du chitosane (RICHARDS, 1943; WATERHOUSE, 1953), mais on ne possède aucune information sur l'importance qualitative de la chitine et des protéines dans la constitution de la membrane péritrophique.

Nous avons confirmé l'existence de chitine dans les membranes péritrophiques des Insectes grâce à l'emploi de chitinases purifiées comme réactif spécifique. Les membranes péritrophiques de divers Insectes, soigneusement lavées à l'eau distillée, ont été incubées à 37° C., pendant 6 à 12 heures, dans une solution de chitinase purifiée (JEUNIAUX, 1957, 1959b) tamponnée au pH 5.2 (concentration en chitinase purifiée : 1 mg./ml., soit 500 unités néphélométriques; JEUNIAUX, 1959b). Après incubation et centrifugation, le chitobiose libéré par l'hydrolyse enzymatique de la chitine a été ensuite complètement hydrolysé en acétylglucosamine, au cours d'une nouvelle incubation à 37° C. en présence d'une solution enzymatique riche en chitobiase (solution à 0.5 % de β -glucosidase N. B. Co. : DEVIGNE et JEUNIAUX, 1960). L'acétylglucosamine a été dosée par la méthode de REISSIG, STROMINGER et LELAIR (1955). Cette méthode enzymatique, appliquée au dosage de chitine « native », purifiée à partir du sépion de Seiche, a permis de mesurer, avec une erreur de 10 % maximum, des quantités de chitine de 20 μ g.

La chitine a été dosée, par cette méthode enzymatique, dans des membranes péritrophiques fraîches, non desséchées préalablement ⁽¹⁾, et dans des membranes péritrophiques de même provenance, préalablement traitées par NaOH N à 100° C. pendant 6 heures.

TABLEAU I.

Teneur en chitine dans les membranes péritrophiques de quelques Insectes.

Espèce	Stade	Chitine en mg. pour 100 mg. de matières sèches	
		Sans traitement préalable	Après traitement par NaOH N, 100° C., 6 h.
<i>Dixippus morosus</i> Br.	adulte	0.9	3.7
<i>Bombyx mori</i> L.	larve 5 ^e âge	10.1	12.9
<i>Aeschna cyanea</i> MULLER	larve	5.0	10.6

Les résultats (tableau I) montrent que la chitine constitue entre 3.7 et 12.9 % de la matière sèche totale des membranes péritrophiques chez les trois espèces étudiées (le Phasme, le Ver à soie et une larve de Libellule). Ils semblent indiquer, d'autre part, que la chitine se trouve en partie sous forme libre, rapidement hydrolysée par les chitinases, et en partie sous la forme d'un complexe résistant à l'hydrolyse enzymatique. La chitine de ce complexe est libérée sous l'action de lessives sodiques. Des complexes chitine-protéines ont été mis en évidence dans des cuticules d'Insectes et de Crustacés (HACKMAN, 1959, 1960) et dans la couche membraneuse de la carapace des Crabes (JEUNIAUX, 1959a).

D'autre part, nous avons pu mettre en évidence la présence de protéines dans les membranes péritrophiques des mêmes

⁽¹⁾ Le poids sec a été déterminé sur une portion du même échantillon, soumis à la dessiccation en étuve à 80° C., jusqu'à poids constant.

Insectes par le tes
avons déterminé
membranes péritro
extrait par hydr
6 heures). La tene
mg. pour 100 mg.
6.7 chez *Bombyx*, 7.
extrait dans ces co
la teneur en protéi
serait approximati
Dixippus et 21 %

On voit que la ch
péritrophique des
moitié du poids lo
la notion classique
des Insectes ne cor
Pour un lot de m
(stade larvaire, 5^e à
de l'eau distillée, l
du poids de matière

Pour tenter d'iden
péritrophique des es
(méthode à l'antru
(méthode d'ELSON
(réaction de TOLLE
dans les hydrolysats

Les résultats son
concerne les hexosa
représentent les val
la quantité de glu
comparaison, nous a
hydrolysat acide de

La présence d'hex
un argument en fav
du type mucine dan
DAY (1949) avait d

⁽¹⁾ Gastric mucin N. N.

...ode enzymatique, dans
...non desséchées préala-
...péritrophiques de même
...ar NaOH N à 100° C.

phiques de quelques Insectes.

en mg. pour 100 mg.
matières sèches

Contenu en azote avant traitement	Après traitement par NaOH N, 100° C., 6 h.
12.9	3.7
12.1	12.9
12.0	10.6

...que la chitine constitue
...ne totale des membranes
...étudiées (le Phasme, le Ver
...semblent indiquer, d'autre
...sous forme libre, rapide-
...partie sous la forme d'un
...matique. La chitine de ce
...lessives sodiques. Des com-
...à l'évidence dans des cuti-
...MAN, 1959, 1960) et dans
...e des Crabes (JEUNIAUX,

...e en évidence la présence
...péritrophiques des mêmes

...n du même échantillon, soumis à
...onstant.

Insectes par le test du biuret et la réaction de MILLON. Nous avons déterminé la teneur approximative en protéines des membranes péritrophiques en mesurant par microkjeldal l'azote extrait par hydrolyse alcaline (NaOH N à 100° pendant 6 heures). La teneur en azote des lessives sodiques, exprimée en mg. pour 100 mg. de membranes péritrophiques sèches, est de 6.7 chez *Bombyx*, 7.5 chez *Dixippus* et 3.3 chez *Aeschna*. Si l'azote extrait dans ces conditions est uniquement d'origine protéique, la teneur en protéines, par rapport au poids de matière sèche, serait approximativement de 42 % chez *Bombyx*, 47 % chez *Dixippus* et 21 % chez *Aeschna*.

On voit que la chitine et les protéines composant la membrane péritrophique des espèces étudiées représenteraient moins de la moitié du poids total des matières sèches. Nous avons vérifié la notion classique selon laquelle les membranes péritrophiques des Insectes ne contiennent que peu de matières inorganiques. Pour un lot de membranes péritrophiques de *Bombyx mori* (stade larvaire, 5^e âge), nettoyées par agitation mécanique dans de l'eau distillée, les cendres résiduelles représentaient 7.9 % du poids de matières sèches.

Pour tenter d'identifier les autres constituants de la membrane péritrophique des espèces étudiées, nous avons mesuré les sucres (méthode à l'anthrone : DREYWOOD, 1946), les hexosamines (méthode d'ELSON et MORGAN, 1933) et les acides uroniques (réaction de TOLLENS : MAUGHAN, KENNETH et BROWNE, 1938) dans les hydrolysats acides de membranes péritrophiques.

Les résultats sont résumés dans le tableau II; en ce qui concerne les hexosamines, les valeurs reprises dans ce tableau représentent les valeurs totales mesurées, dont on a soustrait la quantité de glucosamine d'origine chitineuse. A titre de comparaison, nous avons mesuré les mêmes substances dans un hydrolysats acide de mucine gastrique purifiée de bœuf (1).

La présence d'hexosamines, d'oses et d'acides uroniques semble un argument en faveur de la présence de mucopolysaccharides du type mucine dans la membrane péritrophique des Insectes. DAY (1949) avait déjà signalé, à la suite d'observations histo-

(1) Gastric mucin N. N. R. de Nutritional Biochemicals Corporation.

chimiques, la possibilité de l'intervention de substances mucoïdes dans la composition de la membrane péritrophique des Insectes.

TABLEAU II. — Teneur en hexosamines, oses et acides uroniques dans les membranes péritrophiques d'Insectes et la mucine gastrique de bœuf après hydrolyse par HCl 6 N pendant 8 heures.

Espèces	Hexo- samines (¹)	Oses (²)	Acides uroniques (³)
<i>Bombyx mori</i> L.	14.5	0.8	1.6
<i>Dixippus morosus</i> Br.	3.8	8.0	3.4
<i>Aeschna cyanea</i> MULLER	7.0	2.9	2.2
Mucine gastrique de bœuf	22.5	5.2	1.6

(¹) Hexosamines, exprimées en mg. de glucosamine pour 100 mg. de matières sèches.

(²) Oses, exprimés en mg. de glucose pour 100 mg. de matières sèches.

(³) Acides uroniques, exprimés en mg. d'acide glucuronique pour 100 mg. de matières sèches.

BIBLIOGRAPHIE

- DAY, M. F. (1949). — *Australian J. Sci. Res.*, 421.
 DREYWOOD, R. (1946). — *Indus. Eng. Chem. Anal.*, 18, 499.
 DEVIGNE, J. et JEUNIAUX, Ch. (1960). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, 68, 685.
 ELSON, L. A. et MORGAN, W. T. J. (1933). — *Biochem. J.*, 27, 1824.
 HACKMAN, R. H. (1959). — *Proc. IVth Internat. Congr. Biochem.*, Vienna, XII, 48.
 HACKMAN, R. H. (1960). — *Australian J. Biol. Sci.*, 13, 568.
 JEUNIAUX, Ch. (1957). — *Biochem. J.*, 66, 29P.
 JEUNIAUX, Ch. (1959a). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, 67, 516.
 JEUNIAUX, Ch. (1959b). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, 67, 597.
 MAUGHAN, G. B., KENNETH, A. et BROWNE, J. S. L. (1938). — *J. Biol. Chem.*, 126, 567.
 MERCER, E. H. et DAY, M. F. (1952). — *Biol. Bull.*, 103, 384.
 REISSIG, J. H., STROMINGER, J. L. et LELOIR, J. L. (1955). — *J. Biol. Chem.*, 217, 959.
 RICHARDS, A. G. et KORDA, E. H. (1948). — *Biol. Bull.*, 94, 212.
 WATERHOUSE, D. F. (1953). — *Australian J. Zool.*, 1, 209.
 WIGGLESWORTH, V. B. (1947). — *The Principles of Insect Physiology*, Methuen London.

EXCER

Les EXCERPT
 extensif d'extraits
 immense de la mé
 20 sections qui fo
 formant une docu

PHYSIOLOGY

Enviro

ABST

Pub

Nous désirons vous
 pose pour la traduct
 Nous vous prions de
 recevrez un relevé du

EX

119-123, Herengracl
 AMSTERDAM (Holl