

(Communication reçue le 9 mars 1968.)

**OBSERVATIONS PRELIMINAIRES
SUR LA CONSTITUTION CHIMIQUE
DES PIÈCES MANDIBULAIRES
DE QUELQUES ANNELIDES POLYCHETES**

par M. DESIÈRE et Ch. JEUNIAUX.

Université de Liège, Institut Ed. Van Beneden,
Laboratoire de Morphologie, Systématique et Ecologie Animales.

Résumé. — Contrairement aux crochets pharyngiens de *Perinereis cultrifera* (GRUBE) et de *Sthenelais boa* (JOHNSTON), qui sont complètement solubles dans la soude à chaud, les pièces cornées maxillaires de certains Euniciens sont constituées non seulement de protéines mais encore de sels minéraux et de chitine. La quantité de chitine est faible et estimée à 0,13 p.c. seulement du poids sec total.

(English summary at the end of this article.)

I. — INTRODUCTION.

La littérature scientifique n'offre que peu de renseignements en ce qui concerne la constitution chimique des formations maxillaires chez les Annélides Polychètes. Les auteurs admettent généralement, sans preuves expérimentales, que les pièces « mandibulaires » de ces vers sont de nature chitineuse.

Rappelons toutefois, à ce propos, que les zoologistes ont souvent tendance à donner abusivement le nom de « chitine », non à la réalité moléculaire que représente cette substance, mais à toutes les formations cuticulaires ou squelettiques plus ou moins résistantes aux agents chimiques, à la putréfaction, au scalpel de l'anatomiste ou au rasoir du microtome.

Abordant le problème de la répartition de la chitine au niveau des structures squelettiques et cuticulaires des animaux, l'un de nous (JEUNIAUX, 1963, 1965) a montré que, au moins pour une espèce d'Annélide Polychète (*Perinereis cultrifera*), la chitine manque complètement dans la gaine de la trompe, les crochets mandibulaires et les paragnathes.

Il s'avérerait donc intéressant d'étendre les recherches à d'autres Annélides Polychètes. Le présent travail fait état de la mise en évidence de chitine, en faible quantité, dans les pièces mandibulaires de certains Eunicien.

II. — MATÉRIEL BIOLOGIQUE.

Les pièces cornées mandibulaires étudiées appartiennent à quatre espèces d'Eunicien : *Marphysa sanguinea* (MONTAGU), *Marphysa bellii* (AUDOUIN et EDWARDS), *Arabella iricolor* (MONTAGU) et *Lumbriconereis impatiens* CLAPARÈDE, ainsi qu'à *Perinereis cultrifera* GRUBE (Néréidien) et à *Sthenelais boa* (JOHNSTON) (Aphroditien).

Les exemplaires étudiés ont été recueillis à la Station Biologique de Roscoff et ont été conservés dans l'alcool 60°.

III. — TECHNIQUES.

Nous avons, au cours d'expériences préliminaires, observé l'action de NaOH 0,5 N à 100° et celle de HCl 0,5 N sur les pièces mandibulaires des diverses espèces citées ci-dessus. La chitine a été recherchée et dosée par la méthode enzymatique de JEUNIAUX (1963, 1965). Celle-ci est basée sur l'utilisation, comme réactif spécifique de la chitine, de solutions de chitinases purifiées qui catalysent spécifiquement l'hydrolyse de la chitine en chitobiose et chitotriose (première étape). Ces deux oligomères de l'acétylglucosamine sont ensuite hydrolysés (deuxième étape) en acétylglucosamine, que l'on dose par la méthode de REISSIG, STROMINGER et LELOIR (1955).

Les chitinases ont été préparées à partir d'un filtrat de culture de *Streptomyces antibioticus*, souche A1 (JEUNIAUX, 1958), et purifiées par la méthode de JEUNIAUX (1959, 1966). La solution de chitinases purifiées utilisée au cours de cet essai (fraction SA2-50) titrait 400 unités néphélométriques par ml (soit 0,92 mg d'enzyme par ml) (cf. JEUNIAUX, 1966). L'action de l'enzyme sur les pièces mandibulaires étudiées a duré 10 heures à 37° C et à pH 5,2 en présence de thymol comme antiseptique.

La quantité approximative de protéines a été estimée en dosant par Kjeldahl l'azote extrait par la soude à chaud.

IV. — RÉSULTATS.

A) Observations préliminaires.

L'observation du comportement des pièces étudiées dans la soude à chaud (NaOH 0,5 N à 100°) et dans l'acide chlorhydri-

que dilué (HCl 0,5 N) a permis de constater que les pièces cornées mandibulaires de certaines espèces sont différentes de celles des autres. Ainsi, les pièces mandibulaires de la têtardie exsertile, *Perinereis*

Les mâchoires de cette espèce sont totalement solubilisées dans la soude à chaud, alors que les pièces mandibulaires de la même espèce, traitées au même traitement, ne le sont pas.

Dans le cas des pièces mandibulaires de *Marphysa bellii* (Eunicien), on a constaté que les pièces mandibulaires de NaOH 0,5 N à 100°, traitées avec du matériel et l'acquisition de la chitine sont différentes de celles des autres. Ainsi, lors de l'acquisition d'une solution de soude à chaud, les pièces mandibulaires plongées dans une solution de soude à chaud rapidement, et un coulage de CO₂ est observé sur les ventrales. Après ce traitement, la technique qui conserve plus longtemps la mandibulaire. Cette mandibulaire est de nature chitineuse. Afin de vérifier l'exactitude, nous avons rasé les pièces mandibulaires de cette espèce et d'effectuer un dosage de la chitine par la méthode enzymatique.

Nous avons également constaté que les pièces mandibulaires de soude à 100° à partir de la soude à chaud.

B) Dosage de la chitine dans les pièces mandibulaires de quatre espèces d'Eunicien.

Le matériel étudié est constitué de pièces mandibulaires issues de quatre espèces d'Eunicien : *Marphysa bellii*, 11 exemplaires ; *Lumbriconereis impatiens*, 11 exemplaires ; *Arabella iricolor*, 11 exemplaires ; *Perinereis cultrifera*, 11 exemplaires.

Les pièces mandibulaires ont été lavées à l'eau distillée, puis séchées à l'étuve à 60° C puis en exsiccateur sur sulfate de calcium. Le matériel séché a été pesé et conservé pendant 5 heures, puis

les recherches à d'au-
travail fait état de la
quantité, dans les pièces

QUE.

diées appartiennent à
sanguinea (MONTAGU),
Arabella iricolor (MON-
ARÈDE, ainsi qu'à *Peri-*
Sthenelais boa (JOHN-

illis à la Station Biolo-
ns l'alcool 60°.

liminaires, observé l'ac-
de HCl 0,5 N sur les
es citées ci-dessus. La
méthode enzymatique
e sur l'utilisation, com-
solutions de chitinases
l'hydrolyse de la chi-
étape). Ces deux oligo-
e hydrolysés (deuxième
ose par la méthode de

r d'un filtrat de culture
AI (JEUNIAUX, 1958), et
959, 1966). La solution
de cet essai (fraction
es par ml (soit 0,92 mg
l'action de l'enzyme sur
10 heures à 37° C et à
antiseptique.
ines a été estimée en
la soude à chaud.

pièces étudiées dans la
dans l'acide chlorhytri-

que dilué (HCl 0,5 N à 20°) montre déjà que les propriétés des
pièces cornées mandibulaires des Eunicien sont nettement dif-
férentes de celles des mâchoires des Annélides Polychètes à
trompe exsertile, *Perinereis cultrifera* et *Sthenelais boa*.

Les mâchoires de ces deux dernières espèces sont rapidement
et totalement solubilisées par la soude caustique 0,5 N à 100°,
alors que les pièces mandibulaires des Eunicien résistent à ce
même traitement, quelle qu'en soit la durée.

Dans le cas des pièces cornées mandibulaires de *Marphysa*
bellii (Eunicien), on n'observe, au cours du traitement par
NaOH 0,5 N à 100°, qu'une décoloration plus ou moins rapide
du matériel et l'acquisition de propriétés physiques sensiblement
différentes de celles manifestées par les pièces intactes, notam-
ment l'acquisition d'une grande friabilité. Après ce traitement par
la soude à chaud, les pièces mandibulaires de *Marphysa bellii*,
plongées dans une solution d'HCl 0,5 N à 20°, se décolorent
rapidement, et un court dégagement de bulles de gaz (proba-
blement CO₂) est observé, surtout dans le cas des pièces bucca-
les ventrales. Après ce traitement, il subsiste une matrice orga-
nique qui conserve plus ou moins la forme initiale de la pièce
mandibulaire. Cette mince pellicule organique pourrait être de
nature chitineuse. Afin d'en déterminer la nature chimique
exacte, nous avons rassemblé, en un lot unique, les pièces cor-
nées mandibulaires des Eunicien que nous possédions, afin
d'effectuer un dosage quantitatif de la chitine par la méthode
enzymatique.

Nous avons également dosé l'azote protéique extrait par la
soude à 100° à partir de ce même lot de pièces mandibulaires.

B) Dosage de la chitine dans les pièces cornées mandibulaires de quatre espèces d'Eunicien.

Le matériel étudié consistait en un lot unique contenant les
pièces mandibulaires isolées à partir de 11 exemplaires de *Mar-*
physa bellii, 11 exemplaires d'*Arabella iricolor*, 29 exemplaires
de *Lumbriconereis impatiens* et 1 exemplaire de *Marphysa san-*
guinea.

Les pièces mandibulaires ont été soigneusement lavées à l'eau
distillée, puis séchées jusqu'à poids constant en étuve à 85°,
puis en exsiccateur sur P₂O₅. Le poids sec total était de 7,0 mg.
Le matériel séché a été traité par 5 ml de NaOH 0,5 N à 100°
pendant 5 heures, puis à 90° pendant 11 heures. Après centrif-

gation, la solution surnageante a été utilisée pour le dosage de l'azote extrait (voir ci-dessous), tandis que le culot de centrifugation, après lavage à l'eau distillée, était traité par HCl 0,5 N à 20° (ce qui entraîne un dégagement de CO₂).

Après centrifugation et lavages à l'eau distillée, le matériel résiduel a été broyé au moyen d'un micropilon en verre et soumis au dosage de la chitine par la méthode enzymatique.

Les résultats sont présentés dans le tableau I. Ils montrent l'existence de chitine en faible quantité, dans le matériel organique provenant du lot de pièces cornées mandibulaires de divers Eunicien, et résistant à l'action de la soude à chaud. La chitine constitue environ 0,13 % du poids sec initial de ces pièces.

TABLEAU I. — Dosage de la chitine par la méthode enzymatique dans les pièces cornées mandibulaires de 4 espèces d'Eunicien.

Matériel étudié	Poids de matériel sec	Acétylglucosamine totale libérée en μg	Quantité de chitine correspondante en μE (1)	Chitine mesurée en % du poids total
Pièces cornées mandibulaires appartenant à 4 espèces d'Eunicien	7 mg	9,9	9,12	0,13

(1) La quantité d'acétylglucosamine (AG) totale libérée est multipliée par 0,92 (Rapport du poids moléculaire d'un reste d'AG dans la molécule de chitine à celui de l'AG libre).

C) Dosage de l'azote extrait par la soude à partir de pièces cornées mandibulaires de quatre espèces d'Eunicien.

On dose, par Kjeldahl, après minéralisation, l'azote extrait à partir du lot de pièces mandibulaires d'Eunicien par une solution (6 ml) de soude caustique 0,5 N (5 heures à 100°, puis 11 heures à 90°).

Les résultats, présentés dans le tableau II, sont exprimés en mg d'azote extrait par la soude. En admettant que tout cet azote provient de protéines, la fraction protéique représenterait donc environ 47 % du poids sec initial des pièces cornées mandibulaires constituant le lot étudié.

TABLEAU II. — Dosage de l'azote extrait par la soude à partir des pièces cornées mandibulaires de quatre espèces d'Eunicien.

Matériel étudié	Poids de matériel sec
Pièces cornées de 4 espèces d'Eunicien	7 mg

(1) En admettant que l'azote provient de protéines (la quantité d'azote...

V. —

a) Les mâchoires de la moule, *Perinereis cultrifera*, contiennent une grande quantité de chitine, ce qui correspond aux crochets mandibulaires de *Perinereis cultrifera* (JEUNIAUX, 1966). Après l'action de la soude à chaud, la chitine est détruite et la moule nue pour sa résistance mécanique complète après une...

b) Au contraire, les pièces cornées de quatre espèces d'Eunicien, *Arabella iricolor* et *Leptochelone*, après traitement par la soude à chaud, perdent toute leur résistance mécanique, produit un léger dégagement de CO₂, absence, au sein de ces pièces, de carbonates solubles dans l'acide...

c) L'action des enzymes libère de l'acétylglucosamine libérée au moins en partie, ce qui correspond approximativement à...

d) Le traitement par la soude à chaud entraîne la destruction d'u...

isée pour le dosage de
que le culot de centri-
traité par HCl 0,5 N
e CO₂).

u distillée, le matériel
micropilon en verre et
éthode enzymatique.

ableau I. Ils montrent
dans le matériel organi-
mandibulaires de divers
oude à chaud. La chi-
ec initial de ces pièces.

u méthode enzymatique
4 espèces d'Euniciens.

Quantité de chitine correspon- dante en µg (1)	Chitine mesurée en % du poids total
9,12	0,13

e libérée est multipliée par
d'AG dans la molécule de

de à partir de pièces
èces d'Euniciens.

sation, l'azote extrait à
Euniciens par une solu-
(5 heures à 100°, puis

u II, sont exprimés en
admettant que tout cet
protéique représenterait
des pièces cornées man-

TABLEAU II. — Dosage de l'azote extrait par la soude à chaud
à partir des pièces cornées mandibulaires de 4 espèces d'Euniciens
(KJELDAHL).

Matériel étudié	Poids de matériel sec	N extrait par NaOH 0,5 N à 100°, en mg	« Protéines » extraites par la soude, en mg (1)	« Protéines » en % du poids sec initial
Pièces cornées de 4 espèces d'Euni- ciens	7 mg	0,525	3,28	46,9

(1) En admettant que tout l'azote extrait par la soude provient de pro-
téines (la quantité d'azote est multipliée par 6,25).

V. — DISCUSSION ET CONCLUSIONS.

a) Les mâchoires des Annélides Polychètes à trompe exser-
tile, *Perinereis cultrifera* et *Sthenelais boa*, ne sont pas constituées
de chitine, ce qui confirme l'observation de l'un de nous pour
les crochets mandibulaires et les paragnathes de *Perinereis cul-
trifera* (JEUNIAUX, 1963). En effet, ces structures ne résistent pas
à l'action de la soude 0,5N à 100° alors que la chitine est con-
nue pour sa résistance à pareil traitement. Leur dégradation est
complète après une demi-heure.

b) Au contraire, les pièces maxillaires de l'organe buccal de
quatre espèces d'Euniciens, *Marphysa bellii* et *M. sanguinea*,
Arabella iricolor et *Lumbriconereis impatiens*, résistent au même
traitement par la soude à chaud, quelle qu'en soit la durée.
Après ce traitement, les pièces maxillaires, traitées par HCl 0,5 N
à 20°, perdent toute trace de coloration en même temps que se
produit un léger dégagement de gaz (CO₂ ?), indiquant la pré-
sence, au sein de ces structures, d'incrustats minéraux, probable-
ment des carbonates. Il subsiste une matrice organique friable,
soluble dans l'acide sulfurique concentré.

c) L'action des chitinases purifiées et le dosage de l'acétyl-
glucosamine libérée montrent que cette matrice organique est,
au moins en partie, constituée de chitine. La chitine représente
approximativement 0,13 % du poids sec initial.

d) Le traitement par la soude à 100° entraîne la solubilisation
ou la destruction d'un matériel azoté. En admettant, ce qui est

vraisemblable, que cet azote est d'origine protéique, la teneur en protéines détruites par la soude à partir des pièces mandibulaires d'Euniciens correspondrait à 46,9 % du poids sec initial.

e) Il convient toutefois de remarquer que, faute d'avoir pu disposer d'un matériel plus abondant, nos recherches se sont limitées à un seul échantillon comprenant les pièces maxillaires de quatre espèces d'Euniciens réunies. Nous ne sommes donc pas en mesure d'affirmer que les pièces maxillaires de chaque espèce possèdent la même constitution chimique.

Quoi qu'il en soit, il reste indéniable que les pièces maxillaires des Euniciens étudiés renferment de la chitine en faible quantité ainsi que, très vraisemblablement, des substances protéiques et des substances minérales, notamment des carbonates. Les pièces maxillaires des Euniciens diffèrent donc profondément, quant à leur constitution chimique, de celles des Annélides Polychètes à trompe pharyngienne exsertile étudiées jusqu'à présent à ce point de vue.

SUMMARY.

Whereas the jaws of the axial proboscis of Perinereis cultrifera and Sthenelais boa (Nereidae and Aphroditidae) are completely destroyed by hot alkali, the two-paired systems of maxillar pieces of certain species of Euniciidae are build up of proteins, mineral salts and chitin. The quantity of chitin is relatively low and amounts approximately 0,13 % of the total dry weight.

BIBLIOGRAPHIE.

- JEUNIAUX, Ch. (1958). — Recherches sur les Chitinases. I. - Dosage néphélométrique et production de chitinase par des Streptomycètes. *Arch. Internat. Physiol. Bioch.*, **66**, 408.
- 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**, 597.
- JEUNIAUX, Ch. (1963). — *Chitine et chitinolyse, un chapitre de la biologie moléculaire*. Masson, Paris.
- JEUNIAUX, Ch. (1966). — Chitine et phylogénie : application d'une méthode enzymatique de dosage de la chitine. *Bull. Soc. Chimie Biologie*, **47**, 2267.
- JEUNIAUX, Ch. (1966). — Chitinases, in *Methods in Enzymology*. (Edited by S.P. Colowick et N.O. Kaplan), **8**, 644.
- REISSIG, J.L., STROMINGER, J.L. et LELOIR, L.F. (1955). — A modified colorimetric method for the estimation of N-acetyl amino sugars, *J. Biol. Chem.*, **217**, 959.