

pas résulter d'une adap-
En effet, la modifica-
la Souris ou du Ham-
ar suppression complète
modifie pas la sécrétion
plusieurs mois d'expérience

been studied in four spe-
enzyme is only performed
to be unable to secrete chi-

individual variability may
of the same age, sex and
respect to the last meal.

guinea-pig is the only one
The Hamster secretes only
Mice, which are omni-
e secretion. In the latter
mucosa are as high as in

of a correlation between
chitinase and the feeding

— Ordre des Rongeurs, in
VII, 1320-1325.

tribution to the list of hydro-
Nature, 192, 135-136.

chitine chez les Oiseaux et les
27-45.

se, un chapitre de biologie
pp.

ER, L. F. (1955). — A modi-
of N-acetylamine sugars.

COMPOSITION CHIMIQUE DU TUBE D'UN POGONOPHORE (*SIBOGLINUM* SP.) ET DES FORMATIONS SQUELETTIQUES DE DEUX PTEROBRANCHES¹

Par

M. F. FOUCART, S. BRICTEUX-GRÉGOIRE et CH. JEUNIAUX

Institut Léon Fredericq, Biochimie, Université de Liège

ABSTRACT

The chemical composition of the skeletons of two species of pterobranchs, *Cephalodiscus inaequatus* (ANDERSSON) and *Rhabdopleura* sp. and of one pogonophore, *Siboglinum* sp., was studied quantitatively.

The tubes of *Siboglinum* sp. are composed of proteins (about 47 %) and chitin (about 33 %); these two substances are probably associated in large amounts as glycoproteic complexes. The amino acid composition suggests that these proteins belong to the class of scleroproteins. Their composition is very different from that of collagen and keratin.

On the contrary, the coenecium of the two pterobranchs does not contain any chitin and the amounts of proteins are much lower (19 %). The proteins are characterized by a very high proportion of glycine (35 % of the total amount of amino acids).

La composition chimique des formations squelettiques des Deutérostomiens primitifs, notamment des Pogonophores et des Ptérobranches n'est guère connue.

Beaucoup de zoologistes considèrent traditionnellement que le coenecium des Ptérobranches est de nature chitineuse. Pourtant ANDERSSON déjà en 1907, se basant sur le pourcentage d'azote décelé dans la substance des tubes de *Cephalodiscus inaequatus*, avait rejeté l'hypothèse d'un squelette chitineux et considérait que ce squelette devait être de nature protéique.

Récemment RUDALL (1955) a signalé ne pas avoir observé les images de diffraction des rayons X caractéristiques de la chitine, dans les tubes de *Rhabdopleura normanni*.

Chez les Pogonophores, la présence de chitine a été mise en évidence dans les tubes de quatre espèces différentes par BRUNET et CARLISLE (1958). RUDALL (1962) a pu confirmer ces résultats par la méthode de diffraction des rayons X.

CARLISLE (1964), par la suite, a tiré d'une étude comparative d'un Pogonophore récent, *Zenkevitchiana longissima* (IVANOV) et de *Hyalithellus micans* (BILLINGS), fossile attribué par POULSEN (1963) au phylum des Pogonophores, la confirmation de l'appartenance de *Hyalithellus* à ce phylum.

On voit que la nature chimique de l'exosquelette des Ptérobranches est pratiquement inconnue. Quant au tube des Pogonophores, les analyses de CAR-

¹ Contribution de la Station Biologique, Espesgrend, Blomsterdalen, Norvège.

LISLE se sont limitées à la mise en évidence qualitative de la chitine et de quelques acides aminés. Nous avons cherché à préciser la composition chimique de ces formations squelettiques, à l'aide de méthodes spécifiques et quantitatives, nous consacrant plus spécialement à l'étude du coenecium de *Cephalodiscus inaequatus* (ANDERSSON) et de *Rhabdopleura* sp. (Ptérobranches) ainsi que des tubes du Pogonophore *Siboglinum* sp. (probablement *Siboglinum fiordicum* WEBB).

ORIGINE DU MATÉRIEL ÉTUDIÉ

Les tubes de *Siboglinum* sp. (probablement *Siboglinum fiordicum* WEBB¹) ont été récoltés par la Station Biologique de l'Université de Bergen le 21-5-1964. (Lieu de pêche: Raunefjorden, Tellnessjøen: profondeur 40-50 mètres, numéro de référence de la station: 203-64).

Les tubes de *Rhabdopleura* sp. ont été récoltés par la même station le 30-5-64. (Lieu de récolte: Hjeltefjorden, N. Brattholmen; profondeur 100-150 mètres). Ils étaient fixés à des récifs de *Lophelia pertusa* et de *Amphelia oculata*.

Les échantillons de *Cephalodiscus inaequatus* (ANDERSSON) nous ont été aimablement fournis par le Professeur KOZLOWSKI de Varsovie en même temps que des échantillons de Graptolithes, dont l'étude biochimique a fait l'objet d'une autre publication (FOUCART et al., 1965).

COMPOSITION CHIMIQUE DES TUBES DE *SIBOGLINUM* SP.

Méthodes

Les tubes de *Siboglinum* sp. (probablement *Siboglinum fiordicum* WEBB) étaient conservés depuis 4 mois dans l'alcool à 50 %. Après élimination complète des différentes particules accolées à la paroi à l'aide de pinces et de fins pinceaux, les tubes ont été fendus sur toute leur longueur et les fragments d'organismes qu'ils contenaient ont été soigneusement éliminés.

Les tubes nettoyés ont été traités par HCl 0.5 N à froid pendant 1 heure, puis lavés à maintes reprises par de l'eau distillée. Après dessiccation, une partie du matériel a servi à la recherche et au dosage quantitatif de la chitine, par la méthode enzymatique de JEUNIAUX (1963). Cette méthode consiste à traiter l'échantillon par des chitinases purifiées²: la chitine est totalement hydrolysée, principalement en chitobiose et en chitotriose. Ces produits sont ensuite hydrolysés en acétylglucosamine au moyen d'une solution de chitobiasés. L'acétylglucosamine est dosée par la méthode colorimétrique de REISSIG, STROMINGER et LELOIR (1955). La méthode enzymatique, appliquée après un traitement par NaOH 0.5 N à 100° pendant 4 à 6 heures, permet de doser la chitine totale (chitine libre plus chitine

¹ Identification de Monsieur T. BRATTEGARD.

² La préparation de chitinases utilisée (SA₂-50) provient d'une culture de *Streptomyces antibioticus* (WAKSMAN et WOODRUFF) WAKSMAN et HENRIGI. La chitinase a été concentrée et purifiée selon la méthode de JEUNIAUX (1957, 1959).

liée à des protéines sous forme de chitine a été également appliquée à l'étude de déterminer la proportion de chitine dans les tubes.

Un deuxième échantillon de tubes de *Siboglinum* sp. protéique participant à la formation de la chitine.

Un certain nombre de tubes ont été traités (traitement par une solution de NaOH 0.5 N à 100° pendant 4 à 6 heures).

D'autres fragments, pris par traitement au moyen d'une solution de chlorure d'ammonium par hydrolyse acide de 24 heures à 100° dans l'acide chlorhydrique par évaporation, ont été identifiés et décrits par un appareil automatique Beckman et MOORE (1958).

Résultats

1) Après traitement par NaOH 0.5 N à 100° pendant 4 à 6 heures, la chitine sp. n'est pratiquement pas dissoute, mais des produits tels que les carbonates.

2) Le dosage de la chitine a été effectué par un traitement préalable de la soude, traitement qui élimine les complexes glycoprotéiques et les produits de tubes secs, ce qui représente environ 10 %.

3) La chitine libre dissoute dans l'eau après un traitement préalable par NaOH 0.5 N à 100° pendant 4 à 6 heures, total des tubes, soit 37 %.

4) La réaction du biuret a été effectuée sur les fragments squelettiques. Une succession de zones annulaires de couleur violette apparaît après l'addition de CuSO₄ à une légère coloration lilas qui vire au brun violacé.

5) Les résultats du dosage de la chitine sur des fragments de tubes de *Siboglinum* sp.

Discussion et conclusions

Sur le plan qualitatif, les résultats obtenus par CARLISLE (1958) sur les tubes de *Siboglinum* sp. ainsi que sur *Zenkevitchiana* sp. sont confirmés: la chitine et des protéines sont présentes dans les tubes, confirmée par la réaction positive

de la chitine et de quelques
composition chimique de ces
qualitatives et quantitatives, nous
de *Cephalodiscus inaequatus*
ainsi que des tubes du Pogono-
icum WEBB).

ÉTUDE

Siboglinum fiordicum WEBB¹ ont été
de Bergen le 21—5—1964.
deur 40—50 mètres, numéro
à même station le 30—5—64.
de profondeur 100—150 mètres).
Amphelia oculata.

ERSSON) nous ont été aimable-
ment en même temps que des
que a fait l'objet d'une autre

DE SIBOGLINUM SP.

Siboglinum fiordicum WEBB) étaient
après élimination complète des
pincées et de fins pinceaux, les
fragments d'organismes qu'ils

à froid pendant 1 heure, puis
après dessiccation, une partie du
matériel de la chitine, par la mé-
thode consiste à traiter l'échan-
tillon totalement hydrolysée, princi-
palement sont ensuite hydrolysés en
aminoacides. L'acétylglucosamine
par STROMINGER et LEROY (1955).
totalement par NaOH 0.5 N à 100°
totale (chitine libre plus chitine

est d'une culture de *Streptomyces anti-*
chitinase a été concentrée et purifiée

liée à des protéines sous forme de complexes glycoprotéiques). La même méthode a été également appliquée à des tubes non préalablement traités par la soude, afin de déterminer la proportion de chitine libre (JEUNIAUX, 1963, 1964).

Un deuxième échantillon a été utilisé en vue de l'identification du matériel protéique participant à la constitution du squelette.

Un certain nombre de fragments ont été soumis à la réaction du biuret (traitement par une solution diluée de CuSO_4 après alcalinisation par la soude).

D'autres fragments, privés des acides aminés libres qu'ils auraient pu contenir par traitement au moyen de HCl dilué et lavages successifs, ont été soumis à une hydrolyse acide de 24 heures par HCl 6 N à reflux. Après élimination de l'acide chlorhydrique par évaporation, les différents acides aminés présents dans l'hydrolysat ont été identifiés et dosés par chromatographie sur colonne, à l'aide d'un appareil automatique Beckman Spinco suivant la méthode de SPACKMAN, STEIN et MOORE (1958).

Résultats

1) Après traitement par HCl dilué à froid, le poids sec des tubes de *Siboglinum* sp. n'est pratiquement pas modifié, ce qui indique l'absence de sels acido-solubles tels que les carbonates.

2) Le dosage de la chitine totale par la méthode enzymatique, après action préalable de la soude, traitement qui entraîne la libération de la chitine de ses complexes glycoprotéiques, a permis de déceler 204 μg de chitine pour 660 μg de tubes secs, ce qui représente environ 32.9 % du poids sec.

3) La chitine libre directement hydrolysable par les chitinases purifiées, sans traitement préalable par NaOH à chaud, représente environ 12 % du poids total des tubes, soit 37 % de la quantité de chitine totale.

4) La réaction du biuret met en évidence la présence de protéines dans les fragments squelettiques. Les tubes de *Siboglinum* sp. se présentent comme une succession de zones annulaires alternativement claires et foncées. Quelques instants après l'addition de CuSO_4 à 1 %, les zones claires des tubes prennent une légère coloration lilas qui va s'accroissant; les zones foncées par contre deviennent brun violacé.

5) Les résultats du dosage des acides aminés, d'origine protéique, dans les fragments de tubes de *Siboglinum* sont rassemblés dans le tableau 1.

Discussion et conclusions

Sur le plan qualitatif, nos résultats confirment les observations de BRUNET et CARLISLE (1958) sur les tubes de *Siboglinum atlanticum*, *S. inermis*, et *S. caulleryi* ainsi que sur *Zenkevitchiana longissima*. Les tubes de Pogonophores contiennent de la chitine et des protéines. La nature protéique des tubes de *Siboglinum* est confirmée par la réaction positive au test du biuret.

Tableau 1. Caractérisation et dosage des acides aminés d'origine protéique, dans les tubes de *Siboglinum* sp.

	mg/100 mg de tubes secs	fraction molaire
Acide aspartique	5.37	11.3
Thréonine	2.13	5
Sérine	3.26	8.7
Acide glutamique	3.56	6.8
Proline	2.62	6.3
Glycocolle	3.45	12.8
Alanine	1.82	5.7
Cystine	3.60	4.2
Valine	2.21	5.3
Méthionine	0.66	1.2
Isoleucine	1.76	3.8
Leucine	2.20	4.7
Tyrosine	3.62	5.6
Phénylalanine	2.03	3.4
Lysine	2.03	3.9
Histidine	1.28	2.3
Arginine	5.35	8.6
Total	46.95	99.6

L'examen du tableau 1 indique que les protéines interviennent pour une part importante dans la composition des tubes de *Siboglinum* sp. La somme des acides aminés d'origine protéique représente en effet 46.95 % du poids sec. Ces protéines se caractérisent par une teneur relativement élevée en glycocolle, alanine et sérine : la somme des fractions molaires de ces trois acides aminés s'élève à 27.2 % du total. Il faut noter également le taux important d'acide aspartique (11.3) et d'arginine (8.6). La teneur en proline par contre est relativement peu élevée de même d'ailleurs que celle des acides aminés contenant du soufre.

La teneur en chitine totale s'élève à 33 % du poids sec. La plus grande partie de la chitine (63 % environ) se présente sous forme "masquée" (JEUNIAUX, 1964), non hydrolysable par les chitinases purifiées sans traitement préalable par la soude à chaud.

En conclusion, les tubes de *Siboglinum* sp. sont constitués essentiellement par de la chitine (33 % du poids sec) et par des protéines (environ 47 % du poids sec), vraisemblablement associées en grande partie sous forme de complexes glyco-protéiques. Les protéines des tubes de *Siboglinum* présentent certaines analogies avec les scléroprotéines (teneur relativement élevée en glycocolle, sérine, alanine). Leur faible teneur en acides aminés contenant du soufre permet d'exclure l'appartenance au groupe des kératines. On ne peut non plus les ranger parmi les

collagènes étant donné leur teneur trop peu élevée.

Remarquons que la somme des acides aminés de *Siboglinum* ne représente tout au plus 27.2 % du poids sec total des tubes.

COMPOSITION CHIMIQUE CEPHALODISCUS

Méthodes

Les analyses que nous avons effectuées sur l'un des tubes constituant un fragment conservé dans de la glycocolle dans de l'alcool à 50 % pendant

Les méthodes que nous avons employées à propos des tubes de Pogonophora sont la méthode à l'anthrone (1962) et la méthode de solubilisation dans de l'

Résultats

Essai de mise en évidence

1) Les tubes de *Cephalodiscus* se dissolvent dans la soude 0.5 N.

2) Après hydrolyse acide, les hydrolysats des tubes de *Cephalodiscus* se dissolvent dans l'eau.

3) L'action de solution de *Cephalodiscus* n'entraîne pas la libération de chitine.

Ces observations confirment les observations squelettiques des Ptéropores (RUDALL (1962).

Recherche de chitine

Les fragments de chitine de *Cephalodiscus* (Schweitzer, ne subissent pas de décoloration n'est donc pas de nature chitineuse.

D'autre part, le dosage des glucides. Ce dosage est de substance sèche.

Recherche de protéines

La réaction du biuret sur les tubes de *Cephalodiscus inaequatus* est positive.

acides aminés
Siboglinum sp.

	fraction molaire
	11.3
	5
	8.7
	6.8
	6.3
	12.8
	5.7
	4.2
	5.3
	1.2
	3.8
	4.7
	5.6
	3.4
	3.9
	2.3
	8.6
	99.6

nterviennent pour une part
um sp. La somme des acides
, du poids sec. Ces protéines
glycocolle, alanine et sérine:
aminés s'élève à 27.2 % du
acide aspartique (11.3) et
relativement peu élevée de
t du soufre.

s sec. La plus grande partie
"masquée" (JEUNIAUX, 1964),
ment préalable par la soude

stitués essentiellement par
(environ 47 % du poids sec),
forme de complexes glyco-
ésentent certaines analogies
glycocolle, sérine, alanine).
oufre permet d'exclure l'ap-
plus les ranger parmi les

collagènes étant donné leur faible teneur en proline et leur taux de glyco-colle trop peu élevé.

Remarquons que la somme de la chitine totale et des protéines des tubes de *Siboglinum* ne représente toutefois, d'après nos résultats, qu'environ 80 % du poids sec total des tubes.

COMPOSITION CHIMIQUE DE L'EXOSQUELETTE DES PTÉROBRANCHES
CEPHALODISCUS ET *RHABDOPLEURA*

Méthodes

Les analyses que nous avons réalisées ont été effectuées sur deux échantillons, l'un constitué de fragments de colonies de *Cephalodiscus inaequatus* (ANDERSSON), conservés dans de la glycérine, l'autre de colonies de *Rhabdopleura* sp. conservées dans de l'alcool à 50 % pendant 2 mois.

Les méthodes qui ont été utilisées sont les mêmes que celles qui ont été décrites à propos des tubes de Pogonophores. De plus, les glucides ont été recherchés par la méthode à l'antrone (DUCHÂTEAU ET FLORKIN, 1959) et la cellulose par essai de solubilisation dans de la liqueur de Schweitzer.

Résultats

Essai de mise en évidence de chitine

1) Les tubes de *Cephalodiscus*, comme ceux de *Rhabdopleura*, se dissolvent rapidement dans la soude 0.5 N à 100°.

2) Après hydrolyse acide par HCl 6 N à reflux, l'analyse chromatographique des hydrolysats des tubes de *Cephalodiscus* révèle l'absence de glucosamine.

3) L'action de solutions de chitinases purifiées sur le coenecium de *Cephalodiscus* n'entraîne pas la libération d'acétylglucosamine ou de chitobiose.

Ces observations confirment l'absence de chitine dans les formations exosquelettiques des Ptérobranches, déjà suggérée par ANDERSSON (1907) et par RUDALL (1962).

Recherche d'autres glucides

Les fragments de coenecium de *Cephalodiscus* plongés dans la liqueur de Schweitzer, ne subissent aucune modification. L'exosquelette de *Cephalodiscus* n'est donc pas de nature cellulosique.

D'autre part, le dosage par l'antrone n'a mis en évidence que de très faibles quantités de glucides. Ceux-ci, évalués en glucose, s'élèvent à 7.2 µg par gramme de substance sèche.

Recherche de protéines

La réaction du biuret a été appliquée à des fragments de coenecium de *Cephalodiscus inaequatus* et de *Rhabdopleura* sp. Dans les 2 cas, nous avons obtenu

une légère coloration brun violacé ce qui suggère la présence de protéines dans ces fragments.

La chromatographie sur colonne nous a permis de mettre en évidence la nature et les proportions relatives des acides aminés d'origine protéique du coenecium de *Cephalodiscus*. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 2.

Tableau 2. Caractérisation et dosage des acides aminés d'origine protéique dans le coenecium de *Cephalodiscus inaequatus* (ANDERSSON).

	µg/100 mg	fraction molaire
Acide aspartique	1.85	8.2
Thréonine	0.77	3.8
Sérine	0.75	4.2
Acide glutamique	2.06	8.3
Proline	1.85	9.5
Glycocolle	4.42	35.0
Alanine	1.00	6.6
Valine	0.94	4.7
Isoleucine	0.72	3.2
Leucine	0.69	3.1
Tyrosine	0.22	0.7
Phénylalanine	0.60	2.1
Lysine	1.02	4.1
Histidine	—	—
Arginine	1.95	6.6
Total	18.84	100.1

Discussion des résultats

Contrairement à l'opinion courante, les formations exosquelettiques des Ptérobranches ne contiennent pas de chitine. La présence de protéines est suggérée par une réaction faiblement positive au test du biuret.

Le coenecium de *Cephalodiscus* libère par hydrolyse acide une quantité d'acides aminés, vraisemblablement d'origine protéique, correspondant à 18.8 % du poids sec.

La caractéristique principale des protéines décelées est la haute teneur en glycocolle. La fraction molaire de cet acide aminé atteint 35 % tandis qu'elle varie de 8 à 10 % dans le cas des acides glutamique et aspartique et de la proline, le taux des autres acides aminés étant de loin inférieur. Il y a également lieu de remarquer l'absence d'histidine.

Outre ces protéines, nous avons pu déceler dans le coenecium de *Cephalodiscus*, de faibles quantités de glucides par la méthode à l'antrone. Cependant la

majeure partie (80 %) en Ptérobranches reste enco

La nature chimique des tions squelettiques de de et *Rhabdopleura* sp. a été é Les tubes de *Siboglinum* 47 %) et de chitine (environ associées en grande part position en acides aminés et s'écarte profondément

Le coenecium des Pté teneur en protéines est be caractérisées par la propo la somme des acides amin

- ANDERSSON, K. A., 1907. Die F
Wissenschaftliche Ergebnis
BRUNET, P. C. J. et D. B. CAR
CARLISLE, D. B., 1964. Chitin
DUCHATEAU, GH. et M. FLO
Archs. int. Physiol. Biochi
FOUCART, M. F., S. BRICTEUX-
of graptolites. *Life Scienc*
JEUNIAUX, CH., 1957. Purificat
— 1959. Recherches sur le
séparation électrophoré
Biochim. **67**: 597—617.
— 1963. Chitine et chitinolyse
— 1964. Chitine "libre" et
Archs. int. Physiol. Biochi
POULSEN, V., 1963. Notes on
Biol. Medd. **23** (12):
REISSIG, J. L., J. L. STROMINGE
estimation of N-acetylar
RUDALL, K. M., 1955. The dis
— 1962. Regular folds in
203—14.
SPACKMAN, D. H., W. H. STEIN
the chromatography of a

présence de protéines dans
de mettre en évidence la
és d'origine protéique du
consignés dans le tableau 2.

acides aminés
Cephalodiscus inae-

fraction molaire
8.2
3.8
4.2
8.3
9.5
35.0
6.6
4.7
3.2
3.1
0.7
2.1
4.1
—
6.6
100.1

exosquelettiques des Ptero-
de protéines est suggérée

acide une quantité d'acides
ondant à 18.8 % du poids

es est la haute teneur en
teint 35 % tandis qu'elle
spartique et de la proline,
. Il y a également lieu de

oenecium de *Cephalodiscus*,
'anthrone. Cependant la

majeure partie (80 % environ) de la substance organique constituant le tube des Pterobranches reste encore à identifier.

RÉSUMÉ

La nature chimique du tube d'un Pogonophore, *Siboglinum* sp., et des formations squelettiques de deux Pterobranches, *Cephalodiscus inaequatus* (ANDERSSON) et *Rhabdopleura* sp. a été étudiée au moyen de méthodes quantitatives.

Les tubes de *Siboglinum* sp. se composent essentiellement de protéines (environ 47 %) et de chitine (environ 33 %), ces deux substances étant vraisemblablement associées en grande partie sous forme de complexes glycoprotéiques. La composition en acides aminés de les protéines s'apparente à celle des scléroprotéines et s'écarte profondément de la composition des collagènes et des kératines.

Le coenecium des Pterobranches, par contre, ne contient pas de chitine et sa teneur en protéines est beaucoup moins élevée (environ 19 %). Ces protéines sont caractérisées par la proportion remarquablement élevée de glycolle (35 % de la somme des acides aminés d'origine protéique).

BIBLIOGRAPHIE

- ANDERSSON, K. A., 1907. Die Pterobranchier der Schwedischen Südpolarexpedition 1901—1903. *Wissenschaftliche Ergebnisse der Schwedischen Südpolarexpedition 1901—1903*. Bd V.
- BRUNET, P. C. J. et D. B. CARLISLE, 1958. Chitin in Pogonophora. *Nature Lond.* **182**: 1689.
- CARLISLE, D. B., 1964. Chitin in a Cambrian fossil, *Hyolithellus*. *Biochem. J.* **90**, 1 c.
- DUGHATEAU, GH. et M. FLORKIN, 1959. Sur la tréhalosémie des Insectes et sa signification. *Archs. int. Physiol. Biochim.* **67**: 306—314.
- FOUCART, M. F., S. BRICTEUX-GREGOIRE, CH. JEUNIAUX and M. FLORKIN, 1965. Fossil proteins of graptolites. *Life Sciences* **4**: 461—471.
- JEUNIAUX, CH., 1957. Purification of a *Streptomyces* chitinase. *Biochem. J.* **66**: 29 P.
- 1959. Recherches sur les chitinases II. Purification de la chitinase d'un Streptomycete et séparation électrophorétique de principes chitinolytiques distincts. *Archs. int. Physiol. Biochim.* **67**: 597—617.
- 1963. *Chitine et chitinolyse, un chapitre de la biologie moléculaire*. Masson et Cie. Paris.
- 1964. Chitine "libre" et chitine "masquée" dans les structures squelettiques d'Invertébrés. *Archs. int. Physiol. Biochim.* **72**: 329.
- POULSEN, V., 1963. Notes on *Hyolithellus* BILLIGS 1871 class Pogonophora, JOHANSSON 1937. *Biol. Medd.* **23** (12):
- REISSIG, J. L., J. L. STROMINGER and L. F. LELOIR, 1955. A modified colorimetric method for the estimation of N-acetylamino sugars. *J. biol. Chem.* **217**: 959.
- RUDALL, K. M., 1955. The distribution of collagen and chitin. *Symp. Soc. exp. Biol.* Number IX.
- 1962. Regular folds in protein and polysaccharide chains. *Sci. Basis Med. Ann. Rev.*: 203—14.
- SPACKMAN, D. H., W. H. STEIN and S. MOORE, 1958. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Analyt. Chem.* **30**: 1190—1206.

Reçu le 20 Mars 1965

Imprimé le 30 Août 1965