

mine libérée, à pH 5.2,
après addition de chi-
tins de muqueuses sont
contenu de la panse
sur chitobiose : 27 µg

ophage, les Paresseux
autres Vertébrés herbi-
vores (JEUNIAUX, 1961);
sont, analogues à celles de
Marsupiaux (MOIR *et*
actéries cellulolytiques,
généralisation, à la fois sur les

complaisance du Professeur
estomacs de trois animaux.

135.
MARING, H. (1954). — *Nature*,

DIGESTION DE LA CHITINE CHEZ LES OISEAUX ET LES MAMMIFÈRES

par Ch. JEUNIAUX,

Institut L. Fredericq, Biochimie; Université de Liège.

Résumé. — La distribution et la localisation des enzymes chitinolytiques, chitinase et chitobiase, ont été précisées chez cinq espèces d'Oiseaux et neuf espèces de Mammifères.

Chez toutes les espèces étudiées, les extraits de tissus glandulaires digestifs présentent généralement une faible activité du type chitobiase. D'autres tissus, comme le rein et les muscles, en sont dépourvus.

Les contenus du gésier et le chyme intestinal du Moineau, du Merle, du Rossignol du Japon et du Coq sont capables d'hydrolyser la chitine « native ». La chitinase est sécrétée par la muqueuse de l'estomac glandulaire; elle n'est sécrétée par aucun autre organe. La sécrétion de chitinase gastrique manque chez le Pigeon.

Parmi les Mammifères, la sécrétion de chitinase gastrique a été observée chez une Chauve-Souris (*Rhinolophus ferrum-equinum*), chez deux Insectivores (la Taupe et le Hérisson) et chez le Porc. Le pancréas de la Taupe et du Porc semblent également capables d'élaborer cet enzyme. Les autres Mammifères étudiés (le Lapin, le Chat, le Mouton, l'Unau *Choloepus hofmanni* et l'Homme) semblent dépourvus de la faculté de synthétiser les chitinases.

La corrélation entre la présence d'enzymes chitinolytiques dans les sucs digestifs et la nature de l'alimentation, déjà observée chez les Reptiles, semble donc confirmée pour les Vertébrés supérieurs.

Le pH optimum de la chitinase gastrique du Hérisson est compris entre 4,7 et 5,0, ce qui est voisin de celui de la plupart des autres chitinases, d'origine microbienne ou animale, étudiées à ce point de vue. La chitinase gastrique diffère de ces chitinases par une inhibition d'activité beaucoup moins marquée en milieu acide qu'en milieu neutre. La chitinase gastrique peut donc exercer son activité dans les conditions de pH des chymes gastriques.

* * *

Alors que les corrélations entre la morphologie de l'appareil digestif des Vertébrés supérieurs et leur régime alimentaire sont nombreuses et évidentes, l'équipement enzymatique digestif apparaît par contre comme beaucoup moins diversifié. A l'ex-

ception du cas de la lactase, qu'on ne trouve que dans le suc intestinal des mammifères, l'adaptation des sécrétions glandulaires digestives des Vertébrés à leur régime alimentaire se limite à certaines variations quantitatives, dont il n'est pas aisé de préciser l'importance ni la signification. La séparation chromatographique des protéines du suc pancréatique fistulisé, suivie de l'identification de leur activité enzymatique, a montré, par exemple, que l'équipement enzymatique du pancréas du porc est environ 3 fois plus riche en α -amylase et en lipase que celui du bœuf (KELLER, COHEN et NEURATH, 1958; MARCHIS-MOUREN, CHARLES, BEN ABDELJLIL et DESNUELLE, 1961).

L'adaptation à des régimes riches en cellulose se traduit, chez les mammifères, par le développement de vastes « chambres de fermentation », soit par cloisonnement de l'estomac, comme chez les Ruminants et certains Marsupiaux, soit par allongement du caecum et du côlon, chez les Equidés et les Rongeurs. La cellulose est hydrolysée par des enzymes d'origine bactérienne, et les produits de l'hydrolyse enzymatique sont fermentés par les bactéries en acides gras volatils, qui sont rapidement absorbés par les muqueuses et emportés par le sang veineux. Ce mécanisme, bien étudié chez les Ruminants, a été retrouvé chez le Cheval et le Porc (BARCROFT, McANALLY et PHILLIPSON, 1944), chez le Lapin (BARCROFT *et al.*, *l.c.*, COOLS et JEUNIAUX, 1961), chez le Marsupial *Setonix brachurus* (MOIR, SOMERS, SHARMAN et WARING, 1954; CALABY, 1958), chez le Castor (CURRIER, KITTS et COWAN, 1960).

Ces remarquables exemples de convergence, à la fois sur le plan anatomique et sur le plan biochimique, permettent de souligner l'inaptitude des Vertébrés à élaborer et à sécréter des enzymes cellulolytiques. Cette inaptitude a été volontiers généralisée, et on a admis, sans preuves expérimentales, que les Vertébrés sont incapables de synthétiser des β -polysaccharidases (PROSSER, 1950), parmi lesquelles on doit classer la chitinase. A notre connaissance, l'éventualité d'une digestion de la chitine par des Vertébrés, et *a fortiori* la sécrétion de chitinase, n'a jamais été envisagée.

Nous avons cependant montré récemment l'existence de chitinase dans le suc gastrique et dans les extraits aqueux de la muqueuse gastrique et du pancréas du lézard *Lacerta viridis* LAURENTI, et son absence dans les mêmes organes d'un Reptile herbivore, la Tortue *Testudo hofmanni* L. (JEUNIAUX, 1961 a). La sécrétion de chitinase a été également observée chez un Poisson,

Carassius auratus Salamandre (JEUNIAUX, 1961) et chez la Chauve-souris (JEUNIAUX, 1961). Nous nous proposons de la distribution de la chitinase chez les Mammifères, des enzymes de la chitinase, N-acétyl- β -D-glucosaminidase, deux molécules d'

1. — PR

L'animal est anesthésié par chloroforme. Les contenus du tube digestif sont lavés à l'eau de verre. Les organes sont lavés au sérum physiologique. Après détermination du poids, on prend un moyen d'un homologue. La quantité d'eau distillée est de l'ordre de 100 ml. Les extraits sont lavés par traction, lavés à l'eau de verre. Après essorage sur papier filtre, on obtient en présence de safranine une solution fraîche : 100 mg par ml.

Les extraits sont centrifugés à 10000 g. Après centrifugation, les extraits sont conservés congelés à -20°C. L'activité enzymatique est déterminée par des techniques et la conservation des extraits est de meilleurs résultats.

2. — I

a) Dosage de la chitinase

En raison de la présence de protéases digestives dans les extraits, la chitine par les extraits

trouve que dans le suc des sécrétions glandulaires alimentaire se limite tant il n'est pas aisé de

La séparation chromatographique fistulisée, suivie de chromatographie, a montré, par l'étude du pancréas du porc et de la lipase que celui-ci est plus actif que celui du poisson (MARCHIS-MOUREN, 1958; MARCHIS-MOUREN, 1961).

La digestion de la cellulose se traduit, chez les Mammifères, par l'absence de vastes « champs » de développement de l'estomac, chez les Marsupiaux, soit par l'absence de l'estomac, chez les Equidés et les Ruminants, soit par la présence de enzymes d'origine bactérienne. Les enzymes enzymatique sont fermentaires et volatils, qui sont rapidement transportés par le sang veineux. Chez les Ruminants, a été démontré (MARCROFT, McANALLY et COOLES, 1958; COOLES et MORTON, 1961; MORTON et al., 1961), chez le Castor

l'urgence, à la fois sur le plan de la sécrétion, permettent de soulever et à sécréter des enzymes et à sécréter des enzymes volontiers généralisée, que les Vertébrés possèdent des enzymes (PROSSER, 1958; PROSSER, 1961), chitinase. A notre connaissance, la chitine par des enzymes chitinase, n'a jamais été

l'existence de chitine dans les extraits aqueux de la glande du lézard *Lacerta viridis* (JEUNIAUX, 1961 a). La chitine est conservée chez un Poisson,

Carassius auratus L. (JEUNIAUX, 1961 b), chez la Grenouille et la Salamandre (JEUNIAUX, inédit), chez le Merle, *Turdus merula* L. et chez la Chauve-souris *Rhinolophus ferrum-equinum* SCHREIBER (JEUNIAUX, 1961 b).

Nous nous proposons, dans le présent travail, d'aborder l'étude de la distribution et de la localisation, chez les Oiseaux et les Mammifères, des deux hydrolases qui constituent le système enzymatique chitinolytique, c'est-à-dire la chitinase, qui catalyse l'hydrolyse de la chitine jusqu'au stade chitobiose, et la chitobiase, N-acétyl- β -glucosaminidase qui hydrolyse le chitobiose en deux molécules d'acétylglucosamine.

A. — METHODES.

1. — PRÉPARATION DES EXTRAITS ENZYMATIQUES.

L'animal est anesthésié au chloroforme ou tué par décapitation. Les contenus gastriques et intestinaux sont filtrés sur laine de verre. Les organes (foie, pancréas, etc.) sont lavés dans du sérum physiologique de Tyrode, puis essorés sur papier filtre. Après détermination du poids frais, on les homogénéise, au moyen d'un homogénéiseur de Potter, en présence d'une quantité d'eau distillée telle que la proportion de tissus frais soit de l'ordre de 100 mg par ml d'homogénat. Les muqueuses gastriques et intestinales sont débarrassées de la couche musculaire par traction, lavées et brossées au moyen d'un fin pinceau. Après essorage sur papier filtre, on pèse et on broie au mortier en présence de sable lavé et d'eau distillée (proportion de tissus frais : 100 mg par ml de broyat).

Les extraits sont conservés en glacière à 0° C pendant 24 heures. Après centrifugation, les liquides surnageants peuvent être conservés congelés à -15° C jusqu'au moment du dosage de l'activité enzymatique. Pour l'extraction des enzymes chitinolytiques et la conservation de leur activité, ces procédés donnent de meilleurs résultats que la préparation de poudres acétoniques.

2. — DOSAGE DES ACTIVITÉS ENZYMATIQUES.

a) Dosage de la chitinase.

En raison de la faible teneur en chitobiase des tissus glandulaires digestifs des Vertébrés (JEUNIAUX, 1961 b), l'hydrolyse de la chitine par les extraits enzymatiques, quand elle a lieu, s'arrête

principalement au stade du chitobiose. On ne possède pas de méthode suffisamment rapide et spécifique pour le dosage de cette substance. Pour pallier cette difficulté, le dosage de la chitinase a été réalisé soit au moyen d'une méthode néphélométrique, mesurant directement la solubilisation de la chitine en suspension colloïdale (JEUNIAUX, 1958), soit de préférence par dosage de l'acétylglucosamine libérée à partir de chitine « native », après addition d'une quantité suffisante de chitobiase. Une préparation commerciale de β -glucosidase (Nutritional Biochemicals Corporation), exempte de chitinase, mais hydrolysant rapidement le chitobiose, a été utilisée comme source de chitobiase.

A un ml de suspension de chitine « native » (5 mg/ml) préparée à partir de sépions de Seiche (*Sepia officinalis*), on ajoute un ml de tampon (acide citrique 0,6 M — Na_2HPO_4 1,2 M) de pH 5,1, un ml de la solution enzymatique étudiée, et un ml de solution de chitobiase (solution à 0,25 % de β -glucosidase N.B.Co.). On prélève 1 ml de ce milieu réactionnel après 0, 90 et 180 minutes d'incubation à 37° C, et on inactive les enzymes par chauffage à 100° C; l'acétylglucosamine libre est mesurée par la méthode colorimétrique de REISSIG, STROMINGER et LELOIR, 1955) (voir aussi DEVIGNE et JEUNIAUX, 1961). Des témoins sans enzyme et des témoins sans substrat sont menés parallèlement à chaque test enzymatique.

En présence de chitobiase, la quantité d'acétylglucosamine libérée au cours de l'incubation correspond à une quantité proportionnellement égale de chitine hydrolysée, dans le rapport 221/203. Les résultats sont donc exprimés, après multiplication par le facteur 0,92, en μg de chitine hydrolysée, par h d'incubation et par g de tissus frais (ou par ml de sucs digestifs ou de contenus).

b) Dosage de l'activité du système chitinolytique.

En faisant incuber de la chitine « native » en présence des solutions enzymatiques seules, sans addition préalable de chitobiase, la quantité d'acétylglucosamine libérée ne mesure pas l'activité réelle de la chitinase (cf. ci-dessus), mais bien l'activité « globale » du système chitinolytique. Celle-ci mesure l'importance relative des processus de lyse enzymatique de la chitine, chez l'animal considéré, au point de vue de la fourniture à l'organisme de sucres aminés non polymérisés susceptibles d'être absorbés et assimilés. L'activité du système chitinolytique, mesu-

rée à pH 5,4, est de tissus frais (

c) Dosage de la

On procède (dessus), en rem distillée, et en chitine dépolyméris que de faibles Cette préparation solution de chit suspension colloïd la solution de « de 0,5 mg/ml μg d'acétylgluc digestifs).

a) La distribu chitobiase ont d espèces de Man

Tous les Oise la mort, à l'exc servé pendant u contenait des d dans les tableau

Le tableau III lots de Cheiropt *ferrum equinum* gie, dans la mē lisés 24 heures individus ont é 15 jours, et gar d'être étudiés.

Le tableau IV *europaea*) a été

(*) Nous remerci chromatographie, la mērisée »

On ne possède pas de que pour le dosage de lté, le dosage de la chitine méthode néphélomé- sation de la chitine en soit de préférence par partir de chitine « nati- tante de chitobiase. Une se (Nutritional Bioche- nase, mais hydrolysant comme source de chito-

native » (5 mg/ml) pré- ia officinalis), on ajoute — Na₂HPO₄ 1.2 M) de que étudiée, et un ml ,25 % de β-glucosidase réactionnel après 0, 90 on inactive les enzymes mine libre est mesurée G, STROMINGER et LELOIR, 1961). Des témoins sans t menés parallèlement à

tité d'acétylglucosamine pond à une quantité pro- polysée, dans le rapport és, après multiplication ydrolysée, par h d'incu- l de sucs digestifs ou de

inolytique.

ative » en présence des ition préalable de chito- bérée ne mesure pas l'ac- us), mais bien l'activité Celle-ci mesure l'import- ymatique de la chitine, e de la fourniture à l'or- érisés susceptibles d'être me chitinolytique, mesu-

rée à pH 5,4, est exprimée en μg d'acétylglucosamine libérée/h/g de tissus frais (ou /ml de contenus gastriques ou intestinaux).

c) Dosage de la chitobiase.

On procède comme pour le dosage de la chitinase (voir ci-dessus), en remplaçant la solution de β-glucosidase par de l'eau distillée, et en employant comme substrat une solution de « chitine dépolymérisée », constituée principalement de chitobiose ainsi que de faibles quantités de chitotriose et d'acétylglucosamine. Cette préparation de chitobiose est obtenue en faisant agir une solution de chitinase purifiée (JEUNIAUX, 1957, 1959) sur une suspension colloïdale de chitine pure. La teneur en chitobiose de la solution de « chitine dépolymérisée » est approximativement de 0,5 mg/ml (*). L'activité des chitobiasés est exprimée en μg d'acétylglucosamine libérée/h/g de tissus (ou /ml de sucs digestifs).

B. — RESULTATS.

a) La distribution et la localisation de la chitinase et de la chitobiase ont été étudiées chez cinq espèces d'Oiseaux et sept espèces de Mammifères.

Tous les Oiseaux étudiés ont été utilisés immédiatement après la mort, à l'exception du Merle (*Turdus merula*) qui a été conservé pendant un jour à + 4° C. Le gésier, dans chaque cas, contenait des débris alimentaires. Les résultats sont rassemblés dans les tableaux I et II.

Le tableau III résume les résultats obtenus en comparant deux lots de Cheiroptères, appartenant à la même espèce (*Rhinolophus ferrum equinum* SCHREIBER) et capturés simultanément, en léthargie, dans la même grotte. Deux premiers individus ont été utilisés 24 heures après la capture et étaient à jeun. Deux autres individus ont été nourris de lait et de vers de farine, pendant 15 jours, et gardés à la température de 18° C environ, avant d'être étudiés.

Le tableau IV concerne deux Insectivores. La Taupe (*Talpa europaea*) a été utilisée 24 heures après la mort; elle avait été

(*) Nous remercions le Dr J. M. Ghuyssen d'avoir bien voulu analyser, par chromatographie, la composition de cette préparation de « chitine dépolymérisée »

conservée à + 4° C environ pendant ce laps de temps. L'estomac contenait des débris alimentaires. Le Hérisson (*Erinaceus europaeus*) a été utilisé immédiatement après la mort : l'estomac était vide.

TABEAU I. — *Activité et localisation des enzymes chitinolytiques chez trois Oiseaux Passeriformes : le Moineau domestique (Passer domesticus L.), le Merle Noir (Turdus merula L.) et le Rossignol du Japon (Liothrix lutea).*

Sucs digestifs et organes	Activité enzymatique, µg/h/g de tissus frais (ou µg/h/ml de chymes ou de sucs digestifs)		
	Chitinase (1)	Chitobiase (2)	Système chitinolytique (2)
A. — PASSER DOMESTICUS.			
Contenus du gésier	1700	80-310	50-180
Muqueuse de l'estomac glandulaire	8400	30	65
Muqueuse de l'intestin (tiers antérieur)	290	40	—
Muqueuse de l'intestin (tiers moyen)	14*	70	—
Pancréas	0	0	—
Foie	10*	37	—
B. — TURDUS MERULA			
Contenus du gésier	2000	250	500
Contenus de l'intestin	700-1000	—	—
Muqueuse de l'estomac glandulaire	2800	90	200
Muqueuse de l'intestin (tiers antérieur)	125	56	26
Pancréas	11*	0	13*
C. — LIOTHRIX LUTEA			
Contenus du gésier	1500	—	—
Muqueuse de l'estomac glandulaire	5200-8500	—	300-600
Muqueuse de l'intestin (moitié antérieure)	95	220	—
Pancréas	0	0	—
Foie	0	5*	—

(1) µg de chitine hydrolysée/h/g de tissus ou ml de chyme.

(2) µg d'acétylglucosamine libérée/h/g de tissus ou ml de chyme.

* Valeurs non significatives, comprises dans les limites d'erreur de la méthode.

Les autres M...
tement après la...
été nourri peu...
nier repas 12 h...
du suc gastrique

Enfin, le suc...
trique.

TABEAU II. — *Activité et localisation des enzymes chitinolytiques chez un Oiseau (Gallus gallus L.) et chez un Mammifère (Canis familiaris L.).*

Sucs digestifs et

A. — GALLUS GALLUS L.
Contenus du gésier
Contenus de l'intestin
Contenus des caeca
Muqueuse de l'estomac glandulaire
Muqueuse intestinale
Pancréas
Foie

B. — COLUMBA PALUMBUS L.
Contenus du gésier
Contenus de l'intestin
Muqueuse de l'estomac glandulaire
Muqueuse intestinale
Pancréas
Foie

(1) µg de chitine hydrolysée/h/g de tissus ou ml de chyme.
(2) µg d'acétylglucosamine libérée/h/g de tissus ou ml de chyme.
* Résultat non significatif.

(*) L'étude de l'activité chitinolytique a été poursuivie grâce à la complaisance de M. J. L. pour l'analyse de l'estomac de d... par les soins des Laboratoires de Liège.

s de temps. L'estomac
isson (*Erinaceus euro-*
mort : l'estomac était

zymes chitinolytiques
Moineau domestique
Turdus merula L.
Merula lutea).

atique, µg/h/g de tissus
ml de chymes ou de sucs
digestifs)

Chitobiase (2)	Système chi- tinolytique (2)
80-310	50-180
30	65
40	—
70	—
0	—
37	—
250	500
—	—
90	200
56	26
0	13*
—	—
—	300-600
220	—
0	—
5*	—

ml de chyme.
s ou ml de chyme.
les limites d'erreur de la

Les autres Mammifères (tableau V) ont été utilisés immédia-
tement après la mise à mort. Le Lapin et l'Unau (*) avaient
été nourris peu de temps auparavant; le Chat avait reçu son der-
nier repas 12 heures avant la mort : l'estomac ne contenait que
du suc gastrique, sans débris alimentaires.

Enfin, le suc gastrique humain a été obtenu par sondage gas-
trique.

TABLEAU II. — *Activité et localisation des enzymes chitinolyti-
ques chez un Galliforme, le Coq domestique (Gallus gallus L.),
et chez un Colombiforme, le Pigeon domestique*
(*Columba palumbus L.*).

Sucs digestifs et organes	Activité enzymatique, en µg/h/g de tissus frais (ou µg/h/ml de chymes ou de sucs digestifs)		
	Chitinase (1)	Chitobiase (2)	Système chi- tinolytique (2)
A. — GALLUS GALLUS			
Contenus du gésier	1000	—	—
Contenus de l'intestin	370	40	—
Contenus des caeca	0	1160	—
Muqueuse de l'estomac glandu- laire	1650	60	110
Muqueuse intestinale	0	30	0
Pancréas	0	0	—
Foie	5*	12	—
B. — COLUMBA PALUMBUS			
Contenus du gésier	0	8	0
Contenus de l'intestin	0	200	0
Muqueuse de l'estomac glandu- laire	0	32	0
Muqueuse intestinale	0	16	0
Pancréas	0	0	—
Foie	0	0	—

(1) µg de chitine hydrolysée/h/g de tissus ou ml de contenus.

(2) µg d'acétylglucosamine libérée/h/g de tissus ou ml de contenus.

* Résultat non significatif, compris dans les limites d'erreur de la mé-
thode.

(*) L'étude de l'Unau (*Choloepus hoffmanni* PER.) a pu être réalisée
grâce à la complaisance du Professeur Z. M. Bacq, qui nous a permis d'utili-
siser l'estomac de deux individus, originaires d'Amérique centrale, et élevés
par les soins des Laboratoires de Pathologie générale de l'Université de
Liège.

b) La méthode néphélométrique (JEUNIAUX, 1958) a été utilisée pour confirmer la présence de chitinase. Les solutions enzymatiques ont été ajustées au pH 5,2 par addition de tampon acide citrique- Na_2HPO_4 , ce qui provoque la précipitation de protéines. On centrifuge (13.000 tours/minute) pour éclaircir la solution. On dose l'activité chitinolytique en mesurant la variation de trouble d'une suspension de chitine colloïdale, au cours d'une incubation de 2 h à 37° C et à pH 5,2. Les résultats, exprimés en Unités-chitinase (*) sont présentés dans le tableau VI.

TABLEAU III. — *Activité et localisation des enzymes chitinolytiques chez un Cheiroptère : Rhinolophus ferrum equinum SCHREIBER. Comparaison entre des individus à jeun, en hibernation, et des individus réveillés et alimentés.*

Organes	Activité enzymatique, $\mu\text{g}/\text{h}/\text{g}$ de tissus frais		
	Chitinase (1)	Chitobiase (2)	Système chitinolytique (2)
A. — Individus à jeun, en hibernation			
Muqueuse gastrique	120	26	13
Muqueuse intestinale	0	0	2*
Foie	0-5*	0	3*
Reins	0	0	—
B. — Individus actifs et alimentés			
Muqueuse gastrique	4800	100	300
Muqueuse intestinale	10*	23	—
Pancréas	0	30	0
Muscles pectoraux	0	0	—

(1) μg de chitine hydrolysée/h/g de tissus.

(2) μg d'acétylglucosamine libérée/h/g de tissus.

* Valeurs non significatives, comprises dans les limites d'erreur de la méthode.

(*) Dix Unités-chitinase correspondent à une variation de 50 % du trouble d'une suspension de chitine colloïdale (=chitine « pulvérisée » ou chitine «reprécipitée») en 2 heures à 37° C et à pH 5,4, soit une hydrolyse de 500 μg de chitine colloïdale par heure d'incubation.

c) *Activité d'une c*
du pH.

L'activité de la c
lométrique, dans c
au cours d'incubat
à 37° C. La solut
queuse gastrique c
de suspension de
par addition d'acide

TABLEAU IV.
chitinolytiques
europaea L.) et le
Suiforme, le

Organes	
A. — TALPA EUROPAEA	
Contenus de l'estomac	
Contenus du duodénum	
Contenus de l'intestin	
Muqueuse gastrique	
Muqueuse intestinale	
Pancréas	
Foie	
B. — ERINACEUS EUROPAEA	
Muqueuse gastrique	
Muqueuse duodénale	
Muqueuse intestinale	
Pancréas	
Foie	
Testicules	
Epididymes	
C. — SUS DOMESTICUS	
Muqueuse gastrique	
(région fundique)	
Pancréas	

(1) μg de chitine hydrolysée/h/g de tissus.

(2) μg d'acétylglucosamine libérée/h/g de tissus.

* Valeurs non significatives, comprises dans les limites d'erreur de la méthode.

ux, 1958) a été utilisée
 Les solutions enzymati-
 tion de tampon acide
 cipitation de protéines.
 r éclaircir la solution.
 nt la variation de trou-
 e, au cours d'une incu-
 résultats, exprimés en
 tableau VI.

tion des enzymes
 Rhinolophus ferrum
 in, en hibernation,
 alimentés.

Activité enzymatique, µg/h/g de tissus frais	
Chitobiase (2)	Système chitinolytique (2)
26	13
0	2*
0	3*
0	—
100	300
23	—
30	0
0	—

us.
 les limites d'erreur de la

variation de 50 % du trou-
 chitine « pulvérisée » ou
 pH 5,4, soit une hydrolyse
 ubation.

c) *Activité d'une chitinase gastrique de Mammifère en fonction du pH.*

L'activité de la chitinase a été mesurée, par la méthode néphé-
 lométrique, dans des conditions de pH variant entre 2,5 et 7,4,
 au cours d'incubations de 30 minutes, une heure et deux heures
 à 37° C. La solution étudiée était un extrait aqueux de mu-
 queuse gastrique de Hérisson (162 mg de tissus frais par ml
 de suspension de broyat tissulaire). La solution a été acidifiée
 par addition d'acide citrique 0,6 M, jusqu'à obtenir une précipi-

TABLEAU IV. — *Activité et localisation des enzymes chitinolytiques chez deux Insectivores : la Taupe (Talpa europaea L.) et le Hérisson (Erinaceus europaeus L.) et chez un Suiforme, le Porc domestique (Sus domesticus L.).*

Organes	Activité enzymatique, µg/h/g de tissus frais		
	Chitinase (1)	Chitobiase (2)	Système chitinolytique (2)
A. — TALPA EUROPAEA			
Contenus de l'estomac	300	50-80	60
Contenus du duodénum	400	200	75
Contenus de l'intestin	160	—	60
Muqueuse gastrique	165	0	7*
Muqueuse intestinale	10*	0	—
Pancréas	400	—	—
Foie	40*	25	—
B. — ERINACEUS EUROPAEUS			
Muqueuse gastrique	3100	75	700
Muqueuse duodénale	17	—	—
Muqueuse intestinale	12*	—	—
Pancréas	11*	—	—
Foie	11*	60	—
Testicules	0	65	0
Epididymes	0	60-120	0
C. — SUS DOMESTICUS			
Muqueuse gastrique (région fundique)	500	—	45
Pancréas	650	—	30

(1) µg de chitine hydrolysée/h/g de tissus ou ml de contenus.

(2) µg d'acétylglucosamine libérée/h/g de tissus ou ml de contenus

* Valeurs non significatives, comprises dans les limites d'erreur de la méthode.

TABLEAU V. — Recherche de la chitinase et de la chitobiase chez le Lapin domestique (*Oryctolagus cuniculus* L.), le Mouton (*Ovis aries* L.), le Chat domestique (*Felis domestica* L.), le Paresseux (*Choloepus hofmanni* PET.) et l'Homme.

Organes ou sucs digestifs	Activité enzymatique, µg/h/g de tissus frais (ou µg/h/ml de contenus)	
	Chitinase (1)	Chitobiase (2)
A. — ORYCTOLAGUS CUNICULUS		
Contenus de l'estomac (y compris les caecotrophes)	0	0
Contenus de l'intestin	0	11
Contenus du caecum	1*	140
Muqueuse gastrique	0	0
Muqueuse duodénale	0	70
Muqueuse du caecum	0	30
Pancréas	6*	70
Foie	0	—
Diaphragme	1*	4*
B. — OVIS ARIES		
Contenus du bonnet	0	40
Contenus de la panse	0	—
Muqueuse de la caillette	0	—
Pancréas	0	—
C. — FELIS DOMESTICA		
Suc gastrique	1*	1*
Muqueuse gastrique	0	0
Contenus de l'intestin	5*	5*
Pancréas	9*	78
D. — CHOLOEPUS HOFMANNI		
Contenus de la panse	3*	27
Contenus de l'estomac glandulaire	1*	9*
Contenus de l'estomac musculaire	0	3*
Muqueuse du diverticule conique de la panse	0	10*
Muqueuse de l'estomac glandulaire	0	—
E. — HOMO SAPIENS		
Salive	0	0
Suc gastrique	0	0

(1) µg de chitine hydrolysée/h/g de tissus ou ml de contenus.

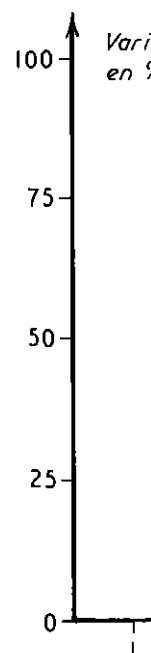
(2) µg d'acétylglucosamine libérée/h/g de tissus ou ml de contenus.

* Valeurs non significatives, comprises dans les limites d'erreur de la méthode.

TABLEAU VI
néphélométrie, d'
d'estomac du Coq

Espèce
<i>Gallus gallus</i>
<i>Rhinolophus ferrum-</i> <i>equinum</i> (alimenté)
<i>Talpa europaea</i>
<i>Erinaceus europaeus</i>

(1) En unités chit



Activité
(Erinaceus)

(L'activité chitino-primée par la variation en % du trouble in 37°C.)

se et de la chitobiase
 us cuniculus L.),
 L.),
 L.), le Paresseux
 t l'Homme.

ivité enzymatique, µg/h/g
 ssus frais (ou µg/h/ml de
 contenus)

Chitinase (1)	Chitobiase (2)
0	0
0	11
1*	140
0	0
0	70
0	30
6*	70
0	—
1*	4*
0	40
0	—
0	—
0	—
1*	1*
0	0
5*	5*
9*	78
3*	27
1*	9*
0	3*
0	10*
0	—
0	0
0	0

1 ml de contenus.
 ssus ou ml de contenus.
 les limites d'erreur de la

TABLEAU VI. — *Activité chitinolytique, mesurée par néphélométrie, d'extraits de muqueuse gastrique ou de contenus d'estomac du Coq, du Rhinolophe, de la Taupe et du Hérisson.*

Espèce	Extrait enzymatique	Activité chitinolytique (1)
<i>Gallus gallus</i>	Muqueuse estomac glandulaire	10 unités/g
<i>Rhinolophus ferrum-equinum</i> (alimenté)	Muqueuse gastrique	55 unités/g
<i>Talpa europaea</i>	Chyme gastrique	16 unités/ml
<i>Erinaceus europaeus</i>	Muqueuse gastrique	59 unités/g

(1) En unités chitinase (cf. JEUNIAUX, 1958).

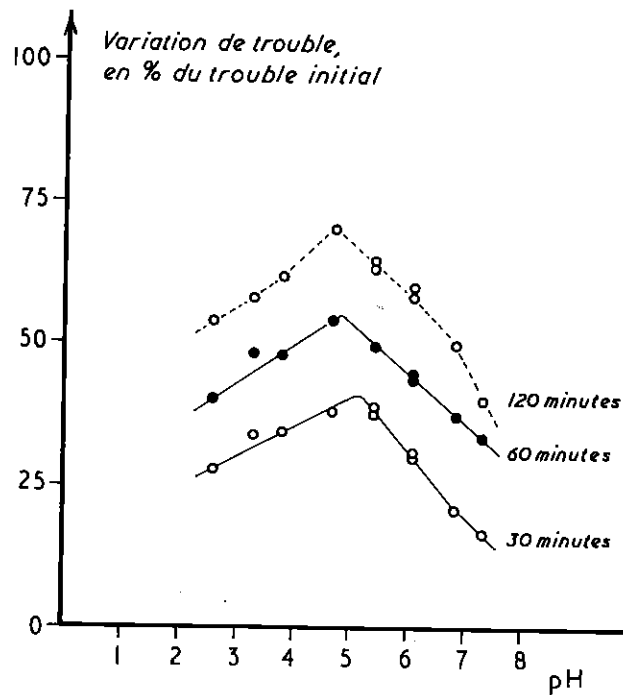


FIGURE 1.
 Activité de la chitinase gastrique du Hérisson
 (*Erinaceus europaeus* L.) en fonction du pH.

(L'activité chitinolytique, dosée par la méthode néphélométrique, est exprimée par la variation de trouble d'une suspension de chitine colloïdale, en % du trouble initial, au cours d'incubations de 30, 60 et 180 minutes à 37°C.)

tation maximum de protéines (pH 4,5). Après centrifugation (13.000 tours par minute pendant 20 minutes), le liquide surnageant est limpide et ne se trouble plus lorsqu'on ajoute les différentes solutions tampons. L'activité enzymatique est mesurée par la variation de trouble des suspensions colloïdales de chitine, exprimée en % du trouble initial (fig. 1).

C. — DISCUSSION.

1. — SÉCRÉTION DE CHITINASE PAR LA MUQUEUSE DE L'ESTOMAC GLANDULAIRE DES OISEAUX INSECTIVORES.

Chez les trois Oiseaux Passeriformes étudiés et chez le Coq, les contenus du gésier et de l'intestin manifestent une activité chitinolytique relativement élevée (tableaux I et II). A pH 5,2 et à 37° C, un ml de chyme gastrique d'un de ces oiseaux peut hydrolyser, en une heure, de 1 à 2 mg environ de chitine « native ».

Les extraits de tissus étudiés sont dépourvus d'activité chitinolytique (foie, pancréas) ou présentent parfois une activité très faible (muqueuse de la partie antérieure de l'intestin), sauf dans le cas de la muqueuse isolée et lavée de l'estomac glandulaire (= « ventricule succenturié ») dont les extraits aqueux sont, pour les quatre espèces considérées, très riches en chitinase. On doit en conclure que la chitinase, que l'on trouve dans le chyme gastrique et le chyme intestinal, est sécrétée par la muqueuse gastrique, et que la synthèse et la sécrétion de chitinase sont localisées à ce niveau. Les faibles activités observées dans certains extraits de muqueuses intestinales (tableau I) sont vraisemblablement la conséquence d'une contamination par les contenus intestinaux, dont la teneur en chitinase est parfois très élevée (cf. : *Turdus merula*, tableau I).

Il ne semble pas que l'on doive envisager l'hypothèse d'une origine microbienne de ces chitinases gastriques : en effet, l'estomac glandulaire et son suc gastrique acide ne sont pas propices au développement et à l'activité d'une flore bactérienne; d'autre part, les extraits de muqueuse gastrique soigneusement lavée sont plus riches en chitinase que les contenus du gésier. En effet, dans le cas de *Passer domesticus*, par exemple (tableau I), le volume des contenus liquides du gésier a été évalué à 0,1 ml, soit une activité totale de 170 µg/h. La muqueuse de l'estomac glandulaire, isolée, pesait 80 mg; l'activité de la chiti-

nase de la muqueuse soit, pour les 80 µg/h, quatre fois. Dans le cas du Coq, pour les contenus de l'estomac glandulaire

Contrairement à ce qu'on attendait, on n'a pas pu détecter de chitinase dans les extraits de muqueuse de trace d'activité que le Moineau, le Coq, au moins partiellement rigoureusement gr

3. — LOCALISATION.

On peut déceler l'activité chitinolytique dans le contenu intestinal de tous les Oiseaux étudiés. Cette activité enzymatique de chitinolyse est difficile à mesurer car la chitinolyse estobiose est difficile à mesurer. Les extraits des tissus étudiés contiennent de faibles quantités de chitine, ce qui rend difficile la mesure de l'activité.

La teneur en chitine des contenus du gésier de *Passer domesticus* est de 10 à 15 µg sur la chitine. Cette teneur est comparable à l'activité de chitinolyse (chez le Moineau, 1,7 mg de chitine libérée dans 0,18 mg).

Chez les Oiseaux étudiés, l'activité enzymatique de chitinolyse est plus élevée au stade de l'éclosion.

(*) Nous avons essayé de mesurer l'activité chitinolytique par un pigeonneau élevé en cage par les aviculteurs.

Après centrifugation (surnatants), le liquide surnatant lorsqu'on ajoute les diférents substrats enzymatique est mesurée (activité des colloïdales de chitine (fig. 1).

MUQUEUSE DE L'ESTOMAC ACTIVITÉS.

étudiés et chez le Coq, manifestent une activité (tableaux I et II). A pH 5,2 l'activité de ces oiseaux peut être de l'ordre de 1 mg environ de chitine

pourvus d'activité chitinolytique (et parfois une activité chitinolytique de l'intestin), sauf dans le contenu de l'estomac glandulaire. Les extraits aqueux sont riches en chitinase. On trouve dans le chyme libérée par la muqueuse chitinolytique sont observées dans certains oiseaux (tableau I) sont vraisemblablement contaminées par les chitinases est parfois très

à valider l'hypothèse d'une chitinase : en effet, les chitinases ne sont pas propiétaires d'une flore bactérienne; chitinase gastrique soigneusement les contenus du gésier. Les chitinases, par exemple (tableau I) le gésier a été évalué à 1 mg/h. La muqueuse de l'estomac; l'activité de la chiti-

nase de la muqueuse est de 8.400 μ g de chitine hydrolysée/h/g, soit, pour les 80 mg de muqueuse, une activité totale de 670 μ g/h, quatre fois plus élevée que celle des contenus du gésier. Dans le cas du Coq, on trouve une activité totale de 700 μ g/h pour les contenus du gésier, et 2.600 μ g/h pour la muqueuse de l'estomac glandulaire entier.

2. — CAS DU PIGEON.

Contrairement aux autres Oiseaux étudiés, le Pigeon ne possède pas de chitinase gastrique : les contenus du gésier et les extraits de muqueuse de l'estomac glandulaire ne présentent pas de trace d'activité chitinolytique. Il est intéressant de souligner que le Moineau, le Merle, le Rossignol et le Coq ont un régime au moins partiellement insectivore, tandis que le Pigeon est rigoureusement granivore (*).

3. — LOCALISATION DE LA CHITOBIOSE CHEZ LES OISEAUX.

On peut déceler, dans les contenus du gésier et le chyme intestinal de tous les Oiseaux étudiés, y compris le Pigeon, une légère activité enzymatique du type chitobiose. L'origine de cette chitobiose est difficile à préciser : en effet, pratiquement tous les extraits des tissus glandulaires étudiés contiennent de faibles quantités de chitobiose, sans qu'il soit possible de préciser dans quelle mesure ils en sécrètent effectivement.

La teneur en chitobiose est partout très faible; l'activité des contenus du gésier ou des extraits de muqueuse gastrique sur la chitobiose est 10 à 30 fois plus faible que celle des mêmes extraits sur la chitine. Cela explique pourquoi l'activité « globale » du système chitinolytique est relativement faible lorsqu'on la compare à l'activité de la chitinase des mêmes extraits enzymatiques (chez le Moineau, par exemple, 1 ml de contenus du gésier hydrolyse 1,7 mg de chitine en 1 h, mais la quantité d'acétylglucosamine libérée dans le même laps de temps n'est que de 0,05 à 0,18 mg).

Chez les Oiseaux qui possèdent une chitinase gastrique, la lyse enzymatique de la chitine dans le gésier s'arrête donc principalement au stade du chitobiose, dimère de l'acétylglucosamine.

(*) Nous avons essayé en vain de faire capturer et ingérer des insectes vivants par un pigeon domestique; cette observation est volontiers confirmée par les aviculteurs.

La présence de chitobiase dans le chyme intestinal permet probablement une dégradation enzymatique ultérieure du chitobiose pendant le transit intestinal.

Dans le cas du Coq (tableau II), il faut souligner la haute teneur en chitobiase des contenus des caeca intestinaux. Il paraît évident que, dans ces organes, l'hydrolyse du chitobiose puisse être beaucoup plus importante que dans l'intestin. Il est probable que cette chitobiase soit d'origine microbienne, étant donné que les muqueuses intestinales n'élaborent que de faibles quantités de chitobiasés et que les caeca des Gallinacés sont connus pour abriter une flore bactérienne abondante.

4. — SÉCRÉTION DE CHITINASE GASTRIQUE CHEZ LES MAMMIFÈRES.

Les tableaux III à V montrent que, sur neuf espèces étudiées, quatre possèdent une chitinase gastrique. Elle a été mise en évidence dans les contenus de l'estomac de la Taupe, et dans les extraits aqueux de muqueuse gastrique du Rhinolophe, de la Taupe, du Hérisson et du Porc. Son existence a été confirmée par la méthode néphélométrique. Un gramme de muqueuse intestinale fraîche de Hérisson ou de Rhinolophe libère, après homogénéisation dans 10 ml d'eau distillée, une quantité de chitinase suffisante pour hydrolyser 3 à 4 mg de chitine « native » en une heure, à pH 5,2.

L'activité chitinolytique des extraits aqueux de muqueuse gastrique est plus faible dans le cas de la Taupe que dans celui du Hérisson (tableau IV); cette différence est probablement due au fait que, pour la préparation des extraits tissulaires de Taupe, on a utilisé un individu mort depuis 24 heures, et conservé à environ + 4° C pendant ce laps de temps.

A propos des Cheiroptères (tableau III), il est intéressant de souligner l'influence de l'hibernation sur la synthèse d'enzymes par la muqueuse gastrique. Quatre *Rhinolophus ferrum-equinum* ont été capturés simultanément, en léthargie, dans la même grotte. Préparés le lendemain de la capture, les extraits de muqueuse gastrique contiennent peu de chitinase. Après 15 jours de conservation à 18° C, avec alimentation à base de lait et de vers de farine, les extraits de muqueuse gastrique sont 40 fois plus riches en chitinase. L'activité de la chitobiase a varié dans des proportions beaucoup moindres.

5. — SÉCRÉTION

Chez les neuf espèces de muqueuses duodénales, de muscles, de reins, de chitinolytique. Seulement quelques, les extraits de chitinolytique. Lézard vert (*Lacerta*) le pancréas est, particulièrement impo-

6. — DISTRIBUTION

Comme chez les autres tous les tissus, mais les extraits aqueux de foie, de pancréas, peu plus riches en une chitinase gastrique hydrolysée par un important que la vitesse du système ch-

7. — ACTIVITÉ

Les chitinasés sont généralement acides, comme le champignon *Jeuniauxia* et de *H. aspersa* chitinase exuviale.

La figure 1 montre l'activité en fonction de la durée d'incubation à 37° C.

a) la durée d'incubation

b) le pH optimum

sin du pH optimum

c) la courbe de réaction

neutres et alcalins

avec l'allure des courbes

(*) L'exochitinase de *Jeuniauxia* REYNOLDS (1954) prés-

e intestinal permet pro-
ultérieure du chitobiose

aut souligner la haute
ca intestinaux. Il paraît
se du chitobiose puisse
l'intestin. Il est proba-
microbienne, étant donné
nt que de faibles quan-
Gallinacés sont connus
lante.

CHEZ LES MAMMIFÈRES.

neuf espèces étudiées,
Elle a été mise en évi-
e la Taupe, et dans les
du Rhinolophe, de la
istence a été confirmée
gramme de muqueuse
rhinolophe libère, après
ée, une quantité de chi-
ng de chitine « native »

queux de muqueuse gas-
taupe que dans celui du
st probablement due au
tissulaires de Taupe, on
ures, et conservé à envi-

II), il est intéressant de
r la synthèse d'enzymes
olophus ferrum-equinum
thargie, dans la même
ture, les extraits de mu-
tinase. Après 15 jours de
à base de lait et de vers
trique sont 40 fois plus
tobiase a varié dans des

5. — SÉCRÉTION DE CHITINASE PAR D'AUTRES ORGANES, CHEZ LES MAMMIFÈRES.

Chez les neuf espèces de Mammifères étudiées, les extraits de muqueuses duodénales, intestinales ou caecales, de foie, de reins, de muscles, de testicules et d'épididymes sont dénués d'activité chitinolytique. Seuls, en plus des extraits de muqueuses gastriques, les extraits de pancréas de Taupe et de Porc présentent une activité chitinolytique incontestable. Rappelons que, chez le Lézard vert (*Lacerta viridis* LAUR.), la sécrétion de chitinase par le pancréas est, proportionnellement au poids de tissus frais, particulièrement importante (13.000 μ g de chitine hydrolysée/h/g).

6. — DISTRIBUTION DE LA CHITOBIASE CHEZ LES MAMMIFÈRES.

Comme chez les Oiseaux, la chitobiase semble élaborée par tous les tissus, mais en très faible quantité : on en trouve dans les extraits aqueux de muqueuses gastriques et intestinales, de foie, de pancréas et de testicules; les épидидymes semblent un peu plus riches en chitobiase. Chez les Mammifères possédant une chitinase gastrique ou pancréatique, la quantité de chitine hydrolysée par unité de temps est donc toujours beaucoup plus importante que la quantité d'acétylglucosamine libérée (cf. l'activité du système chitinolytique, tableaux III et IV).

7. — ACTIVITÉ DE LA CHITINASE GASTRIQUE EN FONCTION DU pH.

Les chitinases présentent généralement un pH optimum légèrement acide, compris entre 4,8 et 5,4 (exochitinase d'un Streptomyète : JEUNIAUX, 1951; chitinase intestinale de *Helix pomatia* et de *H. aspersa* : KARRER et HOFMANN, 1929; HACKMAN, 1954; chitinase exuviale des Insectes : JEUNIAUX, 1955, 1956 (*).

La figure 1 montre l'activité de la chitinase gastrique du Hérisson en fonction du pH, après 1/2 heure, 1 heure et 2 heures d'incubation à 37° C. On constate que :

- a) la durée d'incubation ne modifie pas l'allure de la courbe;
- b) le pH optimum est situé entre 4,7 et 5, ce qui est très voisin du pH optimum des autres chitinases citées ci-dessus;
- c) la courbe présente une pente plus accusée du côté des pH neutres et alcalins que du côté des pH acides, ce qui contraste avec l'allure des courbes obtenues au moyen des chitinases citées

(*) L'exochitinase d'une autre souche de Streptomyète étudiée par REYNOLDS (1954) présente un pH optimum voisin de 7.

ci-dessus. En effet, dans tous ces cas, l'activité est beaucoup moins inhibée du côté des pH neutres ou alcalins que du côté des pH acides : pour l'exochitinase de *Streptomyces*, dont le pH optimum est 5,3, l'activité à pH 7 est égale à celle mesurée à pH 4,7. Au contraire, dans le cas de la chitinase gastrique du Hérisson, l'activité est plus faible à pH 7 qu'à pH 2,5.

On sait que le pH des contenus de l'estomac est plus élevé que celui du suc gastrique (3,2-4,6 chez le Rat : DIENST et DÖRING, 1935; 4,48 chez le Cheval : BAUER, 1952). Il semble donc évident que la chitinase gastrique du Hérisson soit capable d'hydrolyser la chitine dans les conditions de pH du chyme gastrique, et ensuite de continuer son activité hydrolytique dans le chyme intestinal.

8. — SÉCRÉTION DE CHITINASE ET RÉGIME ALIMENTAIRE.

L'élaboration d'enzymes hydrolysant le chitobiose semble être assez générale, en ce qui concerne les tissus d'origine endodermique des Oiseaux et des Mammifères. Par contre, la faculté de synthétiser des chitinases n'est dévolue qu'aux muqueuses gastriques, et éventuellement au pancréas, de certaines espèces.

Parmi les Oiseaux, les quatre espèces possédant une chitinase gastrique ont un régime plus ou moins insectivore, tandis que le Pigeon, qui ne sécrète pas de chitinase, est exclusivement granivore.

Parmi les Mammifères, l'élaboration de chitinase n'a pu être décelée ni chez des frugivores et des herbivores tels que le Lapin, le Mouton et l'Unau, ni chez un carnivore tel que le Chat, ni chez l'Homme. Le Rhinolophe, la Taupe et le Hérisson, qui élaborent des chitinases, ont un régime alimentaire au moins largement insectivore. Le Porc est tenu pour omnivore, et les organismes à squelette ou téguments chitineux semblent faire partie de l'alimentation des Suidés sauvages qui, d'après FRECHKOP (1955) « se nourrissent surtout des parties souterraines des végétaux, de fruits, de champignons, etc., ainsi que de larves d'Insectes, de jeunes Vertébrés, etc. ».

L'existence d'une relation entre la nature de l'alimentation et l'équipement des sucs digestifs en enzymes chitinolytiques, chez les Oiseaux et les Mammifères, est à rapprocher d'observations analogues sur le Léopard, insectivore, dont le pancréas et l'estomac sécrètent des chitinases, et la Tortue terrestre, herbivore, qui n'en sécrète pas (JEUNIAUX, 1961).

L'étude de la chitinolytiques chitinase est un conservée au co endodermique c NIAUX, 1961) (*). des sécrétions d mentaire consist dans les group excluant pratique tineux. Chez le mesure insectivo conservation des de la muqueuse

The distribution of chitinase (chitobiase) have been reported in various species of Mammals.

Chitobiase has been reported in various tissues, but its activity is highest in the gizzards and in the kidneys and in the

The gizzard's chitobiase activity is high in the Blackbird, of Liot's native chitinase in the gizzardular stomach. Chitobiase

Among Mammals, chitobiase has been reported in a Bat (Rhinolophus), and the Hedgehog, and of the Pig seen in other Mammals so far, do not appear to se

These results suggest that the habits of Vertebrates and the chitobiase in glandular tissues.

The gastric chitobiase activity has a range of 4.7 to 5.0. The chitinases extracted from these tissues have an activity

(*) Dans le cas de la Tortue terrestre, l'activité est plus faible à pH 7 qu'à pH 2,5 (JEUNIAUX, 1956).

ivité est beaucoup moins
ins que du côté des pH
mycète, dont le pH opti-
e à celle mesurée à pH
nase gastrique du Hériss-
à pH 2,5.
tomac est plus élevé que
Rat : DIENST et DÖRING,
Il semble donc évident
oit capable d'hydrolyser
du chyme gastrique, et
olytique dans le chyme

RÉGIME ALIMENTAIRE.

le chitobiose semble être
sus d'origine endodermi-
Par contre, la faculté de
qu'aux muqueuses gas-
de certaines espèces.
possédant une chitinase
insectivore, tandis que le
est exclusivement grani-

de chitinase n'a pu être
bivores tels que le Lapin,
nivore tel que le Chat,
l'aupe et le Hérisson, qui
e alimentaire au moins
u pour omnivore, et les
chitineux semblent faire
rages qui, d'après FRECH-
parties souterraines des
etc., ainsi que de larves

ture de l'alimentation et
mes chitinolytiques, chez
approcher d'observations
ore, dont le pancréas et
a Tortue terrestre, herbi-
51).

L'étude de la distribution et de la localisation des enzymes chitinolytiques dans le règne animal suggère que la synthèse de chitinase est une propriété fondamentale de la cellule animale, conservée au cours de l'évolution par certains tissus d'origine endodermique de beaucoup d'Invertébrés et de Vertébrés (JEUNIAUX, 1961) (*). Dans le cadre de cette hypothèse, l'adaptation des sécrétions digestives des Vertébrés supérieurs au régime alimentaire consisterait en une perte de la synthèse de chitinase dans les groupes ayant adopté une alimentation spécialisée, excluant pratiquement les animaux ou plantes à squelette chitineux. Chez les Vertébrés dont le régime est dans une large mesure insectivore ou fongivore, l'adaptation résiderait dans la conservation des possibilités de synthèse de chitinase au niveau de la muqueuse gastrique et, dans certains cas, du pancréas.

SUMMARY

The distribution and localisation of chitinolytic enzymes (chitinase and chitobiase) have been studied in five different species of Birds and nine species of Mammals.

Chitobiase has been found in aqueous extracts of many glandular tissues, but its activity is low everywhere. No chitobiase has been found in kidneys and muscles.

*The gizzard's contents and intestinal chyme of the Sparrow, of the Blackbird, of *Liothrix lutea* and of the Cock are able to hydrolyse « native » chitin. The chitinase is secreted by the mucosa of the glandular stomach. Chitinase secretion seems to be lacking in the Pigeon.*

*Among Mammals, a secretion of gastric chitinase has been observed in a Bat (*Rhinolophus ferrum-equinum*), in two Insectivores, the Mole and the Hedgehog, and in the Pig. Moreover, the pancreas of the Mole and of the Pig seems also to be able to synthesize this enzyme. The other Mammals so far studied (Rabbit, Cat, Sheep, Choloepus and Man) do not appear to secrete chitinase.*

These results suggest the existence of a relation between the dietary habits of Vertebrates and the secretion of chitinase by some of their glandular tissues.

The gastric chitinase of the Hedgehog has an optimal pH in the range of 4.7 to 5.0, which does not differ from that of other well-known chitinases extracted from Streptomyces, Snails or Insects. The difference between these enzymes and the gastric chitinase lies in the fact

(*). Dans le cas des Arthropodes, la synthèse de chitinase est aussi réall-sée par les cellules épidermiques (PASSONEAU et WILLIAMS, 1954; JEUNIAUX, 1956).

that the latter is much less inhibited in acid conditions than in neutral or alkaline ones. The gastric chitinase seems in fact to be active at the pH conditions of the gastric chymes.

BIBLIOGRAPHIE.

- BARCROFT, J., McANALLY, R. A. et PHILLIPSON, A. T. (1944). — Absorption of volatile acids from the alimentary tract of the sheep and other animals. *J. exper. Biol.*, **20**, 120-129.
- BAUER, H. (1952). — *Elektrometrische pH-Messungen des Inhaltes bestimmter Abschnitte des Magendarmkanals bei Einhufern und Schweinen mit des Ionometer von Freye*. Diss. Hannover.
- CALABY, J. H. (1958). — Studies on Marsupial nutrition. II. The rate of passage of food residues and digestibility of crude fibre and protein by the quokka *Setonia brachyurus* (QUOY and GAIMARD). *Austr. J. Biol. Sci.*, **11**, 572-580.
- COOLS, A. et JEUNIAUX, Ch. (1961). — Fermentation de la cellulose et absorption d'acides gras volatils au niveau du caecum du lapin. *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **69**, 1-8.
- CURRIER, A., KITTS, W. D. et COWAN, I. McT. (1960). — Cellulose digestion in the beaver (*Castor canadensis*). *Canad. J. Zool.*, **38**, 1099-1116.
- DEVIGNE, J. et JEUNIAUX, Ch. (1961). — Origine tissulaire des enzymes chitinolytiques intestinaux des Lombrics. *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **69**, 223-234.
- DIENST et DORING. (1935), cités par VON BUDDENBROCK, W., *Vergleichende Physiologie*, III, 1956.
- FRECHKOP, S. (1955). — In *Traité de Zoologie*, tome XVII, fascicule 1 Grassé, Paris.
- HACKMAN, R. H. (1954). — Studies on chitin. I. Enzymic degradation of chitin and chitin esters. *Austr. J. Biol. Sci.*, **7**, 168-178.
- JEUNIAUX, Ch. (1951). — Une méthode de dosage des chitinases. *Arch. internat. Physiol.*, **59**, 242.
- JEUNIAUX, Ch. (1955). — Propriétés chitinolytiques des extraits aqueux d'exuvies larvaires, prénympheales et nympheales de *Tenebrio molitor* L. *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **63**, 113.
- JEUNIAUX, Ch. (1956). — La chitinase exuviale des Insectes. *Mem. Soc. Roy. Entom. Belg.*, **27**, 312.
- JEUNIAUX, Ch. (1957). — Purification of a streptomycetes chitinase. *Biochem. J.*, **66**, 69P.
- 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**, 597-617.
- JEUNIAUX, Ch. (1961a). — Sécrétion d'enzymes chitinolytiques par la muqueuse gastrique et par le pancréas du reptile *Lucerta viridis* LAURENTI. *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **59**, 384-385.
- JEUNIAUX, Ch. (1961b). — Chitinase : an addition to the list of hydrolases in the digestive tract of Vertebrates. *Nature*, **192**, 135-136.
- JEUNIAUX, Ch. (1961c). — Evolution des enzymes chitinolytiques dans le règne animal. *Résumés des Communications, Ve Congrès internat. de Biochimie*, Moscou, p. 143.
- KARRER, P. et HOFMANN, A. (1929). — Polysaccharide. XXXIX. Über den enzymatischen Abbau von Chitin und Chitosan. *Helv. Chim. Acta*, **12**, 616

KELLER, P. J., COLEMAN, R. A. — Bovine pancreatic juice and its action on chitin. *J. Biol. Chem.*, **196**, 193-200.

MARCHIS-MOUREN, J. L., LE, P. (1961). — Action de la chitinase de porc et de chien. *Bull. Assoc. Chim. Biol.*, **13**, 1-10.

MOIR, R. J., SOME, R. H. — The effect of chitinase on the digestion of chitin in the Cecropia silkworm. *J. Biol. Chem.*, **196**, 193-200.

PASSONNEAU, J. V., PROSSER, C. L. (1958). — The physiology of chitin digestion in the Cecropia silkworm. *Physiology*, G. L. (1958). — The colorimetric method for the determination of chitinase. *Chem.*, **217**, 959.

REYNOLDS, D. M. (1958). — The chitinase of *Streptomyces*. *J. Gen. Microb.*, **10**, 1-10.

conditions than in neutral
in fact to be active at

N, A. T. (1944). — Absorp-
ct of the sheep and other

ungen des Inhaltes bestim-
nufern und Schweinen mit

nutrition. II. The rate of
crude fibre and protein by
GAIMARD). *Austr. J. Biol.*

entation de la cellulose et
caecum du lapin. *Arch. in-*

(1960). — Cellulose diges-
J. Zool., 38, 1099-1116

gine tissulaire des enzymes
internat. Physiol. Bioch.,

DENBROCK, W., *Vergleich-*

ie, tome XVII, fascicule 1

I. Enzymic degradation of
7, 168-178.

osage des chitinases. *Arch*

tiques des extraits aqueux
les de *Tenebrio molitor* L.

le des Insectes. *Mem. Soc.*

otomyces chitinase. *Biochem.*

itinasés. I. Dosage néphélo-
Streptomycètes. *Arch. inter-*

hitinasés. II. Purification de
électrophorétique de princi-
Physiol. Bioch., 67, 597-617.

chitinolytiques par la mu-
Lacerta viridis LAURENTI.

ion to the list of hydrolases
192, 135-136.

mes chitinolytiques dans le
s, V^e Congrès internat. de

accharide. XXXIX. Über den
n. *Helv. Chim. Acta*, 12, 616

- KELLER, P. J., COHEN, E. et NEURATH, P. (1958). — The proteins of bo-
vine pancreatic juice. *J. Biol. Chem.*, 233, 344.
- MARCHIS-MOUREN, G., CHARLES, M., BEN ABDELJLIL, A. et DESNUEL-
LE, P. (1961). — Sur l'équipement en enzymes du suc pancréatique de
porc et de chien. *Biochim. Biophys. Acta*, 50, 186-188.
- MOIR, R. J., SOMERS, M., SHARMAN, G. et WARING, H. (1954). — Rumi-
nant-like digestion in a Marsupial. *Nature*, 173, 269.
- PASSONNEAU, J. V. et WILLIAMS, C. M. (1953). — The moulting fluid of
the Cecropia silkworm. *J. Exper. Biol.*, 39, 545
- PROSSER, C. L. (1950). — Feeding and Digestion, in *Comparative Animal
Physiology*, G. L. Prosser, Editor, Philadelphia.
- REISSIG, J. L., STROMINGER, J. L. et LELOIR, L. F. (1955). — A modified
colorimetric method for the estimation of N-acetylamino sugars. *J. Biol.
Chem.*, 217, 959.
- REYNOLDS, D. M. (1954). — Exocellular chitinase from a *Streptomyces* sp.
J. Gen. Microb., 11, 150.