

22.
19

**Propriétés chitinolytiques du liquide exuvial
du ver à soie (*Bombyx mori* L.)**

Lorsqu'on ligature des vers à soie au dernier âge larvaire, entre la tête et le thorax, 48 h après la dernière défécation, on obtient des nymphes non dépouillées de leur exuvie larvaire et qui n'ont pu déglutir leur liquide exuvial (*moulting fluid*). Dans quelques cas, ce liquide s'accumule rapidement dans la région thoracique entre le tégument nymphal et l'exuvie larvaire: en incisant cette exuvie, le liquide sous-jacent jaillit spontanément; il est jaune clair, transparent, mais noircit rapidement au contact de l'air (type I). Plus fréquemment, le liquide exuvial s'accumule lentement dans la région thoracique et noircit au fur et à mesure de son émission (type II). Le prélèvement, réalisé de la même manière que dans le cas précédent, mais plus tardivement, est particulièrement délicat: en effet, le tégument nymphal est fragilisé par la macération dans le liquide exuvial et l'on doit éviter avec soin toute manipulation brusque de la nymphe qui pourrait provoquer des déchirures du tégument et un écoulement de sang.

Nous avons recherché la présence de chitinase dans le liquide exuvial, par dosage de l'azote-chitine restant après incubation d'une suspension de chitine pure en présence d'une solution de liquide exuvial¹.

Un premier lot de 4 chenilles ligaturées, correspondant au type I décrit ci-dessus, a fourni 4 ml de liquide exuvial. Après dilution au 1/6 par de l'eau bidistillée et centrifugation, on teste l'activité chitinolytique du liquide surnageant. 4 ml de cette solution (soit 0,66 ml de liquide exuvial brut) solubilisent 2,3 mg de chitine, en 14 h d'incubation à 37°C et à pH 6,9. Une station de 2 h à 70°C inactive complètement la chitinase.

¹ CH. JEUNIAUX, Arch. int. Physiol. 59, 242 (1951).

Un second lot de 12 chenilles ligaturées, correspondant au type II décrit ci-dessus, permet de recueillir 3,1 ml de liquide exuvial. Après dilution au 1/6 et centrifugation, les propriétés chitinolytiques de cette solution sont testées à différents pH (en tampon citrate-NaOH, conc. finale 0,1 M) (Fig.).

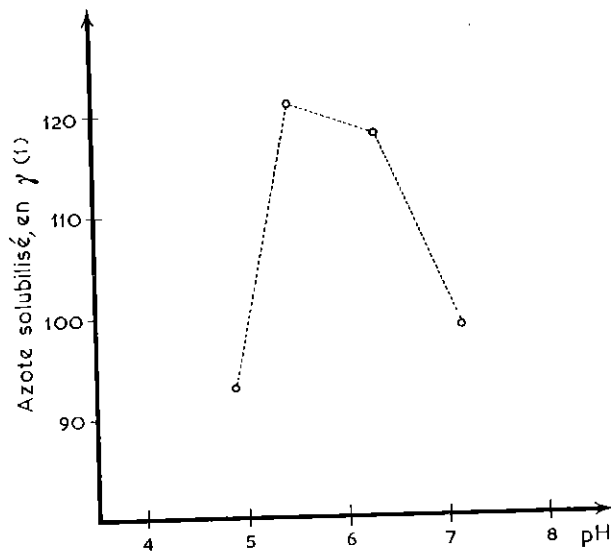


Fig. 1. Activité chitinolytique du liquide exuvial à différents pH. (1): différence entre l'azote-chitine du témoin sans enzyme (139 γ) et l'azote-chitine de chaque test, après 6 h d'incubation.

Conditions expérimentales: 4 ml de liquide exuvial dilué au 1/6; 1 ml de tampon citrate-NaOH 0,8 M; 1 ml de suspension de chitine pulvérisée (2,3 mg/ml), à 35°C, en présence de thymol.

La cinétique de l'action chitinolytique du liquide exuvial est semblable à celle des autres chitinases connues (liquide intestinal de l'Escargot¹, exochitinase d'un

¹ P. KARRER et A. HOFMANN, *Helv. chim. Acta* 12, 616 (1929). - R. H. HACKMANN, *Austr. J. Biol. Sci.* 7, 168 (1954).

Actinomycète isolé du s...
une activité optimale en...
nos résultats différent...
HAMAMURA et al.² ave...
larvaires de *Bombyx*...
chitinase de cet extrait...
tivité serait particulièrement

Nos observations con...
nase intervenant au c...
hypothèse formulée n...
La dissolution enzyma...
cule au moment de...
RENAUD⁴ pour *Maia*...
WILLIAMS⁵ pour *Platy*...

Laboratoires de Bioc...
atoire de Biologie a...
Bordeaux, le 15 janvier

The authors add f...
thesis of the role playe...
of moulting. By ligatur...
head and thorax, acc...
place between the larv...
ing of this fluid being...
perties of this moulting...
The activity of chitin...
the optimum pH lyim

¹ CH. JEUNIAUX, *Arch. roy. Belg., Classe sci.* 28, 193 (1949).

² Y. HAMAMURA et Y. S. IRO, *Bull. Faculty Tex.* 907 (1949). - Y. HAMAMURA et Y. S. IRO, *Bull. Faculty Tex.* 907 (1949).

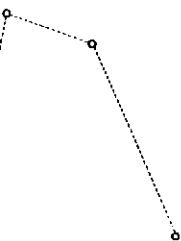
³ V. B. WIGGLESWORTH, *Biol. Rev.* 23, 408 (1948).

⁴ L. RENAUD, *Ann. I.*

⁵ J. V. PASSONNEAU, *Ann. I.* (1953).

⁶ Aspirant du F.N.R.S.

nilles ligaturées, correspondant
s, permet de recueillir 3,1 ml
dilution au 1/6 et centrifugation,
iques de cette solution sont
tampon citrate-NaOH, conc.



du liquide exuvial à différents pH.
chitine du témoin sans enzyme (139 γ)
que test, après 6 h d'incubation.

ml de liquide exuvial dilué au 1/6; 1 ml
M; 1 ml de suspension de chitine pul-
35°C, en présence de thymol.

ion chitinolytique du liquide
celle des autres chitinasés con-
e l'Escargot¹, exochitinase d'un

ON, Helv. chim. Acta 12, 616 (1929). -
ol. Sci. 7, 168 (1954).

Actinomycète isolé du sol¹), qui manifestent également une activité optimale entre les pH 4,8 et 5,4. Par contre, nos résultats diffèrent nettement de ceux obtenus par HAMAMURA et al.² avec un extrait aqueux d'exuvies larvaires de *Bombyx mori*; le pH optimum pour la chitinase de cet extrait serait de 8,2, tandis que l'activité serait particulièrement faible au dessous du pH 6.

Nos observations confirment la présence d'une chitinase intervenant au cours du phénomène de la mue, hypothèse formulée notamment par WIGGLESWORTH³. La dissolution enzymatique de la chitine de l'endocuticule au moment de la mue avait été montrée par RENAUD⁴ pour *Maia squinado* et par PASSONNEAU et WILLIAMS⁵ pour *Platysamia cecropia*.

CH. JEUNIAUX⁶ et M. AMANIEU

Laboratoires de Biochimie, Université de Liège, et Laboratoire de Biologie animale, Faculté des Sciences de Bordeaux, le 15 janvier 1955.

Summary

The authors add further confirmation to the hypothesis of the role played by a chitinase during the process of moulting. By ligaturing *Bombyx mori*-larvae between head and thorax, accumulation of moulting fluid takes place between the larval and nymphal cuticles, swallowing of this fluid being prevented. The chitinolytic properties of this moulting fluid are demonstrated *in vitro*. The activity of chitinase at different pH is investigated: the optimum pH lying at about 5.4.

¹ CH. JEUNIAUX, Arch. int. Physiol. 59, 242 (1951); Mém. Acad. roy. Belg., Classe sci. 28, fasc. 7 (1954).

² Y. HAMAMURA et Y. KANEHARA, J. Agr. Chem. Soc. Japan 16, 907 (1949). - Y. HAMAMURA, S. IIDA, M. OTSUKA, Y. KANEHARA et S. ITO, Bull. Faculty Text. Fibers, Kyoto University, 1, 127 (1954).

³ V. B. WIGGLESWORTH, Quart. J. Micr. Sci. 76, 269 (1933); Biol. Rev. 23, 408 (1948).

⁴ L. RENAUD, Ann. Institut. Océanogr. 24, 259 (1949).

⁵ J. V. PASSONNEAU et C. M. WILLIAMS, J. Exper. Biol. 30, 545 (1953).

⁶ Aspirant du F.N.R.S.