

Production d'exochitinase par des *Streptomyces*.

Note de CHARLES JEUNIAUX, présentée par MAURICE WELSCH.

De nombreux *Streptomyces* spp. possèdent une activité chitinolytique que l'on met aisément en évidence par ensemencement sur une gélose à la chitine (1 à 5). Cent souches, isolées par Welsch (6) de sols ou d'autres substrats naturels, ont été examinées à ce point de vue. Deux seulement paraissent être dépourvues de tout pouvoir chitinolytique, tandis que dix autres étaient particulièrement actives.

Les cultures de certains *Streptomyces*, en milieu liquide contenant de la chitine, renferment une chitinase diffusible, que l'on peut séparer du microorganisme producteur par centrifugation ou filtration (3, 5, 7). Dans le milieu que nous avons utilisé (sels de la solution de Czapek sauf le nitrate, et chitine comme unique source de carbone et d'azote), six des dix souches très actives sur gélose à la chitine nous ont donné des filtrats riches en chitinase. Parmi elles, il convient de mentionner le *Streptomyces albus* souche G, producteur type de l'actinomycétine (6). Nous avons décrit ailleurs les méthodes qui nous permettent de titrer les chitinases (3, 8).

L'enzyme n'apparaît pas progressivement au cours du développement de l'Actinomycète. Au contraire, la teneur en chitinase extracellulaire reste très faible et assez constante pendant une première période de durée variable. Elle augmente ensuite brusquement pour atteindre un maximum et diminuer ensuite assez rapidement (5, 9). La période de « production » de chitinase coïncide avec le moment où la chitine du milieu est digérée. Ces phénomènes se déroulent de la même manière en cultures stationnaires (boîte de Roux) et en cultures submergées, maintenues sur agitateur (flacon d'Erlenmeyer).

Nous l'expliquons comme suit. La chitinase, au fur et à mesure de son élaboration, est adsorbée sur la chitine contenue dans le milieu. La digestion ultérieure rapide de ce substrat met ensuite l'enzyme brusquement en solution. À l'appui de cette interprétation, nous pouvons dire que la quantité de chitinase fixée sur la chitine augmente, en effet, progressivement au cours de l'incubation des cultures. Cette chitinase se retrouve quantitativement dans les filtrats lorsque la chitine y a été digérée. Enfin, l'addition de chitine à une solution de chitinase est suivie d'une importante adsorption de l'enzyme sur son substrat.

La production de chitinase n'est pas favorisée par l'addition de nitrate au milieu de culture. La présence de glucose (0,5 p. cent) retarde le moment d'apparition de l'enzyme et en réduit quelque peu le

- (1) H. Bücherer, *Zbl. f. Bakt.*, 1935, t. 93, p. 12.
- (2) T. Folpmers, *Chem. Weekbl.*, 1921, t. 18, p. 249.
- (3) C. Jeuniaux, *Arch. int. Physiol.*, 1951, t. 59, p. 242.
- (4) C. Jeuniaux, *Physiol. comp. et ecol.*, sous presse.
- (5) D. M. Reynolds, *J. gener. Microbiol.*, 1954, t. 11, p. 150.
- (6) M. Welsch, *Rev. belge Pathol. Méd. expériment.*, 1947, t. 13, suppl. 2.
- (7) C. Jeuniaux, *Arch. int. Physiol.*, 1950, t. 58, p. 352.
- (8) C. Jeuniaux, en préparation.

titre final. Pour certaines souches, la destruction de l'enzyme paraît, d'autre part, être plus rapide en milieu glucosé.

L'augmentation du taux de chitine (entre 2 et 10 g/l) influence favorablement la biosynthèse de la chitinase. La quantité d'enzyme obtenue en cultures agitées est environ 10 fois supérieure à celle obtenue en cultures stationnaires.

Certaines Bactéries coliformes du tube digestif de l'Escargot produisent une chitinase constitutive au sens de Karström (10), c'est-à-dire qu'ils l'élaborent en milieu dépourvu de chitine (9). Par contre, selon Reynolds (5), l'exochitinase de certains *Streptomyces* spp. serait adaptative car, après culture en milieu sans chitine, où l'azote et le carbone sont fournis soit sous forme de glucose et asparagine, soit sous forme de N-acétylglucosamine, ces germes donnent des filtrats qui ne libèrent pas de sucres réducteurs à partir de chitine. Quatre de nos souches, en milieu de Czapek glucosé (0,5 p. cent) et asparaginé (0,5 p. cent), fournissent cependant des filtrats qui attaquent la chitine, ainsi qu'en témoignent les mesures néphélométriques et les dosages de l'azote-chitine. La quantité d'enzyme formée dans ces conditions est nettement inférieure à celle obtenue en milieu chitiné, mais elle suffit pour nous permettre de conclure que nous sommes en présence d'un enzyme constitutif.

Il nous paraît probable que la chitinase, relativement instable dans les cultures, sans doute par suite d'une attaque par des protéases qui l'accompagnent, est détruite, au fur et à mesure de sa production, dans les milieux sans chitine, tandis qu'au contraire, en présence de ce substrat, elle est adsorbée sur lui et protégée, ce qui permet son accumulation.

Conclusions. — 1. L'activité chitinolytique est une propriété fréquente chez les *Streptomyces* spp. (98 souches sur 100 examinées).

2. La chitinase peut être produite, en culture stationnaire ou submergée, dans un milieu contenant les sels de la solution de Czapek et de la chitine comme source unique de carbone et d'azote.

3. L'enzyme, de nature constitutive, peut être synthétisé en l'absence de chitine, mais cette substance favorise son accumulation.

4. Au fur et à mesure de sa formation, l'enzyme est adsorbé sur la chitine ; la digestion de celle-ci le libère ensuite dans le milieu.

5. L'enzyme est relativement labile dans les filtrats de culture (protéases ?), mais il est plus stable en présence de chitine.

(Laboratoires de Microbiologie générale et médicale,
Directeur : M. Welsch, et Laboratoires de Chimie physiologique,
Directeur : M. Florkin, Université de Liège, et Fonds national
de la Recherche scientifique).

(9) C. Jeuniaux, *Mém. Cl. Sc. Acad. Roy. Belg.*, 1954, t. 28, fasc. 7.

(10) H. Karström, *Ergeb. Enzymforsch.*, 1937, t. 7, p. 350.