

BULLETIN
DE LA
STATION BIOLOGIQUE
D'ARCACHON

TRAVAUX DES LABORATOIRES

10

11

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
ET SOCIÉTÉ SCIENTIFIQUE D'ARCACHON

BULLETIN

DE LA

STATION BIOLOGIQUE

D'ARCACHON

TREIZIÈME ANNÉE
(1910)

BORDEAUX

FERET & FILS, LIBRAIRES-ÉDITEURS

15, Cours de l'Intendance, 15

1910

ACTION DE LA CHALEUR ET DU FROID
SUR L'ACTIVITÉ MOTRICE ET LA SENSIBILITÉ
DE QUELQUES INVERTÉBRÉS MARINS

Par M. Georges MATISSE

C'est au laboratoire de Biologie marine d'Arcachon, au mois d'octobre dernier (1), qu'ont été faites les recherches rapportées dans ce Mémoire. Là, en même temps qu'une faune assez variée et un matériel expérimental rare dans les stations maritimes, nous avons trouvé la tranquillité nécessaire pour continuer régulièrement, sans interruption, des expériences qui s'étendaient sur l'intervalle d'une journée au moins.

Qu'il nous soit permis d'exprimer notre profonde gratitude à M. F. Jolyet, directeur de la Station, qui, après nous avoir accueilli avec bienveillance, a, de tout son pouvoir, facilité notre travail : à M. Sellier, sous-directeur, et à M. Delaunay, préparateur, pour leur amabilité et leur extrême obligeance chaque fois que nous avons eu à nous adresser à eux. Nous remercions également la Société scientifique d'Arcachon qui met si libéralement à la disposition des chercheurs toutes les ressources de ses laboratoires.

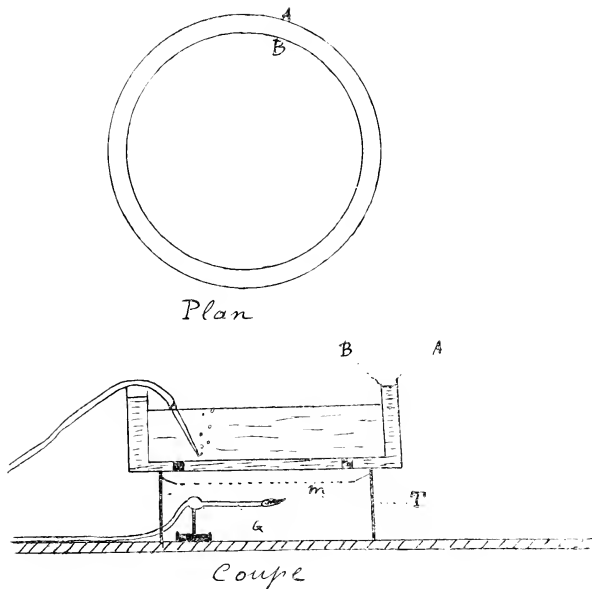
Avant d'exposer les résultats des recherches, j'indiquerai rapidement le dispositif employé dans les expériences.

I. *Dispositif pour les températures supérieures à la normale*

Dans un cristalliseur très large A était placé un second cristalliseur B d'un diamètre un peu moindre, concentrique au premier. L'espace annulaire compris entre eux était rempli

(1) 1909.

d'eau chaude à une température déterminée. *B* ne reposait d'ailleurs pas directement sur *A*, mais sur 3 pièces de liège qui le soulevaient un peu. Il y avait ainsi une sorte de matelas d'eau chaude autour du cristallisoir central. Ce dernier était rempli d'eau de mer portée à la température voulue et contenait les animaux. L'ensemble des cristallisoirs était placé devant une fenêtre. Il reposait, non directement sur la table, mais sur un



trépied *T*, auquel on avait attaché, à 2 ou 3 centimètres du fond de *A*, une toile métallique *m*. La déperdition de chaleur dans le récipient *B* ne se faisait donc qu'à la partie supérieure, seule exposée à l'air libre. La couche d'eau de l'espace annulaire, maintenue à 1° ou 2° au-dessus de la température de *B*, compensait les pertes. C'est uniquement sur elle qu'on agissait directement pour régler la température. Le réglage s'obtenait, soit en laissant l'opérateur réchauffer le bain extérieur, quand

la température commençait à descendre, au moyen d'un peu d'eau très chaude qu'il versait d'un ballon ; soit automatiquement, à l'aide d'un très petit bec de gaz à flamme horizontale, situé sous le trépied. La température était donnée par un thermomètre à mercure gradué de degré en degré, de -10 à $+50$. Un souffleur à eau, situé au loin et relié à *B* par des tubes de caoutchouc, permettait de faire barboter dans cette cuve un courant d'air qui renouvelait la provision d'oxygène dissous.

II. Dispositif pour les basses températures

Il était le même que celui employé pour les hautes températures, à ces différences près :

a) Les cristallisoirs étaient un peu moins vastes.

b) Entre *A* et *B*, dans l'espace annulaire et sur le fond, on mettait de la glace fondante au lieu d'eau chaude.

c) Le système *A*, *B* était lui-même emboîté dans un troisième cristallisoir plus large, tapissé intérieurement d'une épaisse couche de ouate. On évitait ainsi une trop rapide fusion de la glace.

d) Le tout reposait sur quatre bouchons de liège.

Le dispositif était placé devant la même baie vitrée que l'appareil servant aux températures supérieures, mais il était éloigné de ce dernier et séparé de lui par l'une des portes du laboratoire.

III. Méthode

Toutes les expériences ont été faites en prenant pour terme de comparaison un lot d'animaux témoins, placés dans un grand cristallisoir situé devant la même baie vitrée que plus haut.

Aux mêmes instants, on observait les animaux en expérience à des températures artificielles et les témoins. Les observations étaient consignées sur-le-champ dans des colonnes distinctes du cahier d'expériences, en regard l'une de l'autre. L'heure et la température étaient notées chaque fois.

Toutes les fois que cela était possible, on mettait plusieurs individus de même espèce dans chaque cristallisoir. On évitait

cependant de multiplier leur nombre pour qu'ils ne pussent pas se gêner mutuellement et pour que leur eau ne fût pas souillée trop rapidement par leurs produits de déjection. Ce nombre était ordinairement de deux ou trois.

L'eau des cuves était renouvelée plusieurs fois dans la journée, car quelques animaux subissent assez facilement une intoxication.

Avant de rapporter les observations, j'attirerai l'attention sur deux faits généraux. Quand on étudie l'action du facteur thermique sur l'activité motrice ou, d'une façon générale, sur l'état physiologique d'un être vivant, il faut tenir compte non seulement de la température à laquelle cet être est porté, mais du temps pendant lequel il y reste. Les phénomènes changent, en effet, à une même température, à mesure qu'augmente le temps qui s'est écoulé depuis le début de l'expérience : le comportement est fonction de la température et de la durée. C'est que les actions modificatrices de la chaleur (ou du froid) s'accumulent dans le temps, se somment, de sorte qu'un être qui peut supporter sans dommage sensible une température donnée pendant un certain temps, finit par succomber au bout de quelques heures. Ceci est dû, d'abord à ce que les effets s'accumulent, et ensuite à ce que les moyens de défense faiblissent. Cette seconde cause est peut-être une conséquence de la première.

Et, quand on y réfléchit, on voit bien la signification de ce facteur temps. Le temps n'est rien en lui-même, mais l'énergie thermique comprend deux facteurs indépendants : la température et la quantité de chaleur. C'est de la quantité de chaleur absorbée par l'animal que dépendent les modifications de son organisme. Or, cette quantité est liée au temps : elle en est une certaine fonction. En effet, soit θ_1 la température du milieu et θ celle de l'animal à un instant t . Au bout d'un temps dt , il aura absorbé une quantité de chaleur proportionnelle à l'écart de température et au temps, c'est-à-dire

$$dQ = c (\theta_1 - \theta) dt$$

θ_1 est fixe, mais θ est variable et se rapproche de θ_1 avec le temps. Quant à c , qui est un coefficient de conductibilité, il dépend aussi du temps, car l'animal subit, à mesure qu'il

s'échauffe ou se refroidit, des modifications dans l'état physique de ses albuminoïdes, dans l'état physiologique de ses tissus (contraction); il met enfin en jeu, ou cesse de mettre en jeu, des réactions défensives. Tous ces phénomènes modifient la conductibilité c du corps de l'animal. c et $\theta_1 - \theta$ sont donc tous les deux des fonctions du temps. On a donc :

$$dQ = f(t) dt$$

d'où, pour la quantité de chaleur absorbée (ou perdue) par l'animal depuis le début de l'expérience

$$Q = \int_0^t f(t) dt = F(t)$$

Ainsi, comme je le disais, les variations de l'état d'activité et de sensibilité avec le temps ne représentent autre chose que les variations avec les quantités de chaleur absorbées ou perdues.

La seconde remarque est celle-ci. Les divers individus ne se comportent pas dans les mêmes conditions de milieu identiquement de même façon. Il y a des différences individuelles. Les uns subissent moins que d'autres les actions nocives, soit que leur système nerveux ait un seuil de sensibilité plus élevé, soit qu'ils puissent mettre en jeu des mécanismes de résistance que d'autres ne possèdent pas aussi parfaits ou dont ils ne savent pas tirer aussi bon parti. Enfin, chez un même individu, on constate des variations physiologiques qui le rendent peu comparable à lui-même, au cours des diverses phases que traverse son état pendant une expérience. Mais c'est là un fait qu'il est impossible d'éliminer, car il est inhérent à la Biologie et constitue une des principales différences entre cette science et la Physique.

. . .

Je vais maintenant esquisser à grands traits les résultats des observations. Je ne puis songer à donner ici ces observations elles-mêmes. D'abord elles sont très longues : elles rempliraient une bonne moitié d'un numéro du *Bulletin*; et puis leur lecture serait fastidieuse : il est des phénomènes qui se répètent souvent, des expériences où l'influence de la variation de tempé-

rature n'est nullement marquée ; dans les observations, on consignait les faits à mesure qu'ils se produisaient. Enfin, certains phénomènes ne prennent tout leur sens que si l'on a bien présent à l'esprit un autre fait qui s'était passé plusieurs heures avant. J'ai donc cherché à donner une image aussi complète que possible des phénomènes, sans les simplifier, sans omettre les particularités dont le sens ne m'apparaissait pas. Pour cela, j'ai cité très souvent le texte même d'observations rédigé pendant l'expérience, alors qu'on avait le phénomène sous les yeux. J'espère qu'ainsi ces études pourront être lues avec intérêt. On remarquera que les expériences ont porté sur plusieurs espèces animales différentes appartenant à des groupes très divers du règne animal : Coelentérés, Crustacés, Céphalopodes, Annélides, Gastéropodes, etc. C'est qu'il s'agit surtout, dans notre pensée, d'obtenir une connaissance de la marche générale du phénomène, de façon à en apercevoir la signification, plutôt que d'en préciser à l'extrême quelque point. Quand on aura vu l'orientation générale et compris le sens de ces réactions si variées des animaux à la chaleur et au froid, on risquera moins de s'égarer ensuite dans l'interprétation d'un fait particulier.

ANÉMONES (*Sagartia parasitica*)

Cette Actinie vit, en général, fixée sur les coquilles habitées par des Pagures, ou même sur des coquilles vides. Au laboratoire d'Arcachon, on la trouve également fixée sur le fond en ciment des réservoirs.

1° Hautes températures : de 34° à 30°.

A 34°, les *Sagartia* meurent en quelques heures.

Dès le début, sous l'action de la variation thermique brusque (de 17° à 34°), les Actinies se ferment. Elles restent ensuite obstinément fermées pendant toute la durée de l'expérience et meurent dans le même état. Il est difficile d'apprécier la durée de survie de ces animaux fermés et ne réagissant pas au contact. Il y a sans doute aussi des différences individuelles. Toutefois, ayant retiré au bout de 4 heures environ deux Anémones du bain à 34°, pour les placer dans l'eau à 17° (température normale ce jour-là), l'une

d'elles s'est encore épanouie, mais elle demeurait absolument insensible au contact d'une tige de verre. Vivait-elle encore ? Les autres, remises à 17° au bout de 3 h. 30, ne vivaient plus. Il y a donc irréversibilité des actions produites par la chaleur.

A 32°, on observe encore les mêmes phénomènes, mais atténués. Les animaux se contractent sous le choc de variation thermique et cet état subsiste. Cependant, au bout de 1 h. 15, ils ne sont plus qu'à demi fermés. La sensibilité est très diminuée. Au bout de 3 h. 30, les *Sagartia* (au nombre de huit) étaient mortes ou sur le point de mourir.

2° De 30 à 25° :

Il y a un phénomène très frappant, observé chez toutes les *Sagartia* placées dans l'eau à 30, à 28 ou à 26° : elles présentent de *lents mouvements alternatifs d'ouverture et de fermeture*. Ces mouvements semblent témoigner d'un état de malaise. Ils sont sans rapport avec les conditions extérieures. Leur lenteur est d'autant plus grande que la température est plus élevée. Ainsi à 26°, j'ai trouvé les périodes variant de 10 à 30 minutes ; à 30°, les périodes allaient de 15 à 45 minutes.

D'autre part, la sensibilité est diminuée, à en juger du moins par la réaction de l'animal au contact d'une tige de bois. On constate aussi chez une même Actinie, à une même température, *des variations de la sensibilité et de l'activité motrice spontanée* au cours du temps. Enfin, on voit parfois l'adaptation aux nouvelles conditions se faire au bout d'un temps plus ou moins long.

Voici le résumé de quelques observations à quelques températures :

30° : 4 octobre. L'Anémone s'épanouit et se referme avec une extrême lenteur.

30° : 9 octobre. Les animaux (trois individus) restent longtemps fermés : 1 h. 15 au moins. Puis lents mouvements alternatifs d'ouverture et de fermeture, qui paraissent le signe d'un état de malaise : ils ne constituent plus les relations de l'animal avec les corps et les phénomènes extérieurs.

Sensibilité affaiblie.

Plus tard, l'adaptation se produit peu à peu et l'état physiologique redevient meilleur.

Certains individus (Anémone B) résistent plus longtemps aux

influences nocives. Ils parcourent plus tard la même série d'états physiologiques que les autres.

Exemple : Sagartia B (mise à 30° à 10 h. 50).

Temps	Activité motrice	Sensibilité
De 10 h. 50 à midi	Fermée.	
Midi	Commence à s'ouvrir.	
Jusqu'à 4 h. 15	Epanouie.	Sensibilité bonne.
4 h. 18		Sensibilité affaiblie
5 h. 30	Mouvements d'ouvert. et de fermeture	

Ces mouvements d'ouverture et de fermeture avaient commencé chez l'Anémone A à 3 h. 15. B a donc 2 h. 15 de retard sur A.

Oscillations de l'état physiologique (activité motrice et sensibilité) au cours du temps.

Exemple : Anémone A (mise à 10 h. 50).

Temps	Activité motrice	Sensibilité
10 h. 50 à midi	Fermée. Immobilité.	
Midi à 2 h.	Lent épanouissement.	Bonne.
3 h. 15	Mouvements d'ouvert. et de fermeture	Affaiblie.
3 h. 30	Epanouie.	Presque nulle.
4 h. 15	Gonflement.	Un peu meilleure.
4 h. 48	id.	Meilleure.
5 heures	Inertie presque totale.	Presque nulle.
5 h. 50		Légère amélioration.
6 h. 10	Inertie moindre.	

Remarque. — Si l'on laisse redescendre la température après une heure ou deux, jusqu'à 24 ou 25°, la sensibilité redevient excellente. D'une façon générale, un arrêt dans les conditions modificatrices permet à l'organisme de se ressaisir, de résister et de se rapprocher de son état physiologique normal.

28° : 3 octobre. Transportées brusquement à 28°, les Anémones prises à 20° s'épanouissent partiellement ou totalement. Alternatives de fermeture et d'ouverture.

Malaise.

La sensibilité est diminuée.

28° : 8 octobre. Toujours mouvements lents d'ouverture et de fermeture. Malaise.

26° : 3 octobre. Un certain nombre présentent des alternatives (période variable de dix à trente minutes) d'ouverture et de fermeture.

Malaise léger.

26° : 13 octobre. S'entr'ouvrent presque tout de suite. Largement épanouies. Etat normal, sensibilité bonne. Adaptation.

En somme, c'est vers 25 ou 26° que se trouve placée la limite des influences néfastes.

A 24°, je trouve les Anémones largement épanouies et présentant une bonne sensibilité. L'état normal est persistant. A partir de cette température, il y a une large zone thermique dans laquelle les *Sagartia* conservent un excellent état physiologique. J'ai observé le même état, qu'on peut appeler *normal*, à 24°, à 20°, 18°, 16°. Les Actinies restent immobiles, largement ouvertes en général (parfois fermées), pendant de longues heures. La journée se passe sans qu'on constate de mouvements. Mais leur sensibilité est très fine : au moindre attouchement sur les tentacules, l'animal se ferme brusquement.

C'est cette sensibilité très bonne qui distingue l'état physiologique normal de celui dans lequel se trouve l'Anémone quand la température devient très basse.

Basses températures :

Je n'ai pas de données sur ce qui se passe entre les températures basses et moyennes.

A 3° et à 2°, on constate que les Anémones, d'abord fermées, s'ouvrent largement et restent ensuite indéfiniment dans cet état. Mais leur sensibilité (jugée par la réaction à un contact) est excessivement diminuée. Une *Sagartia* témoin, bien ouverte, placée dans un bocal à 20°, se referme totalement et rapidement quand on la touche à l'intérieur de la couronne de tentacules, tandis qu'à 3° ou 2°, sous l'action d'un contact *plus fort*, l'animal ne réagit pas du tout.

BERNARD L'ERMITE (*Eupagurus Bernhardus*)

Ces petits Crustacés, très agiles et très sensibles, avec leur mimique expressive et mobile, leurs attitudes variées, constituent, ainsi que les Seiches, des animaux de choix pour l'étude

de l'activité motrice. Il est bon cependant de ne pas commencer cette étude sur eux. Les animaux à réactions plus simples, Anémones ou Annélides, par exemple, laissent mieux voir les grandes lignes du phénomène. Plus tard, en possession de ce fil d'Ariane, on risquera moins de s'égarer dans la jungle des réactions complexes et délicates des animaux supérieurs : elles serviront à compléter, à enrichir l'esquisse un peu fruste qu'on avait tracée tout d'abord.

Il a été fait sur les Bernards deux séries d'expériences : l'une au début, l'autre à la fin d'octobre.

1° *Températures élevées :*

Voici, esquissée à grands traits, la série des phénomènes qui se déroulent :

Tout d'abord, l'animal présente une grande agitation. Puis, survient une phase d'immobilité. Suivant les températures, le Bernard est stupéfié, abattu ou simplement calme. Ensuite, toujours selon la température, le Pagure témoigne un état de malaise violent ou léger ou bien, au contraire, il commence à s'adapter. Enfin, on observe ou la mort (hautes températures) ou une diminution de l'activité et de la sensibilité (températures intermédiaires), ou un rétablissement des fonctions normales (températures voisines de la normale).

Complétons à présent, à l'aide des observations particulières, réelles et concrètes, l'histoire du comportement des Pagures aux diverses températures.

A 30°, les Pagures meurent en une heure environ.

Que se passe-t-il dans cet intervalle ?

Au moment du changement brusque de température, ils se recroquevillent. Puis ils présentent une agitation extrême, ils sortent de leur coquille, y rentrent de nouveau, en ressortent et continuent à s'agiter. Après quelques alternatives de mouvements et d'immobilité (qui peuvent faire défaut), ils restent immobiles, stupéfiés. Ensuite, ils sortent entièrement de leur coquille et tombent sur le dos. Quelques petits mouvements encore de temps en temps, réactions suprêmes de l'organisme sous l'action des phénomènes morbides produits par les conditions destructives. Enfin, la mort au bout d'une heure environ. Un fait accessoire à signaler en passant : les animaux retirés au

bout d'un quart d'heure et ramenés à la température ordinaire survivent. Si on les plonge brusquement dans l'eau à 20°, ils restent longtemps en état de contracture et de stupéfaction. Un court séjour à l'air, au contraire, favorise beaucoup leur rétablissement.

A 28°, ce sont encore les mêmes aspects : le Bernard d'abord se recroqueville, puis, une minute plus tard, s'agite, inquiet. Seulement il ne meurt pas aussi rapidement qu'à 30°. Au bout de 1 h. 30, j'ai constaté qu'il était encore bien vivant (l'observation n'a pas été poussée plus loin ce jour-là).

Les actes biologiques ont déjà bien changé à 27°. On a descendu d'un échelon. Je vais rapporter ici, avec quelques détails, une observation faite le 31 octobre, à cause d'un fait important qui s'y trouve mis en lumière, fait que j'ai retrouvé fréquemment au cours de mes expériences : je veux parler de l'oscillation spontanée que présentent l'activité motrice et la sensibilité d'un même individu au cours du temps.

Trois Bernards A, B, C, pris dans un réservoir à 45° sont plongés dans une cuve à 27°, à 3 h. 30.

Après une courte période d'agitation de trois minutes, vient une phase de calme plat. A 3 h. 43, je tente une expérience : je place les trois Bernards sur le dos. A la température ordinaire, ces petits animaux, agiles, vifs, se remettent aussitôt sur leurs pattes. Ici, au contraire, ils restent sur le dos. Il y a une certaine inertie motrice, une sorte de paralysie commençante. Au bout d'un quart d'heure, A et B se sont redressés. C ne se remet sur ses pattes qu'au bout de trois quarts d'heure seulement. Les animaux demeurent ensuite immobiles tous les trois, C recroquevillé, A et B remuant parfois les pattes sans marcher. A 5 h. 05, je remets C sur le dos : cette fois, il se remet presque aussitôt sur ses pattes. B également. A conserve, au contraire, bien plus longtemps sa position. En effet, « à 5 h. 15, A est encore sur le dos » et il en est encore ainsi à 5 h. 25. Ce n'est qu'à 5 h. 35 qu'il se relève, avec des mouvements lents et saccadés. On voit ici les oscillations de l'activité d'un même individu. L'activité d'ailleurs est faible chez tous les trois, celle de B meilleure que celle des deux autres. La sensibilité est bonne.

A partir de 5 h. 30, l'activité et la sensibilité sont fortement diminuées chez tous. B, le plus actif, ne rentre plus dans sa

coquille quand on le touche. Dans le rapport d'une autre expérience faite la veille (30 octobre), à cette même température de 27°, je lis : « L'état de tous, toute la journée, est très normal. Ils ne sont pas engourdis et réagissent bien. L'activité est bonne ». Il y a contradiction entre les deux séries d'observations. Que s'est-il donc passé? Ceci : le 30 octobre, en mon absence, de midi à 3 heures, la température était tombée à 19°. Cet abaissement de température avait permis aux animaux de reprendre vie et résister mieux aux conditions nocives avec lesquelles ils furent aux prises, quand je rétablis plus tard la température initiale de 27°.

A 25°, on descend une nouvelle marche. L'agitation initiale a disparu (du moins chez les individus que j'ai étudiés). Les uns tout de suite marchent un peu et se lissent les antennes, les autres demeurent quelque temps cachés dans leur coquille, puis finissent par en sortir. Chez tous, l'état demeure très calme : les animaux ne marchent guère ; ils remuent de temps en temps pinces ou pattes, mais sans se déplacer. Comparés aux témoins à 15°, ils sont moins actifs. La vie de relation d'ailleurs est intacte. Ils sont attentifs à ce qui se passe autour d'eux. Une Annélide (*Nereilepas furcata*) tentant de pénétrer dans la coquille d'un des Bernards, celui-ci se défend très adroitement pendant très longtemps, car la Nereis est obstinée. Il la saisit plusieurs fois avec ses pinces et la retient loin de lui. Il finit par la rompre en trois tronçons. Enfin, au bout de 7 h. 30, on constate une véritable adaptation. Les Bernards à 25° se comportent comme les témoins. « Ils sont plus vivants, plus actifs, à mesure que la journée s'avance. »

Ainsi, la température de 25° ne paraît déjà plus nocive. Elle produit seulement pendant quelques heures une légère torpeur.

Au-dessous de 23°, on trouve la zone des conditions normales.

Températures moyennes :

A 21°, j'observe, le 29 octobre, sur trois Bernards (deux petits et un gros), une suractivité pendant une heure. Les animaux se démènent, se battent. Puis tous se calment et restent ainsi jusqu'au soir. Les réactions aux excitants restent toujours bonnes. *La température normale ce jour-là était de 14° seulement.*

A 22, 21, 20, 19 (1), 15 et 14° (2), je trouve le même comportement (sauf quelques légères variantes individuelles). Les Pagures marchent, se battent, choquent leur coquille contre la paroi du bocal. Ceci se prolonge toute la journée, entrecoupé de périodes de calme. Pas d'amointrissement de l'activité avec le temps.

La sensibilité des animaux et leur vie sensorielle de relation est excellente. Approche-t-on brusquement la tête de leur cuve, on les voit aussitôt fuir, ou bien rentrer vivement dans leur coquille, ou simplement, quand ils sont plus habitués ou moins peureux, esquisser le geste de rentrer, sans le parachever.

J'ai maintes fois observé avec curiosité l'influence de la grandeur de la cuve où ils sont renfermés sur l'humeur batailleuse des Bernards l'Ermite ou sur les manifestations de cette humeur. Si l'on met trois ou quatre Bernards dans un grand cristalliseur, ces petits Crustacés demeurent paisibles, marchent de temps en temps, s'arrêtent, repartent. Quand ils se rencontrent, en général ils s'évitent, l'un s'écartant pour céder la place à l'autre.

Dans une cuve moyenne, les rencontres sont plus fréquentes et les batailles aussi.

Mais enferme-t-on les trois ou quatre Pagures dans une toute petite cuve où ils sont presque constamment en contact les uns avec les autres, on les voit se chamailler et se battre continuellement, se saisir les pinces, se poursuivre, se menacer. Dans la journée ils ne restent pas cinq minutes consécutives en repos et l'on entend à tout instant le bruit de leur coquille qui heurte et fait sonner les parois de leur cuve. Et l'on se demande, entraîné loin des Pagures, si l'humeur agressive, la vie inquiète et agitée des hommes, de ceux surtout habitant les grandes villes, ne vient pas de ce qu'ils vivent trop serrés et si une décompression n'amènerait pas un adoucissement général des caractères ?

Basses températures :

Les faits sont très complexes. Sur la série principale des phénomènes, formant en quelque sorte le tronc de l'arbre, viennent s'insérer des séries secondaires, maîtresses branches qui

(1) Pour une température normale de l'eau de 19 à 20° (début d'octobre).

2 Pour une température normale de l'eau de 14 à 16° (fin d'octobre).

masquent souvent la vue de l'arbre. Tels sont les phénomènes de lutte, de défense de l'animal contre les conditions hostiles. Il y a, en outre, des différences individuelles. Enfin il faut considérer non seulement la température absolue à laquelle est placé l'animal, mais la différence entre celle-ci et la température normale de l'eau dans la journée, et certainement aussi l'époque saisonnière.

Le comportement du Bernard est fonction du temps depuis lequel l'animal se trouve à basse température. Je vais d'abord décrire l'aspect des réactions des Pagures lorsqu'ils sont complètement sous l'action du froid, au bout d'un temps assez long, et que l'écart entre la température du bain et celle du bassin où ils vivaient avant l'expérience, est assez considérable (10° au minimum). Je donnerai ensuite des détails sur la période du régime variable pendant laquelle l'animal lutte contre les conditions hostiles du milieu.

D'abord, on s'aperçoit tout de suite que l'activité est amoindrie. Tandis que les témoins s'agitent, marchent, se battent, les Bernards refroidis demeurent assez tranquilles. Ils ne sont pas inertes, mais on remarque une grande lenteur des mouvements. Ce qui frappe surtout, c'est que ces mouvements sont tremblés, fractionnés, incertains. Voici quelques notes prises sur le vif :

« 5 h. 43. 9 = 11° : L'un d'eux (un des Bernards) fait quelques mouvements parfois. Ceux-ci sont fractionnés, tremblés. Ils rappellent ceux d'un vieillard...

» 6 h. 45 : ... A présent quelques commencements de mouvements tremblés.

» 6 h. 33 : 1 et 2 (c'est le nom des Bernards) remuent. Les mouvements sont généralement lents, tâtonnants. Parfois cependant un mouvement brusque et de courte durée, plutôt une secousse.

» Il y a une véritable *incoordination motrice*. »

Ici encore, je ne puis mieux faire que de citer textuellement le compte rendu d'une expérience que j'ai faite le 4 octobre, car elle est plus frappante pour l'esprit qu'une description abstraite : « J'ai mis à l'instant dans le bocal une pince de Pagure mort. Les Bernards 1 et 2, avec leur petite pince, font le geste de saisir quelque chose et de le porter à leur bouche. Mais ils ne portent

rien. Un peu plus tard, 1 avait saisi le morceau par hasard et, l'ayant porté à ses mâchoires, l'a laissé retomber. Il l'a saisi une autre fois et l'a encore porté à sa bouche, puis laissé retomber encore. Il n'a pu le retrouver et a continué le simulacre de porter des aliments à sa bouche. 2 a attrapé une patte de 1 et cherche à l'attirer vers ses mâchoires.

» Il semble que les mouvements soient incertains et mal coordonnés. 1 porte toujours à sa bouche, avec sa pince, quoi? Rien. A côté de lui git le morceau de pince.

» 1 vient de trouver par hasard le morceau de nourriture. Il fait un grand mouvement pour l'apporter à sa bouche, mais reste ainsi, la pince étendue, tenant le morceau. Puis l'aliment tombe. »

Plus tard, un engourdissement progressif envahit l'animal : « Mis sur le dos, il essaye de se relever, mais sans énergie et n'y parvient pas. Il reste dans cette position. De temps en temps, petits mouvements saccadés. Avec le temps, les mouvements deviennent plus rares, plus lents, de moindre amplitude. L'immobilité gagne. Les mouvements spasmodiques, rythmiques des extrémités persistent les derniers. »

Quel est l'état de la sensibilité pendant ce temps? La sensibilité est faible, le seuil en est élevé. Il y a, de plus, un retard dans la réaction. A une excitation assez forte pour être perçue, le Pagure ne répond pas tout de suite : quelques secondes s'écoulent avant que le mouvement ne commence. Plus tard, les réactions deviennent presque nulles. Il arrive, dans certains cas, qu'au bout d'un temps assez long une recrudescence d'activité et de sensibilité se manifeste. Le Pagure s'adapte aux conditions qui lui sont faites. Je ne sais si cette adaptation persisterait indéfiniment.

Examinons maintenant comment les animaux se comportent, avant d'être complètement sous l'empire du froid, dans les premières heures, quand l'abaissement thermique n'est que de 4 à 7° au-dessous de la normale, et qu'on laisse ensuite la température décroître graduellement. Le Pagure lutte en quelque sorte contre la variation. Pendant quelques minutes, l'animal, comme à température élevée, manifeste une grande agitation. Il marche rapidement, s'accroche au thermomètre (28 octobre, 9 = 8° : température normale, 15°), tente de grimper aux parois

de la cuve (30 octobre, $\theta = 11^{\circ}$; température normale, 15°). Puis il se calme, tout en continuant à remuer doucement pendant un certain temps (1 heure le 28 octobre pour un abaissement de 7° ; 3 h. 30 le 30 octobre pour un abaissement de 4°). On le voit surtout agiter les pattes et les antennes, parfois faire quelques pas ou rentrer dans sa coquille. La sensibilité est encore très bonne. Certains animaux — c'est individuel — sont encore effrayés par l'approche de l'observateur.

Si on laisse la température constante, les Bernards s'immobilisent de plus en plus. Mais si, après quelques heures, on laisse la température tomber, on constate un curieux phénomène : une légère variation thermique dans le sens opposé aux conditions normales produit une recrudescence d'activité aussi bien qu'un relèvement de la sensibilité. Ceci fut constaté dans tous les cas. En voici un exemple précis :

Le 28 octobre, la température normale de l'eau était 14° . A $6^{\text{h}} \frac{5}{10}$ au bout d'un certain temps, immobilité, rares moments d'effroi. A 6^{h} , « l'un des Bernards semble reprendre un peu d'activité. Il se met à marcher, fait plusieurs fois la traversée de sa cuve et redevient peureux et sensible au moindre choc. Pour un rien il se roule en boule, puis ressort et marche de nouveau. L'autre également paraît moins inerte que tantôt ». Bientôt ils se calment. Le 30 octobre, je note encore, au moment où je laisse tomber la température, une recrudescence d'activité et de sensibilité des deux Bernards. Tous deux sont plus peureux à l'approche.

L'organisme se tient sur la défensive, se sentant en quelque sorte menacé par de conditions nocives qui se glissent dans le milieu et l'atteignent. Nous le verrons d'une façon bien plus frappante encore avec les Seiches.

Un autre phénomène inattendu, qui ne peut manquer d'attirer l'attention, se produit pendant cette période de régime variable : c'est une interversion de l'activité relative des animaux en expérience. Voici dans un cristalliseur deux Bernards : l'un s'est toujours montré plus agile, plus remuant, plus sensible aux excitations que l'autre. Brusquement, à partir d'une certaine température, une inversion se produit : le Pagure le plus actif devient le plus inerte; le plus engourdi devient le plus remuant et le plus sensible. Exemple : le 29 octobre, de 10 h. 30 du

matin à 5 heures du soir, l'un des Bernards A était demeuré constamment plus éveillé, plus remuant, de sensibilité plus fine que l'autre B. La température pendant la journée était lentement tombée de 9° à 3°. Brusquement, à 3' (5 heures du soir), se produit une inversion remarquable de l'état physiologique des deux animaux. « 5 h. 30 : Le plus inerte des deux est à présent le plus actif. Il a réussi à se retourner seul (après avoir été mis sur le dos) et il remue les pattes. L'autre est roulé dans sa coquille et inerte à son tour.

» A 2", la même activité et sensibilité relative (réaction faible au contact) subsistent chez B; le même engourdissement et la même inertie chez A. »

Même interversion dans une autre expérience le 30 octobre. « Celui qui était au début le moins actif des deux fait à présent plusieurs fois le tour de sa cuve, s'accroche au thermomètre, se remet rapidement sur ses pattes quand on le met sur le dos. Les mouvements de l'autre sont plus lents. »

Plus tard, on retombe sur les phénomènes que j'ai décrits au commencement : lenteur des mouvements, incoordination motrice, engourdissement, abolition presque complète de la sensibilité, retard dans les réactions.

Tandis que les fonctions de la vie de relation sont fortement atteintes et comme suspendues à la longue par le froid, les fonctions de la vie végétative, telles que la respiration, paraissent indemnes. Les Pagures continuent à respirer normalement, à agiter leurs scaphognathites. On peut laisser les Pagures longtemps au froid (par exemple vingt-quatre heures), leur vie ne paraît pas en souffrir. Remis ensuite, souvent même sans précautions, à la température normale de 15 à 18°, les animaux reprennent rapidement leur activité première et leur train de vie habituel, sans paraître avoir souffert de leur long séjour au froid. Il y a une véritable réversibilité de l'action du froid.

SEICHES (*Sepia officinalis*)

Les Céphalopodes, animaux dont le système nerveux est très différencié, sont très sensibles aux variations physiques et chimiques du milieu. Ils expriment d'ailleurs par des réactions variées, par une mimique fort expressive, les perturbations de leur état

physiologique. L'étude de leur comportement aux diverses températures, et à chaque température au cours du temps, laisse apercevoir plusieurs faits biologiques importants. Tandis que les autres Invertébrés sur lesquels ont porté nos expériences perdaient peu à peu leur activité et leur sensibilité à mesure que s'accroissait le refroidissement du milieu et finissaient par tomber dans un engourdissement complet d'où l'on pouvait d'ailleurs les tirer, les Seiches meurent brusquement à une température fixe. J'ai suivi les péripéties de l'activité vitale depuis 28° jusqu'à cette température fatidique de 7° où les animaux succombent en quelques instants.

Températures élevées :

A 28°, les Seiches (adaptées à la température de 16 à 17°) meurent au bout d'une heure environ. Cependant, en renouvelant très souvent leur eau, on pourrait sans doute prolonger un peu leur existence. Je reviendrai un peu plus loin sur ce point.

Voici la suite des réactions observées :

Seiche mise à 9 h. 53 dans une cuve à 28°, le 16 octobre ; température normale : 16 à 17° (suivant les heures de la journée).

Au début, agitation assez forte, due à la brusquerie de la variation thermique (de 16° à 28°).

Puis, calme.

Ensuite, on observe des phases alternantes d'agitation et de calme : les mouvements sont violents, rarement lents. La Seiche semble chercher à échapper à la cause oppressive. « 10 h. 30 : L'animal semble se démener contre l'invisible ennemi qui l'étreint et la gêne. Prompts mouvements de recul assez fréquents. »

Puis l'activité s'affaïsse. Légère prostration.

« 10 h. 37 : La Seiche paraît plus indifférente à l'approche et aux contacts. »

Cinquante minutes après le début : inertie. Indifférence complète à l'approche et aux contacts (10 h. 45).

Un peu plus tard (10 h. 55), elle réagit à un contact, mais il y a un retard très marqué de la réaction : elle n'a lieu que cinq secondes après l'excitation.

Quelques mouvements spasmodiques et quelques mouvements brusques. Puis les mouvements de la respiration se ralentissent et enfin cessent. La mort est survenue en 1 h. 13 minutes.

26° : 22 octobre (température normale : 16°5) : 23 octobre (température normale : 14°).

Agitation violente ; nagent continuellement. Les Seiches se tiennent dans une *attitude défensive* : l'une ploie et déploie ses bras, change de couleur, se tourne et se retourne : l'autre « a dressé deux bras en l'air et reste dans cette attitude combative. »

La respiration est haletante. Je compte 100 battements respiratoires le 22 octobre (Seiche petite), 82 et 87 le 23 octobre (Seiche moyenne). Les témoins en ont 58. Il y a donc une véritable accélération de la fonction. Sensibilité faible. Les mouvements saccadés durent un quart d'heure environ (10 à 20 minutes) ; puis l'animal se calme. L'activité motrice et sensitive sont diminuées. La Seiche ne s'enfuit plus quand on la touche. L'oppression est de plus en plus grande et les réactions au contact presque nulles.

A cette température de 26°, j'estime — sans en être certain expérimentalement — que l'animal finit par mourir au bout d'un temps plus ou moins long. C'est ce qui a eu lieu le 22 octobre avec une Seiche petite et dont l'eau n'avait pas été renouvelée. Mais, ayant été obligé, ce jour-là, d'abandonner mon expérience de bonne heure, je ne sais ce qui s'est passé en mon absence. Le non-renouvellement de l'eau introduit d'ailleurs une cause d'erreur dont il sera parlé dans un instant. Il m'a paru, dans mes recherches, que les animaux petits étaient plus fragiles, plus sensibles aux agents physiques que les gros animaux de la même espèce. Ceci s'explique assez bien rationnellement. Outre que la chaleur ou le froid atteignent plus difficilement les tissus profonds, en particulier, les ganglions nerveux des gros individus, ceux-ci disposent de moyens de défense plus puissants et plus efficaces que les petits, car leur corps et leurs organes varient comme le cube de leur dimension linéaire, alors que la surface d'attaque ne varie que comme le carré de ces dimensions.

L'expérience du 23 octobre a donné lieu à d'autres observations. La température était tombée à 23° pendant que j'étais allé

déjeuner, le gaz s'étant éteint. A mon retour, la Seiche, qui, à midi, était tombée au fond de sa cuve et ne réagissait plus guère, présentait un état plus actif. Elle avait repris son attitude offensive, tenait deux bras dressés et les autres déployés. En faisant l'épreuve de sa sensibilité, je trouvai une réaction très forte au contact, alors qu'à midi elle était presque nulle. Ainsi — et ce fait, je l'ai constaté bien des fois — un retour momentané vers les conditions normales permet à l'organisme de se ressaisir, de se préparer à une résistance plus efficace contre les actions pernicieuses et de survivre parfois là où, sans cette trêve, il aurait succombé. Je rétablis la température à 26° (2 h. 34). L'engourdissement reparait. Il est complet. La Seiche se laisse déplacer sans réagir. Deux des bras, pourtant, restent dressés. A 4 h. 05, l'inertie persiste. Il en est de même à 4 h. 35, 5 h. 25. Pourtant il y a de temps en temps quelques mouvements saccadés. « L'état mauvais s'accroît ». A 5 h. 45, encore des mouvements saccadés, puis l'agitation recommence. La Seiche se déplace continuellement. Il y a à ce moment une variation intéressante de l'activité, qui remonte brusquement. La respiration s'accélère : je compte 100 battements à la minute. « Depuis ce matin, j'ai changé l'eau de la cuve quatre fois : elle était toujours chargée d'excrétions, fort souillée. Je la change une cinquième fois. La Seiche paraît mieux. »

L'importance de ce renouvellement de l'eau de la cuve aux températures supérieures à la moyenne m'apparaît considérable. Il ne suffit pas de maintenir constante l'aération de l'eau où vivent des animaux en y faisant barboter un courant d'air, comme je l'ai toujours pratiqué. La Seiche émet d'autant plus de produits d'excrétion que le bain est plus chaud et ces produits d'autre part sont d'autant plus toxiques que la température est plus élevée. La même chose a lieu d'ailleurs pour les animaux aériens vivant dans un milieu confiné et chaud (1). Il importe donc beaucoup, pour étudier l'action de la chaleur seule, de changer souvent l'eau des animaux en expérience (cette eau étant, bien entendu, portée d'avance à la température voulue). On arrive à les faire vivre à un degré thermique où autrement ils succomberaient rapidement.

(1) H. HENRIET, Les causes et le mécanisme de l'altération de l'air confiné. *Revue générale des Sciences*, 30 juin 1907, p. 498.

Après le cinquième changement d'eau (6 h. 05), l'animal a l'air mieux portant ; il nage, ouvre et ferme les yeux. L'animation d'ailleurs continue. « L'inertie est bien moindre. La bête s'enfuit maintenant quand on l'approche ». A 6 h. 10, l'animal continue à être agité et à faire des mouvements assez violents quand on le touche. Il ne s'enfuit plus à l'approche. A 6 h. 40, la sensibilité redevient très faible. La Seiche se laisse de nouveau toucher sans réagir. Elle continue à ouvrir et à fermer les yeux. En un mot, il y a des oscillations bien marquées de l'activité et de la sensibilité. A 7 heures, remis à la température normale, l'animal reprend vie presque immédiatement.

Les variations du comportement sont très rapides aux températures élevées. Ceci m'oblige à donner, pour chaque température, des indications détaillées et à suivre pas à pas les degrés thermiques, au risque de quelques redites. Aux températures moyennes, au contraire, il n'y a pas de changements appréciables sur de larges intervalles.

A 28°, les Seiches meurent rapidement ; à 26°, il peut être possible, avec des précautions, de les maintenir vivantes une journée, au moins les adultes.

A 25° et 24°, les Seiches survivent toutes. L'agitation du début est très courte (une demi-minute), ou même fait complètement défaut. Après une période de calme où l'animal réagit bien au contact, on voit l'agitation commencer : brusques mouvements de recul, manteau fréquemment agité sur ses bords. Les bras sont dressés, prêts à l'attaque. La respiration s'accélère : je compte une fois (20 octobre, 24°) 94, une autre fois (21 octobre, 25°) 100. Le Céphalopode manifeste un véritable malaise et la respiration est *irrégulière*. Le 23 octobre (6 = 25°), je compte, à quelques minutes d'intervalle, 77 battements respiratoires à la minute, puis 121, puis 100. De temps à autre, la respiration s'arrête. Dans les heures suivantes, on observe une oscillation périodique de l'activité motrice et de la sensibilité : les phases d'agitation et de calme se succèdent fréquemment. Ainsi, le 24 octobre, pour température 24°, je relève dans mes observations les indications suivantes :

3 h. 50 : « Réagit faiblement quand on la touche. »

4 h. 05 : « Réagit assez bien quand on la touche. »

6 h. 08 : « Quelques périodes d'agitation, suivies de calme. »

D'ailleurs, l'animal est plus souvent agité que calme.

Le 21 octobre (température 25°), la température étant tombée de 4° entre midi et 2 h. 45, la Seiche, après changement d'eau et rétablissement du degré initial, présente plus d'animation que le matin : elle est agitée. Il y a aussi une recrudescence de la sensibilité : la Seiche réagit et s'enfuit dès qu'on l'approche. L'abaissement momentané de température a donc eu, ici encore, un effet salutaire. L'agitation persiste toute la journée. Vers le soir, la sensibilité déjà très bonne s'est encore accrue. L'activité est toujours grande. A 6 h. 35, « l'état général paraît excellent ». Il semble qu'il se soit produit une adaptation facilitée par le fléchissement thermique.

Température : 22° et 21° (Température normale, 16°05) :

Il y a encore une légère perturbation physiologique. Elle ne se produit pas tout de suite. Au bout de 5 heures environ, les fonctions se révèlent un peu atteintes. C'est l'extrême limite des températures nocives dans nos expériences (faites au mois d'octobre avec une température moyenne de l'eau pendant la journée de 16 à 17°). A 20°, les fonctions sont absolument normales.

Voici la synthèse de trois expériences, s'étendant chacune sur l'espace d'une journée :

Il n'y a plus qu'une légère agitation au début, au moment du passage de la température de 16°5 à celle de 21-22°. Mais un fait nouveau : la Seiche lance un ou deux jets d'encre. Elle se calme rapidement. A ce moment, l'animal se tient en relation sensorielle très en éveil avec le monde extérieur ; « je m'approche brusquement : troisième jet d'encre... l'animal nage violemment, puis se calme ». La Seiche ne cesse d'ailleurs pas d'être sur la défensive : deux de ses bras sont dressés. On voit bien avec les Céphalopodes la liaison qui existe, chez certains animaux, entre les fonctions de la vie végétative et celles de la vie de relation. D'ailleurs, tantôt la Seiche nage, tantôt elle reste immobile. Parfois des mouvements violents, « elle projette son corps trois fois en avant, puis en arrière. »

La respiration est fréquente : je compte, à 21°, 98 battements respiratoires.

Tout le reste de la journée, j'observe une alternative de périodes d'activité et de calme. A mesure que les heures s'écoulent, l'activité diminue. Dans les phases d'activité, les mouve-

ments deviennent moins forts, plus allongés, *puis, peu à peu, plus lents*. Ses bras restent en bas.

La sensibilité baisse également avec le temps. L'animal est indifférent à l'approche. Il n'est plus qu'en relation sensorielle lointaine avec le monde extérieur. Il arrive même parfois qu'il ne réagit plus quand on le touche. Cependant on constate, d'autres fois, des efforts pour fuir. Jusqu'au bout il y a des regains d'activité alternant avec des périodes de dépression. Dans deux des cas une adaptation a paru se produire à la longue. Pour confirmer le fait, il aurait fallu pouvoir prolonger l'expérience nuit et jour pendant quarante-huit heures au moins, en renouvelant l'eau fréquemment.

L'installation dont je disposais ne m'a pas permis d'établir la régulation automatique du chauffage et de la circulation d'eau.

Remarque. — Je mentionne ici en passant une expérience unique faite sur un Calmar (*Loligo vulgaris*) mis à 21° (température normale 14°). Le Calmar a été plus sensible que la Seiche à cette faible élévation de température. L'oppression était extrême : l'animal haletait. Un balancement continu agitait le corps du Calmar, tandis que ses nageoires battaient vivement. La sensibilité était excessive.

Au bout d'une heure, je constatai une amélioration sensible. « L'oppression paraît avoir disparu. Activité spontanée chez l'animal : il fait des bonds hors de sa cuve. La sensibilité est très vive. »

Quarante minutes après, le Calmar est plus calme, sa sensibilité amoindrie, l'oppression très forte.

L'expérience n'a pas pu être continuée, le Calmar ayant sauté hors de sa cuve en mon absence, entre midi et 1 h. 1/2.

Températures moyennes :

De 20° à 14° environ, il y a une large zone, qu'on peut appeler zone de température moyenne, où les Seiches vivent de leur vie normale. Je n'ai constaté aucune différence sensible dans leur manière d'agir entre ces limites.

L'animal ne présente pas d'agitation. Il est très calme, presque toujours immobile (en aquarium). Il se tient en relation sensorielle avec le monde extérieur. Il est agité à la seule approche

de l'observateur et s'enfuit parfois. Il s'enfuit toujours quand on le touche, généralement en jetant un flot d'encre.

La fréquence respiratoire est comprise entre 60 et 70 battements à la minute.

On constate fréquemment ici encore une oscillation de l'activité et de la sensibilité. J'indiquerai dans la seconde partie de ce Mémoire une explication possible de ce phénomène.

Basses températures.

Elles s'étendent de 12 à 7°.

De 12° à 10°. — 12°. D'abord un peu d'agitation. Nage rapidement. Puis l'animal se calme. Il prend une attitude défensive : deux bras relevés. L'une des Seiches se recroqueville de façon, sans doute, à offrir une surface moindre. Au bout d'un quart d'heure, l'activité motrice et les réactions à un contact deviennent faibles.

La fréquence respiratoire est diminuée : je compte 43 battements à la minute. L'état reste stationnaire un certain temps. La sensibilité est assez bonne. Au bout d'une heure environ, l'activité semble renaître un peu. Dix minutes plus tard : « Sensibilité bonne. L'état général est certainement meilleur qu'il y a une heure. Les réactions sont plus fortes. Des mouvements spontanés ont lieu, quoique rarement ». Il semble qu'il se soit fait une adaptation. L'état persiste ensuite immuable jusqu'au soir.

A 10°, les phénomènes sont les mêmes, un peu plus accentués : nage rapide au début, puis période d'affaissement ; au bout d'une heure, l'activité motrice et la sensibilité remontent et se maintiennent ensuite à un niveau qui paraît constant. 47 battements respiratoires.

9 à 7°. — A ces températures, les Seiches meurent. Elles résistent assez longtemps à 9° : l'une d'elles a résisté de 10 h. 40 à 7 heures du soir (la température était un peu remontée entre midi et 2 heures). A 7°, les animaux périssent rapidement. Je vais rapporter l'histoire des expériences que j'ai faites à ces températures. Ces expériences s'étendent du 17 au 23 octobre.

Le 17 octobre, je mets à 11 heures une Seiche dans un cristalliseur contenant de l'eau de mer à 8°. Elle venait d'un résér-

voir à 16°. La première minute et demie, les mouvements sont fréquents, elle nage à reculons. Puis elle demeure tranquille. Trois minutes après le début elle est inerte, et dix minutes après (11 h. 10) elle jette un flot d'encre et meurt. Seulement, je ne m'attendais pas à cette mort brusque et je mis un certain temps à me bien convaincre de sa réalité. Je l'attribuai à un accident. Le lendemain (18 octobre), je recommençai : je pris une nouvelle Seiche, petite, et je la mis à 6°. Même agitation dans les premiers instants : mouvements brusques ; changements de couleur fréquents, efforts de l'animal pour monter à la surface. Quatre minutes après, elle est morte : elle a la tête en bas, les bras préhensifs sortis et fixés au fond de la cuve, un peu d'encre dans l'entonnoir.

L'après-midi je fais encore une expérience : je place une Seiche dans un cristalliseur contenant de l'eau à 5°. Toujours les mêmes mouvements brusques, changements de couleur du manteau, qui passe du sombre au clair et inversement. Trois minutes après, elle lance un jet d'encre ou plutôt en laisse échapper un peu. Puis, presque aussitôt, immobilité et mort.

Il n'y avait donc pas à hésiter, les Seiches, aux environs de 7°, meurent brusquement.

Le lendemain, 19 octobre, je changeai un peu les conditions de l'expérience. Craignant que l'écart de température fût trop considérable et que la variation trop brusque qui en résultait pour l'animal fût la cause de sa mort, je le mis à 10° et je laissai la température s'abaisser lentement. A 10°, je le savais, les Seiches survivaient — au moins une journée. Quel effet allait produire un fléchissement progressif de la température ?

2 h. 50. $\theta = 10^\circ$: La Seiche nage. Elle ne jette pas d'encre. Les bords du manteau s'agitent normalement. Le manteau s'arrête et recommence à onduler. La Seiche nage toujours. Quelques mouvements saccadés. Elle ne cesse de nager.

$\theta = 8^\circ$: Mouvements brusques très fréquents. A mesure que la température baisse, l'agitation augmente.

$\theta = 7^\circ$: Un moment tranquille, puis un flot d'encre, et suffocation.

Ainsi, à 7° exactement, les Seiches meurent brusquement et, chose singulière, c'est toujours après avoir jeté un flot d'encre. A quoi est due cette mort ?

En disséquant l'animal, je m'aperçus que l'entonnoir demeurait plein d'un mélange d'encre et de mucus ou d'encre mucilagineuse qui se dissolvait très difficilement dans l'eau et adhérerait plus ou moins à la paroi interne. Je fis alors l'hypothèse que ce pouvait être ce liquide visqueux qui, obstruant l'entonnoir, provoquait la mort rapide de l'animal par asphyxie. Les premiers essais que je fis pour vérifier cette hypothèse parurent la confirmer.

Pour me rendre compte si la cause de la mort rapide de la Seiche était celle que je soupçonnais, je pris une nouvelle Seiche et je sectionnai son entonnoir, suivant une génératrice, dans toute sa longueur.

L'opération faite, je m'assurai que l'animal pouvait vivre dans ces conditions à la température normale. Si ce n'est qu'il se projetait difficilement en arrière, ses fonctions ne parurent nullement altérées.

A 3 h. 52, je mets la Seiche opérée à 8°. Elle nage, se projette difficilement en arrière.

A 3 h. 55, elle est presque immobile, sauf quelques mouvements du manteau: la tête plus bas que le corps.

Dix minutes plus tard, elle paraît morte.

Je la retire (4 h. 06) et la mets dans une cuve à température normale (17°). A l'inverse de ce qui s'était produit dans les expériences précédentes, elle reprend vie: les mouvements reparaissent, elle nage — la tête, toujours inclinée vers le bas, présente de nombreux changements de couleur.

A 4 h. 55, elle est bien vivante.

J'en profite pour la remettre à 8°. Après quelques mouvements prompts, elle reste immobile quelques instants. Bientôt de faibles mouvements commencent, puis ce sont des mouvements plus saccadés, en arrière, accompagnés de rapides changements de couleur du manteau. Assurément, ce sont les manifestations d'un état de malaise. Cette agitation est coupée parfois de petites phases de calme. La sensibilité est *extrêmement vive*, fait que j'ai déjà relevé dans les expériences précédentes, sur les Seiches aux basses températures. Un choc que je produis sur la cuve par inadvertance fait sursauter l'animal, qui s'élève vivement dans sa cuve. A la simple approche du thermomètre, il fuit rapidement.

5 h. 05 : L'activité baisse, la Seiche est immobile. L'inertie persiste. A un contact elle ne réagit pas d'abord, puis soudain, quelques secondes plus tard, deux mouvements violents, saccadés. C'est toujours ce retard de la réaction aux basses températures, maintes fois relevé.

Je laisse de côté les changements de couleur, de plus en plus fréquents, pour arriver à 5 h. 18. La température vient de tomber à 6°5. La Seiche lance un jet d'encre assez abondant.

Je la retire et la mets dans une cuve à 15°. De l'encre mucilagineuse s'échappe avec peine de l'entonnoir; je l'enlève à la main. Puis l'animal étant placé dans un nouveau cristalliseur à 17°, je dégage une seconde fois l'entonnoir complètement. Les battements respiratoires reprennent, le manteau, dont les bords étaient accolés au corps, se soulève, laissant voir les clapets latéraux (ou poches latérales de l'entonnoir). La vie reprend complètement une seconde fois.

Le 21 octobre, je voulus répéter l'expérience. Je mis une Seiche nouvelle à 8° et je laissai ensuite insensiblement la température baisser jusqu'à 7°. Comme toujours, agitation violente au début. La Seiche pique des têtes. Elle nage autour de sa cuve en avant et en arrière. Ses bras sont déployés. Puis viennent des mouvements violents, de rapides variations de teinte du manteau. Enfin l'animal rentre sa tête autant qu'il peut dans son manteau, jette de l'encre et commence à asphyxier. Je le retire rapidement et le porte à l'eau à 16°5. *J'opère l'entonnoir.* C'est déjà un peu tard. Je pratique alors la respiration artificielle : saisissant les bords du manteau près de l'ouverture palléale, j'effectue des mouvements rythmiques. Je ramène de cette façon l'animal à la vie en deux ou trois minutes. Au bout d'une demi-heure, il agite un bras et les bords du manteau rythmiquement. Bientôt après, il est revenu tout à fait à son état normal. C'est un exemple frappant de la réversibilité de l'action du froid opposée aux transformations profondes et durables produites par la chaleur.

La mort était-elle donc réellement due au mucus mêlé d'encre venant obstruer les orifices respiratoires ?

A 3 heures, je remets ma petite Seiche opérée à la température de 8°, bien décidé à laisser les choses aller jusqu'au bout sans intervenir. J'observe toujours les mêmes phénomènes,

qu'il est inutile de rappeler (agitation, nage à reculons, puis affaïssement de l'activité et de la sensibilité). Au bout d'un certain temps, la respiration devient difficile. La Seiche lance de l'encre qui s'échappe difficilement de son entonnoir. Je la laisse. Les mouvements respiratoires ont encore lieu, faibles.

A 3 h. 07, la sensibilité au contact est nulle. Un peu d'encre s'échappe de nouveau.

A 3 h. 26, la sensibilité et l'activité motrice sont nulles. Seuls, de très légers mouvements spasmodiques rythmiques des extrémités du bras et de légères variations de pigmentation au-dessus des yeux subsistent encore. La respiration semble abolie.

A 3 h. 45 (7^h 1/2) et à 3 h. 55 (7^h 1/2); il ne reste que des variations légères de la pigmentation au-dessus des yeux. Vit-elle encore ?

Entre 4 heures et 4 h. 55, je laisse lentement remonter la température à 8°, puis à 9°. Mais insensiblement la vie s'est éteinte.

A 5 h. 33, je tente un nouvel essai avec une Seiche opérée le 19 et restée bien vivante depuis. Je la mets à 8°. Agitation d'abord, puis inertie. Au bout de quelques minutes, elle redresse les bras et jette un flot d'encre. Je l'enlève, je la fais dégorger : elle reprend vie dans l'eau à la température normale.

A 5 h. 52, je la replonge dans l'eau à 8°5. Elle demeure tout de suite inerte, se laisse aller quand on l'agite. Les bras se rejoignent. Au bout de peu de temps, l'animal meurt, *cette fois sans jeter d'encre*. Ce n'était donc pas la cause supposée qui amenait la mort brusque. Celle-ci est due à une paralysie respiratoire déterminée par le froid : les fonctions de la vie de nutrition sont dans une dépendance beaucoup plus étroite de l'activité nerveuse chez les Céphalopodes que chez les Invertébrés que j'avais jusqu'ici étudiés.

Dans une nouvelle expérience, le 23 octobre, je m'efforçai de suivre pas à pas le progrès de cette paralysie respiratoire.

A 10 h. 40, je mets une Seiche, prise dans une cuve à 14°, dans un bain à 9°5. A 14°, elle avait 60 battements respiratoires à la minute. Une demi-heure plus tard, elle respire avec difficulté. Je compte 43 battements respiratoires. Ces mouvements respiratoires sont faibles et peu sensibles. De temps en temps, l'animal

est pris de malaise et fait des mouvements de recul. L'activité subit des oscillations. La sensibilité est bonne.

L'après-midi, à 2 h. 35, je recommence l'expérience avec le même animal (température, 9°5). Je trouve encore 43 battements respiratoires dans les premiers instants. Je constate bientôt (3 h. 38) des irrégularités dans la fonction respiratoire : elle se ralentit et faiblit au point de paraître par instant suspendue ; puis soudain elle s'accélère, tandis que l'animal fait un ou deux mouvements en arrière. Puis elle redevient excessivement lente. Je compte 34 battements, avec des intervalles de suspension.

La sensibilité subit, elle aussi, des variations : tantôt l'animal ne réagit pas à un contact, tantôt il réagit. D'ailleurs, à mesure que le temps s'écoule, le retard de la réaction à l'excitation augmente.

L'activité, elle aussi, oscille fortement : elle va de l'inertie à l'agitation. Ainsi, à 5 h. 50, je relève : « Agitation. Elle tourne à reculons autour de sa cuve. — Tête en bas. — Vifs mouvements ». De même à 6 h. 20 avec, en outre, « de vifs mouvements de recul quand on la touche. »

A 6 h. 40, inertie complète. En même temps, l'activité respiratoire a baissé, les mouvements sont lents et faibles. Je ne trouve plus que 27 battements respiratoires à la minute (Température maintenue entre 9°5 et 8°5). Puis toute activité fléchit de plus en plus.

A 7 heures, l'inertie est presque absolue. Je retire la Seiche et la mets à la température normale (14°). *Elle reprend vie quelques instants et meurt après.*

Ainsi à 9°, 9°5, quand l'action du froid s'est exercée au delà d'un certain laps de temps, les effets sur la Seiche demeurent irrémédiables, l'animal meurt, même s'il est ramené à la température normale.

TABLEAU DU NOMBRE DES BATTEMENTS RESPIRATOIRES DES SEICHES
EN FONCTION DE LA TEMPÉRATURE

Je donne dans le tableau suivant le relevé du nombre des battements respiratoires par minute, à chaque température. On verra que ce nombre diminue en même temps que la chaleur. Les irrégularités proviennent, en général, de l'abaissement de la tempéra-

ture des bassins où vit la Seiche, le jour de l'expérience. Elles peuvent avoir pour causes aussi des différences individuelles ou des oscillations physiologiques qui se superposent à l'action thermique. Mais, sur l'ensemble des nombres recueillis, on voit très bien l'allure du phénomène. Les nombres inscrits à la suite les uns des autres, sur une même ligne horizontale, se rapportent aux résultats trouvés sur un même animal, à différents instants de l'expérience. Ils se suivent dans l'ordre chronologique. Les nombres qui ne sont pas sur la même ligne horizontale indiquent ceux qui ont été relevés sur des animaux différents dans des expériences différentes.

Température : θ	Nombre de battements respiratoires par minute	Température normale de l'eau
28	(?) 72	17°
26	100	17°
	37 — 82 — 87 — 100	14° — 15°
25	99	16°
	77 — 121 — 100	16°5
24	94	17°
22	72 — 67	16°5
	98	16°5 — 17°
21	103 — 117 C'est une Seiche qui vient d'être tirée de 14°.	14°
20	74	17°
	77 — 80	17°
17	76	17°
	50 Animal malade : manteau déchiré.	17°
16	63 — 63	16°
	66	14°
14	69	14°
	58	14°
12	45	14° — 15°
10	47	17°
9	43 — 43 — 34	14° — 15°
8,5	27 puis décroît jusqu'à quelques battements, avec de grandes irrégularités — suspension, puis reprise momentanée assez rapide, jusqu'à ce qu'il y ait paralysie et mort.	14° — 15°

NEREILEPAS FURCATA

Ce sont des Annélides qui vivent habituellement dans les coquilles habitées par des Bernards. Elles sont commensales de ces Crustacés. Rarement elles quittent leur demeure, même lorsque l'on a arraché le Pagure de sa coquille. Pour les avoir, on est obligé, en général, de casser la coquille. Cependant, aux températures élevées, on les voit, inquiètes, sortir la tête, parfois même abandonner complètement leur tanière. La *Nereilepas furcata* suit avec une docilité et une régularité admirables les variations qu'on impose à la température. La met-on à 33 — 6°, elle contracte son corps, serre ses parapodes les uns contre les autres, s'immobilise.

Placée à 20°, le corps s'allonge ; l'animal sort de sa léthargie, se met à ramper en ondulant. Et les phénomènes recommencent aussitôt qu'on ramène l'organisme à basse ou à haute température.

C'est, d'ailleurs, une espèce très eurytherme.

A 31°, la *Nereilepas* vit. Son activité est bonne. Elle s'apprête toutefois à sortir de la coquille où elle se cache (c'est une coquille de Gastéropode quelconque habitée normalement par un Bernard). Comme j'essaie de la saisir, elle rentre avec une vivacité extrême. Elle reste plus d'une heure et demie ainsi. Au bout de quatre heures environ, la température a baissé jusqu'à 25°. La *Nereilepas* vit. Son activité est bonne. Elle sort de temps en temps la tête de la coquille où elle cache son corps.

A 30°, une *Nereilepas* a pu vivre toute une journée et rester en bon état de santé. La température avait même monté et était demeurée pendant trois quarts d'heure à 32°. Le soir, l'Annélide rampait avec agilité.

En suivant d'une façon continue pendant une journée le comportement de trois *Nereilepas* à 30°, on constate des différences individuelles ; certains individus supportent bien cette température ; d'autres semblent éprouver, après un temps assez long, un commencement de paralysie.

Voici le résumé des observations :

Au moment de la variation brusque de température (de 17

à 30°) : agitation violente. Deux minutes après, arrêt, immobilité.

Six à dix minutes plus tard et pendant plusieurs heures : Alternances de mouvements tantôt légers, tantôt violents, et de périodes d'arrêt. Les mouvements spontanés ou provoqués sont *rapides* et de *courte durée*.

Le corps des animaux est très allongé, les parapodes écartés.

La sensibilité reste bonne pendant de longues heures. Elle paraît même s'exagérer.

Longues périodes d'immobilité coupées de temps en temps par des mouvements spontanés. Au bout de 3 h. 15, l'activité spontanée est rare. Les mouvements provoqués par excitation sont d'une durée de plus en plus courte. Puis les différences individuelles s'accroissent. Tandis que l'activité de A est faible, C s'est complètement adapté à cette température de 30°.

25°. — L'activité est très bonne.

Aussitôt mis dans la cuve, l'animal s'étend de toute sa longueur et se met à ramper autour de sa demeure. Il essaie de grimper aux parois, mais n'y parvenant pas, il renonce bientôt à sa tentative et recommence à suivre assez activement le pourtour du fond. J'ai été témoin pendant cette expérience d'un phénomène assez frappant, qui montre bien l'indépendance relative d'action des diverses parties du corps de la Nereilepas. A 4 h. 10, la petite Annélide a voulu pénétrer dans la coquille d'un Bernard A qui vivait dans le même cristalliseur qu'elle, à 25°. A se défend furieusement contre l'envahisseur. Il saisit la Néréide avec une de ses pinces et la tient ainsi éloignée de lui un certain temps. L'Annélide, aussitôt libre, cherche de nouveau à pénétrer et le Bernard recommence. Enfin il déchire un segment de la queue qu'il tient dans sa pince gauche, tandis que, de son autre pince et de toutes ses pattes, il s'efforce de retenir, d'arracher l'autre partie de la bête qui s'insinue. On ne voit plus la Néréide, immobilisée sous sa coquille.

4 h. 30' : A a eu le dessus. La Nereilepas a été brisée en trois tronçons qui sont jetés de côté. Celui de la tête cherche encore, avec une ténacité incroyable, irrésistible, à s'introduire dans la coquille du Bernard.

A 4 h. 35, le tronçon antérieur de la Nereilepas s'est bel et bien introduit dans la coquille, non pas de A, en éveil et sur la

défensive, mais d'un autre Bernard B qui, assez engourdi et rentré lui-même dans sa coquille, s'est laissé faire. Le parasite semble d'ailleurs réveiller un peu B.

L'Annélide a une tendance à se tenir dans la concavité des objets solides ronds, à s'appuyer sur eux sans vouloir les quitter, quelle que soit l'orientation de ces objets.

Ainsi, j'avais placé une *Nereilepas* dans un tout petit cristalliseur de 6 centimètres de diamètre environ : elle rampe avec agilité sur le fond en décrivant la ligne du périmètre. Parfois elle s'arrête, puis plus tard reprend sa marche. Quand on essaie de la sortir de là, sous l'eau d'une cuve, elle résiste, s'efforce de rester collée au fond de la petite capsule de verre comme à une coquille. Pourtant celle-ci est transparente ; il semble donc que l'animal soit guidé uniquement par la sensation continue du contact d'un corps solide et par celle de courbure concave.

5 h. 08 : « Je plonge la petite cuvette de verre dans un grand bocal, en la tenant *verticale*. J'espère ainsi amener l'Annélide à quitter spontanément son abri. Il n'en est rien. La *Nereilepas* tourne autour du fond de la petite capsule de verre verticale, en suivant la circonférence du fond, mais ne passe pas dans le grand vase.

» Un instant la tête quitte le fond et s'approche du bord de la capsule, mais bien vite l'animal reprend sa position première. Il agite ses parapodes.

5 h. 15 : » L'Annélide forme toujours une demi-circonférence sur le fond du petit cristalliseur. Tantôt elle s'arrête, tantôt elle rampe très activement.

5 h. 16 : » Elle s'est retournée tête contre queue et a changé son sens de rotation. Elle décrit des circonférences verticales continuellement. Activité très bonne. »

Elle continue ainsi à ramper : le corps est parcouru par des ondes d'élargissement qui se propagent d'avant en arrière. Les parapodes sont écartés et s'agitent. Parfois, tout le corps ondule.

La sensibilité est très fine. Le léger contact d'un porte-plume en bois provoque un brusque mouvement de recul.

9 = 3°. — « A 5 h. 40, je plonge la *Nereilepas* avec sa capsule dans l'eau à 3°. Elle a reculé. Elle s'est beaucoup raccourcie : d'un peu plus d'une demi-circonférence qu'elle occupait, elle n'a plus

que la longueur d'un tiers de circonférence. Agitation violente. Elle sort de son petit cristalliseur et se tord en tous sens. Le dos est en bas: elle s'agite toujours.

5 h. 42. $\theta = 3^{\circ}$: Toujours des mouvements de contorsion de tout le corps. Elle est toujours renversée, le ventre tourné vers le haut, la tête plus basse que la queue. Dans les minutes suivantes, l'activité fléchit rapidement. A 5 h. 56, elle est tombée presque à zéro. A 6 h. 17, je fais l'épreuve de la sensibilité, je touche la Néréide avec un porte-plume en bois: aucune réaction. Je la touche plus fort (plus fort qu'à $18^{\circ} 1/2$). Absolument rien. La sensibilité est nulle ou peu s'en faut.

A 6 h. 20, activité nulle; sensibilité presque nulle.

A 6 h. 23, je fais la contre-épreuve: je retire la Nereilepas du bain à 3° et je la plonge dans un cristalliseur contenant de l'eau à 18° .

Tout d'abord, aucun mouvement: elle reste inerte.

A 6 h. 28, faibles mouvements de la queue; ensuite, immobilité. Puis, peu à peu, de 6 h. 30 à 6 h. 40, l'activité reparait progressivement: d'abord par des mouvements de la queue, puis par des contorsions de tout le corps, d'abord lents, puis vifs et accompagnés de contractions; enfin des déplacements. Le tout coupé de phases d'immobilité.

A 6 h. 43, l'état normal reparait tout à fait.

Le soir, à 9 h. 40. à 17, je trouve la Néréide en très bon état. Elle est très agile, rampe rapidement sur le fond. Son corps est très étendu. La sensibilité est extrêmement forte. A peine la touche-t-on qu'elle fait un mouvement de fuite.

La réversibilité des effets de froid est complète.

Basses températures:

9° : 28 octobre. Mise à 9° , la Nereilepas rampe d'abord lentement, avec une tendance à raccourcir son corps le plus possible, à le recroqueviller. Au bout de vingt-cinq minutes, elle essaye d'entrer dans la coquille d'un Bernard qui se trouve là et qui la laisse faire. Mais je l'en empêche pour continuer à l'observer. Elle reste assez inerte, remuant vaguement et rampant très peu. A 5 h. 35, je ne vois plus l'animal. Il a réussi à se glisser dans la coquille du Bernard qui se trouvait là.

6 octobre, 6° : Au moment du passage à cette température.

l'Annélide se contracte et serre ses parapodes les uns contre les autres. Au bout de quelques minutes, les mouvements cessent.

6 octobre. A 3°3, la Nereilepas est absolument inerte. La sensibilité est nulle comme l'activité : elle ne réagit pas à des contacts répétés.

Nota. — La réversibilité de l'action du froid est parfaite : l'animal, remis à 20°, récupère presque aussitôt l'état normal de ses fonctions de relation.

ARÉNICOLES DES PÊCHEURS (*Arenicola piscatorum*)

Ces Polychètes vivent normalement dans le sable vaseux. Comme il est impossible de les observer dans ce milieu, c'est-à-dire dans leurs conditions ordinaires d'existence, j'ai procédé avec eux comme avec les autres animaux marins : en les plaçant dans un cristalliseur contenant de l'eau de mer. Mais en grande eau, ces animaux ne paraissent pas survivre indéfiniment. Je ne puis donc indiquer quelle est la température mortelle pour ces Vers, car ils meurent à toute température, à la longue. Tout ce que je puis dire, c'est qu'à 34°-32°, toutes les Arénicoles périssent en moins de trois heures et demie, tandis qu'à 26° ces animaux, au bout de dix-huit heures, étaient en mauvais état ou morts. Il en était d'ailleurs de même des témoins placés à une température de 19-20°.

Hautes températures :

34° : Agitation au moment de la brusque variation thermique.

Puis, 40 minutes après environ, l'activité motrice et la sensibilité diminuent.

2 h. 30 après le début de l'expérience, ces fonctions sont presque totalement nulles.

Plus tard, les animaux sont flasques. Inertie complète, insensibilité absolue.

Enfin, mort.

A ce moment, *les témoins* sont très remuants et leur sensibilité demeure excellente.

A 32°, ce sont sensiblement les mêmes apparences : agitation initiale suivie d'une baisse de l'activité. Pourtant, de lents mou-

vements réguliers persistent plusieurs heures. La sensibilité, qui s'était maintenue assez bonne, est déjà en baisse après une heure. Mais elle paraît subir des oscillations, car un quart d'heure plus tard elle a remonté et je la trouve sensiblement égale à celle des témoins.

Au bout de 3 h. 30, les Arénicoles sont mortes ou sur le point de mourir.

A 28-29^e commence un second stade du comportement : l'Arénicole, après avoir présenté une phase d'agitation au début, pendant laquelle le corps se tord en tous sens et la trompe sort et rentre constamment, suivie d'une phase de ralentissement des fonctions, commence au bout d'une demi-heure à s'adapter au milieu.

Après une heure, l'adaptation est complète. L'état est bon, les mouvements fréquents, la sensibilité excellente. Cet état persiste pendant les heures suivantes.

Le 13 octobre, trois Arénicoles ont été maintenues pendant 18 heures de suite à la température de 26°. Les observations sont très longues et d'ailleurs se répètent. J'en indique les traits principaux. Le choc d'entrée est particulièrement violent pour l'une d'elles A, qui fait six fois le tour de la cuve en se tordant, dans l'espace d'une demi-minute. Puis un peu de calme survient cinq minutes après. Ensuite, les mouvements reprennent et se continuent, avec des alternatives diverses pendant de longues heures. Ce sont tantôt des oscillations rythmiques de l'avant ou de l'arrière-train du corps, tantôt des déplacements.

Ce qui a été particulièrement frappant dans cette expérience, ce sont les variations oscillatoires de l'activité et de la sensibilité. Des notes prises sur le vif, je détache le passage suivant :

« 3 h. 35 : Les Arénicoles remuent d'une façon assez régulière, pas plus vite que les témoins.

» 3 h. 45 : L'une des Arénicoles, A, vient de faire de véritables sauts dans l'eau. Elle a bondi et s'est tordue six ou sept fois sur elle-même. Maintenant elle continue à se déplacer.

» 3 h. 55 : Elle recommence ses bonds, traçant dans l'eau des courbes, des volutes perpétuelles et se tordant et se déplaçant constamment. Les autres, tout en remuant, restent à la même place. A n'y reste pas deux minutes.

» 4 heures : A reste un peu tranquille.

» B qui s'était tenue calme jusqu'ici commence à se tortiller comme A; elle fait les mêmes mouvements, moins violents.

» 4 h. 15 : Les trois Arénicoles sont calmes. Elles remuent doucement et assez régulièrement en restant à la même place.

» 4 h. 50 : A et B se déplacent toujours, quoique moins activement. Elles se tordent doucement ensemble, presque synchrones.

» 5 heures : B recommence à se tordre activement.

» A fait de nouveau des mouvements, quoique moins vifs que B. — Elles sont séparées. C s'agite aussi, mais plus lentement, à peu près comme les témoins.

» 5 h. 30 : Toutes les trois remuent doucement et régulièrement. *Toute activité de surcroît est tombée.* »

Ensuite viennent des mouvements lents et réguliers du corps, accompagnés de torsions.

Puis l'activité tombe chez les trois Arénicoles. elle est notablement inférieure à celle des témoins.

La sensibilité est faible chez A et B, surtout chez A. Elle est bonne chez C.

Au bout de dix-huit heures (lendemain matin à 8 h. 30) C est morte; les deux autres sont engourdies et en mauvais état, mais vivantes (A et B ne sont mortes que vers 5 heures du soir dans la cuve à 24° où je les avais mises. Leur survie à 26-24° en pleine eau, a donc été de vingt-six heures.)

A 24°, ce sont les mêmes phénomènes.

Agitation au début (un peu moins forte qu'à 26°) qui se fonde en une activité assez forte. Celle-ci, à son tour, diminue insensiblement en se rapprochant lentement de la normale, *mais restant supérieure.*

La sensibilité est, en général, très forte. Elle présente toutefois des oscillations, passant de la presque inertie à l'hypersensibilité (celle des témoins est plus constante). Durant toute la durée de l'expérience, je constate des oscillations de l'activité motrice et de la sensibilité, les variations de ces deux fonctions étant d'ailleurs indépendantes l'une de l'autre.

L'état d'activité semble, au bout de sept à huit heures, demeurer stationnaire. Il est assez bon.

Températures moyennes : 20 à 15° :

Le bon état persiste jusqu'à la fin des expériences. Les mouvements sont fréquents, entrecoupés de poses. Tantôt l'animal remue doucement et rythmiquement ou bien se déplace lentement ; tantôt il fait de vifs mouvements, se tord, s'agite, en proie à une véritable surexcitation ; tantôt enfin, il demeure pendant un temps immobile. En un mot, l'activité présente des variations dans le temps. La sensibilité est bonne, l'animal réagit vivement à un contact. Cette fonction présente aussi des oscillations, mais bien plus légères que l'activité.

L'une des Arénicoles est morte après dix-huit heures et demie de séjour dans l'eau (cause : ?).

Basses températures :

A 5°, les mouvements sont très ralentis ; la sensibilité au contact presque nulle.

SIPONCLES (*Siponculus nudus*)

Je n'ai fait que peu d'observations sur ces Géphyriens. Je les donne à titre d'indications générales.

Températures élevées :

$\theta = 26^\circ$. C'est d'abord, comme toujours, l'agitation initiale causée par la brusque variation thermique (animaux pris à 18°). Puis les animaux se calment. Leurs mouvements sont lents, mais continuels : ce sont des torsions très prolongées, des projections et rétractions de la trompe.

L'un des Siponcles A a une activité bien supérieure à l'autre B qui reste dans la première heure (sauf au début) presque immobile. Plus tard pourtant (après une heure et demie) B reprend de l'activité ; il s'enroule sur lui-même, arrive même à se nouer ; il se dénoue une minute plus tard. Ensuite A et B ont la même activité : ils sont très calmes, mais en très bon état et semblent s'être adaptés. A 6 heures, la température ayant fléchi de deux degrés, je la remonte à 25° d'abord, puis à 26° . Ce léger exhaussement de température fait remonter aussi l'activité des deux

Siponcles. A 6 h. 40, « les mouvements ont repris, sans agitation, mais fréquents et réguliers ». L'activité est à présent plus grande que chez les témoins.

En résumé, les Siponcles supportent bien la température de 26°. Mais leur activité générale est moindre que celle des témoins.

Températures moyennes :

$\theta = 17^\circ$. De lents mouvements presque continuels. Le trait saillant du comportement à cette température est une *alternance très marquée de périodes d'agitation et de calme relatif*. Ainsi, à 3 h. 08, un des témoins s'agite démesurément, fait des courbes continues en se tordant tout autour de la cuve. Cela dure deux minutes et demie. Puis le calme survient. Il dure jusqu'à 3 h. 50. A ce moment, nombreux mouvements. A 4 h. 23, l'un des Siponcles remue lentement, tandis que l'autre recommence ses torsions et ses sauts à travers la cuve. Puis il se calme. A 4 h. 43, nouvelle agitation violente du même. Plus tard, les mouvements deviennent plus rares.

Au soir tombant, au moment où j'allume le gaz, je constate une action excitatrice de la lumière, au moins momentanée (sensibilité différentielle).

Basses températures :

$\theta = 10^\circ$. Contraction au début. L'animal tombe dans un état d'engourdissement de plus en plus profond : l'un des Siponcles tire encore à demi sa trompe, très lentement, l'autre est immobile.

Au bout de une heure environ, les deux individus sont inertes : la trompe elle-même ne remue plus. La sensibilité est nulle (l'animal ne réagit à aucune excitation). Un des Siponcles est retiré de la cuve à 10° et mis dans l'eau à 17°. Ses fonctions reparaissent presque instantanément. L'autre est laissé dans l'eau froide jusqu'au lendemain matin. Il est inerte, mais vit encore. Il y a une réversibilité complète de l'action du froid (10°).

MOLLUSQUES

J'ai fait, pendant le dernier tiers d'octobre, un certain nombre d'observations sur le comportement de quelques Mollusques

marins à diverses températures. Les observations ont porté : sur un Gastéropode commun à Arcachon : *Haminea navicula* (Fischer) et sur deux Lamellibranches : *Cardium Edule* et *Pectonculus Glycimeris*. Les réactions de ces êtres sont simples, peu variées. Elles ne laissent voir que les grandes lignes des actions physiologiques. C'est à la fois un avantage et un inconvénient.

HAMINEA NAVICULA (*Bullidae*)

$\theta = 28^{\circ}$ et $\theta = 25^{\circ}$. Fortes contorsions au moment du choc thermique (température normale, 16°) ; les animaux tordent leur corps à droite et à gauche : l'un en arrive à rouler sur lui-même en se tordant.

Cinq à sept minutes après, les mouvements cessent.

Les *Haminea* sont tout à fait immobiles à 28° ; ils remuent encore très lentement à 25° .

La période suivante (un quart d'heure à une demi-heure après le début) est calme : les animaux, lentement, ploient et déploient leur corps. La sensibilité au contact est assez bonne.

Puis, l'activité spontanée et la sensibilité remontent à un degré plus élevé. L'état est très bon. Les *Haminea* se tournent, se déplacent : elles laissent à ce moment échapper force mucus.

Une phase d'immobilité succède à cette période d'action et, pendant les heures qui suivent, il y aura une sorte de balancement de l'activité, une alternance d'immobilité et de mouvements. Avec le temps, cependant, les mouvements deviennent de plus en plus lents. La sensibilité se révèle amoindrie : les réactions au contact sont très faibles ou nulles.

J'ai même constaté, le 25 octobre, à 25° , un état des animaux plus mauvais d'apparence que celui des *Haminea* placés la veille à 28° . Ainsi, à 25° , au bout de 3 heures à 3 h. 1/2, je trouve les animaux, recroquevillés, immobiles, un peu durs au toucher. Il est vrai que, la veille, les Mollusques avaient traversé une période analogue : mais l'expérience avait été poussée plus longtemps et vers la fin (au bout de 6 h. 1/4) la sensibilité était redevenue presque moyenne : les *Haminea* réagissaient au contact, pourvu qu'il fût répété (deux fois, parfois trois fois). Remises à 16° , les *Haminea* remuent lentement (au bout de cinq

minutes). La sensibilité revient : un seul contact suffit à les faire réagir. L'activité spontanée reparait aussi.

A 21°, ce sont encore les mêmes apparences, mais plus atténuées : ainsi la période d'excitation du début, précédant la phase de calme, dure quarante minutes au lieu de cinq.

Températures moyennes : 15 à 17°.

Les Haminea, en général, demeurent immobiles : parfois de lents mouvements. Ces êtres sont peu actifs. La sensibilité mesurée par la réaction au contact est assez faible. Le 25 octobre, à 3 h. 53, j'ai observé sur six Haminea une variation assez notable de l'activité et de la sensibilité : toutes deux ont augmenté. A ce moment, la mer était pleine. Y a-t-il quelque rapport ? Il faudrait faire des observations systématiques sur ce point.

Basses températures :

12°. -- Mouvements très lents. Les animaux ploient lentement leur disque céphalique et restent *longtemps* tordus de côté.

Les réactions au contact sont très faibles et présentent un retard.

L'état ordinaire est l'immobilité, l'engourdissement.

A 8°, la sensibilité est à peu près nulle. Après vingt minutes, le disque céphalique et le corps tout entier se recroquevillent ; l'animal se roule en boule. L'immobilité absolue n'a pas lieu un seul quart d'heure : des mouvements infiniment faibles et lents persistent. Un instant, après deux heures d'expérience, les mouvements s'accroissent chez l'une des Haminea. Elle se tord et se renverse. Puis, à partir de ce moment, c'est l'immobilité à peu près totale.

A 2°, immobilité absolue. « Toute activité spontanée est abolie. La sensibilité au contact n'est pas absolument morte. Quand je touche les Haminea deux ou trois fois de suite (contact assez fort), elles se recroquevillent légèrement ».

Remises dans une cuve à 16°, « les Haminea, au bout de deux à trois minutes, remuent, s'étendent, se retournent. » Un seul léger contact suffit à les faire réagir.

En un mot, il y a réversibilité parfaite de l'action du froid.

CARDIUM EDULE

28°. — Restent fermés dix minutes. Puis s'ouvrent un peu et continuent à s'ouvrir avec une extrême lenteur. Au bout de 3 h. 1/2, l'un des individus est très ouvert, l'autre fermé.

Ensuite, les Cardiums présentent des alternatives d'ouverture et de fermeture, qui s'accomplissent d'ailleurs avec des mouvements très lents. La sensibilité est bonne.

A 25°, les animaux s'ouvrent lentement; leur sensibilité et leur activité restent bonnes plusieurs heures, puis ils tombent dans un état d'engourdissement qui est, en somme, leur état normal aux températures moyennes.

Températures moyennes : 15 à 17°.

Les animaux s'ouvrent plus ou moins largement et restent immobiles dans un état d'épanouissement. Le siphon est sorti. À un contact ils réagissent en se fermant.

En somme, aux températures moyennes, l'activité et la sensibilité sont faibles.

Températures inférieures :

9 - 8° : Demeurent strictement fermés tout le temps.

9 - 2° : Demeurent strictement fermés tout le temps.

Replacés à 16°, les Cardiums commencent à s'ouvrir au bout de deux à trois minutes. Leurs réactions sont bonnes : un léger contact les fait fermer.

PECTONCULUS GLYCIMERIS

9 - 28° : Reste longtemps fermé (plus d'une heure). Au bout de 3 heures, s'ouvre légèrement. Puis se referme et reste ainsi tout le reste du temps.

En somme, il demeure presque constamment fermé.

A 25°, il s'ouvre très lentement, continue et reste ouvert. La sensibilité est bonne (se referme après un seul contact).

Si l'on fait monter la température de 1 ou 2°, il se referme strictement (mécanisme de défense). Remis à 25°, il s'ouvre de

nouveau après un temps assez long. Au bout de 7 h. 1/4 d'expérience, il vit et réagit bien.

16°. — Les *Pectonculus* sont entr'ouverts et restent immobiles dans cet état.

ASTERIAS RUBENS

A 21°, l'Étoile de Mer grimpe très rapidement le long de la paroi et se rapproche de la surface. Ses ambulacres sont agités de mouvements continuels. Sensibilité bonne. Plus tard (au bout de 5 heures à 5 h. 1/2), l'activité devient moindre : les ambulacres ne remuent plus tous, comme le matin ; beaucoup sont au repos.

Aux températures voisines de 15°, l'Astérie grimpe encore le long de la paroi. Elle réagit bien au contact. Son activité reste très bonne pendant toute la durée de l'expérience et sa sensibilité aussi.

Dans une eau un peu plus froide, à 12°, le comportement a déjà beaucoup changé : l'Astérie, tout à l'heure si vive, à température normale (15° à 16°), demeure au fond, lève très lentement un de ses bras contre la paroi du cristalliseur et reste ainsi.

Elle réagit un peu au contact.

Le froid la plonge dans une sorte d'engourdissement : elle reste au fond de la cuve.

Au bout de 6 heures, elle est recroquevillée.

Pendant tout ce temps, elle ne cesse jamais de réagir au contact, mais lentement, lentement. Elle est bien portante à la fin de l'expérience.

DEUXIEME PARTIE

Dans la première partie de ce mémoire, prenant une à une les diverses espèces animales observées, j'ai décrit, à chaque température, leur comportement. Les variations qu'éprouve l'activité motrice des animaux, et leur sensibilité à mesure que changent les conditions thermiques ont ainsi apparu avec clarté.

On a dû être frappé, à la seule lecture des observations rapportées, de la fréquence singulière de certains faits. On les retrouve chez les Annélides et les Céphalopodes, les Anémones et les Pagures, les Gastéropodes et les Echinodermes. Ces faits généraux doivent avoir une valeur biologique particulière. Je veux à présent les mettre en lumière. En les énonçant, je rappellerai, pour les appuyer et les préciser, quelques-uns des cas où ils ont été relevés.

Cette seconde partie est, comme la première, basée sur des faits. Je ne m'abstiendrai pas pourtant d'en proposer parfois une interprétation. Un travail scientifique est-il complet si l'auteur se borne à relater des phénomènes isolés, sans chercher à les rattacher entre eux ou à d'autres faits ?

I. — Au premier plan et en pleine lumière, s'imposant à l'attention par sa constance et sa régularité, se détache un phénomène toujours présent dans nos expériences et qu'on n'a pu manquer de remarquer en lisant ce mémoire. Je veux parler de l'oscillation dans le temps de la sensibilité et de l'activité motrice des animaux. Bien que ce phénomène rende les êtres vivants difficilement comparables à eux-mêmes, on ne peut songer à l'éliminer : il constitue une des principales différences entre la Biologie et la Physique. Il semble que la vie soit un phénomène périodique, s'exprimant par une fonction alternativement croissante et décroissante.

Et si l'on songe que les fonctions organiques comme la respiration, la circulation, la digestion sont elles-mêmes des phéno-

mènes périodiques, on ne s'étonnera pas que l'activité de relation, qui s'est greffée sur les premières et en forme comme le prolongement et l'auxiliaire, renferme aussi en elle ce caractère rythmique. Dans la vie active et sensible des êtres supérieurs, des Mammifères par exemple, et plus encore des Reptiles, ce caractère particulier se retrouve. Chez l'homme, c'est un rythme nyctéméral, le repos de la nuit succédant à l'activité du jour. Pour beaucoup de peuples même, le rythme est plus fréquent : l'activité journalière est coupée par une ou plusieurs siestes. L'attention présente à un plus haut degré encore ce caractère oscillant : elle est sujette à des fluctuations perpétuelles, elle est essentiellement discontinue, coupée de phases de repos ; elle s'évanouit et renaît. Chez les chiens et les chats domestiques, chez les fauves à l'état sauvage, l'activité va aussi par bonds : le museau entre les pattes, ils dorment quelques heures, puis s'en vont rôder, quêrir leur nourriture, et recommencent leur somme. Au bord des fleuves, les Sauriens mènent une vie paresseuse, de temps à autre interrompue par la chasse.

On peut se demander si l'oscillation de l'activité motrice et sensitive observée chez les Invertébrés n'est pas due, elle aussi, à des périodes de repos ou de sommeil qui viennent, à des intervalles assez courts, interrompre la série des manifestations de la vie de relation. Elles seraient occasionnées par l'épuisement rapide des réserves contenues dans les centres nerveux. Ces réserves, en quantité très faible, auraient besoin d'être reconstituées. Ou bien encore, l'oxydation, lente et minime chez les animaux à sang froid, les Invertébrés marins surtout, ne permettrait pas un emploi intensif, une utilisation continue et prolongée des matériaux dont les transformations chimiques sont la source de l'activité nerveuse et musculaire. On n'a guère étudié jusqu'ici la question du sommeil des Invertébrés. Peut-on même parler d'un véritable sommeil pour ces êtres ? Le sommeil est caractérisé par la rupture des relations normales qui existent entre les fonctions sensitives et motrices et la vie supérieure de l'esprit, le monde des associations psychologiques, par un dérangement aussi du mode ordinaire d'organisation de nos pensées. Le sommeil proprement dit, au sens où nous l'entendons d'habitude, suppose donc un véritable cerveau, pourvu de sphères d'association, ou de centres de fonctions qui en tiennent lieu. Il

n'existe sans doute que chez les Vertébrés, peut-être même chez les Vertébrés supérieurs seulement. Mais chez ceux-ci eux-mêmes, quelque chose peut nous donner une image de l'état où se trouvent les Invertébrés pendant les périodes de pseudo-sommeil dont nous parlons. Pendant que nous dormons, tandis que l'esprit, coupé du monde extérieur, s'assoupit ou divague, les centres sensitifs et moteurs corticaux, les noyaux gris de la substructure du cerveau, ceux de la moelle, les ganglions nerveux divers se reposent eux aussi. Le seuil de leur sensibilité se trouve exhaussé ; leur activité est amoindrie. Pourtant ils ne sont pas clos au monde extérieur ; ils conservent des relations avec lui. Si une excitation assez forte vient les assaillir, elle est ressentie ; une attitude pénible des membres, une sensation douloureuse ou très forte est perçue dans le sommeil : la position du corps est modifiée d'une façon réflexe. Les centres ne sont donc, durant la période de repos, ni totalement inertes, ni absolument insensibles. Ressemblance frappante avec l'état observé chez les Invertébrés pendant les phases d'engourdissement où ils tombent périodiquement. Leur activité n'est pas nulle, mais elle est difficile à mettre en branle ; leur sensibilité n'est pas éteinte, mais son seuil est très élevé.

Quoi qu'il en soit, l'existence d'un état somnoïdal (inertie, torpeur, vie ralentie), à phases courtes et fréquentes, explique seule les singulières variations observées sur tous les animaux, à toutes les températures. Je me borne à rappeler ces Seiches qui, à 10° (20 octobre), à 23° (23 octobre), à 14°, après être tombées quelque temps dans un état d'engourdissement complet, au point de « se laisser déplacer sans réagir », se mettent à nager spontanément, à s'enfuir à l'approche de l'observateur et présentent une sensibilité très fine. Et plus singulière encore est la conduite des Bernards. En voici deux (29 octobre) qui à 6° sont dans un état d'activité amoindrie. A 11 h. 37, « l'un des Bernards semble reprendre un peu d'activité. Il se met à marcher, fait plusieurs fois la traversée de sa cuve et redevient peureux au moindre choc. L'autre, également, paraît moins inerte que tantôt ». Dans les heures suivantes, l'un reste beaucoup plus actif que l'autre. Ce dernier est insensible : il ne remue même plus quand on le touche. Mais voici que les choses changent : à 5 heures (6 = 3°) « le plus inerte des deux est à présent le

plus actif. Mis sur le dos, il a réussi à se retourner seul et il remue les pattes. L'autre est immobile, inerte à son tour. A 3 h. 30 ($\theta = 2^{\circ} 1/2$), le Bernard le moins vivant durant tout le jour est resté actif et sensitif, réagissant (bien que faiblement) au contact et capable de se remettre seul sur ses pattes, ce que l'autre ne peut plus faire depuis longtemps. Ainsi, une longue période de repos a rendu ce Bernard plus capable de réagir contre l'action paralysante du froid qui augmente, alors que celui qui longtemps était resté actif, tombe dans un engourdissement profond.

Le 30 octobre, même phénomène, plus extraordinaire encore. A 3 h. 10, la température venant de tomber doucement à 6° , « je remarque une recrudescence d'activité chez les Bernards. L'un surtout, *celui qui était au début le moins actif des deux*, fait plusieurs fois le tour de sa cuve, s'accroche au thermomètre et se remet rapidement sur ses pattes quand on le place sur le dos. Les mouvements de l'autre sont plus lents. »

Et c'est la même chose aux températures élevées.

A 27° , je mets trois Bernards A, B, C sur le dos à 3 h. 45. Les deux premiers se relèvent dans l'intervalle d'un quart d'heure. C reste ainsi jusqu'à 4 h. 30. A 5 h. 05, je mets C sur le dos. Cette fois, il se remet presque aussitôt sur ses pattes; B également. A reste cette fois bien plus longtemps : demi-heure.

Le 25 octobre, à 4 h. 40 ($\theta = 8^{\circ}$) les mouvements s'accroissent, au moins chez l'une des Haminea. Elle se tord et se renverse sur le ventre. A 5 h. 33, les animaux paraissent immobiles ou à peu près.

Les témoins (à 16°) sont assez immobiles à 3 h. 20.

A 5 h. 33, ils paraissent reprendre de l'activité. Leur sensibilité semble meilleure aussi. Il est vrai qu'à ce moment la mer est pleine et que l'influence du rythme des marées peut se faire sentir.

Mais il y a autre chose dans ces variations de la sensibilité et de l'activité, car elles surgissent parfois avec une grande intensité et une grande rapidité d'alternance. Dans ce cas, des sensations internes interviennent sans doute.

II. — Tandis que chez certaines espèces il y a une véritable séparation, une indépendance à peu près complète des fonctions de la vie végétative et de celles de la vie de relation, chez d'autres

animaux, au contraire (les Seiches dans nos expériences), la liaison entre les deux ordres de phénomènes est des plus étroites. Le froid, on l'a vu, suspend plus ou moins rapidement et complètement l'activité motrice et la sensibilité des êtres. Les Anémones, les Nereïdepas, les Pagures, les Siponcles, les Aréni-coles et aussi les Gastéropodes et les Lamellibranches, à une température plus ou moins basse, comprise en général entre 10 et 2°, s'engourdisent, deviennent inertes et insensibles. Pendant qu'ils sont dans cet état, les fonctions de la vie de nutrition (respiration, circulation...) continuent à s'effectuer, soit lentement, soit presque normalement, mais toujours avec une intensité suffisante pour que l'animal continue à vivre.

Ainsi, le 16 octobre, je mets un Siponcle à la température de 10°. Quelques minutes après, il est inerte. Il paraît tout à fait mort. On peut le déplacer sans obtenir de lui la moindre réaction. Bien que la température ne soit pas très basse, les fonctions de relation sont entièrement suspendues. Cependant, le Siponcle vit. Sans doute, il est dans un état de vie ralentie; les échanges sont très faibles, mais l'activité physiologique est suffisante pour faire subsister l'animal.

Voici à présent des Bernards. Alors que les fonctions de relation sont à peu près abolies, que l'animal demeure sans mouvements, réagissant à peine, avec un long retard, à des excitations répétées, la respiration semble se poursuivre normalement. Elle ne subit aucune atteinte sensible, si l'on en juge par les battements très rapides des organes externes (scaphognatites et fouets). Considérons, au contraire, des Céphalopodes: à mesure que la vie de relation s'éteint, les fonctions de la vie végétative fléchissent. Les deux catégories de phénomènes sont ici étroitement unies et la disparition de l'une entraîne l'évanouissement de l'autre. Ainsi avons-nous vu les Seiches mourir toutes à 7°, par paralysie respiratoire concomitante à la paralysie des organes de locomotion. Et la liaison apparaît saisissante, quand on aperçoit l'activité motrice de relation venir en quelque sorte au secours de la vie végétative menacée, quand, sous l'action du malaise respiratoire, on voit la Seiche prendre une attitude défensive, dresser les bras, se projeter violemment en arrière, à plusieurs reprises, nager rapidement autour de sa cuve, jeter de l'encre.

Quelle est l'origine de cette différence entre les Seiches et les autres Invertébrés examinés ici? Je pense qu'il faut la chercher dans l'extrême concentration du système nerveux ganglionnaire des Céphalopodes. Chez ces animaux, les ganglions cérébroïdes, pédiéux et viscéraux sont fusionnés en une seule masse. Si l'on songe aux irrégularités respiratoires observées lorsque la température approche de 7°, aux périodes de suspension suivies de périodes d'accélération de la fonction, si l'on se souvient surtout qu'on a pu rappeler à la vie, en pratiquant la respiration artificielle, des Seiches dont la fonction respiratoire était abolie, on ne peut s'empêcher de comparer ces animaux aux Vertébrés supérieurs.

III. -- L'action du chaud et celle du froid semblent à première vue aboutir au même résultat : l'immobilité. Mais un peu d'attention montre bien vite des différences profondes : les basses températures produisent un état de somnolence, d'engourdissement, mais l'action du froid est *réversible*. Remis à la température normale, les fonctions reparaissent, à mesure que l'animal se réchauffe. L'organisme revient à son état initial; il semble n'avoir conservé aucune trace de son passage au froid.

Les températures élevées produisent la stupeur, l'abattement, la paralysie; l'être vivant est dans un état de malaise: il suffoque. L'action du chaud est irréversible. Replacé dans son milieu habituel, l'animal ne reprend pas son activité ordinaire à mesure que sa température baisse. Des modifications durables se sont opérées en lui.

Voici quelques exemples :

Des *Haminea* et des *Cardium* sont laissés à 2°3 toute une après-midi. Ils sont inertes et insensibles. Le soir, remis dans une cuve à 16°, « au bout de deux à trois minutes, les *Haminea* remuent, s'étendent, se retournent. Un seul léger contact suffit à les faire réagir. » Les *Cardiums* « commencent à s'ouvrir au bout de deux à trois minutes. Un seul contact les fait fermer. »

Il en est de même des *Bernards* : en voici un (30 octobre) engourdi et comme mort à 3°. On le remet à la température normale : il reprend vie et s'agite tout de suite.

Les *Nereilepas*, dès qu'elles sont retirées de l'eau froide, allongent leur corps, écartent leurs parapodes et se mettent à onduler rapidement comme si rien ne s'était passé. Les *Seiches* elles-

mêmes, si sensibles au froid, au point de pouvoir être tuées par lui, retrouvent intégralement et rapidement le plein exercice de leur activité si on les retire avant que l'asphyxie n'ait produit des effets irrémédiables. L'action du froid cependant a pu être assez profonde pour suspendre en elles quelques instants toutes les fonctions. Qu'on se rappelle, par exemple, la Seiche du 19 octobre qui, mise à 8° à 3 h. 52, apparaît presque morte à 4 h. 05. Replacée à la température normale de 17°, elle revit et, à 4 h. 55, elle paraît bien vivante.

Voici, au contraire, des Arénicoles et des Anémones laissées quelques heures à 34° (10 octobre). A 3 h. 48, « je prends deux Arénicoles chez lesquelles la sensibilité paraît abolie, qui semblent malades et inertes, et je les plonge dans l'eau à 17° : elles demeurent inertes. A 3 h. 55, je prends deux Anémones et je les plonge également à 17°. L'une s'ouvre, mais reste insensible au contact. L'autre se décolle du coquillage ». Plus tard, à 4 heures, je constate que « les deux Anémones remises à 17° restent inertes ; l'une s'est rouverte, l'autre fixée ; elles ne réagissent plus aux excitations. Les Arénicoles sont complètement inertes ». Il en est encore de même une demi-heure plus tard.

IV. — Un autre fait biologique intéressant, observé plusieurs fois pendant les expériences, est le suivant :

Lorsque des animaux sont placés dans des conditions thermiques nocives, qui produisent chez eux un état de malaise et peuvent même amener la mort si elles se continuent longtemps sans interruption, on voit se produire une amélioration très nette de leur état physiologique et un renforcement des résistances, quand on les laisse quelques instants à l'air libre, à la température ordinaire. Il en est de même si on laisse la température se rapprocher de la valeur normale, fût-ce un temps très court et de quelques degrés seulement.

Pendant ce répit, l'organisme, qui succombait dans la lutte contre les circonstances hostiles, a le temps de se ressaisir, de rétablir les fonctions qui fléchissaient, de réparer les pertes subies. Il arrive enfin à résister victorieusement aux conditions pernicieuses qui, sans ce délai, l'eussent accablé.

Qu'on se rappelle, par exemple, la Seiche (19 octobre) qui, mise à 8°, au bout de *treize minutes* déjà paraissait presque morte. On la retire et on la laisse se rétablir à 17° pendant cinquante

minutes. On la replonge ensuite dans le bain froid. Eh bien, dans ces conditions, elle résiste pendant *vingt-trois minutes*, non pas seulement à une température de 8°, mais aux températures de 7³/₅, 7° et même 6³/₅, bien plus funestes pour la Seiche, puisque c'est pour elle la limite. Après ces vingt-trois minutes, elle peut encore reprendre vie.

V. — Dans toutes les expériences où les conditions thermiques s'écartaient de la normale, les animaux luttent contre la variation qui leur est imposée.

Au froid : on les voit se contracter, se recroqueviller, offrant ainsi une moindre surface de contact à l'eau.

Les Nereïlepas se raccourcissent d'environ un tiers de leur longueur. Leurs parapodes se serrent les uns contre les autres. Les Siphoncles se contractent aussi.

Les Bernards essayent de fuir, de grimper le long des parois ; ils saisissent le thermomètre, se rétractent sur eux-mêmes, rentrent enfin dans leur coquille. Bien plus, à mesure que la température devient plus mauvaise, on voit ces Crustacés reprendre de l'activité, s'agiter davantage.

Les Seiches essayent des moyens variés de lutte : elles changent constamment de couleur, jettent de l'encre et prennent une véritable attitude de défense contre les circonstances hostiles : les bras dressés, dans une attitude très caractéristique de combat.

Au chaud, cette attitude défensive des Seiches est plus constante encore. L'animal la maintient presque toute la journée. Ce sont aussi des mouvements de fuite, la projection violente en arrière, nage rapide autour de la cuve. Puis les causes nocives l'emportent et l'animal tombe dans un état de prostration plus ou moins accentué.

VI. — Lorsque les animaux sont placés au froid, on constate, en faisant l'épreuve de leur sensibilité, un retard de plus en plus accentué de la réaction, à mesure que la température s'abaisse.

VII. — Quand la variation de température à laquelle on soumet l'animal n'est pas trop considérable, celui-ci, après une période de trouble des fonctions, finit par s'adapter. Au bout d'un temps plus ou moins long, son organisme se met en équilibre avec les conditions qui lui sont imposées.

VIII. — Enfin, alors que tous les autres mouvements sont

éteints, les derniers qui subsistent sont de légers mouvements rythmiques. Si l'on songe que les fonctions de la vie végétative, respiration, circulation, ont eux-mêmes ce caractère périodique, on comprend, en tenant compte de la solidité particulière de ces fonctions, la survivance de ces mouvements rythmiques. Il semble que les pulsations, les battements de la vie végétative soient le soubassement sur lequel s'est élevée et repose toute l'activité de relation.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES EXTRAITS ORGANIQUES D'INVERTÉBRÉS. LEUR ACTION SUR LA PRESSION SANGUINE

Par **Jean GAUTRELET**

Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Bordeaux
Docteur ès sciences

INTRODUCTION

Que les auteurs se soient attachés à étudier, quant à leur action sur la pression sanguine, les extraits glandulaires des Vertébrés supérieurs surtout, le fait n'est pas douteux. Il nous va suffire de faire un historique succinct de la question pour nous rendre compte que ce sont les Mammifères qui ont fourni la plupart des matériaux dans ce genre de recherches.

Dès 1895, Oliver et Schäfer (1) montraient que les extraits de thyroïde et de rate de Bœuf abaissent la pression artérielle. Ce sont des glandes provenant de Mouton, de Chien, d'Agneau, de Taureau, de Génisse qui permirent à Livon (2), en 1898, de diviser celles-ci en glandes hypertensives et hypotensives.

En 1898 également, Tigerstedt et Bergmann (3) décrivent les premiers les effets presseurs de l'extrait rénal de Lapin, effets que Pearce (1909) considère comme peu constants.

En 1901, Dixon (4) établit que le suc testiculaire de Rat et de Cobaye est hypotenseur,

Vincent observe les mêmes effets hypotenseurs des extraits de

1) *Journ. of Physiol.*, 1895, XVIII, 276.

2) IV^e Congrès de médecine, Montpellier, 1898, p. 402.

3) *Skand. Arch., for Physiol.*, 1898, VIII, 223.

4) *Journ. of Physiol.*, 1901, XXVI, 244.

thymus; ce que vérifie Parisot (1) à l'aide de thymus d'enfants, de Veau, de Lapin et d'Agneau, en 1908.

En 1903, Vincent et Sheen (2) mettent en évidence la présence d'une substance déterminant la baisse de pression dans les extraits de foie, rein, muscle, ovaire, pancréas, poumon et intestin de Chien, Chat et Lapin. Ils signalent aussi une substance hypertensive dans le foie, la rate et le rein des mêmes animaux.

Pugliese (3), en 1904, attribue aux histones que renferment les extraits de foie, de rate, etc., de Chien et de Bœuf, les effets dépresseurs qu'il observe.

Roger et Josué (4) préparent, en 1906, des macérations hypotensives d'intestin de Lapin dans l'eau salée physiologique.

De Bonis (5), en 1908, s'est attaché à démontrer l'élévation de pression consécutive à l'injection d'extrait de lobe postérieur de glande pituitaire de Bœuf.

Waller Hamburger (6), en 1910, a signalé que le lobe antérieur de pituitaire de Bœuf était hypotenseur.

Tout récemment (1910), Farini (7) a vérifié la chute de pression qui résulte de l'injection d'extrait pancréatique de Bœuf.

Nous ne trouvons guère que le travail de Brown et Joseph (8) (1906) qui ait trait à l'action vasculaire d'extraits animaux autres que les Mammifères.

Ces auteurs ont trouvé à la fois des substances hypertensives et dépressives dans les extraits hépatiques et génitaux (préparés en solution physiologique à froid ou à l'ébullition) de Requins, de Rousselles, d'Etoiles de mer. Quant à l'effet presseur, il est transitoire, précédant l'action dépressive durable.

Seul, Zanda (9) s'est livré à une étude systématique des extraits d'Invertébrés; ses recherches ont porté aussi bien sur

(1) Comptes rendus de la Société de biologie, 1908.

(2) *Journ. of Physiol.*, 1903, XXIX, 242.

(3) *Journ. de physiol. et de path. génér.*, 1904, 254 et 452.

(4) *Journ. de physiol. et de path. génér.*, 1906.

(5) *Arch. intern. de Physiol.*, 1908, 211.

(6) *Amer. Journ. of Physiol.*, 1910, XXVI, 179.

(7) *Lo Sperimentale*, 1910, 49.

(8) *Journ. of Physiol.*, 1906, XXXIV, 284.

(9) *Arch. ital. de biol.*, 1907.

l'action du foie que du muscle ou de la substance nerveuse. Les macérations des tissus étaient faites en solution physiologique de NaCl, soit à froid, soit à l'ébullition. Nous pouvons ainsi résumer les résultats de Zanda : Le foie de Seiche n'exerce pas d'action durable sur la pression; les extraits de foie de Poulpe ou d'Aplysie, par contre, provoquent une baisse de tension pouvant durer plusieurs minutes; en même temps, les contractions cardiaques deviennent petites et fréquentes. L'extrait hépatique de Langouste n'exerce qu'une action fugace sur la pression, mais sur le cœur l'action est plus longtemps marquée.

Tels sont les documents dont on disposait antérieurement à nos recherches.

RECHERCHES PERSONNELLES

Grâce à la proximité du Laboratoire d'Arcahon, dont nous tenons à remercier les directeurs, nous avons pu nous procurer un grand nombre d'invertébrés marins vivants.

Nos recherches ont porté sur l'hépto-pancréas et sur les glandes génitales.

Les extraits étudiés ont été des extraits *aqueux* ou des extraits *alcooliques*. Les premiers furent obtenus en faisant macérer pendant vingt-quatre heures, en un endroit frais, les glandes bien réduites en bouillie, dans la solution physiologique de NaCl à 9 pour 1.000, en présence d'un cristal de thymol.

Quant aux extraits alcooliques, ils ont été obtenus de deux façons : les uns résultaient de la macération des glandes pendant vingt-quatre heures dans l'alcool à 95°, macération dont le filtrat était évaporé *incomplètement*, de façon uniquement à chasser cet alcool; le filtrat ainsi réduit était ramené au volume convenable par addition d'eau salée physiologique.

Les autres étaient réalisés en évaporant *complètement*, presque à siccité, le filtrat alcoolique. Une nouvelle précipitation par l'alcool donnait naissance à une solution qui, filtrée et évaporée à son tour, était reprise par le sérum.

Qu'il s'agisse d'extraits aqueux ou alcooliques, 1 centimètre cube de solution injectée équivalait à 2 grammes de substance glandulaire. Les injections étaient faites dans la saphène.

La pression était prise à la carotide chez le Chien légèrement

morphiné, à l'aide du kymographe. Le tour de cylindre enregistreur (100 centimètres) s'effectuait en quatre minutes.

Tous les tracés sont uniformément réduits de moitié.

1. — ACTION SUR LA PRESSION SANGUINE DES EXTRAITS GLANDULAIRES DE CRUSTACÉS

Les Crustacés étudiés ont été : *Palinurus*, la Langouste; *Cancer Pagurus* et *Maia Squinado*, l'Araignée de mer.

Palinurus. — Nous n'avons injecté que des extraits alcooliques *complètement* évaporés de Langouste. *Ferrer*, chien de 25 kilogrammes, a reçu successivement des doses de 0 gr. 5 et de 1 gramme par kilogramme d'extrait hépatique ou génital. Jamais à noter de modification dans le rythme cardiaque ni dans la pression, que l'animal soit atropiné ou non.

Cancer Pagurus. — Les extraits alcooliques *complètement* évaporés de foie, même à la dose de 1 et 2 grammes par kilogramme, ont été toujours inactifs vis-à-vis du cœur et de la pression. (Expériences sur *Campo*, *Lansquenet*.)

La Crue, chien de 16 kilogrammes, a reçu 32 grammes d'un tel extrait; le tracé 1 indique combien fugace fut le résultat de l'injection.



L'injection préalable d'atropine ne modifie point l'allure du tracé.

Lansquenet, chien de 14 kilogrammes, ayant reçu après injec-



tion de 2 milligrammes d'atropine une dose de 30 grammes d'extrait alcoolique *complètement* évaporé de foie de Tourteau, la chute de pression fut passagère, ainsi qu'en témoigne le tracé 2.

Quant aux extraits de *glandes génitales complètement* évaporés, ils manifestent la même inactivité, que le Chien soit atropiné ou non.

Les extraits alcooliques de foie *incomplètement* évaporés produisent une baisse de pression de quelques minutes. *Roosevelt* (10 kilogrammes) ayant reçu une injection de 20 grammes d'extrait hépatique, la pression baisse aussitôt de 3 centimètres, mais après deux minutes remonte à son chiffre primitif; le cœur ne subit pas de modification notable.

Quant aux extraits *aqueux* de foie, ils agissent d'une façon plus intense. *Vichy*, Chien de 10 kilogrammes, non atropiné, reçoit 5 grammes à 9 h. 48; la pression de 14 centimètres tombe immédiatement à 4, puis à 2; l'animal est agité, sa respiration est ample; à 9 h. 56, le cœur est imperceptible; cette hypotension extrême se maintient jusqu'à 10 h. 28, où elle se relève lentement.

Maïa Squinado. — Les extraits alcooliques *complètement* évaporés, que le Chien soit ou non atropiné, ne produisent aucune modification durable dans la pression ni la contraction cardiaque.

Le tracé 3 se rapporte à un Chien ayant reçu 2 grammes par kilogramme, après avoir été préalablement atropiné.



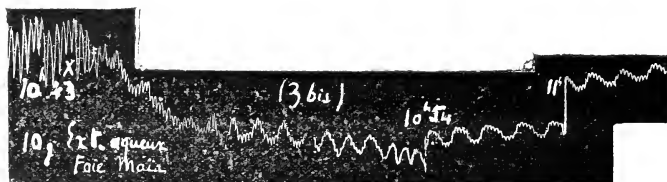
Les extraits alcooliques *incomplètement* évaporés produisent, suivant la dose, une hypotension plus ou moins passagère. A la suite de 1 gramme par kilogramme, la pression de *Sauvage* baisse quelques secondes de 16 à 12, mais se relève aussitôt en même temps que les oscillations du cœur reprennent leur amplitude.

Pluriôse (10 kilogrammes) reçoit 2 grammes par kilogramme à 10 h. 20, la pression de 8-13 tombe à 6; à 10 h. 22, la pression est de 5 centimètres; à 10 h. 24 elle remonte à 6; à 10 h. 26 elle égale 10, pour redevenir normale à 10 h. 28; l'amplitude cardiaque a repris alors son allure physiologique.

La courbe est tout à fait comparable si le Chien a été *atropiné*.
Les extraits *aqueux* sont plus actifs.

Candidat reçoit à 10 h. 43 1 gramme par kilogramme d'extrait aqueux de foie: la pression de 8-13 tombe à 4, à 3 et à 2; elle se maintient à ce chiffre jusqu'à 10 h. 55; à 10 h. 57 elle est égale à 3; à 11 heures, la pression est de 6; à 11 h. 15, de 8-9. Le cœur est encore petit: l'origine vaso-motrice de la baisse de pression se révèle de ce fait (Tracé 3 bis).

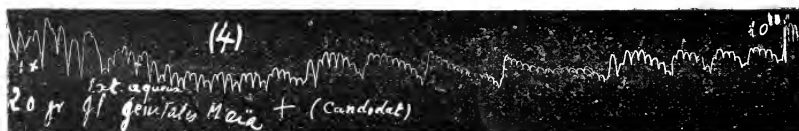
Même durée de l'hypotension, si le Chien a reçu de l'atropine.



Les extraits de *glandes génitales* de Maïa, comparés aux extraits hépatiques, sont infiniment moins actifs.

2 grammes par kilogramme d'extrait alcoolique complètement évaporé injectés à *Lausquet* ne produisent aucun effet cardiaque ou vasculaire.

Roosevelt, Pluriôse (le second étant *atropiné*) ne subissent qu'une baisse de pression légère et de peu de durée (1 minute environ) à la suite d'injection de 2 à 3 grammes par kilogramme d'extrait alcoolique incomplètement évaporé.



Enfin la tension artérielle de *Candidat* ayant reçu 2 grammes par kilogramme d'extrait aqueux ne baisse qu'insensiblement et durant 50 secondes (Tracé 4).

L'atropinisation préalable ne modifie pas ce résultat.

II. — ACTION SUR LA PRESSION SANGUINE DES EXTRAITS GLANDULAIRES DE MOLLUSQUES

Nous avons eu à notre disposition des Poulpes, des Seiches et des Aplysies.

Octopus (Poulpe). — Nous avons injecté à *Mauléon*, Chien de 10 kilogrammes, à 9 h. 10, 10 grammes d'extrait aqueux de foie : la pression ne s'est pas modifiée. A 9 h. 23, nouvelle injection de 20 grammes ; la pression a baissé de 13 à 8 pendant quelques secondes, mais le cœur est resté petit et ce n'est qu'après une demi-heure qu'il a repris son amplitude normale.

Sepia (hépatopancréas). — Les extraits alcooliques complètement évaporés n'ont produit, aux doses de 2 et 3 grammes par kilogramme, chez *Pau* ou *Que-Sais-Je?* ce dernier atropiné, que des modifications cardiaques passagères de quelques secondes, sans retentissement sur la pression ; il en est de même des extraits alcooliques incomplètement évaporés.

Spartiate, avant atropine et après atropine (Tracé 5), a reçu



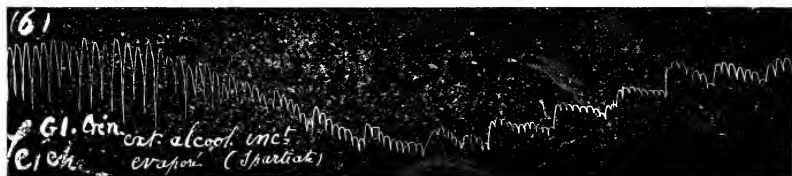
1 gramme par kilogramme de ce dernier extrait sans que sa pression subisse de modification tant soit peu durable.

Les extraits aqueux n'ont produit chez *Candidat* (2 grammes par kilogramme) aucun changement dans la tension avant l'atropine et une hypotension de 3 centimètres passagère (1 minute) après l'atropine.

Glandes génitales. — Elles n'ont pas montré plus d'activité que l'hépatopancréas ; aux doses de 1 et 2 grammes par kilo-

gramme, on a injecté à *Lansquenet* et *Pan* des extraits alcooliques complètement évaporés sans retentissement sur la pression (que le Chien soit atropiné ou non).

Spartiate a reçu 2 grammes par kilogramme d'extrait alcoolique incomplètement évaporé; baisse peu marquée de la pression pendant quelques secondes (Tracé 6).



Si une injection d'atropine est préalablement faite, le manomètre n'indique point de réaction sensible à 1 gramme par kilogramme de cet extrait (*Spartiate*).

Candidat n'a pas sensiblement réagi à l'injection de 2 grammes par kilogramme d'extrait aqueux.

Aplysia. — L'extrait alcoolique complètement évaporé de foie a été absolument inactif chez *Que-Sais-Je?* à la dose de 2 grammes par kilogramme.

Rooserelt a reçu 2 gr. 5 par kilogramme d'extrait alcoolique incomplètement évaporé à 9 h. 5, la pression a baissé immédiatement de 9 centimètres à 3; après une demi-heure, elle n'était que de 7 centimètres et atteignait péniblement 8 à 10 h. 15 (Tracé 7).



Chez un autre Chien, *Moutéon*, l'extrait aqueux, 1 gramme par kilogramme à 10 h. 10, a abaissé la pression de 13 à 4; à

10 h. 15, elle est revenue à 6; elle égale 7 à 10 h. 18; 8 à 10 h. 25; à 10 h. 45 seulement elle est revenue à son chiffre primitif: le cœur n'avait pas encore repris son amplitude, qui était considérablement diminuée.

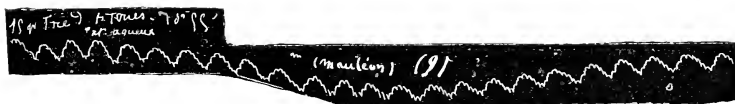
III. — ACTION SUR LA PRESSION SANGUINE DES EXTRAITS GLANDULAIRES D'ASTÉRIES

Nous pouvons nous procurer en très grande quantité les Astéries; nous nous sommes donc tout particulièrement attaché à leur étude, parmi les Echinodermes.

Glandes hépatiques. — L'extrait alcoolique complètement évaporé est sans action appréciable. Tout au plus, sous l'influence de 4 grammes de substance par kilogramme, durant 20 secondes l'amplitude du cœur diminue-t-elle de façon à entraîner une diminution de la pression variable (Tracé 8). L'extrait alcoolique



incomplètement évaporé ne produit pas de modification beaucoup plus durable: une dose de 2 grammes par kilogramme ayant été injectée, on voit après un temps perdu de quelques secondes la pression baisser de 2 centimètres environ, en même temps que le cœur s'accélère et l'amplitude diminue. Ces phénomènes ne durent pas une minute; après ce temps, le cœur a repris son allure normale et la pression est revenue à son chiffre primitif.



L'extrait aqueux n'est guère plus actif: Mauléon a reçu

15 grammes de foie, son tracé (9) indique le peu d'efficacité de l'injection.

Le temps maximum pendant lequel nous avons observé une chute de pression avec un tel extrait fut de 4 minute et demie (*Betheny*); encore devons-nous dire que ce fut surtout l'amplitude du cœur qui diminua et conséquemment la pression variable; dès que le cœur fut redevenu normal, il en fut de même de la pression.

Tout autres sont les résultats obtenus si l'injection des mêmes extraits est effectuée chez un Chien préalablement *atropiné*.

Renard, Chien de 40 kilogrammes, morphiné et atropiné, dont la pression carotidienne est de 14 centimètres de mercure, reçoit dans la saphène 40 grammes d'extrait alcoolique incomplètement évaporé, soit 4 grammes par kilogramme, à 2 h. 44. Aussitôt la pression baisse à 8 centimètres, puis remonte à 9 et à 10; à 2 h. 45, la pression égale 10; à 2 h. 46, elle est de 11, chiffre auquel elle se maintient jusqu'à 3 h. 5, soit 19 minutes. Elle s'élève alors de 1,2 centimètre pour se maintenir à 11 cent. 5 pendant plus d'une demi-heure (Tracé 10).



Avec l'extrait complètement évaporé, l'hypotension est aussi marquée et durable chez le Chien atropiné; témoin *Pan* (Tracé 11), dont la pression, consécutivement à l'injection, était tombée de 16 à 7 et à 12, et maintenue à ce chiffre plus de 10 minutes.

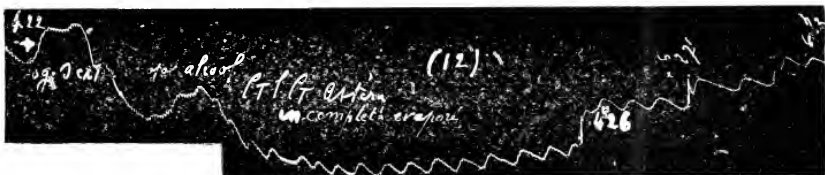


L'extrait aqueux serait plutôt moins actif; la chute de pression chez *Renard* atropiné, qui avait reçu 4 grammes par kilogramme, ne dépassa pas 3 centimètres; après 10 minutes, la tension était revenue progressivement à la normale.

Glandes génitales. — Chez le chien *normal*, les extraits alcooliques complètement évaporés et incomplètement évaporés, à la dose de 1 et 2 grammes par kilogramme, ne produisent eux aussi qu'un effet hypotenseur passager et peu marqué,

Mais chez le Chien *atropiné*, ils causent une baisse de pression accentuée, présentant les mêmes caractères, avec moins d'intensité souvent, que l'extrait hépatique dans les mêmes conditions: la moins grande intensité et peut-être aussi la constance moins absolue des effets nous semblent en rapport avec le développement des glandes génitales, dont le volume s'accroît beaucoup à certaines saisons.

Nous reproduisons ici un tracé (12) ayant rapport à l'injection



en deux temps chez un chien atropiné (*Loulou*), de 2 grammes par kilogramme d'extrait alcoolique incomplètement évaporé de glandes femelles. On voit la pression, qui était tombée de 14 à 5, ne revenir au chiffre du début qu'après un quart d'heure.

Chez *Pan*, la baisse de pression (de 10 centimètres) dura plus d'une demi-heure à ce chiffre.

Quant à l'extrait aqueux, même chez le Chien atropiné, il manifeste moins d'activité que l'extrait alcoolique.

Notons, comme Brown et Joseph, qu'une légère hausse de pression précède ou suit parfois l'hypotension. L'existence d'un principe hypertenseur n'est pas douteuse et nous comptons le mettre en évidence.

IV. — CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES ET CONCLUSIONS

Pouvons-nous de cet exposé tirer quelques données générales ?

Tout d'abord, nous remarquerons que les extraits ont provoqué pour la plupart une chute de pression; ce fait ne nous a pas surpris de la part d'extraits alcooliques surtout. Si l'on considère les Mammifères, on se peut rendre compte, en effet, qu'en général les extraits alcooliques manifestent une telle action.

En second lieu, la distinction entre extraits alcooliques *complètement* et *incomplètement* évaporés a eu pour but de précipiter plus ou moins par la chaleur les substances solubles dans l'alcool, de façon à orienter les recherches sur la nature des substances actives.

A ce sujet, nous publierons ultérieurement les résultats de nos recherches; qu'il nous suffise de remarquer ici qu'avec les extraits hépatiques de Crustacés et de Mollusques la baisse de pression, peu sensible alors que seules sont injectées les substances solubles dans l'alcool à chaud, devient d'autant plus marquée que le produit injecté contient intégralement les substances solubles dans l'eau, c'est-à-dire que l'alcool a moins exercé son action précipitante.

Chez les Astéries, par contre, le principe hypotenseur est éminemment soluble dans l'alcool. Autre caractéristique : son action est surtout marquée sur l'animal atropiné.

Il est difficile d'établir un rapport entre le mode d'activité des extraits hépatiques ou génitaux et la classe à laquelle appartient l'animal. C'est ainsi que nous voyons, parmi les Mollusques, le foie de Poulpe ou de Seiche manifester peu d'activité, tandis que celui d'Aplysie abaisse considérablement la pression. Les deux premiers appartiennent, il est vrai, au groupe des Céphalopodes, tandis que l'Aplysie est un Gastéropode. Mais nous n'avons pas multiplié suffisamment les recherches parmi les différentes espèces d'une même classe pour pouvoir généraliser en loi de telles considérations.

Les baisses de pression constatées au cours des recherches relèvent-elles d'un mécanisme cardiaque ou vaso-moteur? Il est difficile de répondre avec précision à cette question, que nous ne posons qu'éventuellement. Cependant, pour ce qui est des extraits

glandulaires d'Astéries, étant donnés les caractères de l'hypotension considérable et prolongée que l'on observe après injection d'atropine, on peut reconnaître à cette hypotension une origine vaso-motrice.

Par contre, beaucoup de baisses de pression constatées par ailleurs relèvent le mécanisme cardiaque; rappelons pour mémoire comment, sous l'influence de l'extrait alcoolique de foie de Maïa, le cœur reprenant son allure physiologique, la pression remontait aussitôt à son taux normal.

En résumé, nous pouvons ainsi grouper les résultats de nos recherches :

Crustacés. — L'hépto-pancréas de *Cancer pagurus*, de *Maïa squinado* renferme une ou plusieurs substances peu solubles dans l'alcool à chaud, abaissant la tension artérielle, que le Chien soit atropiné ou non. Les extraits aqueux ou alcooliques de glandes génitales sont inactifs.

Mollusques. — Alors que le foie et les glandes génitales de *Sepia*, d'*Octopus* ne modifient pas sensiblement la pression, le foie d'*Aplysia* contient une substance peu soluble dans l'alcool à chaud, abaissant considérablement la pression tout en diminuant l'amplitude cardiaque.

Echinodermes. — Les extraits hépatiques et génitaux d'Astéries, en solution alcoolique renferment au moins une substance provoquant une action hypotensive marquée chez le Chien atropiné surtout.

(Laboratoire de physiologie de la Faculté de médecine de
Bordeaux et Station Biologique d'Arcachon)

RECHERCHES SUR LES FERMENTS PROTÉOLYTIQUES DES INVERTÉBRÉS

Par **J. SELLIER**

Chargé de Cours à la Faculté de médecine de Bordeaux

INTRODUCTION

Bien que les diastases protéolytiques des Invertébrés aient fourni le sujet de travaux déjà nombreux, bien des points de leur histoire restent indécis, quand les résultats obtenus ne sont pas divergents ou contradictoires. Ceci n'est pas dû seulement à une généralisation trop hâtive des conclusions d'expériences réalisées sur un petit nombre d'animaux et que l'on aurait voulu étendre au vaste ensemble des Invertébrés, car, même quand il s'agit de groupes zoologiques naturels et relativement restreints, l'accord n'est pas fait ; presque tout prête à la discussion.

Nous en citerons seulement deux exemples empruntés à DASTRE (1) qui résume ainsi ce qu'on sait à propos des Crustacés décapodes : « On a discuté sur la nature des ferments protéolytiques : ce serait tantôt de la pepsine agissant en milieu acide, tantôt de la trypsine agissant en milieu alcalin. A défaut de cette hypothèse, il faudrait admettre qu'il s'agit d'une trypsine particulière pouvant agir plus ou moins efficacement en présence d'un léger

1. Pour la bibliographie des diastases digestives, voir DASTRE, *Physiologie comparée du foie*, *Dictionnaire de Physiologie*, 1904, p. 802-806.

excès d'acide ou enfin qu'il s'agit d'une protéolyse s'accomplissant dans des conditions différentes de celles des Vertébrés ». D'après le même auteur, le suc digestif des Mollusques céphalopodes n'est guère mieux connu que celui des Crustacés : « Ce liquide contient une diastase analogue à la pepsine et une autre analogue à la trypsine. Il y a quelque incertitude relativement à l'existence prédominante ou exclusive de l'un ou de l'autre de ces ferments ou des deux simultanément ». Cet exposé de la question date de l'année 1904 et il est aussi vrai que le jour où DASTRE le formulait. Malgré les travaux de KRUKENBERG et de FRÉDÉRICQ d'une part, de GRIFFITHS, de CHAPEAUX et de STONE d'autre part, nos connaissances sont aussi indécises relativement aux Vers et aux Echinodermes.

Séduit par l'intérêt du sujet et aussi par les ressources de la Station Biologique d'Arcachon et de son annexe de Guéthary, nous nous sommes proposé, en commençant nos recherches, voici tantôt dix ans, de faire une étude comparative des diastases protéolytiques des Invertébrés et des Poissons marins (1).

Nombreuses sont les classes zoologiques auxquelles nous avons touché et sur lesquelles nous possédons des documents utilisables. Néanmoins, nous nous sommes borné, dans le présent Mémoire, à réunir les expériences faites sur un petit nombre de groupes appartenant aux Invertébrés marins. Le reste suivra. La difficulté ne vient pas seulement, en effet, de l'étendue du sujet : quand on est maître d'une technique sûre, on en viendrait à bout. Elle provient aussi d'éléments défavorables contre lesquels le travailleur est impuissant et dont les physiologistes qui expérimentent exclusivement sur les animaux dits de laboratoires : Chien, Lapin, Cobaye ou Grenouille ne se font guère l'idée.

Malgré la situation favorable du Bassin d'Arcachon, malgré le dévouement du personnel de la Station Biologique, malgré encore la complaisance désintéressée avec laquelle les bateaux chalutiers des Compagnies de Pêcheries rapportent aux Laboratoires les animaux qui peuvent être utiles, on se trouve parfois privé de matériaux d'étude au moment même où quelques

1. J. SELLIER, Recherches sur la digestion des Poissons. *Bulletin de la Station Biologique d'Arcachon*, 1899.

individus suffiraient pour terminer une question. C'est que certains animaux arrivent dans le Bassin, ou sur les côtes voisines, à une certaine époque de l'année, pour y séjourner quelques semaines seulement ; des modifications dans leurs migrations ou dans leur abondance changent les conditions de travail ; souvent on a trop d'espèces à la fois et d'autres jours pas assez d'individus, et le physiologiste ne peut, comme le zoologiste, en garder des provisions dans les liquides conservateurs. Il faut compter aussi avec les marées défavorables, les tempêtes inopinées, les mauvais jours de l'hiver, etc. Il est possible que les contradictions de nos devanciers n'aient en partie d'autres causes qu'un séjour trop bref au bord de la mer et le trop petit nombre d'animaux à étudier, tandis que la répétition et le contrôle des expériences nécessitent du temps et des matériaux abondants.

Afin de disposer d'une plus grande quantité de suc digestif à la fois et de pouvoir répéter les expériences pour les contrôler, nous nous sommes adressé à des animaux relativement faciles à se procurer en nombre.

La portion de nos études exposée ici concerne surtout les suivants :

Crustacés décapodes : Crabe Tourteau (*Cancer pagurus*), Araignée de mer (*Maja squinado*), Homard (*Homarus vulgaris*), espèces carnivores.

Mollusques céphalopodes : Calmar (*Loligo vulgaris*), Seiche (*Sepia officinalis*), espèces carnivores.

Mollusques gastéropodes : Aplysie (*Aplysia fasciata*, *Aplysia punctata*), espèces herbivores.

Annélides chétopodes : Aphrodite ou Souris de mer (*Aphrodite aculeata*), espèce carnivore.

Tous ces animaux sont bien connus et les zoologistes ont décrit depuis longtemps l'anatomie et souvent aussi l'histologie de leurs organes. Néanmoins, pour éviter au lecteur de se reporter à des livres spéciaux et pour fixer la position des organes produisant ou renfermant les sucs digestifs, nous avons cru bon d'en donner plusieurs dessins exécutés sur le vivant et sous nos yeux.



Dès le début de notre étude, nous avons constaté que la simple dissolution des substances protéiques par les sucs digestifs, même dans des conditions variées d'expérience, ne peut fournir des résultats suffisamment précis ni même suffisamment constants. La méthode chimique est autrement plus sûre et plus avantageuse puisqu'elle permet de suivre, pour ainsi dire pas à pas, la transformation de la matière à digérer ; nous lui devons nos résultats les plus importants.

La nature et l'état de cette matière à digérer sont susceptibles de modifier beaucoup les limites du phénomène protéolytique. Or, les seuls renseignements connus sont relatifs à la dissolution de l'ovalbumine coagulée ou de la fibrine ; nous ne possédons aucun document sur la digestion des sérums d'Invertébrés habituellement si riches en matières protéiques diverses.

Comme on le verra au cours de ce travail, nos expériences ont été effectuées sur des matières albuminoïdes variés : ovalbumine coagulée, ovalbumine crue, caséine du lait, sérum d'Invertébrés (1).

Dans le Chapitre I nous exposons la technique suivie. Les premiers physiologistes avaient souvent signalé à tort l'existence de tel ou tel ferment protéolytique. Il était donc opportun de rappeler les faits actuellement connus qui, en particulier, caractérisent la pepsine et la trypsine. C'est le but de notre Chapitre II. Nous y avons joint un certain nombre d'expériences personnelles destinées à apporter plus de précision sur certains points.

La détermination défectueuse des réactions chimiques des sucs digestifs avait conduit les auteurs à des conclusions erronées. Le Chapitre III contient nos résultats.

Ces faits étant connus et la méthode bien fixée, le Chapitre IV

1. Nous avons déjà montré l'action antitryptique et antiprésurante des sérums d'Invertébrés marins :

J. SELLIER, Action antiprotéolytique du sérum sanguin des animaux inférieurs Poissons et quelques types d'Invertébrés). *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, t. LIX, n° 36, 15 décembre 1905.

Sur le pouvoir antiprésurant du sérum sanguin des animaux inférieurs Poissons et Invertébrés. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, t. LX, n° 6, 16 février 1906.

Sur le pouvoir antiprésurant du sérum sanguin des animaux inférieurs. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 12 février 1906, t. CXLII, p. 109.

est consacré à l'étude des phénomènes protéolytiques chez les animaux mentionnés plus haut, et le Chapitre V à celle de l'action éreptique.

La question de la présure est intéressante mais délicate: les documents à son sujet, chez les Invertébrés, étaient rares: le Chapitre VI contient plusieurs faits nouveaux.

Enfin, dans le Chapitre VII, nous recherchons la destination des corps aminés, produits de la digestion protéolytique. L'hépatopancréas des espèces carnivores, et surtout le contenu du cæcum spiral des Céphalopodes, en renferment une teneur élevée.

Les recherches qui font l'objet de ce travail ont déjà donné lieu à la publication de quelques notes préliminaires dans les *Comptes rendus de la Société de Biologie* et dans les volumes de l'Association française pour l'avancement des sciences (1).

1 J. SELLIER, Existence de la présure dans le suc digestif des Crustacés. *Congrès de l'Association française pour l'avancement des sciences*, Lyon, août 1906.

Existence de la présure dans le suc digestif des Crustacés. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 23 novembre 1906, t. LXI.

Existence de la présure chez les Invertébrés. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 26 avril 1907, t. LXII.

Action protéolytique du suc digestif des Crustacés. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 3 décembre 1907, p. 703.

Action présurante et protéolytique du suc digestif des Céphalopodes. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 3 décembre 1907, p. 705.

Sur l'action protéolytique et présurante des sucs digestifs des animaux invertébrés. *Congrès de l'Association française pour l'avancement des sciences*, Clermont-Ferrand, août 1908.

Sur l'identité du ferment protéolytique et de la présure. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 22 décembre 1908, p. 754.

Quelques conditions réclamées par les sucs digestifs protéolytiques des Invertébrés marins pour la mise en évidence de leur action présurante. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 6 juillet 1909, t. LXVII, p. 237.

CHAPITRE PREMIER

Mesure des processus protéolytiques

Les diverses albumines natives que l'on peut soumettre à l'action des sucs digestifs se différencient à la fois par leur constitution chimique et par leur état physique. Elles sont solides, coagulées, liquides, en suspension ou en solution ; certaines, comme la gélatine, sont liquides ou solides suivant la température.

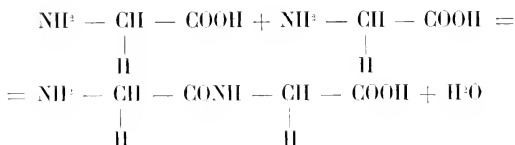
En faisant agir sur ces diverses albumines des sucs digestifs protéolytiquement actifs, on constate des phénomènes de transformation, variables avec chacune d'elles.

Les modifications physiques les plus simples, telles que : dissolution d'une albumine solide ou coagulée, éclaircissement du lait, disparition de la propriété de gélifier de la gélatine liquéfiée, etc., ont longtemps servi comme mesure de la protéolyse. Chez les Invertébrés, ces procédés furent même les seuls employés. Ils sont cependant insuffisants pour la plupart, car ils ne renseignent pas sur la nature de la protéolyse, qui est, avant tout, un phénomène d'ordre chimique.

Les albumines natives sont constituées en grande partie par la liaison, avec perte d'eau, de corps peu complexes : les amino-acides. La protéolyse a pour effet de les dédoubler, de les scinder en corps plus simples pour arriver finalement aux amino-acides, après avoir passé par des stades intermédiaires : protéoses et peptones.

Dans ces derniers temps, les travaux de FISCHER et de son école ont jeté un jour nouveau sur la constitution de la matière albuminoïde. Cet auteur a pu obtenir par synthèse des corps qu'il désigne sous le terme générique de *peptides*, lesquels sont constitués par l'union, avec élimination d'eau, de plusieurs molécules

d'amino-acides. Par exemple, si deux molécules de glycocolle s'unissent, la fonction acide de l'une réagissant sur la fonction amine de l'autre, un nouveau corps se forme, le glycyglycocolle, qui sera à la fois amide, acide et amine.



On peut théoriquement, avec n molécules d'amino-acides, former un corps possédant $n - 1$ fonctions amide en conservant libres aux extrémités de la chaîne une fonction acide et une fonction amine : par exemple :



Ces amides ou peptides, suivant le nombre des molécules d'amino-acides constituants, sont précédés du préfixe di, tri, poly. Ils offrent un grand intérêt au point de vue physiologique, car, d'après FISCHER, le mode de liaison des molécules génératrices dans ces corps et dans les substances protéiques naturelles est le même.

La molécule des polypeptides artificiels hydrolysés par les ferments solubles se scinde à la façon des albumines, si bien que FISCHER a pu dire :

« In ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften, besonders auch in ihrem Verhalten zu Enzymen nähern sich besonders die hochmolekularen Polypeptide einigen natürlichen Proteinen, und wäre man ihnen zuerst in der Natur begegnet, so würde man wohl kein bedenken getragen haben, sie als Proteine anzusprechen » (1).

Depuis la découverte de ces peptides synthétiques, les termes d'albumoses, protéoses, peptones ont perdu de leur signification ; obtenus par digestion peptique ou tryptique, fractionnés par des réactifs divers, alcool, sels métalliques, etc., divisés et subdivisés

(1) E. FISCHER, *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, 40, 1757, 1907.

suivant leur degré de solubilité vis-à-vis de certains réactifs en primaire, secondaire (proto, hétéro, deutéro-protéoses, etc.), ces corps tendent à disparaître de la nomenclature : actuellement, on les considère plutôt comme des groupes de peptides formés d'amino-acides variables par leur nombre et leur nature.

Leur insolubilité dépendrait non point seulement de la complexité du peptide, mais aussi de la nature des amino-acides qui le composent : les polypeptides à poids moléculaire élevé, par exemple, et aussi ceux qui contiennent de la tyrosine sont, comme les albumoses, précipitables par le sulfate d'ammoniaque, la solution acétique de chlorure de sodium et l'acide azotique. Signalons enfin les propriétés qui rapprochent certains peptides des peptones. Leur saveur n'est pas sucrée comme celle des amino-acides : elle est amère comme celle des peptones. Ils précipitent par l'acide phosphotungstique. Le tannin précipite ceux à poids moléculaire plus élevé. Enfin, un grand nombre d'entre eux donne la réaction du biuret (1).

Quoi qu'il en soit, la protéolyse apparaît comme essentiellement agissante par la dislocation de la molécule albumine en corps solubles plus simples (albumoses, peptones) avec mise en liberté, dans certains cas, d'amino-acides.

Une méthode rationnelle de mesure des processus protéolytiques sera donc basée sur la détermination des différents stades de transformation de l'azote albuminoïde au cours des actes digestifs.

La technique de cette étude consistera à faire agir le ferment sur l'albumine soluble et non coagulée, condition dans laquelle l'attaque sera maximum. On pourra ainsi se rendre compte facilement des diverses phases de la protéolyse et caractériser les produits de transformation, ce qui était fort difficile avec les anciennes méthodes.

Voici comment nous avons opéré.

On détermine avant et après digestion :

1° La quantité totale d'azote correspondant à tous les corps, albuminoïdes et autres, présents dans le liquide de digestion (N^1).

2° La quantité d'azote sous forme d'albumine native présente dans les liquides de digestion (N^2).

(1) RÖHMANN, Biochemie, p. 303.

3° La quantité d'azote sous forme d'albumoses de peptones, ou plus exactement de peptides (N^2).

4° La quantité d'azote sous forme d'amino-acides et d'ammoniaque mis en liberté au cours des processus digestifs (N^3).

Par définition on a :

$$N^1 = N^1 + N^2 + N^3$$

N^2 est fonction de la peptonisation, N^3 de la mise en liberté des amino-acides ou de la fonction éreptique.

EXPÉRIENCE TYPE

Dans un tube à essais stérilisé, on introduit 21 cc. 5 de la solution protéique et 0,5 du suc digestif à étudier. Mélanger et prélever aussitôt (témoin) :

1° 2 centimètres cubes pour le dosage de N^1 .

2° 5 centimètres cubes que l'on additionne immédiatement de son volume d'acide trichloracétique à 40 pour 100 pour le dosage de ($N^2 + N^3$).

3° 5 centimètres cubes que l'on additionne immédiatement de formol neutre au demi pour le dosage de N^3 .

Il reste dans le tube 40 centimètres cubes de liquide que l'on additionne de quelques gouttes de toluol et que l'on met en expérience.

Après digestion. — 5 centimètres cubes servent au dosage de ($N^2 + N^3$) et les derniers 5 centimètres cubes au dosage de N^3 , comme pour le témoin.

Les résultats ont toujours été exprimés en milligrammes d'azote et rapportés à 20 centimètres cubes du liquide de digestion.

DOSAGE DE N^1

1° *Transformation de l'azote en sulfate d'ammoniaque* (Méthode de KJELDAHL). — Les 2 centimètres cubes du liquide de digestion, prélevés comme il a été dit, sont introduits dans un ballon de KJELDAHL de 250 centimètres cubes et additionnés de 5 centimètres cubes d'oxalate de potasse à 30 pour 100, puis de 5 centimètres cubes d'acide sulfurique pur ; chauffer dou-

cement le ballon légèrement incliné jusqu'à dégagement de vapeurs blanches d'acide sulfurique, puis obturer le col du ballon par un petit entonnoir en verre, à extrémité biseautée, afin de condenser ces vapeurs. Le liquide brun, puis jaune, se décolore finalement après un temps variable ; laisser refroidir. La substance organique est détruite. Le carbone a été transformé en CO^2 , l'azote en ammoniaque qui s'unit à l'acide pour donner du sulfate d'ammoniaque. Il reste un excès d'acide sulfurique.

2° *Neutralisation à la phtaléine.* — Dans le ballon de KJELDAHL contenant ce liquide acide on ajoute, en refroidissant, 80 à 100 centimètres cubes d'eau distillée. La solution obtenue est versée dans un matras à fond plat et à col long de 250 centimètres cubes, puis additionnée des eaux de lavage du ballon de KJELDAHL et de quelques gouttes de phtaléine. Neutraliser ensuite par la lessive de soude. Dans cette opération, il est nécessaire de refroidir le matras en le maintenant immergé dans un cristalliseur rempli d'eau. On évite ainsi le dégagement d'ammoniaque. Enfin il faut éviter d'aller au delà de la neutralité. Il est bon de s'arrêter lorsque le liquide est encore légèrement acide et de terminer exactement la neutralisation (coloration rose) avec la soude N/5.

3° *Titrage au formol de l'ammoniaque* (Méthode ROXCHÈSE). — Dans ce liquide exactement neutralisé à la phtaléine, ajouter 10 centimètres cubes de formol au demi neutre à la phtaléine, agiter et verser avec la burette graduée de la soude N/5 jusqu'à teinte rose persistante.

Lecture. — Ajouter 5 centimètres cubes de formol neutre. Si la coloration rose a disparu, ajouter de la soude N/5 jusqu'à ce que la teinte rose persiste malgré l'addition d'une nouvelle quantité de formol (5 centimètres cubes) et qu'elle passe au rouge franc par addition d'une ou deux gouttes de soude N/5.

Calcul. — Soit n le nombre total de centimètres cubes de soude N/5, lu à la burette : 1 centimètre cube de soude N/5 correspond à 2 milligr. 8 d'azote. Nous avons opéré sur 2 centimètres cubes du liquide de digestion. Pour rapporter les résultats à 20 centimètres cubes de ce liquide, nous avons :

$$N^{\circ} = \text{Mgr. N in } 20 \text{ cc. liquide de digestion} = n \times 2,8 \div 10$$

DOSAGE DE ($N^1 + N^2$)

Nous avons défini ($N^1 + N^2$) comme représentant l'azote des corps non albuminoïdes du liquide de digestion, c'est-à-dire correspondant à l'ensemble, albumoses, peptones, amino-acides, ammoniacque. Il nous suffira de précipiter dans le liquide de digestion les albumines natives, et elles seules, de filtrer, pour obtenir dans le filtrat tous les corps azotés de transformation, c'est-à-dire la somme ($N^1 + N^2$) que nous déterminerons par la méthode de KJELDAHL. Nous avons employé l'acide trichloracétique pour séparer les albumines natives des produits de protéolyse. Ce corps, utilisé par MARTIN (1) pour la recherche des albumoses et peptones, dans le sang, présente de réels avantages. Il doit être préféré au tannin : celui-ci précipite sans doute totalement les albumines, mais on sait d'autant moins dans quelles proportions il précipite les albumoses et les peptones, que la réaction du milieu peut perturber les résultats.

Il suffit d'ajouter au liquide de digestion son volume d'acide trichloracétique à 10 pour 100 pour précipiter toutes les albumines natives. Toutefois, une minime partie des albumoses précipite aussi, mais, celles-ci étant solubles à chaud, il suffira d'une courte ébullition, suivie d'une filtration rapide du liquide bouillant, pour être assuré d'avoir séparé les albumines qui resteront seules sur le filtre. Ce précipité d'albumine sera lavé à plusieurs reprises par une solution bouillante d'acide trichloracétique à 5 pour 100. Les filtrats réunis seront versés dans un ballon de KJELDAHL de 250 centimètres cubes additionnés d'oxalate de potasse et d'acide sulfurique et soumis aux mêmes opérations que précédemment.

Soit n le nombre de centimètres cubes nécessaires pour saturer l'acidité qui a pris naissance dans le liquide exactement neutralisé par addition de formol neutre. Ayant opéré sur 5 centimètres cubes du liquide de digestion et rapportant les résultats à 20 centimètres cubes de ce liquide, il s'ensuit que N du filtrat, après précipitation par l'acide trichloracétique, c'est-à-dire N

(1) MARTIN, *Journal of Physiology*, t. XV, p. 375.

correspondant à l'azote de transformation ($N^2 + N^3$) sera donc : $n \times 2,8 \times 4$.

Signalons enfin que l'on peut doser directement aussi l'azote albumine restée sur le filtre (N^1). Il suffit de recueillir le précipité et de déterminer par la méthode de KJELDAHL l'azote qu'il contient (N^1).

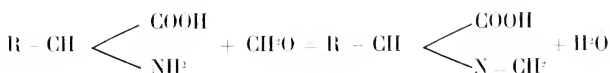
Divers essais nous ayant montré que constamment, et avec la plus grande exactitude, $N^1 = N^1 + (N^2 + N^3)$, le dosage de N^1 nous a paru inutile et en pratique il suffit de déterminer seulement l'azote du filtrat.

DOSAGE DE N^4

N^4 a été défini comme représentant la quantité d'azote des amino-acides présents dans les liquides de digestion.

L'importance de ce dosage est considérable, puisqu'il donne la mesure des produits d'hydrolyse les plus avancés. On doit à SÖRENSEN (1) une méthode simple, rationnelle et suffisamment précise.

Les nombreux acides aminés provenant de l'hydrolyse des substances protéiques possèdent tous le groupement caractéristique $— CHNH^+ — COOH$. Si on les additionne de formol (CH_2O) en excès, ce corps en réagissant sur NH^+ donnera H_2O et $N = CH^+$.



Le dérivé méthylénique ainsi formé, comprenant la fonction acide ($COOH$) non compensée par la fonction basique (NH^+) « bloquée », se comportera comme un acide énergique et peut être titré par un dosage acidimétrique en présence de phthaléine.

SÖRENSEN a étudié avec soin comment divers amino-acides se comportent vis-à-vis du formol et est arrivé à des résultats intéressants. D'ailleurs, sa méthode a subi avantagement le contrôle de plusieurs expérimentateurs : elle est aujourd'hui classique.

(1) SÖRENSEN, *Biochemische Zeitschrift*, vol. VII, p. 45, 1907-1908.

Pour doser les amino-acides dans un liquide de digestion, on en mesure d'abord 5 centimètres cubes dans un verre à expérience. On neutralise exactement à la phtaléine par addition de soude (*a*). Ajouter 10 centimètres cubes d'un mélange à parties égales de formol à 40 pour 100 et d'eau distillée exactement neutralisée à la phtaléine par de la soude N/5. Le liquide devient acide; faire alors couler de la soude N/5 contenue dans une burette graduée en agitant jusqu'à coloration rouge nette. On note la quantité (*b*) d'alcali nécessaire à la neutralisation de l'acidité après formol.

L'acidité totale du témoin $A = a$ (acidité directe) + *b* (acidité après formol) (1).

Il est facile, connaissant A, de déterminer les corps aminés qui prennent naissance du fait de la digestion. Dans ce but, on mesure 5 centimètres cubes du liquide digestif, on l'additionne d'un mélange (10 centimètres cubes) à parties égales de formol à 40 pour 100 et d'eau distillée. Le liquide devient très acide et il est nécessaire, pour obtenir sa neutralisation, de verser une quantité B variable de soude N/5.

Si A = acidité totale du témoin, B = acidité du liquide de digestion,

$$B - A = n \text{ centimètres cubes de NaOH N/5}$$

n représente l'acidité des fonctions COOH mis en liberté du fait de la protéolyse. Cette acidité mesure donc la quantité d'acides aminés détachée de la molécule albumine. Elle peut être exprimée directement par le volume de soude N/5 nécessaire à la neutralisation ou mieux encore en milligrammes d'azote en multipliant par 2,8 le nombre de centimètres cubes d'alcali trouvé.

Ayant opéré sur 5 centimètres cubes de liquide de digestion et rapportant à 20 centimètres cubes les résultats obtenus on aura :

$$N^4 = \text{milligr. N (amino-acides in 20 cc.)} = n \times 2,8 \times 4$$

Quelques remarques sont toutefois nécessaires. Cette méthode

(1) Remarquons à ce sujet qu'il existe toujours des traces d'acides aminés dans les liquides de digestion avant toute action digestive.

au formol dose non seulement les amino-acides, mais aussi l'ammoniaque qui a pris naissance au cours de la digestion. Il est donc de la plus grande importance de déterminer le rapport qui existe entre ces deux éléments. On sait d'ailleurs que des procédés de dosages basés sur cette propriété du formol ont été imaginés par RONCHÈSE (1), par MALFATTI (2) pour le dosage direct de l'ammoniaque dans l'urine ; par RONCHÈSE pour le dosage de l'azote total (urine, sang, etc.) après transformation en sulfate d'ammoniaque par la méthode de KJELDAHL. Nous nous sommes assuré par quelques expériences préliminaires que la quantité d'azote ammoniacal qui prend naissance dans les liquides de digestion, sous l'influence des agents protéolytiques, est sensiblement négligeable, toutes choses égales, relativement à celle des amino-acides libérés. C'est ainsi que dans une solution neutre de caséine (20 centimètres cubes) contenant 46 milligrammes d'azote total, laissée pendant 3 heures à 40° en présence de 0 cc. 5 de suc digestif de *Maja*, il s'est libéré 8 milligr. 9 d'azote titrable au formol (azote des amino-acides + azote ammoniacal).

L'azote ammoniacal, dosé séparément par la méthode de GRAFE (3) donne le chiffre de 0 mill. 5.

On voit donc que la quantité d'ammoniaque libérée dans nos conditions d'expérience peut être considérée comme négligeable.

Signalons enfin que le dosage des amino-acides tel que nous l'avons décrit n'est exact que si l'acidité totale (acidité directe + acidité après formol) est due uniquement aux corps aminés. C'est d'ailleurs le cas le plus général. Il n'en est pas de même lorsqu'on emploie le lait comme substance à digérer. On sait, en effet, que ce liquide contient, outre la caséine, du

(1) RONCHÈSE, Méthode de dosage de quelques composés azotés. Thèse de pharmacie. Paris 1907-1908.

(2) MALFATTI, *Zeitschrift für analyt. Chemie*, t. 47, p. 273.

(3) GRAFE, *Zeitschrift für physiol. Chemie*, t. 48, p. 300, 1906. Cette méthode permet de doser totalement et seulement l'ammoniaque contenu dans les liquides de digestion sans toucher aux corps aminés facilement décomposables. Pour cela, comme l'a indiqué GRAFE, il est indispensable de distiller dans le vide et d'employer un alcali soluble et non hydrolysant solution saturée à froid de carbonate de soude en présence d'une solution saturée à froid de chlorure de sodium : il faut enfin que la température à laquelle s'effectue la distillation ne dépasse pas 38 à 40°.

lactose et des graisses : ces derniers éléments pouvant se décomposer en acides divers perturberaient les résultats si l'on ne se mettait à l'abri de cette cause d'erreur. Nous avons donc constamment opéré en présence d'un tube témoin.

LECTURE DES TABLEAUX D'EXPÉRIENCES

En résumé, nous avons dosé N^1 , $(N^2 + N^3)$, N^3 , avant et après protéolyse. Les résultats toujours *exprimés en azote* ont été obtenus par la même méthode (méthode au formol) appliquée soit directement (N^3) soit après transformation des éléments azotés en sulfate d'ammoniaque (méthode de KJELDAHL) ; ils sont donc comparables. Cette technique, d'une grande exactitude, présente de réels avantages sur celles qui furent employées jusqu'ici.

Nos résultats ont été réunis en tableaux. Après avoir indiqué la substance protéique employée *comme matière à digérer*, le suc digestif mis en expérience, le temps, la température, etc., nous établissons dans une première colonne la répartition de l'azote sous ses diverses formes N^1 , N^1 , N^2 , N^3 pour 20 centimètres cubes de liquide avant et après digestion. N^1 , $(N^2 + N^3)$, N^3 ayant été déterminés directement, N^2 correspond évidemment à $(N^2 + N^3) - N^3$; N^1 correspond à $N^1 - (N^2 + N^3)$.

Cette colonne fait connaître les diverses formes de l'azote dans les liquides d'expériences avant et après protéolyse.

La deuxième colonne (gain net) donne des indications sur l'augmentation des facteurs $(N^2 + N^3)$, N^2 , N^3 .

Les chiffres qui y correspondent sont directement en rapport avec l'activité protéolytique. $(N^2 + N^3)$ est fonction de l'activité protéolytique globale ; N^2 , de la peptonisation ou de la formation de peptides, ou, plus exactement encore, des corps azotés qui ne sont ni albuminoïdes ni acides aminés ; N^3 est fonction de la mise en liberté des acides aminés ou de la fonction crép-lique. Les chiffres sont facilement calculés ; il suffit, en effet, de soustraire dans chaque groupe la quantité initiale de celle du témoin.

On remarquera que les liquides ne contiennent jamais uniquement, avant digestion, de l'albumine native. Nous avons constamment trouvé, en faible quantité il est vrai, de l'azote non

précipitable par l'acide trichloracétique et titrable au formol. Il était donc indispensable d'en faire la détermination.

Le rapport $\frac{N^2}{N^1}$ renseigne sur la relation qui existe entre la mise en liberté des protéoses et peptones d'une part (N^1) et des amino-acides (N^2) d'autre part. La mise en liberté des amino-acides étant due à la fonction tryptique ou créptique, tandis que la peptonisation est commune à la trypsine et à la pepsine, on voit l'importance des variations de ce rapport.

Le rapport $\frac{100 (N^2 + N^3)}{N^1}$ donne la mesure globale de la protéolyse rapportée à 100 milligrammes d'azote albuminoïde (1).

1 En effet, soit par exemple $N^1 = 50$ milligrammes d'azote albuminoïde présent dans le liquide de digestion témoin. Après expérience, on trouve par exemple $N^2 + N^3 = 40$ milligrammes. Pour rapporter à 100 milligrammes de N^1 afin d'avoir toujours des expériences comparables, le calcul suivant suffira :

Pour 50 milligrammes de N^1 on a 40 milligrammes de $N^2 + N^3$.

Pour 100 milligrammes de N^1 on a $\frac{100 \times 40}{50}$ ou $\frac{400 (N^2 + N^3)}{N^1}$.

CHAPITRE II

Pepsine — Trypsine — Érepsine

La pepsine et la trypsine furent si souvent signalées à tort dans les sucs digestifs des Invertébrés qu'il est indispensable, avant tout, de rappeler leurs caractères distinctifs.

Voici comment Léon FRÉDÉRICQ (1) résumait, en 1878, l'état des connaissances à ce sujet : « La présence de la pepsine se reconnaîtra dans ces extraits à ce que la fibrine s'y dissoudra, mais seulement dans la solution acide. Un flocon de fibrine porté dans le liquide s'y gonflera, deviendra transparent, puis fondra peu à peu par les bords. La solution obtenue donnera au bout d'un certain temps la réaction des peptones (coloration rose à froid par la potasse et le sulfate de cuivre).

» Si les extraits contiennent de la trypsine (ferment du pancréas), ils digéreront rapidement la fibrine en solution alcaline, un peu moins bien en solution neutre, mal ou pas du tout en solution acide. La fibrine ne s'y gonflera pas, mais se résoudra en fragments, puis en détritrus finement granuleux. La solution donnera également la réaction des peptones. »

En dehors de l'action physique du gonflement de la substance à digérer, ce sont surtout les conditions de milieu qui furent d'abord remarquées : les premiers physiologistes qui s'occupèrent de la digestion protéolytique des Invertébrés les considéraient comme suffisantes pour distinguer chaque ferment. Celui qui agissait en milieu acide était une pepsine et l'on concluait à l'existence de la trypsine lorsque l'action digestive s'accomplissait en milieu neutre ou alcalin. Quand le suc digestif agissait à la

(1) FRÉDÉRICQ, La digestion des matières albuminoïdes chez quelques Invertébrés. *Archives de Zoologie expérimentale et générale*, t. VII, 1878.

fois en milieu acide, neutre et alcalin, il contenait les deux diastases (KRUKENBERG). Or, nous montrons plus loin qu'il est fondamental de déterminer la nature et l'importance de l'acidité pour prévoir si l'action pepsique peut se manifester.

D'autre part, les travaux de KÜBNE ont montré qu'indépendamment des conditions de milieu il fallait encore, pour distinguer la pepsine et la trypsine, connaître les produits fournis par chacune de ces deux diastases. La pepsine n'amène la décomposition de la molécule albuminoïde que jusqu'à la phase peptone, tandis que l'action tryptique libère en plus des acides aminés.

Toutefois, sur ce dernier point, l'accord ne fut pas unanime : des physiologistes, tels que HOPPE-SEYLER, ZUNTZ, LAVROW soutinrent que la digestion pepsique prolongée pouvait également donner des acides aminés, mais pas de tryptophane (1). Des expériences rigoureuses, pratiquées avec du suc gastrique pur de chien, recueilli par la méthode du petit estomac de PAWLOW, ont tranché le débat. On obtient des albumoses, des peptones, des produits abiurétiques encore plus simplifiés, mais pas d'acides aminés. Ce n'est qu'en utilisant des pepsines commerciales ou des extraits de muqueuses stomacales, souvent souillés de trypsine ou d'érepsine, qu'on obtient des amino-acides. ABDERHALDEN et ROSA (2) ont observé avec une pepsine commerciale de GRÜBLER la formation d'acides aminés et de tryptophane aux dépens de la caséine. Rien de semblable ne se passe avec du suc gastrique pur. Enfin, un autre caractère distinctif entre la trypsine et la pepsine est l'inactivité complète de celle-ci sur les polypeptides de synthèse. Tous ces faits permettent aisément de comprendre l'insuffisance des données anciennes relatives à l'existence de la pepsine et de la trypsine dans les sucs digestifs des Invertébrés.

On s'est, en effet, contenté dans la plupart des cas, de caractériser la pepsine et la trypsine par la réaction du milieu d'action.

1 Voir pour la bibliographie de cette question : KUTSCHER et LOHMANN, *Zeitschrift für physiologie Chemie*, p. 332, t. XLI, 1903.

2 ABDERHALDEN et ROSA, *Zeitschrift für physiol. Chemie*, t. XLVII, p. 360.

VOIR ENCORE BOLDREW, *Zentralblatt f. d. ges. Physiol. u. Pathol. d. Stoffwechsels*, N. F., t. III, p. 209, 1908. — *Arch. de Pflüger*, t. CXXI, n° 1-2, 1907.

BERGMANN, *Skand. Arch. f. Physiol.*, t. XVIII, p. 119, 1906.

O. COHNHEIM, *Physiologie der Verdauung, etc.*, Berlin, 1908, p. 69.

Or, on sait actuellement l'importance de la quantité d'acide mise en expérience sur la marche de la digestion peptique. Les produits de décomposition des albumines sont comme l'albumine elle-même des électrolytes amphotères, mais leur basicité est notablement plus considérable que celle des albumines et globulines. Au cours de la digestion, une quantité plus ou moins grande d'acide libre se combine avec la matière protéique. Si la quantité présente au début est faible par rapport à la quantité d'albumine, l'action de la pepsine s'arrête avant l'apparition des produits finaux de la digestion.

Voici d'ailleurs comment s'exprime F. RÖHMANN (1) à ce sujet :

« Für den Ablauf der Verdauung und die Art der Endprodukte ist die Menge von Säure, welche zur Verwendung gelangt, von wesentlicher Bedeutung (2). Die Verdauungsprodukte sind ebenso wie das Eiweiss selbst amphotere Elektrolyte, deren Basizität zum Teil sehr erheblich grösser ist als die der Albumine und Globuline. Es wird also mit fortschreitender Verdauung mehr und mehr Salzsäure gebunden. Wenn die anfangs vorhandene Menge Salzsäure im Verhältnis zum Eiweiss gering war, so hört die Wirkung des Pepsins, *welche nur beim Vorhandensein einer gewissen Menge freier Salzsäure vorstatten geht*, auf, bevor alles Eiweiss verdaut ist bezw. die Endprodukte sich gebildet haben, die bei genügender Salzsäuremenge entstanden sein würden. Es ist nun sehr wohl denkbar, *dass, wenn die Salzsäure gebunden ist, andere Fermente tryptischer Natur, wie sie sich anscheinend in allen lebenskräftigen Zellen* und somit auch in der Magenschleimhaut finden, auf die durch das Pepsin gebildeten Produkte einwirken und hierdurch kristallinische Produkte entstehen. »

Toutefois, J. SCHUTZ (3) signale que la présence d'ions H n'est pas nécessaire pour la digestion peptique, laquelle peut se faire en présence d'une quantité très faible d'acide chlorhydrique liée à l'albumine : cependant, la digestion peptique augmente jusqu'à

1 RÖHMANN, Biochemie, p. 674.

2 GÜRBER, *Sitzungsber. d. Physik-med. Gesellsch. z. Würzburg*, 1893, p. 67.
O. COHNHEIM, *Zeitschrift für Biol.*, v. 33, p. 489-1896 ; W. NEUMANN, *Zeitschrift für physiol. Chem.*, v. 43, p. 216-1903.

3 J. SCHUTZ, Ueber den Einfluss der Pepsin- und Salzsäuremengen auf die Intensität der Verdauung, speziell bei Abwesenheit « freier » Salzsäure. *Biochemische Zeitschrift*, vol. XXII, fasc. 1 et 2, p. 32-44.

une certaine limite quand on élève la quantité d'acide chlorhydrique.

Il nous a paru indispensable, avant de commencer l'étude de la digestion protéolytique chez les Invertébrés, de préciser, par un certain nombre d'expériences, le rôle de l'acidité du milieu d'action sur la marche de la protéolyse.

La plupart des auteurs, en effet, se sont contenté d'introduire dans les liquides de digestion une quantité déterminée d'acide. Or nous allons montrer qu'il est indispensable de différencier l'acidité du milieu d'action en *acidité forte, faible, après formol*, et de connaître la quantité des éléments azotés présents dans le liquide.

Exemple. — Si dans une solution protéique on ajoute une solution d'acide fort (HCl N/5), une partie de l'acide se combine aux albumines, l'autre restant libre, si toutefois on ajoute une quantité suffisante d'acide. On différencie alors l'acide resté libre en opérant de la façon suivante :

Prélever dans un vase à expériences 5 centimètres cubes de cette solution protéique, ajouter quelques gouttes d'une solution alcoolique de diméthylamidoazobenzol. Le liquide se colore en rouge s'il contient de l'acide libre. Neutraliser avec de la soude N/5, la coloration vire progressivement au jaune orangé, puis au jaune. Soit n le nombre de centimètres cubes de soude N/5 lu à la burette. Il mesure l'*acidité forte*.

Dans le même liquide, ajoutons quelques gouttes de phtaléine et versons de nouveau de la soude titrée jusqu'à coloration jaune rougeâtre. Soit n' la quantité de soude employée. Elle mesure l'*acidité faible*.

Enfin, toujours dans le même liquide, ajoutons 10 centimètres cubes de formol au demi exactement neutralisé. Si le liquide devient incolore, ajouter une nouvelle quantité de NaOH N/5 jusqu'à coloration rouge nette. La quantité n'' de soude employée représente l'*acidité après formol*.

Au cours de ce travail il sera souvent question de ces diverses acidités, précisons donc que nous désignons par acidité forte l'acidité titrable au diméthylamidoazobenzol, acidité due à un acide fort libre. L'acidité faible est le reste de l'acidité du mélange titrable directement à la phtaléine (acide combiné avec

les albumines, acides faibles, acides organiques, sels acides, etc.). Enfin l'acidité après formol est celle qui prend naissance dans ce même liquide par l'addition d'une certaine quantité de formol neutre.

L'acidité totale est la somme de ces trois acidités.

Ceci posé, nous avons fait une série d'expériences pour nous rendre compte des variations de ces facteurs de l'acidité au cours de divers processus digestifs.

1° RAPPORT ENTRE LA QUANTITÉ DE SUBSTANCES PROTÉIQUES ET LES DIVERS FACTEURS DE L'ACIDITÉ

EXPÉRIENCES

On prépare les mélanges suivants :

1° 3 centimètres cubes de lait normal + 3 centimètres cubes HCl N/3.

2° On prépare un autre tube contenant la même quantité de lait mais *dilué de moitié* avec une solution neutre physiologique de NaCl et 3 centimètres cubes de HCl N/3. Ce dernier tube contient donc moitié moins d'éléments azotés.

Dans ces deux mélanges, on dose avec de la soude N/3 l'acidité forte, faible, après formol.

Résultats exprimés par la quantité de soude N/3 nécessaire à neutraliser les diverses acidités

PREMIER TUBE		DEUXIÈME TUBE	
Acidité forte	1	Acidité forte	3,80
Acidité faible	4,4	Acidité faible	1,65
Acidité après formol .	0,4	Acidité après formol .	0,30
Acidité totale . . .	<u>3,8</u>	Acidité totale . . .	<u>5,75</u>

On constate que, pour une même quantité d'acide mise en expérience, la répartition de l'acidité forte et faible varie d'une façon considérable. Moins le liquide contient d'albumine et plus l'acidité forte est élevée, jusqu'à devenir seule présente lorsque le liquide ne contient pas de corps azotés. Les auteurs qui se sont borné à ajouter une quantité déterminée d'acide dans un liquide de digestion, sans avoir au préalable fixé la quantité

d'azote total et le taux de l'acidité forte et faible, ont donc négligé de préciser les conditions d'expérience.

2° VARIATIONS DE L'ACIDITÉ AU COURS DES PROCESSUS DIGESTIFS

EXPÉRIENCES

PRÉPARATION DES SUBSTANCES PROTÉIQUES. *a) Solution acide de caséine.* — A 10 grammes de caséine MERCK on ajoute 60 centimètres cubes de HCl N/5 et de l'eau distillée jusqu'au volume de 250 centimètres cubes. On chauffe légèrement au bain-marie à 40°-50°. Agiter. Laisser déposer et décantier le liquide limpide.

b) Solution d'ovalbumine acide. — A 50 centimètres cubes d'ovalbumine ajouter 150 centimètres cubes de solution physiologique de NaCl et 5 centimètres cubes HCl N. Agiter énergiquement. Laisser reposer jusqu'au lendemain et filtrer. Le liquide limpide ainsi obtenu est acidifié avec 5 centimètres cubes HCl N.

c) Solution neutre de caséine. — A 10 grammes de caséine MERCK on ajoute 38 centimètres cubes NaOH N/5 + de l'eau jusqu'à 250 centimètres cubes. Agiter. La caséine se dissout facilement, le liquide est limpide.

d) Solution neutre d'ovalbumine. — On ne peut employer une solution neutre d'ovalbumine, qui est mal attaquée par la trypsine. Suivant les indications de SÖRENSEN, nous nous sommes servi d'ovalbumine sur laquelle on a fait agir la pepsine. Voici comment on procède : 50 centimètres cubes d'ovalbumine acide obtenue comme il est dit plus haut *b)* sont mis en présence de suc gastrique pur de chien (gastérine FRÉMONT) pendant une heure, à 40°. On neutralise à la phthaléine par NaOH N/5. Le liquide ainsi neutralisé sert à la digestion pancréatique.

Les liquides digestifs employés sont du suc gastrique pur de chien (gastérine FRÉMONT) pour l'action peptique et une solution à 1/10 de pancréatine GRÜBLER.

On fait les mélanges suivants :

1° 50 centimètres cubes solution acide de caséine + 1 centimètre cube suc gastrique de chien.

2° 50 centimètres cubes solution acide d'ovalbumine + 1 centimètre cube suc gastrique de chien.

3° 50 centimètres cubes solution neutre de caséine + 1 centimètre cube solution de pancréatine.

4° 50 centimètres cubes solution neutralisée d'ovalbumine attaquée par pepsine + 1 centimètre cube solution pancréatine.

Immédiatement avant digestion on fait des prélèvements dans chaque tube pour effectuer le dosage de N^1 , $(N^2 + N^3)$, N^4 .

2 centimètres cubes pour doser N^1 par la méthode de KJELDHAL.

5 centimètres cubes pour doser $N^2 + N^3$.

5 centimètres cubes pour N^4 .

Avant digestion également on effectue les dosages de l'acidité forte, faible et après formol, indiqués dans l'expérience précédente.

Ces dosages témoins étant faits, on porte à 40° les quatre tubes additionnés de quelques gouttes de toluol.

Après 15 heures et après cinq jours de digestion, des prises de 5 centimètres cubes ont été faites pour doser $(N^2 + N^3)$ et N^4 .

On dose aussi l'acidité forte, faible et après formol.

Les résultats consignés dans le tableau I montrent qu'au cours d'une *digestion peptique* l'acidité forte diminue jusqu'à devenir nulle. C'est ainsi qu'une solution de caséine, acide au diméthyl-amidoazobenzol avant digestion ne contenait plus trace d'acide fort libre après cinq jours de digestion.

Des résultats du même ordre ont été obtenus avec la solution d'ovalbumine, laquelle réclamait pour 5 centimètres cubes 0 cc. 8 de NaOH N/5 avant digestion et 0 cc. 2 seulement après cinq jours. Ce fait est à signaler.

Le tableau montre encore que l'acidité faible augmente dans des proportions sensiblement égales à la diminution de l'acidité forte.

L'acidité après formol ne varie pas. C'est là un fait à retenir, car il témoigne qu'au cours d'une digestion peptique, lorsqu'on emploie du suc gastrique pur, il n'y a pas mise en liberté de corps aminés. Nous reviendrons, du reste, sur ce point.

Au cours de la digestion pancréatique, l'acidité faible augmente, mais l'élévation de cette acidité porte surtout sur l'acidité après formol. Un parallélisme évident existe entre la mise en liberté de ces deux sortes d'acidités au cours de la digestion (l'acidité directe étant toujours beaucoup plus faible que l'acidité après formol). Ce fait s'explique bien si l'on considère que, comme l'ont signalé BERTHELOT et SÖRENSEN, les amino-acides sont toujours directement acides à la phtaléine, mais que la totalité de leur fonction acide ne se manifeste qu'après addition de formol.

Donc, dans ces conditions, l'augmentation de l'acidité directe

TABLEAU I

ENZYMES	SUBSTANCES protéiques	NATURE DE L'ACIDITÉ du liquide de digestion	RÉACTION DU LIQUIDE quantité de NaOH N. 5 nécessaire à neutraliser 5 ^{cc} de liquide		VARIATIONS DE LA RÉACTION
			Avant digestion	Après 5 jours à 40°	
Sue gastrique pur de Chien	Caséine	Acidité forte.....	0,5	0,0	- 0,5
		Acidité faible.....	0,9	1,4	+ 0,5
		Acidité formol.....	0,3	0,3	0,0
		Acidité totale.....	1,7	1,7	0,0
Pancreatine	Ovalbumine	Acidité forte.....	0,8	0,2	- 0,6
		Acidité faible.....	0,8	1,5	+ 0,7
		Acidité formol.....	0,4	0,4	0,0
		Acidité totale.....	2,0	2,1	+ 0,1
Grübler	Caséine	Acidité faible.....	0,2	1,0	+ 0,8
		Acidité formol.....	0,4	3,0	+ 2,6
		Acidité totale.....	0,6	4,0	+ 3,4
		Acidité faible.....	0,35	0,5	+ 0,15
	Acidité formol.....	0,30	1,35	+ 1,25	
	Acidité totale.....	0,65	2,05	+ 1,40	

et après formol, par rapport à un témoin, peut être considérée comme donnant la mesure de la totalité des amino-acides libérés.

Ainsi, avant protéolyse, la solution de caséine employée pour la digestion pancréatique avait une acidité totale de 0,6 (exprimée en NaOH N/5 pour 5 centimètres cubes de liquide) se décomposant en acidité directe 0,2, acidité après formol 0,4. Après digestion à 40° pendant cinq jours, on trouve l'acidité totale 4,0 se décomposant en acidité directe 1, acidité après formol 3,0. Le gain en acidité totale = $4 - 0,6 = 3,4$ est dû entièrement aux amino-acides qui ont pris naissance. Il se répartit en une augmentation de 0,8 pour l'acidité directe et de 2,6 pour l'acidité après formol (voir tableau I).

En résumé, *la digestion peptique se caractérise par une diminution progressive de l'acidité forte et une élévation proportionnelle de l'acidité faible sans variations de l'acidité après formol.*

La digestion pancréatique se distingue, au contraire, par une élévation progressive de l'acidité faible et surtout de l'acidité après formol, élévation due à la mise en liberté des amino-acides.

Quant à la marche respective de la protéolyse peptique et tryptique, les résultats consignés dans le tableau II renseignent à ce sujet. On voit notamment que la pepsine est une diastase peptonisante et non éreptique. Au cours de son action, qui a été pourtant intense puisque globalement 96,6 pour 100 de la caséine, et 64 de l'ovalbumine ont été transformés, il n'y a pas eu la moindre trace d' amino-acides libérés. Ce fait est, du reste, conforme aux expériences d'ABDERHALDEN.

Au contraire, la digestion pancréatique est caractérisée par une activité peptonisante et une activité éreptique sensiblement égales.

L'activité protéolytique globale est, comme pour la pepsine, très considérable. Après cinq jours, 91,2 pour 100 de la caséine sont transformés et 67 pour 100 de l'ovalbumine préalablement attaqués par la pepsine. Mais, au cours de cette digestion, des amino-acides ont pris naissance.

Ils ont été libérés en quantité sensiblement égale à celle des protéoses, puisque le rapport $\frac{N_2}{N_3}$ est voisin de 1. C'est là

TABLEAU II *

ENZYMES	SUBSTANCES protéiques	Répartition de N in 20 cc liquide				GAIN NET			RAPPORTS	
		N ¹	N ²	N ³	N ² +N ³	N ²	N ³	$\frac{100 \cdot (N^2+N^3)}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$	
Sue gastrique de	Caséine Merck									
	Avant digestion	63,20	0,00	3,36	—	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	63,20	26,80	3,36	26,80	26,80	0	67,0	∞	∞
Cluën	Ovalbumine									
	Avant digestion	67,20	0,00	4,48	—	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	67,20	29,10	4,48	29,10	29,10	0	46,2	∞	∞
Pancréatine	Caséine Merck									
	Avant digestion	89,60	3,36	4,48	—	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	89,60	38,32	38,08	68,56	34,96	33,60	82,0	1,06	1,06
Grübler	Ovalbumine partiellement digérée par pepsine									
	Avant digestion	56,00	12,32	3,36	—	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	56,00	26,88	9,06	13,44	7,74	5,70	33,6	1,35	1,35
	Après 5 jours	56,00	43,50	19,04	26,82	11,14	13,68	67,0	0,70	0,70

* Les conditions de milieux sont celles du tableau I.

un fait intéressant à connaître et qui permettra au cours de nos recherches de caractériser les ferments protéolytiques des Invertébrés.

En résumé, la pepsine et la trypsine se différencient très nettement par les trois caractères suivants :

1^o *Par le milieu d'action.* — La pepsine agit seulement en présence d'une acidité notable, et l'intensité de la digestion augmente jusqu'à une certaine limite quand on élève la teneur du milieu en acide.

La trypsine réclame, au contraire, un milieu neutre, alcalin ou faiblement acide.

2^o *Par les variations de l'acidité au cours de la protéolyse « in vitro ».* — Dans les liquides de digestion peptique, il y a diminution de l'acidité forte, augmentation de l'acidité faible. L'acidité après formol reste invariable.

Dans les liquides de digestion pancréatique, il y a augmentation progressive et parallèle de l'acidité directe et après formol, cette dernière étant due à la libération d'amino-acides.

3^o *Par le processus d'action.* — La pepsine est un ferment peptonisant et non éreptique. La trypsine possède à la fois la propriété de peptoniser et de transformer les substances protéiques en amino-acides ; au cours des digestions *in vitro*, l'activité peptonisante et l'activité éreptique de cette diastase sont sensiblement égales.

Enfin, une partie de l'action protéolytique de la trypsine ne reviendrait-elle pas à l'érepsine ? Depuis sa découverte par COHNHEIM (1), quelques auteurs ont cherché à s'en rendre compte.

D'après NAKAYAMA (2) l'érepsine peut détruire l'acide nucléinique intestinal avec mise en liberté d'acide phosphorique et de bases xanthiques. La trypsine, au contraire, même après quatorze jours est impuissante à produire de telles modifications.

1 COHNHEIM, Die Umwandlung des Eiweiss durch die Darmwand. *Zeitschrift f. physiol. Chemie*, 1901, XXXIII, p. 451. — Weitere Mittheilungen über das Erepsin. *Ibid.*, 1902, XXXV, p. 139. — Trypsin und Erepsin. *Ibid.*, 1902, XXXVI, p. 13.

2 NAKAYAMA, Ueber das Erepsin. *Zeitschrift für physiol. Chemie*, t. 41, 1904, p. 348-363.

GLAESSNER et A. STAUBER (1) ont montré aussi l'individualité respective de l'érepsine et de la trypsine à l'aide du sérum sanguin. Le sérum sanguin inhibe l'action tryptique, mais n'inhibe pas l'action éreptique.

Enfin on a rapproché de la trypsine une multitude d'autres diastases rencontrées chez des animaux appartenant à divers groupes zoologiques : trypsine des Spongiaires (2), Actino-protéases des Actinies (3), ferment tryptique des Echinodermes (4), de l'hépatopancréas des Céphalopodes, des Insectes, des Crustacés, etc. La nature de tous ces ferments laisse beaucoup d'incertitude.

C'est en nous basant sur les données bien établies chez les Vertébrés que nous avons abordé l'étude des ferments protéolytiques des Invertébrés.

1. GLAESSNER et A. STAUBER, Beziehungen zwischen Trypsin und Erepsin. *Bioch. Zeitschrift*, vol. XXV, 1910, p. 204.

2. KRUCKENBERG, Ueber die Enzymbildung in den Geweben und Gefässen der Evertebraten. *Unters. d. physiol. Inst. Heidelberg*, p. 339, 11, 1882.

3. MESSIL, Recherches sur la digestion intra-cellulaire et les diastases des Actinies. *Ann. Inst. Pasteur*, XV, 352, 1901.

4. FRÉDÉRICQ, *Loc. cit.*

KRUCKENBERG, *Loc. cit.*, p. 336, 11, 1882.

CHATEAUX, Sur la nutrition des Echinodermes. *Bull. Acad. de Bruxelles*, 3^e s., XXVI, 227, 1893.

CHAPITRE III

Réaction des sucs digestifs des Invertébrés

Dans le but de caractériser la pepsine et la trypsine, les auteurs se sont surtout attaché, chez les Invertébrés, à déterminer la réaction chimique des sucs digestifs.

Or, on est surpris, à la lecture des Mémoires, de rencontrer sur ce point les opinions les plus contradictoires (1). Il est juste cependant de remarquer que les auteurs n'ont pas opéré dans des conditions identiques. Ainsi, certains ont employé comme indicateur le tournesol et d'autres le papier Lackmus ; quelques-uns même ne disent pas comment ils ont déterminé la réaction. Enfin l'état physiologique de l'animal étudié (à jeun ou en digestion) est un facteur important qui, souvent, n'a pas été signalé.

Quant à la nature de l'acidité, parfois constatée, il n'a été émis sur elle que des hypothèses.

Est-elle d'origine glandulaire, comme chez les Vertébrés ? Proviend-elle de corps à fonctions acides existant normalement dans les sucs digestifs ? Est-elle due à des corps qui se forment au cours des processus digestifs ? Dans ce dernier cas, quels sont ces corps ?

Voilà, semble-t-il, des questions dont il y aurait lieu de se préoccuper.

Pour montrer l'étendue des contradictions nous allons passer en revue les résultats des auteurs.

Crustacés. — HOPPE-SEYLER (2) trouve faiblement acide le liquide contenu dans la poche gastrique d'*Astacus*.

(1) Il ne s'agit bien entendu ici que de la réaction constatée à l'aide des indicateurs ordinaires.

(2) HOPPE-SEYLER (1876), Ueber Unterschieden in chemischen Bau und in der Verdauung höherer und niederer Tiere. *Arch. ges. Physiol.*, Bd. 14, p. 395-400.

SCHLEM (1), KRUKENBERG (2), LINDNER (3) trouvent également acide la sécrétion hépatique du même animal.

D'autre part, STAMATI (4) constate que le suc digestif d'*Astacus* est tantôt alcalin, tantôt acide, selon que l'animal est à jeun ou en digestion. Voici, d'ailleurs, comment il s'exprime à ce sujet : « Toutes les fois que l'estomac de l'animal est vide d'aliments, il ne contient que du suc jaune et la réaction est *alcaline*. J'ai remarqué toutefois que quand l'estomac est en pleine digestion et gorgé d'aliments, le contenu offre la réaction *acide*, le suc alcalin réagit dans l'estomac sur les aliments et c'est dans cet organe que prend naissance l'acidité..... »

JORDAN (5), qui a employé le papier Lackmus comme indicateur, signale des résultats diamétralement opposés. Ce suc serait tantôt acide, tantôt alcalin chez les sujets à jeun, et constamment alcalin chez ceux qui sont en digestion.

Céphalopodes. — Claude BERNARD (6), parlant de la réaction des diverses régions de l'appareil digestif des Céphalopodes, dit : « A propos des réactions des différentes parties de l'intestin, voici ce que l'on peut dire : La bouche pendant l'afflux de la salive offre constamment la réaction *alcaline*. L'estomac pendant la digestion offre constamment chez tous les animaux une réaction *acide*. L'intestin grêle offre une réaction tantôt *acide*, tantôt *alcaline*, alcaline quand les matières alimentaires non azotées dominent dans l'alimentation, acide quand ce sont les matières azotées. »

Paul BERT (7) trouve chez *Sepia* les sécrétions digestives constamment acides. « Les glandes salivaires, écrit-il, produisent un liquide *acide*. Le premier estomac est un simple gésier à parois épaisses, qui ne sécrète aucun liquide et dans lequel cependant

1 SCHLEMM, Dissert. Berlin 1844, d'après OTTO VON FÜRTH, Vergleichende chemische Physiol. der niederen Tiere, Jena 1903, p. 223.

2 KRUKENBERG, *Unters. d. physiol. Institut. Heidelberg*, 2, 1878.

3 LINDNER, Dissert. Berlin 1844 ; d'après OTTO VON FÜRTH.

4 STAMATI, Recherches sur le suc gastrique de l'Écrevisse. *Comptes rendus de la Soc. de Biol.*, 1888, p. 16. Recherches sur la digestion chez l'Écrevisse. *Bulletin Soc. Zool. de France*, t. XIII, 1888, p. 149.

5 JORDAN, Der Stand der Frage nach der Eiweissverdauung bei nied. Tieren. *Biologisches Centralblatt*, 1907, p. 373-384.

6 CL. BERNARD, Leçons de physiologie expérimentale, t. II, 1856, p. 488, p. 456-457.

7 P. BERT, *Comptes rendus Academie des Sciences*, t. 65, 1867, p. 300.

se fait la digestion, grâce aux *sucs acides* qu'y versent et les glandes salivaires et le *cæcum spiral*.... Le tissu du foie est fortement *acide* sur le vivant même, cette acidité est due à une substance soluble dans l'eau. »

JOUSSET DE BELLESME (1), en expérimentant sur *Octopus vulgaris*, montre que la sécrétion du foie est constamment *acide* : « Si on coupe une partie périphérique de la glande et on y creuse une dépression, celle-ci se remplit par suintement d'un liquide qu'on peut regarder comme pur et dont on peut recueillir une quantité suffisante pour l'expérience.... Le liquide qui s'écoule du foie est très abondant. Sa densité est 1.024, il est limpide, presque incolore, très riche en albumine puisqu'il se coagule et se prend en masse par la chaleur. Son caractère le plus remarquable est d'être *franchement acide*. C'est même de tous les liquides qui servent à la digestion le plus acide et le plus abondant.... »

Les résultats obtenus par Léon FRÉDÉRICQ (2) chez le même animal parlent dans le même sens : « On trouve dans le jabot, l'estomac et le *cæcum* une assez grande quantité d'un liquide *acide* brunâtre qui peut servir à faire des digestions artificielles. Le contenu de l'intestin a, d'ailleurs, partout une réaction *franchement acide*.... Le tissu des glandes salivaires et du foie est lui-même fortement *acide*, comme l'avait vu Paul BERT. »

BOURQUELOT (3) trouve le suc digestif des Céphalopodes toujours faiblement acide : « L'acidité normale du suc digestif des Céphalopodes que j'ai examinés est extrêmement faible ou tout au moins insuffisante à déterminer l'action pepsique. C'est là la seule indication que je puisse donner sur le degré et la *nature de l'acide libre* de ce liquide, les divers essais auxquels je me suis livré pour les séparer n'ayant pas abouti. »

Victor HENRI (4), parlant du suc hépatique pur obtenu par fistule chez *Octopus vulgaris*, dit : « Ce suc hépatique est rouge

(1) JOUSSET DE BELLESME, Recherches sur la digestion chez les Mollusques céphalopodes. *Comptes rendus Académie des Sciences*, t. 88, 1879, p. 304.

(2) LÉON FRÉDÉRICQ, Physiologie du Poulpe commun. *Archives de Zoologie expérimentale et générale*, t. VII, 1878, p. 578.

(3) BOURQUELOT, Recherches sur les phénomènes de la digestion chez les Mollusques céphalopodes. *Archives de Zool. expérimentale et générale*, t. VII, 1885.

(4) VICTOR HENRI, Etude des ferments digestifs chez quelques Invertébrés. *Comptes rendus de la Soc. de Biol.*, 1903, p. 1317.

brun foncé, *acide au tournesol*, il donne un précipité abondant par l'alcool et par l'ébullition, il donne la réaction du biuret.... »

FALLOISE (1) obtient chez les Céphalopodes des résultats du même ordre : il dit notamment : « Il était intéressant de rechercher quelle était la réaction du tube digestif chez les Céphalopodes à jeun et en digestion. En effet, c'est dans la cavité digestive que se déverse le suc hépatique, c'est là que les ferments exercent leur action sur les aliments. La réaction du tube digestif pourra nous apprendre si ces ferments agissent normalement en milieu acide, neutre ou alcalin. FRÉDÉRICQ mentionne que chez l'*Octopus* il a trouvé le contenu de l'appareil digestif *acide* dans toute son étendue. Nous avons fait une série de recherches à ce sujet sur l'*Eledone moschata* et l'*Octopus*. Celles-ci ont consisté à ouvrir rapidement les animaux soit à jeun, soit après qu'ils avaient mangé des Crabes depuis un temps plus ou moins long et à déterminer la réaction du contenu. Chez les Céphalopodes à *jeun*, l'œsophage et le jabot contiennent un liquide transparent légèrement *acide au tournesol*. L'estomac et le cæcum sont tantôt acides, tantôt ils contiennent un peu de liquide clair légèrement acide ou neutre. Chez les animaux en digestion, le contenu des divers segments du tube digestif est *nettement acide*, sauf dans la partie terminale de l'intestin. Une seconde série d'expériences a consisté à injecter dans la bouche, au moyen d'une seringue de Pravaz munie d'une sonde fine, une certaine quantité de solution bleue de tournesol, puis à ouvrir l'animal un certain temps après l'injection et à observer par transparence la coloration des diverses parties du tube digestif. Si l'on ouvre l'animal peu après l'injection, on trouve généralement tout le liquide injecté accumulé dans le jabot, qui se montre distendu. Il suffit alors d'exciter par des choes d'induction les deux nerfs viscéraux pour provoquer les contractions énergiques de l'appareil digestif et voir le liquide pénétrer dans ses diverses portions. Dans le jabot, la solution de tournesol reste généralement *bleue* ou prend une coloration indécise entre le bleu et le rose. Elle devient nettement rose

(1) FALLOISE, Contribution à la physiologie comparée de la digestion. La digestion chez les Céphalopodes. *Archiv. internat. de Physiologie*, vol. III, fasc. III, mars 1906.

dans l'estomac, le cæcum et l'intestin. Une solution de rouge Congo injectée dans les mêmes conditions conserve sa coloration primitive..... Nous avons examiné la réaction de plus de trente échantillons différents provenant d'*Ortopus* ou *Eledoue moschata*, soit à jeun, soit en digestion, et dans tous les cas le liquide s'est montré nettement *acide* vis-à-vis du papier bleu de tournesol. Mais, d'autre part, il ne *bleuit pas le rouge Congo* et ne *colore pas la cochenille*, ce qui permet de conclure que l'acidité n'est pas due à des acides minéraux libres, mais probablement à des sels acides. »

D'autre part, KRUKENBERG (1), GRIFFITHS (2), COHNHEIM (3) trouvent les sécrétions digestives et le contenu intestinal d'*Eledoue* et de *Sepia* alcalins.

Gastéropodes. — Chez *Aplysia limacina*, BOTAZZI (4) trouve le contenu gastrique *acide* à la phtaléine, au tournesol et à la tropéoline.

L'examen du tableau III montre la divergence des résultats obtenus par les auteurs et combien il est important d'opérer dans des conditions identiques. L'indicateur employé doit toujours être noté: un exemple vulgaire le prouve surabondamment. Le lait de vache, additionné aussitôt après la traite de phénolphtaléine, réclame pour se colorer en rose un certain volume de NaCl N/10 (pour 20 centimètres cubes, 3 cc. 3 de NaCl N/10). Le lait est donc nettement acide à la phtaléine (5). Vis-à-vis du lackmoïde il est alcalin. Le tournesol donne une réaction indécise, elle est neutre ou amphotère. On pourrait multiplier les exemples.

1 KRUKENBERG, Der Verdauungsvorgang bei einigen Cephalopoden und Pulmonaten, *Untersuchungen d. physiol. Inst. Heidelberg*, Bd. 2, 1878, p. 2, 238, 402, 418.

2 GRIFFITHS, Chemico-physiological investigations on the Cephalopod liver and its identity as a true Pankreas, *Chem. News*, 1885, t. 51, p. 160. *Proc. of the roy. Soc. Edinb.*, 1884, t. 13, p. 130.

3 COHNHEIM, Weitere Mittheilungen über Eiweissresorption Versuche an Octopoden, *Zeitschrift für physiol. Chemie*, 1902, t. 35, p. 396.

4 BOTAZZI, Contribution à la physiologie comparée de la digestion, *Arch. ital. de Biologie*, t. 35, 1901, p. 317, 336.

5 DESIGÈS, Chimie analytique, 1903, p. 790.

TABLEAU III

ESPECES ANIMALES	LIQUIDE ETUDIÉ	ÉTAT PHYSIOLOGIQUE	RÉACTION	INDICATEUR	AUTEURS
Crustacés	Liquide gastrique et sécrétion du foie	—	faibl ^e acide	—	HOPPE SEYLER, 1877
		à jeun id. en digestion id.	acide alcalin acide alcalin	Papier Lackmus ?	SCHLEMM, LANDNER, 1, 1864 KRUENBERG, 1878 STAMATI, 1888 JORDAN, 1907 STAMATI, 1888 JORDAN, 1907
Céphalopodes	Liquide du tractus digestif Liquide intestinal	à jeun	alcalin	—	KRUENBERG
		—	acide	—	Claude BERNARD
	Sécrétion hépato-pancréatique et liquide suintant du foie	en digestion	acide	—	TOURNESOL
		—	acide	—	—
	Contenu du tube digestif et tissu du foie	à jeun et en digestion	faibl ^e acide	—	—
		—	acide	—	TOURNESOL, phthaléine
Sécrétion hépato-panc. fistule Contenu des divers segments du tube digestif	à jeun	acide	—	—	
	—	alcalin	—	TOURNESOL	
Tissu du foie, sa sécrétion Tissu du foie, sue stomacal	à jeun	acide	—	—	
	—	acide	—	TOURNESOL	
Sécrétion hépato-pancréatique	Contenu gastrique id.	en pleine digestion	très acide	—	BOTAZZA, 1901
		à jeun	acide	—	id. id.
Gastéropodes	<i>Aplysia</i> <i>limacina</i>	—	—	—	—
		—	—	—	—

(1) D'après : Otto von FÜRST, Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere, Jena, 1903.

NATURE ET RÔLE DE L'ACIDITÉ DIGESTIVE DES INVERTÉBRÉS
D'APRÈS LES AUTEURS

Il reste à examiner maintenant le rôle que l'on a attribué à cette acidité.

KRIEKENBERG la croyait destinée à favoriser l'action pepsique : BOURQUELOT soutint plus tard, comme nous l'avons dit déjà, que l'acidité des sucs digestifs des Céphalopodes était impuissante à permettre cette action.

D'autres physiologistes lui attribuèrent un pouvoir antiseptique. BOTAZZI en explique ainsi le rôle et la nature chez *Aplysia limacina* :

« L'hépto-pancréas, pour assurer une forte réaction acide du contenu gastrique et par conséquent en empêcher la putréfaction, sécrète et verse dans l'estomac ce corps à fonction acide (acide pentosique) provenant de l'oxydation probable dans l'hépto-pancréas d'un groupe alhédydique d'un hydrate de carbone (pentosane alimentaire).... Il est certain que grâce à cette acidité le contenu gastrique entier (liquide et détritux alimentaires) peut être conservé pendant un certain nombre de jours (une semaine et plus) à une température relativement élevée (25°-27°) sans qu'on y observe de putréfaction, tandis que des morceaux d'*Utra* triturés et broyés dans l'eau de mer commencent déjà, après vingt-quatre, trente-six heures à dégager une odeur marquée de putréfaction. »

FALLOISE (*loc. cit.*) croit que l'acidité des sucs digestifs d'*Octopus* et d'*Eledone* « n'est pas due à des acides minéraux libres, mais probablement à des sels acides. »

BIEDERMANN et MORITZ (1), chez *Helix*, attribuent une action antiseptique à l'acide lactique que l'on trouve dans le suc stomacal.

JORDAN (*loc. cit.*) doute que l'acidité du suc d'*Astacus* ait un rôle antiseptique utile, car il se putréfie très vite et devient alcalin. Cet auteur pense néanmoins que chez certains êtres,

(1) W. BIEDERMANN et MORITZ (1899), Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung III. Ueber die Funktion der sog. Leber der Mollusken. *Arch. ges. Physiol.*, Bd. 73, p. 1, 86.

d'après les travaux de GREENWOOD (1) chez les Rhizopodes, de MOUTON (2) chez les Amibes, de NIERENSTEIN (3) chez *Paramecium*, la réaction acide qui se produit dans les vacuoles au début de l'ingestion des substances alimentaires a un pouvoir antiseptique dû à un acide minéral libre, mais n'est nullement caractéristique d'une phase peptique de la digestion, contrairement à l'opinion de Metalnikoff (4).

Recherches personnelles

Les recherches effectuées sur un grand nombre de sucs digestifs d'Invertébrés ont été faites au point de vue qualitatif et au point de vue quantitatif.

On a opéré de la façon suivante : Le suc digestif était recueilli sur l'animal vivant, à l'état de jeûne ou de digestion; son volume était exactement noté. On examinait aussitôt son action sur le papier bleu et rouge de tournesol, sur le rouge Congo, lequel était abandonné à l'air et examiné de temps en temps.

Lorsque le suc se montrait acide, on en dosait l'acidité dans ses divers facteurs : acidité forte, acidité faible, acidité après formol. L'acidité forte correspond, nous l'avons déjà dit, à celle qui est dosable au diméthylamidoazobenzol; elle est due à une acidité minérale libre. Les acides organiques et la combinaison des acides minéraux et des substances protéiques ne peuvent être dosés avec ce réactif.

Les corps acides insensibles au diméthylamidoazobenzol, mais dosables à la phtaléine, constituent l'acidité faible.

Enfin rappelons que l'acidité après formol, qui prend naissance

(1) M. GREENWOOD (1886). On the digestive Process in some Rhizopods. *Journ. Physiol.*, London, vol. 7, p. 253-273. — 1887, *Journ. Physiol.*, London, vol. 8, p. 263-287. — (1894, On the constitution and Mode of formation of « Food vacuoles » in Infusoria, as illustrated by the History of the Processus of digestion in *Carchesium polypinum*. *Phil. Trans. Roy. Soc. London*, vol. 135, p. 355-383.

GREENWOOD et SAUNDERS 1894, On the Role of Acid in Protozoan digestion. *Journ. Physiol.*, London, vol. 16, p. 441-467.

(2) HENRI MOUTON (1902), Recherches sur la digestion chez les Amibes et sur leur diastase intra-cellulaire. *Ann. Inst. Pasteur*, ann. 16, p. 457-509.

(3) EDMUND NIERENSTEIN (1905), Beiträge zur Ernährungsphysiologie der Prolisten. *Zeitschr. allg. Physiol.*, 1, 5, p. 434-516.

(4) S. METALNIKOFF (1905), Ueber die intrazelluläre Verdauung. *Bull. Acad. Sc. Saint-Petersbourg*, 1, 19, p. 187-193.

lorsque le liquide préalablement neutralisé est additionné de formol neutre, est due à la présence d'amino-acides.

Technique. — Quelques centimètres cubes de suc digestif sont versés dans un vase, puis additionnés de quelques centimètres cubes d'eau distillée et d'une ou deux gouttes de réactif de Töpfer. Si le liquide rougit, c'est qu'il contient un acide minéral libre. Il suffit de verser de la NaOH N/10 jusqu'à coloration jaune pour saturer cette acidité (acidité forte).

On ajoute alors une ou deux gouttes de phtaléine, puis de nouveau de la NaOH N/10 jusqu'à coloration rose. Enfin on ajoute encore 10 centimètres cubes de formol neutre au demi et on sature l'acidité mise en liberté par de la NaOH N/10 jusqu'à coloration rouge franche.

La quantité d'alcali nécessaire pour le titrage de l'acidité forte, faible, après formol est notée. Dans le tableau IV, cette acidité est exprimée par la quantité de NaOH N/10 nécessaire pour saturer l'acidité contenue dans 50 centimètres cubes de suc digestif (*Tableau IV*).

On constate que :

1° Aucun des sucs digestifs étudiés ne s'est montré alcalin à la phtaléine.

2° Aucun suc n'a pu bleuir le rouge Congo ni rougir le réactif de Töpfer. Donc, ils ne contiennent pas d'acides minéraux libres.

3° La réaction est variable au tournesol soit avec le même suc, soit avec des sucs différents. Elle est le plus souvent peu nette. Nous avons fréquemment observé que lorsque le papier bleu est imbibé de liquide digestif une teinte lie de vin apparaît aussitôt, puis disparaît peu à peu dès que le papier n'est plus humide. Au contraire, le papier rose reste intact tant qu'il est humide, mais laisse apparaître une légère teinte bleue après dessiccation.

Les réactions amphotères sont fréquentes, beaucoup plus fréquentes même que ne l'ont signalé les auteurs.

Les sucs pur recueillis sur l'animal à jeun sont chez certains Crustacés (*Maja*, *Cancer*) neutres au tournesol et parfois légèrement alcalins, acides chez d'autres (*Homarus*). Le suc du caecum des Céphalopodes est constamment acide (*Loligo*).

L'examen particulier des sucs digestifs acides n'a jamais

TABLEAU IV

ESPÈCES ANIMALES	ÉTAT PHYSIOLOGIQUE	Acidité exprimée en NaOH N. 10 pour 5 cc. de liquide			Réaction aux divers papiers réactifs			Méth. N pour 1 cc de Suc	
		Acidité forte	Acidité faible	Acidité après formol	Tourmesol rouge	Tourmesol bleu	Rouge Congo		
Suc gastrique pur de Gluier (Gastérite Frémond)									
<i>Maja</i> n° 1 n° 2 n° 3 <i>Cancer</i> n° 1 n° 2 <i>Homarus</i> n° 1 n° 2	à jeun id. en digestion à jeun à jeun	4,80	0,90	0,30			+	+	0,40
		0,00	0,30	0,20	+	néant	néant	néant	3,48
		0,00	0,70	0,50	+	néant	néant	néant	
		0,00	1,20	1,20		+	+		
		0,00	0,40	0,35			néant	néant	
		0,00	3,00	1,00		néant		néant	
<i>Septa</i> n° 1 n° 2 n° 3 <i>Lodigo</i> n° 1 n° 2 n° 3 <i>Octopus</i> n° 1 n° 2	à jeun en digestion digestion à jeun à jeun à jeun	0,00	0,40	1,20		néant	néant	néant	12,32
		0,00	0,90	1,50		néant	néant	néant	
		0,00	1,80	2,80		néant		néant	
		0,00	10,00	19,00		néant		néant	30,00
		0,00	9,00	18,00		néant		—	à
		0,00	12,00	20,00		néant			65,00
<i>Aplysia</i> n° 1 n° 2 n° 3	à jeun à jeun digestion	0,00	0,5	0,20	néant		néant	néant	2,5
		0,00	0,20	0,10	néant	néant	néant	néant	à
		0,00	0,60	0,30	néant	néant	néant	néant	3,5

décélé l'existence d'acidité forte titrable au diméthylamidoazobenzol, même lorsque l'acidité faible était élevée (3 chez *Homarus*, 9 à 12 du suc du caecum de *Loligo*).

L'acidité faible et l'acidité après formol varient largement chez divers individus (de 0,3 à 12 pour l'acidité faible : de 0,2 à 20 pour l'acidité après formol). Le suc du caecum de *Loligo* se différencie très nettement de tous les autres sucs digestifs par le chiffre élevé de son acidité faible (9 à 12), de son acidité après formol (18 à 20) et par sa richesse en azote (36 à 45 milligrammes pour 1 centimètre cube de suc). Il contient toujours une grande quantité d'amino-acides, comme en témoigne l'acidité après formol et la réaction de l'eau bromée. Il suffit, en effet, d'y ajouter quelques gouttes d'eau bromée pour obtenir la réaction violette caractéristique du tryptophane.

Chez *Homarus*, l'acidité faible varie autour du chiffre 3, l'acidité après formol autour de 1.

Enfin chez des êtres tels que *Maja*, *Sepia*, on trouve un parallélisme évident entre l'acidité directe et l'acidité après formol. Les sucs digestifs d'*Aplysia fasciata* et d'*Aplysia punctata* ne se sont jamais montrés acides au tournesol. A la phthaléine et après formol, on trouve des chiffres extrêmement faibles (0,2 à 0,6 environ).

De ces faits se dégagent quelques conséquences précises. C'est d'abord l'absence d'acidité forte dans les sucs digestifs des Invertébrés : ceci rend improbable l'existence d'un ferment peptique analogue à celui des Vertébrés, puisque la pepsine exerce surtout son action protéolytique en présence d'acidité forte.

D'autre part, le parallélisme observé, dans quelques cas, entre l'acidité directe à la phthaléine et après formol laisse supposer que les amino-acides représentent le principal facteur de cette acidité. BERTHELOT (1), en effet, a montré que les solutions pures d'amino-acides sont toujours acides à la phthaléine et au tournesol. SÖRENSEN (2) a indiqué aussi qu'elles sont acides au papier Lackmus. L'expérience, d'ailleurs, vient à l'appui d'une telle opinion. Si, en effet, on place au bain-marie à 40° une solution neutre de

1 BERTHELOT, SUR l'acidité de quelques sécrétions animales. *Annales de Chimie et de Physique*, t. XXV, p. 28-29.

2 SÖRENSEN, *Zeitschrift für physiol. Chemie*, vol. 63, fasc. 1.

caséine ou de gélatine avec du suc digestif de *Maja* ou de *Sepia*, on trouve au bout d'un certain temps de digestion une réaction acide à la phtaléine, le papier bleu de tournesol est coloré en rouge vineux ; le papier rouge bleuit légèrement. Après addition de formol neutre, on constate une élévation notable de l'acidité, qui témoigne de la présence des amino-acides. Cette acidité s'est donc formée au cours du processus digestif. Les amino-acides constituent donc le facteur principal de l'acidité des sucs digestifs de beaucoup d'Invertébrés et en particulier de ceux de *Maja*, *Cancer*, *Sepia*, *Loligo*.

On dira, en résumé, que la plupart des sucs digestifs des Invertébrés sont habituellement neutres ou peu acides. Dans tous les cas, leur acidité paraît insuffisante pour permettre l'action pepsique. Son rôle antiseptique paraît bien peu important.

Chez certains êtres tels que Maja et Cancer pour les Crustacés décapodes, Sepia et Loligo, pour les Mollusques céphalopodes (suc du caecum spiral), cette acidité est manifestement due aux amino-acides.

CHAPITRE IV

Etude de la Protéolyse chez quelques types d'Invertébrés

I

CRUSTACÉS DÉCAPODES

Anatomie de l'appareil digestif. -- Chez les divers Crustacés du type *Maja* (fig. 1), le tube digestif s'étend en ligne droite, sans aucune circonvolution, depuis l'estomac (*E*) jusqu'à l'anus. Dans presque toute sa longueur, il présente un revêtement interne de chitine, particulièrement épais au niveau de l'estomac (qui a un rôle masticateur), et de nombreuses glandes vraisemblablement destinées à fournir un liquide muqueux qui facilite la progression des aliments. La partie qui nous intéresse est le segment d'origine endodermique, faisant suite immédiatement à l'estomac et compris entre les deux caecums antérieurs (*Ca*) et le caecum postérieur (*Cp*) : il est désigné sous le nom d'intestin moyen (*I*). Outre les trois caecums, sont annexés à cette partie de l'intestin une multitude de tubes qui constituent un organe déversant un liquide jaune brun : on l'a d'abord appelé foie, puis hépatopancréas (*F*) enfin organe entérique (GRIEYSSE).

Récemment GRIEYSSE (1) a donné une excellente description de l'intestin moyen, qui est particulièrement développé chez les *Maja*. Sa longueur y est plus grande que chez beaucoup d'autres genres : les caecums sont longs et flexueux. Toutes ces parties sont revêtues intérieurement de longs éléments cylindriques à plateau strié, tous semblables entre eux, sans différen-

(1) GRIEYSSE, Etude des organes digestifs chez les Crustacés. *Arch. d'anatomie microscopique*, t. IX, 1906-1907.

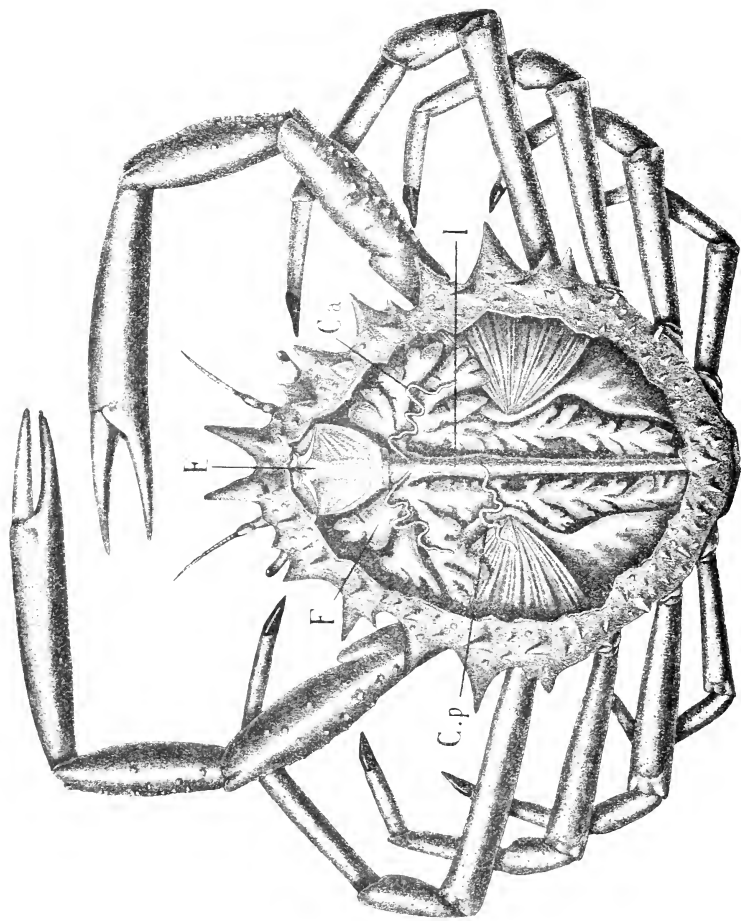


FIG. 1. — Appareil digestif de *Maja*.

E., Estomac. — *Ca.*, Caecum antérieur. — *C.p.*, Caecum postérieur. — *F.*, Hépatopancréas. — *I.*, Intestin moyen.

ciation. Les culs-de-sac qui constituent l'hépatopancréas sont très longs et assez gros ; leurs cellules longues et minces, extraordinairement tassées les unes sur les autres, possèdent souvent plusieurs noyaux (fig. 2) : une multitude de vacuoles décomposent le protoplasma comme une fine dentelle et sont souvent encombrées de graisse. Dans la partie moyenne de chaque caecum, les cellules prennent un développement considérable : certaines deviennent beaucoup plus hautes (jusqu'à 200 μ) et parfois présentent une grande vacuole. D'aspect assez varié, elles présentent toutes les marques d'une grande activité. Elles rempliraient deux fonctions principales : fonction d'absorption et fonction de sécrétion.

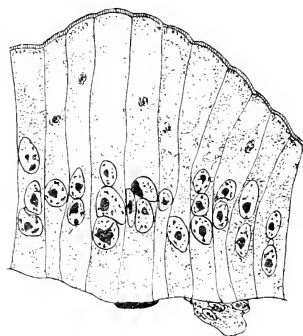


FIG. 2. — Cellules simples des caecums entériques de *Carcinus maenas*.
D'après GUESSE

Suc digestif. — Le suc digestif sécrété par la glande hépatopancréatique est déversé par plusieurs conduits dans la poche stomacale. Pour l'obtenir, STAMATI (1) eut le premier recours au procédé des fistules d'après un procédé indiqué par DASTRE. A cet effet, il faisait communiquer la poche stomacale avec l'extérieur par l'intermédiaire d'une canule métallique, fixée d'une façon spéciale sur la carapace de l'animal.

Cet auteur parvint ainsi à constater que « la sécrétion de la glande digestive est continue, puisqu'il y a toujours du liquide dans l'estomac. »

ACTION PROTÉOLYTIQUE

HOPPE-SEYLER (2) chez *Astacus fluviatilis*, CATTANEO (3) chez

(1) STAMATI, Recherches sur la digestion chez l'Écrevisse, *Bulletin de la Société zoologique de France*, séance du 12 juin 1888., p. 147.

(2) HOPPE-SEYLER, Ueber Unterschiede im chemischen Bau und in der Verdauung höherer und niederer Tiere, *Pflüger's Archiv für Physiol.*, 14, 1876, p. 393-400.

(3) CATTANEO, Sulla struttura dell'intestino dei Crustacei decapodi e sulle funzioni delle loro glandule enzimatiche, *Atti della Soc. italiana di Scienze natur.*, 30, 1887, p. 238-272.

Palaemonus, *Homarus*, *Maja*, *Carcinus* et *Eriphia*, KRUKENBERG (1) chez diverses espèces, ont depuis longtemps signalé le pouvoir peptonisant que l'extrait aqueux du foie de ces Crustacés possède vis-à-vis de la fibrine.

HOPPE-SEYLER signale que le suc stomacal de l'Écrevisse digère assez bien la fibrine crue, plus lentement les albumines coagulées. La digestion s'accomplit plus rapidement à 40° qu'à 13° : une trace d'acide chlorhydrique la retarde, et 0,2 pour 100 l'arrête.

D'après KRUKENBERG, les ferments protéolytiques ne sont pas les mêmes chez les divers Crustacés. Chez *Homarus vulgaris* et *Nephrops norvegicus*, il n'y aurait que de la pepsine et pas de trypsine. Cette « homaro-pepsine », non identique à la pepsine des Vertébrés, n'agirait plus en présence d'acide oxalique et n'attaquerait pas les albumines coagulées. Les sucs digestifs d'*Eriphia spinifrons*, de *Squilla* ne contiendraient que de la trypsine et pas de pepsine. Au contraire, ceux d'*Astacus fluviatilis*, *Maja squinado*, *Palaemonus vulgaris*, *Carcinus maenas* contiendraient à la fois les deux ferments.

Pour établir ce fait, l'auteur se base sur la destruction de la pepsine en présence de soude diluée, tandis que la trypsine résiste à l'action de la soude mais est détruite en présence de légères traces d'acidité chlorhydrique. Donc, tel suc qui agirait aussi bien en milieu faiblement alcalin qu'en milieu acide contiendrait les deux ferments.

Enfin KRUKENBERG met en doute l'identité de la trypsine d'*Astacus* et de celle des Vertébrés, car la première ne décomposerait pas les albumines jusqu'aux amino-acides. STAMATI (*loc. cit.*) signale aussi l'action peptonisante du suc digestif d'*Astacus* sur la fibrine; mais cet auteur n'a étudié ni les conditions de milieu ni les produits de l'hydrolyse digestive.

JORDAN (*loc. cit.*) a trouvé que ni l'extrait hépato-pancréatique ni la sécrétion digestive d'*Homarus* et d'*Astacus* n'agissent en présence d'acide libre. Il conclut que, tant par la réaction du milieu d'action que par la nature des produits finaux de la digestion, les protéases des Crustacés se comportent comme la trypsine.

(1) KRUKENBERG, Vergleichend. physiologische Beiträge zur Kenntniss der Verdauungsvorgänge, *Unters. d. Physiol. Inst. Heidelberg*, 2, 1878, p. 1-43.

car il a pu caractériser du tryptophane, de la leucine et de la tyrosine.

Recherches personnelles sur la digestion protéolytique des Crustacés.

Toutes nos recherches ont été exécutées à l'aide de suc digestif recueilli directement dans la poche stomacale de grands Crustacés décapodes (*Maja squinado* et *Cancer pagurus*). On peut facilement s'en procurer, soit en enlevant la carapace à la face dorsale, au niveau de la poche stomacale et il suffit alors, après avoir incisé cette dernière, d'aspirer à l'aide d'une pipette le suc qu'elle contient, presque toujours assez abondamment; soit en pratiquant le cathétérisme par la voie buccale à l'aide d'une pipette munie d'une poire aspiratrice. Le liquide ainsi obtenu est brun foncé chez *Maja*, verdâtre chez *Cancer*. Il est neutre à la phtaléine, très légèrement alcalin au tournesol. Pendant le cours de la digestion, il est légèrement *acide* au tournesol, mais cette acidité, toujours faible, n'est jamais composée d'acide libre.

Etude qualitative du pouvoir protéolytique. — Le suc digestif des Crustacés, comme d'ailleurs celui de tous les Invertébrés à pouvoir protéolytique, agit directement sur les diverses substances protéiques. Point n'est besoin d'employer des agents activateurs analogues à ceux qui sont indispensables à l'action du suc pancréatique des animaux supérieurs.

EXPÉRIENCES

Action sur l'ovalbumine. — Un cube de blanc d'œuf cuit -- (3 minutes à 90°), du poids de 250 milligrammes, est mis dans un tube à essai avec du suc digestif de *Maja* (4 centimètres cubes, - au bain-marie à 40°. Après 24 heures, il est totalement digéré.

Dans les mêmes conditions, ce suc digestif dissout 18 millimètres d'un tube de METTE, en 36 heures.

Action sur la gélatine. — 4 centimètres cubes de gélatine neutralisée, à 10 pour 100, sont additionnés de 0 cc. 1 de suc digestif de

Maja. Après 3 heures au bain-marie à 40°, la gélification ne se produit plus lorsqu'on place le tube à essai dans l'eau refroidie.

Action sur le lait. — Si à 10 centimètres cubes de lait de vache, dans un tube à essai placé au bain-marie à 40°, on ajoute une goutte de suc digestif de *Maja*, la coagulation du lait se produit promptement (4 minutes environ). On peut retourner le tube sans laisser tomber une goutte de liquide. Mais bientôt le coagulum commence à se dissoudre et après quelques heures, il a disparu presque complètement. Le lait a été transformé en une liqueur claire. Les acides HCl, AzO'H, ajoutés goutte à goutte à ce liquide de digestion, ne donnent pas de précipité. La caséine a donc été digérée.

Etude du milieu d'action. — Plusieurs procédés peuvent être utilisés. On peut, par exemple, acidifier ou alcaliniser le suc digestif et déterminer ensuite son pouvoir protéolytique. Toutefois, on ne doit acidifier que faiblement, car il est indispensable de ne pas précipiter la matière albuminoïde, ce qui entraînerait une notable partie du ferment. La même remarque s'applique à l'acidification de la matière à digérer, surtout si l'on emploie des solutions de matières protéiques natives, puisque la caséine du lait précipite dès que l'acidité lactique atteint un certain degré. On opérera donc en milieu ne produisant pas de précipitation.

EXPÉRIENCES

On met dans un tube à essai *a* placé au bain-marie à 40°, 0 cc. 5 de suc digestif de *Maja* + 0 cc. 1 de HCl N 3 + 0 cc. 4 de H₂O + tube de METTE = acidité pour 1.000, 0,7. Après 40 heures, pas trace de digestion.

Tube b. — 0 cc. 5 suc digestif de *Maja* + (0) d'HCl N 3 + 0 cc. 3 d'H₂O + tube de METTE = acidité pour 1.000, (0). Après 40 heures, 18 millimètres sont digérés.

Tube c. — 0 cc. 5 suc digestif de *Maja* + 0 cc. 1 CO²Na² N/3 + 0 cc. 4 d'H₂O + un tube de METTE = alcalinité 1,0 pour 1.000. 8^{mm}7 sont digérés.

Tube d. — 0 cc. 5 suc digestif de *Maja* + 0,3 CO²Na² N/3 + 0 cc. 2 d'H₂O + un tube de METTE = alcalinité 3,1 pour 1.000. Pas trace de digestion.

Ces expériences montrent nettement que le milieu le plus favorable à l'action du ferment est le milieu neutre.

SENSIBILITÉ DU SUC DIGESTIF A L'ACIDE ET A L'ALCALI

On varie l'expérience en recherchant comment se comporte l'action protéolytique en milieu acide (HCl) ou alcalin (CO^3Na^3), car la pepsine est détruite rapidement en milieu alcalin tandis que la trypsine, non altérée en milieu alcalin, perd ses propriétés en milieu acide.

EXPÉRIENCES

Dans un tube à essai *a* on introduit 0 cc. 5 de suc digestif de *Maja* + 0 cc. 1 d'HCl N/3 + 0,4 H²O. Acidité pour 1.000 = 0,7.

Tube b. — 0 cc. 5 suc de *Maja* + 0) d'HCl N/3 + 0,5 H²O. Acidité pour 1.000 = 0).

Tube c. — 0 cc. 5 suc de *Maja* + 0,3 CO^3Na^3 N/10 + 0,2 H²O. Alcalinité pour 1.000 = 1,5.

Tube d. — 0 cc. 5 suc de *Maja* + 0 cc. 5 CO^3Na^3 N/10 + 0) H²O. Alcalinité = 2,6 pour 1.000.

On neutralise exactement après 12 heures et on ramène au même volume par addition de H²O. On introduit alors dans chaque tube à essai un tube de METTE et on porte au bain-marie à 40°.

Résultats après 12 heures: *Tube a*, dissolution de 2^{mm}8; *tube b*, 10^{mm}5; *tube c*, 10 millimètres; *tube d*, 6 millimètres.

La diastase paraît donc encore ici s'accommoder mieux du milieu neutre que du milieu acide où elle a été en partie détruite. Le milieu alcalin, dans nos conditions d'expériences, lui a été moins rapidement nuisible.

ÉTUDE DE L'ACTION HYDROLYTIQUE

Ces expériences confirment, mais en les précisant, des faits déjà en partie connus. Nous allons maintenant déterminer la valeur hydrolytique de ce suc digestif. De ce côté rien n'avait encore été fait.

Il est cependant du plus grand intérêt de savoir comment un ferment protéolytique décompose la matière protéique. C'est là le caractère qui permettra de le distinguer.

Amène-t-il la dégradation de la matière albuminoïde seulement jusqu'à la phase de peptone? Est-il capable de libérer des acides aminés? Quelle est son action sur les polypeptides?

VALEUR DIGESTIVE COMPARÉE D'APRÈS LA NATURE DU MILIEU
D'ACTION DU SUC DIGESTIF DE *Maja* ET DE LA PEPSINE

Voici une série d'expériences qui ont été réalisées en suivant la technique exposée au chapitre premier.

Préparation de la solution protéique. — Nous avons employé l'ovalbumine liquide qui, comme on sait, est facilement digérée par la pepsine, mais difficilement attaquée par la trypsine; toutefois, certaines précautions doivent être prises pour éviter sa précipitation par le milieu acide. Nous avons employé le procédé suivant déjà utilisé par SÖRENSEN.

On dilue au quart 50 centimètres cubes d'ovalbumine par une solution physiologique de NaCl. On ajoute 4 centimètres cubes d'HCl normal. On agite. Un précipité se forme. On laisse reposer 24 heures à la glacière. On filtre. Le filtrat est limpide, mais il est encore riche en matière protéique. Il peut être acidifié ou alcalinisé sans précipiter.

A) 120 centimètres cubes de ce filtrat + 10 centimètres cubes d'eau distillée ne renferment pas d'acidité libre sensible au diméthylamidoazobenzol. Acidité faible à la phthaléine = 1 pour 1.000.

B) 60 centimètres cubes de ce même filtrat + 5 centimètres cubes d'HCl normal donnent une solution qui contient: Acidité forte = 2 pour 1.000 + acidité faible = 1 pour 1.000.

Préparation de la solution de ferment. — 1° On dissout dans 15 centimètres cubes d'eau 0 gr. 500 de pepsine du commerce (titre 100); 2° on mélange 1 cc. 5 de suc digestif de *Maja* à 13 cc. 5 d'H₂O.

EXPÉRIENCES

Tube a. — Il contient 20 centimètres cubes de la solution protéique A faiblement acide + 5 centimètres cubes de solution de pepsine. On dose immédiatement dans ce mélange N¹, (N² + N³), N³.

Tube b. — Il renferme les mêmes substances, mais on le porte aussitôt au bain-marie à 40° où on le laisse 15 heures. On dose alors (N² + N³), N³.

Tube c. — Il renferme 20 centimètres cubes de la solution protéique B + 5 centimètres cubes de solution de pepsine. Le mélange est porté 15 heures à 40°. On dose N² + N³, N³.

Des mélanges identiques sont faits en substituant à 5 centimètres cubes de solution de pepsine 5 centimètres cubes de suc digestif de *Maja*. Les mêmes dosages sont effectués.

TABLEAU V

MILIEU D'ACTION	SUCS MESURÉS	RÉPARTITION en N (en 20 cc. liquide)					GAIN NET		RAPPORTS	
		N ¹	N ²	N ³	N ⁴	N ⁵	N ¹	N ²	$\frac{100(N^2+N^3)}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$
Acidité faible 1 gramme pour 1.000	Pepsine	Avant digestion	66,70	57,74	4,48	4,48	—	—	—	—
		Après digestion	66,70	55,74	6,38	4,38	1,90	0,10	3,5	19,0
	<i>Maja</i>	Avant digestion	83,60	72,29	4,48	6,83	—	—	—	—
		Après digestion	83,60	58,39	13,48	11,73	9,00	4,90	19,3	1,8
Acidité faible 1 gramme pour 1.000 +	Pepsine	Avant digestion	66,70	57,74	4,48	4,48	—	—	—	—
		Après digestion	66,70	00,00	60,00	6,70	55,52	2,22	100,00	25,0
Acidité forte 2 grammes pour 1.000	<i>Maja</i>	Avant digestion	83,60	72,29	4,48	6,83	—	—	—	—
		Après digestion	83,60	72,29	4,48	6,83	0,00	0,00	0,00	—

Les résultats obtenus sont indiqués dans le Tableau V. L'activité protéolytique globale exprimée par le rapport

$$\frac{100(N^2 + N^3)}{N^1}$$

a été très faible pour la pepsine en milieu à acidité faible (3.3 pour 100).

Le suc digestif de *Maja* dans ce même milieu a eu une action digestive beaucoup plus élevée (19.3 pour 100).

En milieu fortement acide, au contraire, la digestion pepsique a été complète (100 pour 100), tandis que celle de *Maja* a été nulle (0 pour 100).

Les indications fournies par le rapport $\frac{N^2}{N^3}$ sont intéressantes :

Pour la pepsine, en acidité faible, il égale 19, et 25 en acidité forte.

Pour le suc digestif de *Maja*, en acidité faible, il égale seulement 1,8.

Comme nous le savons, plus le facteur N^3 sera faible, plus la valeur du rapport sera élevée, toutes choses égales.

Avec un suc gastrique pur, N^3 doit être nul, en conformité avec les recherches récentes d'ABDERBALDEX, établissant que, dans les conditions physiologiques ordinaires, la pepsine n'amène pas la dégradation des substances protéiques jusqu'aux amino-acides. Or, les pepsines commerciales étant toujours plus ou moins souillées de trypsine et d'érepsine, la valeur de N^3 dans ces conditions d'expérience est toujours appréciable.

Quoi qu'il en soit, l'étude de ce rapport fournit des indications dignes d'être retenues. Le suc digestif de *Maja* se distingue très nettement de la pepsine tant par les conditions de milieu qu'il réclame pour agir que par la nature des produits digestifs formés. Le rapport $\frac{N^2}{N^3}$ étant voisin de l'unité, on doit en conclure que, dans nos conditions d'expériences, l'action créptique est à peu près égale à l'action peptonisante.

ACTION DU SUC DIGESTIF DE *Maja* SUR DIVERSES MATIÈRES PROTÉIQUES

Il était intéressant de connaître l'action protéolytique globale d'une part, peptonisante et éreptique d'autre part sur diverses matières protéiques.

EXPÉRIENCES

Action sur la caséine. — On prend 21 cc. 5 de lait dégraissé et dilué de moitié. On ajoute 0 cc. 5 de suc digestif de *Maja*. On prélève à ce mélange 2 centimètres cubes pour le dosage N^1 (azote total); 5 centimètres cubes servent au dosage de $(N^2 + N^3)$, 5 centimètres cubes au dosage de N^4 .

Les 10 centimètres cubes qui restent sont laissés 15 heures à 40°.

Après digestion, on dose $(N^2 + N^3)$ et N^4 , comme précédemment, dans 5 centimètres cubes de liquide. Les résultats exprimés en Az sont rapportés à 20 centimètres cubes de liquide.

Action sur l'ovalbumine. — On neutralise de la solution d'ovalbumine obtenue comme il a été indiqué plus haut. On en prend 21 cc. 5 qu'on additionne de 0 cc. 5 de suc digestif et on effectue les mêmes dosages que précédemment.

Action sur divers sérums sanguins d'Invertébrés. — Ces sérums sont riches en substances protéiques, comme en témoigne le dosage de N^1 . Ils sont préalablement dilués de moitié avec une solution physiologique de NaCl. 21 cc. 5 sont additionnés de 0 cc. 5 de suc digestif de *Maja* et l'expérience est conduite comme précédemment.

Le Tableau VI (p. 54) contient les résultats obtenus.

L'activité protéolytique globale

$$\frac{100 (N^2 + N^3)}{N^1}$$

est variable suivant les diverses substances albuminoïdes employées.

La caséine a été parfaitement digérée (96,7 pour 100).

L'ovalbumine, au contraire, a été faiblement attaquée (10 pour 100).

Les sérums ont été digérés dans des proportions variables : 70,6 pour 100 pour *Homarus*, 55,9 pour 100 pour *Sepia*, 52,7 pour 100 pour *Cancer*, 44,8 pour 100 pour *Maja*.

TABLEAU VI

SOLUTIONS PROTÉIQUES	DURÉE DES DIGESTIONS	RÉPARTITION en N in 20 cc. liquide				GAIN NET		RAPPORTS	
		N ⁰	N ¹	N ²	N ³	N ²	N ³	$\frac{100(N^2+N^3)}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$
Caséine	Avant digestion	68,00	44,26	0,94	2,80	—	—	—	—
	Après 15 heures	68,00	1,70	21,10	23,20	20,16	22,50	96,7	0,9
Ovalbumine	Avant digestion	70,00	61,10	4,65	4,65	—	—	—	—
	Après 15 heures	70,00	34,88	7,28	7,84	2,83	3,39	10,00	0,8
Sérum de <i>Maja</i>	Avant digestion	70,00	63,32	0,00	4,48	—	—	—	—
	Après 15 heures	70,00	36,50	13,12	18,78	13,12	14,00	44,80	1,0
Sérum de <i>Cancer</i>	Avant digestion	74,00	70,64	0,00	3,36	—	—	—	—
	Après 15 heures	74,00	33,72	19,00	21,28	19,00	17,92	52,7	1,0
Sérum de <i>Homarus</i>	Avant digestion	98,00	92,50	0,00	3,60	—	—	—	—
	Après 15 heures	98,00	27,54	33,60	36,96	33,60	31,36	70,6	1,0
Sérum de <i>Sepia</i>	Avant digestion	86,00	82,64	0,00	3,36	—	—	—	—
	Après 15 heures	86,00	36,74	23,30	23,76	23,30	22,40	33,9	1,0
Gélatine neutre	Avant digestion	120,00	—	—	4,48	—	—	—	—
	Après 15 heures	120,00	—	—	39,20	—	34,72	28,9	—

Le rapport $\frac{N^2}{N^1}$ a une constance remarquable dans toutes ces expériences. Il est voisin de l'unité. Il montre que les quantités de peptones et d'acides aminés libérés sont sensiblement égales.

ACTION DU SUC DIGESTIF DE *Maja* SUR LA CASÉINE, APRÈS DES TEMPS VARIABLES A LA MÊME TEMPÉRATURE

L'attaque facile de la caséine par le suc digestif de *Maja* nous a engagé à faire une étude spéciale de ce processus digestif après des temps variables à la même température, dans le but de préciser davantage les propriétés du ferment.

EXPÉRIENCES

On prend 80 centimètres cubes de lait dilué de moitié, on l'additionne de 2 centimètres cubes de suc digestif de *Maja*. On fait des prises pour doser N^1 , $N^2 + N^1$, N^3 ; 2 centimètres cubes pour N^1 , 3 centimètres cubes pour $N^2 + N^1$, 3 centimètres cubes pour N^3 . On porte au bain-marie à 40° le liquide de digestion. Après 30 minutes, 2 heures, 3 heures, 11 heures, 23 heures, on fait de nouvelles prises de 3 centimètres cubes pour déterminer la valeur de $(N^2 + N^1)$ et de N^3 . (V. Tableau VII, p. 122).

On constate qu'après 30 minutes, 77 pour 100 de la caséine ont déjà été digérés. L'action se ralentit dans la suite pour aboutir progressivement à un maximum voisin du reste de la digestion totale (93 pour 100) après 11 heures. A partir de ce moment, il paraît se former dans le milieu digestif de nouveaux corps précipitables par l'acide trichloracétique, car, après 23 heures, 90,6 pour 100 seulement de la caséine restent digérés. Ce phénomène s'est reproduit dans chacune de nos expériences, nous n'avons pas réussi à en trouver une explication satisfaisante.

Les variations du rapport $\frac{N^2}{N^1}$ sont intéressantes : On remarque sa diminution progressive à partir de 30 minutes : de 3,6 il aboutit à 0,8 après 13 heures : cela signifie que la peptonisation est très rapide dès le début de la digestion, la mise en liberté des acides aminés est au contraire progressive.

TABLEAU VII

TEMPS	RÉPARTITION DE N in 20 cc. liquide				GAIN NET			RAPPORTS	
	N ¹	N ²	N ³	N ⁴	N ² +N ³	N ²	N ³	$\frac{100(N^2+N^3)}{N^4}$	$\frac{N^2}{N^4}$
	Avant digestion	47,60	2,24	42,00	3,36				
Après 30 minutes	47,60	26,88	10,64	10,08	31,36	24,64	6,72	77,0	3,6
— 2 heures	47,60	24,96	7,28	13,36	34,72	22,72	12,00	82,6	1,9
3 heures	47,60	23,22	3,92	18,46	38,08	22,98	15,10	90,6	1,5
11 heures	47,60	24,19	2,80	20,61	39,20	21,95	17,25	93,3	1,2
23 heures	47,60	20,16	3,92	23,32	38,08	17,92	20,16	90,6	0,8

La peptonisation atteint vite le degré maximum pour diminuer ensuite du fait de la formation des acides aminés.

ACTION DU SUC DIGESTIF DE *Maja* SUR LA CASÉINE À DIVERSES TEMPÉRATURES

EXPÉRIENCES

Dans une série de tubes à essais contenant 21 cc. 5 de lait dilué de moitié, on ajoute 0 cc. 5 de suc digestif de *Maja*. Dans l'un de ces tubes (témoin) on fait des prises immédiates pour le dosage de N^1 , $N^2 + N^3$, N^4 . On place les autres au bain-marie à des températures variables : 12°, 40°, 60°, 80° pendant 10 minutes.

On dose ensuite dans chaque tube ($N^2 + N^3$), N^4 . (V. *Tableau VIII*, p. 58.)

Le maximum d'action s'est accompli à 60° : 90,6 pour 100 de la caséine ont été digérés, à 40°, il n'y en a eu que 51,7 pour 100 seulement et à 80°, 24 pour 100.

Le rapport $\frac{N^2}{N^3}$ est voisin de 3,5 sauf à 12°, mais vu la très petite quantité de substance transformée à cette température, il n'y a pas lieu d'attacher d'importance à ce résultat.

ACTION HYDROLYTIQUE COMPARÉE DE DIVERS SUCS DIGESTIFS DE CRUSTACÉS SUR LES MATIÈRES PROTÉIQUES

Nous avons étudié comparativement sur la caséine, la gélatine et le sérum de *Cancer pagurus* l'action protéolytique de *Maja*, *Cancer* et *Homarus*.

EXPÉRIENCES

On prend 21 cc. 5 de lait dilué de moitié auquel on ajoute 0 cc. 5 de suc digestif de *Maja*, *Cancer*, *Homarus*. On dose avant digestion, N^1 , ($N^2 + N^3$), N^4 , en prélevant les quantités nécessaires à ces divers dosages : 2 centimètres cubes pour N^1 , 5 centimètres cubes pour ($N^2 + N^3$), 5 centimètres cubes pour N^4 . Après 15 heures de digestion ($N^2 + N^3$) et N^4 sont déterminés. On fait la même expérience avec une solution de gélatine à 5 pour 100, mais ici on dose seulement N^1 et N^4 . Même expérience avec une solution de sérum de *Cancer pagurus* dilué de moitié. (V. *Tableau IX*, p. 59.)

TABLEAU VIII

TEMPÉRATURE	RÉPARTITION de N (in 20 cc.)					GAIN NET			RAPPORTS	
	N ^v	N ^v	N ^v	N ^v	N ^v	N ^v	N ^v	N ^v	$\frac{100 \times N^{v+1} \times N^v}{N^v}$	$\frac{N^v}{N^v}$
Avant digestion.....	47,60	42,00	2,24	3,36						
12.....	47,60	38,64	4,48	4,48	3,36	2,24	1,12	8,00	2,0	
40.....	47,60	20,26	19,30	7,84	21,74	17,26	4,48	51,76	3,9	
60.....	47,60	3,95	31,33	12,32	38,05	20,09	8,96	90,66	3,2	
80.....	47,60	31,92	10,08	5,60	10,08	7,84	2,24	24,00	3,5	

TABLEAU IX

SUCS DIGESTIFS	RÉPARTITION de N in 20 cc										GAIN NET		
	CASÉINE				GÉLATINE				SÉRUM - <i>Cancer pagurus</i>		CASÉINE	GÉLATINE	SÉRUM
	Av. digest.	Ap. 15 h.	Av. digest.	Ap. 15 h.	Av. digest.	Ap. 15 h.	Av. digest.	Ap. 15 h.					
<i>Maja</i> <i>squinado</i>	N ¹	44,80	44,80	120,00	120,00	36,00	36,00	36,00	36,00	—	—	—	
	N ²	41,44	2,24	113,32	80,71	33,76	26,88	33,76	26,88	—	—	—	
	N ³	1,12	12,32	—	—	0,00	14,36	0,00	14,36	11,20	—	14,36	
	N ⁴	2,24	30,24	4,48	39,29	2,24	14,36	2,24	14,36	28,00	34,84	12,32	
	Rapport $\frac{N^2}{N^1}$									0,4		1,1	
<i>Cancer</i> <i>pagurus</i>	N ¹	44,80	44,80	120,00	120,00	36,00	36,00	36,00	36,00	—	—	—	
	N ²	41,44	8,64	113,32	95,32	33,76	31,32	33,76	31,32	17,13	—	1,12	
	N ³	1,12	18,27	—	—	0,00	1,12	0,00	1,12	13,68	20,00	1,12	
	N ⁴	2,24	17,92	4,48	24,48	2,24	3,36	2,24	3,36	—	—	—	
	Rapport $\frac{N^2}{N^1}$									1,1		1,0	
<i>Homarus</i> <i>vulgaris</i>	N ¹	44,80	44,80	120,00	120,00	36,00	36,00	36,00	36,00	—	—	—	
	N ²	41,44	16,36	113,32	103,20	33,76	31,32	33,76	31,32	14,36	—	1,12	
	N ³	1,12	13,68	—	—	0,00	1,12	0,00	1,12	12,36	12,32	1,12	
	N ⁴	2,24	16,36	4,48	16,80	2,24	3,36	2,24	3,36	—	—	—	
	Rapport $\frac{N^2}{N^1}$									1,1		1,0	

La caséine a été bien digérée par les trois sucs : celui de *Maja* est le plus actif (95,6 pour 100), puis vient celui de *Cancer pagurus* (80,0 pour 100) et enfin celui de *Homarus* (65,6 pour 100).

La gélatine a été facilement décomposée en corps aminés et ici encore le suc digestif de *Maja* s'est montré le plus actif. *Maja* (30,2 pour 100), *Cancer* (17,3 pour 100), *Homarus* (10,7 pour 100).

Seul le suc digestif de *Maja* a attaqué le sérum de *Cancer pagurus* (5,7 pour 100).

Ceux de *Cancer* et de *Homarus* se sont montrés à peu près inactifs (4,2 pour 100).

Dans l'action sur la caséine, la valeur du rapport $\frac{N_2}{N_1}$ a été de 0,4 pour le suc de *Maja*, 1,1 pour les deux autres.

Les sucs de *Cancer* et de *Homarus* ont donc une action éreptique sensiblement égale à leur action peptonisante.

Le chiffre peu élevé de *Maja* (0,4) s'explique si l'on se rappelle l'action de ce suc sur la caséine et la diminution de ce rapport avec le temps de digestion.

Enfin, constatons que l'attaque de la caséine par le suc digestif de *Homarus* s'est faite en milieu neutre suivant le processus tryptique. Ceci contredit nettement l'opinion de KUCKENBERG qui a soutenu que ce suc contenait seulement de la pepsine.

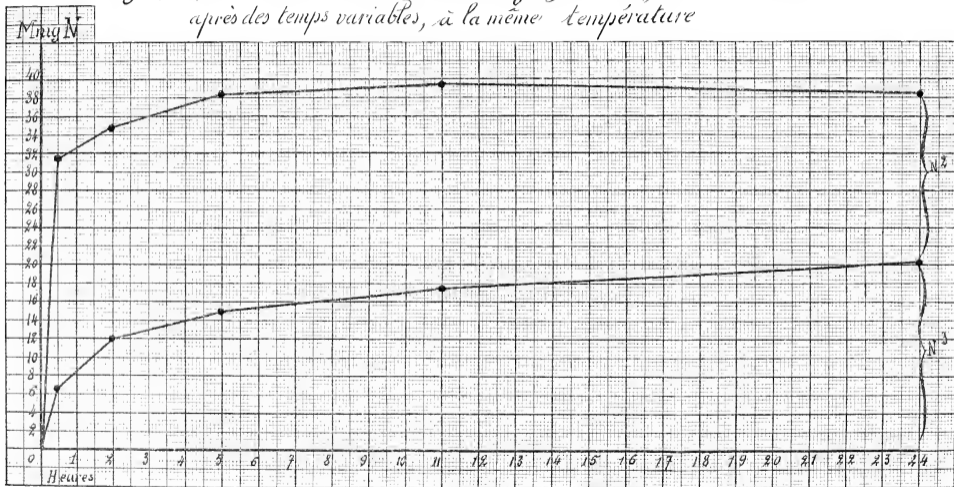
En résumé, ces expériences nous permettent de formuler les conclusions suivantes :

Le suc digestif de *Maja* dissout facilement l'ovalbumine coagulée. Il liquéfie rapidement la gélatine. L'action sur l'ovalbumine, maxima en milieu neutre, est affaiblie en milieu alcalin, totalement supprimée en milieu acide.

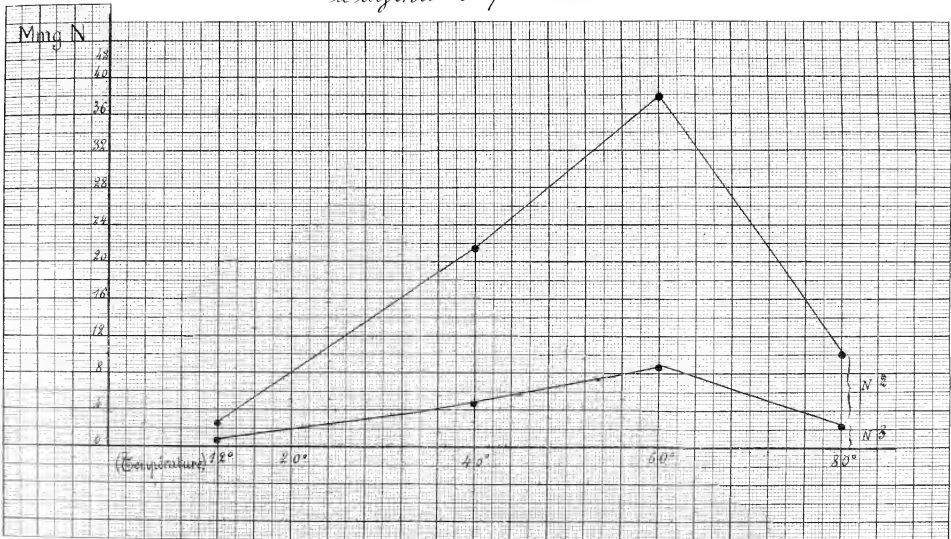
L'activité hydrolytique globale peu considérable sur l'ovalbumine en milieu d'acidité faible, est nulle en milieu d'acidité forte. Le rapport $\frac{N_2}{N_1}$ est voisin de 1 ; c'est là une indication en faveur du processus tryptique.

En milieu neutre, le suc digestif de *Maja* a digéré facilement les diverses albumines soumises à son action, plus faiblement l'ovalbumine qui présente, comme on sait, une résistance spéciale à l'action de la trypsine.

N^o 1 - Graphique montrant l'action du Suc digestif de *Mouja* sur la Caséine après des temps variables, à la même température



N^o 2 Graphique montrant l'action du Suc digestif de *Maja* sur la Caséine à diverses températures



La caséine du lait a été très bien digérée (96,5 pour 100). Il en est de même des albumines du sérum d'Invertébrés (43 à 70 pour 100). Dans tous les cas le rapport $\frac{N^2}{N^1}$ a seulement varié entre 0,8 et 1,07. Ceci signifie que, dans nos conditions expérimentales, l'activité peptonisante et l'activité éreptique ont été sensiblement égales ou, en d'autres termes, que les quantités d'albumoses et de peptones formées (N^2) équivalent la quantité d'acides-amino libérés (N^1). L'expérimentation avec la trypsine, fournit des résultats analogues.

L'action du suc digestif de *Maja* sur la caséine dans diverses conditions expérimentales, après des temps variables à la même température, à diverses températures après un même temps, nous a fourni quelques renseignements intéressants.

La peptonisation est très rapide au début. Le chiffre maximum (N^2) est atteint après 30 minutes (24 milligr. 64) puis il décroît peu à peu jusqu'à 17,92 après 25 heures. La mise en liberté des acides-amino suit une marche inverse, de 6,72 après 30 minutes jusqu'à 20,16 après 25 heures, de telle sorte que le rapport $\frac{N^2}{N^1}$ diminue progressivement de 3,6 à 0,8.

La température accélère le processus digestif jusqu'au voisinage de 60° où il est optimum.

Enfin, le suc digestif de *Maja* se distingue nettement, par sa plus grande activité, de ceux de *Cancer* et de *Homarus*; mais dans tous les cas le rapport $\frac{N^2}{N^1}$ est resté voisin de 1.

La diastase protéolytique du suc digestif des Crustacés digère donc les matières protéiques à la façon de la trypsine.

II

MOLLUSQUES CÉPHALOPODES

Anatomie de l'appareil digestif. — Le tube digestif de la Seiche, qui débute par un bulbe buccal (*B*) armé de deux puissantes mandibules cornées et d'une radula chitineuse, est recourbé en U (*fig. 3*). Au niveau de la courbure se trouvent deux dilatations : la première (*E*) est dite estomac ; la seconde (*C*), sac pylorique : celle-ci est l'homologue du cæcum d'autres espèces.

La structure de l'intestin est constante sur toute sa longueur : on ne rencontre aucune glande dans ses parois, en sorte que la digestion s'y effectue grâce aux liquides apportés des glandes annexes.

Ces glandes sont :

1^o Les glandes salivaires (*G. s*) ou glandes muco-pharyngiennes : elles débouchent, par un canal commun, à la face dorsale du bulbe buccal et ne paraissent pas exercer d'action digestive :

2^o Le foie (*F*), formé de deux masses distinctes, situées de part et d'autre de l'œsophage : ses canaux excréteurs se jettent dans le sac pylorique.

3^o Ceux-ci sont recouverts d'appendices d'aspect spongieux (*P*), de couleur brunâtre, souvent considérés comme les analogues fonctionnels du pancréas des animaux supérieurs.

Chez le Calmar, la disposition est fondamentalement la même (*fig. 4*). Toutefois, les deux lobes du foie paraissent fusionnés et les deux canaux hépatiques (*P*) se réunissent en un seul : 2^o les appendices pancréatiques (*P*) font à peine saillie sur la paroi de ces canaux.

Pour Cuvésot (1), le foie des Céphalopodes est non seulement un organe formateur de diastases et accumulateur de réserves, mais aussi le lieu d'absorption des produits de la digestion et un

(1) L. Cuvésot, Fonctions absorbante et excrétrice du foie des Céphalopodes. *Arch. de Zoolog. expérimentale et générale*, IV^e série, t. VII, p. 227-243, 25 août 1903.

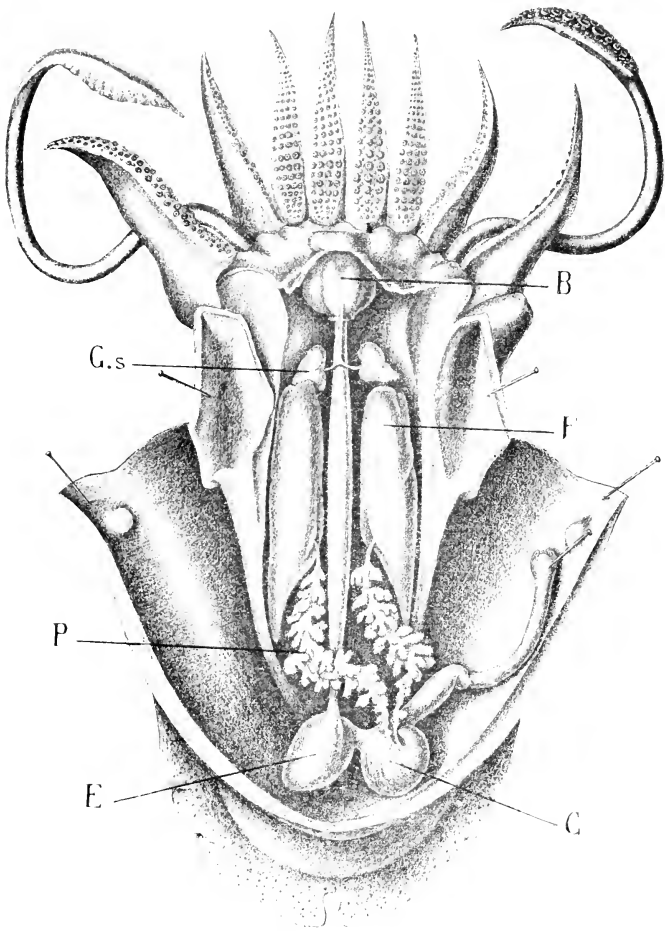


FIG. 3. — Appareil digestif de la *Scuche*

B. Bulbe buccal. — G. s. Glandes salivaires. — F. Foie. — P. Organe pancréatique.
E. Estomac. — C. Sac pylorique.

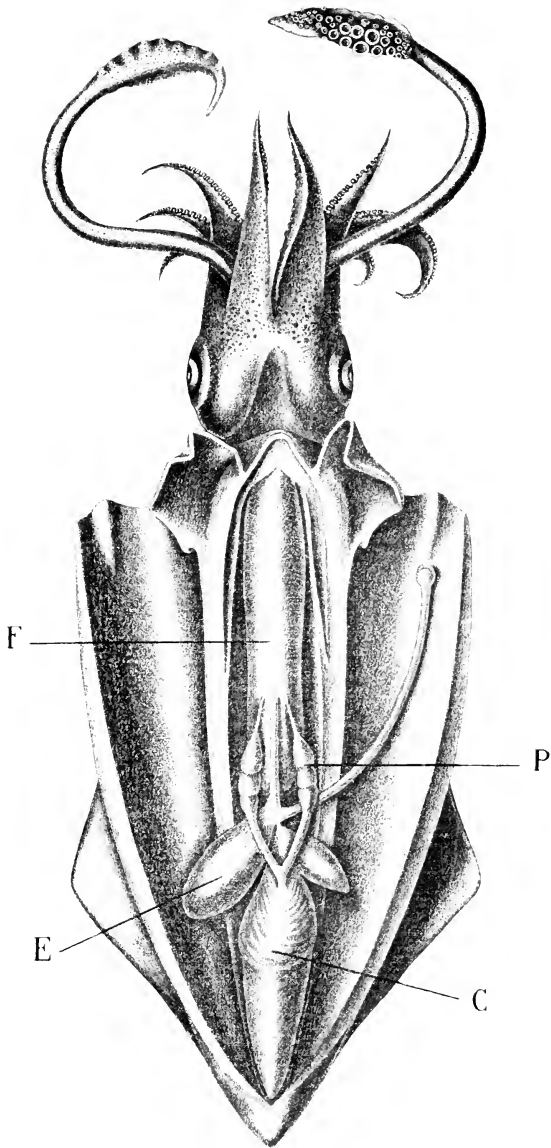


FIG. 4. — Appareil digestif du *Calmar*
 F. Foie. — P. Organe pancréatique. — E. Estomac. — C. Cæcum spiral

organe sécréteur. D'après cet auteur, l'épithélium hépatique (*fig. 5*) serait constitué par deux types cellulaires, probablement indépendants l'un de l'autre, et par des cellules indifférentes (*a*) servant au remplacement :

1° Les *cellules vacuolaires* (*g*) relativement peu nombreuses : chez la Seiche, elles sont piriformes et renferment vers leur

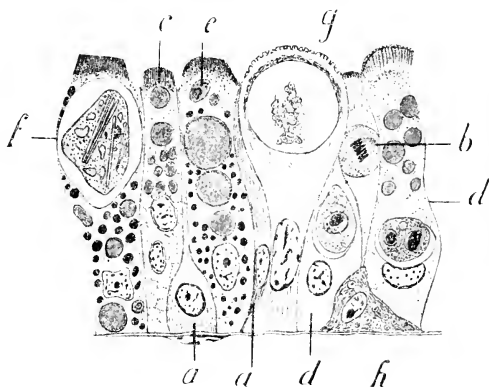


FIG. 5. — Epithélium hépatique de *Sepia officinalis* (d'après CLÉBOR)

a. Cellules de remplacement. — *b*. Mitose superficielle. — *c*. Cellules à boules renfermant deux noyaux et des boules safranophiles de dimensions différentes. — *d* et *d'*. Cellules à boules renfermant une sphère de cytoplasma dense qui entoure des noyaux dégénérés. Dans la cellule *d'*, le plateau strié surmonte une couche de bâtonnets cytoplasmiques. — *e*. Cellule renfermant de grosses boules, de la graisse et, tout à fait en haut de la cellule, une petite masse à granules jaunes. — *f*. Cellule renfermant de petites boules, beaucoup de graisse et un grand amas jaune de cristaux. — Dans les cellules *c*, *e*, *f*, la surface libre de la cellule est limitée par la zone de bâtonnets cytoplasmiques. — *g*. Cellule vacuolaire. — *h*. Cellule basale à grains réfringents (*Kalkzelle* de FRENZEL).

extrémité supérieure une énorme vacuole dont le liquide, jaunâtre ou rosé, tient en suspension des granules solides rouge vif ou bruns. Chez le Calmar, la vacuole est plus petite et dépourvue de concrétion colorée.

2° Les *cellules à boule* (*c, d, e, f*), très variables d'aspect, renferment, outre des globules de graisse, des boules safranophiles, tantôt petites et nombreuses, tantôt volumineuses : souvent, au sommet, elles présentent un magma jaune renfermant des cristaux assez semblables à ceux de la tyrosine. Les vacuoles et les magmas à cristaux sont rejetés périodiquement au dehors. Les cellules vacuolaires survivraient à l'excrétion. L'absorption se ferait par le cœcum (graisse seulement) et le foie.

ACTION PROTÉOLYTIQUE

La bibliographie des phénomènes digestifs des Mollusques céphalopodes est abondante :

KRUKENBERG (1) constata l'inactivité des extraits de foie préparés par macération dans le chlorure de sodium en présence d'acide acétique dilué. Au contraire, l'extrait glycéринé a des propriétés à la fois peptique et tryptique.

GRIFFITHS (*loc. cit.*), VIGELIUS (2), FRÉDÉRICQ (3) ont également signalé la présence du ferment protéolytique. Ce dernier auteur, se basant sur l'action de ce ferment à la fois en milieu alcalin et acide, suppose que cet enzyme n'est ni la pepsine ni la trypsine.

PAUL BERT (*loc. cit.*) croyait que la macération hépatique de la Seiche contenait de la pepsine, car la réaction chimique était constamment acide.

JOUSSET DE BELLESME (*loc. cit.*) montra que le suc hépatique d'*Octopus* digérait la fibrine et du muscle de *Carcinus maenas* en milieu acide.

COHNHEIM (4), ayant caractérisé la leucine et la tyrosine parmi les produits de transformation obtenus au cours de l'autolyse du foie d'*Octopus*, pense que le ferment protéolytique des Céphalopodes est une trypsine.

(1) KRUKENBERG, *Untersuchungen d. Physiol. Inst. Heidelberg*, Bd. 2, 1878, p. 2.

(2) VIGELIUS, Ueber das sog. Pankreas der Cephalopoden. *Zool. Anzeiger*, 1881, 413-431. — Vergleichend. anatomische Untersuchungen über das sogen. Pankreas der Cephalopoden. *Verh. Kon. Akad. Amsterdam*, XXII, 1881.

(3) FRÉDÉRICQ, *Arch. de Zool. exp.*, 7, 1878, p. 378-381.

(4) COHNHEIM, *Zeitschrift für physiologie Chemie*, 1. 35, p. 396.

VICTOR HENRI et LALOU (*loc. cit.*) obtinrent du suc digestif pur en plaçant dans un des conduits hépato-pancréatiques une canule munie d'un petit réservoir où il se rassemblait. Ce suc digérait l'ovalbumine, la fibrine et la gélatine.

FALLOISE (*loc. cit.*) obtint des résultats semblables ; il observa, en outre, la résistance de l'ovalbumine cuite à l'action digestive et la disparition de la réaction du biuret des peptones, ce dernier phénomène démontre l'existence de l'érepsine. D'autre part, comme le foie contient encore de l'amylase et de la lipase, FALLOISE conclut à son rôle pancréatique : « Il s'agit donc d'un véritable suc pancréatique possédant les propriétés digestives caractéristiques du suc pancréatique des animaux supérieurs, mais, à l'inverse de celui-ci, agissant en milieu légèrement acide... Dans les extraits préparés avec l'organe entier, on constate la présence d'un ferment protéolytique qui dissout la fibrine et la gélatine, mais laisse intacte l'albumine coagulée, un ferment qui saccharifie l'amidon, un ferment lipolytique et une érepsine : en somme, toutes les propriétés fermentatives que nous avons rencontrées dans le suc sécrété par l'organe lui-même. »

Recherches personnelles sur les ferments protéolytiques des Mollusques céphalopodes

Les travaux précédents ne permettent guère d'exprimer avec précision les propriétés de ces ferments.

Quelques constatations isolées signalant la présence de la tyrosine ou du tryptophane dans les produits digestifs laissent soupçonner l'action tryptique, mais l'absence d'observations sur l'hydrolyse de diverses matières protéiques dans des conditions variées d'expérience explique probablement l'imprécision des connaissances.

Pour combler cette lacune, nous avons opéré tantôt avec le suc du cæcum spiral du Calmar, tantôt avec celui du sac pylorique de la Seiche, ou encore avec des macérés de glande digestive de l'un et l'autre animal.

EXPÉRIENCES

Action sur l'ovalbumine coagulée. — On met au bain-marie à 40° un tube à essai contenant du suc de cæcum de Calmar ou de Seiche et un cube d'albumine ou un tube de METTE.

L'ovalbumine perd peu à peu sa blancheur. Les angles et les arêtes du cube deviennent transparents, mais l'albumine ne se dissout point.

Action sur la gélatine. — Un tube à essai contenant 0 cc. 1 de suc + 4 centimètres cubes de gélatine à 10 pour 100 est placé au bain-marie à 40°. Après peu de temps, la gélatine a perdu la propriété de gélifier.

Action sur le lait. — On met au bain-marie à 40° : 10 centimètres cubes de lait de vache + 0 cc. 1 de suc. Après 30 minutes, le lait est très appréciablement éclairci. L'eau bromée indique la présence du tryptophane. Le dosage de l'acidité après formol neutre montre l'existence d'acides aminés.

ÉTUDE DU MILIEU D'ACTION

Le phénomène digestif s'accomplit selon le processus tryptique. En milieu acide, cependant, l'action est encore manifeste, comme en témoignent les expériences suivantes :

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

On introduit dans un tube à essai 4 centimètres cubes de gélatine à 10 pour 100 exactement neutralisée + 0 cc. 1 de suc de Seiche ou de Calmar. On place le tout au bain-marie à 40°. On acidifie certains tubes par des doses variables de HCl N/2. On alcalinise les autres par CO²Na² N/2 à divers titres. Les volumes sont maintenus constants par addition d'eau distillée. Après une heure, on note ceux qui gélifient.

Détail de l'Expérience

Composition des tubes	Reaction en gr. HCl p. 1000	Après une heure
4 cc. gélatine neutre		
+ 0 cc. 1 de suc + 0,9 HCl N/2 + 0,0 H ² O	3 gr. 28	gélifié
— + 0 cc. 1 de suc + 0,6 HCl N/2 + 0,3 H ² O	2 gr. 49	liquide
— + 0 cc. 1 de suc + 0,3 HCl N/2 + 0,6 H ² O	1 gr. 09	liquide
— + 0 cc. 1 de suc + 0,0 HCl N/2 + 0,9 H ² O	0 gr. 00	liquide
— + 0 cc. 1 de suc + 0,3 CO ² Na ² N/2 + 0,6	1 gr. 57	sirupeux
— + 0 cc. 1 de suc + 0,6 CO ² Na ² N/2 + 0,3	3 gr. 18	gélifié

Nous avons effectué d'autres expériences avec des macérés d'hépto-pancréas. Les macérations étaient faites avec une partie de glande pour cinq parties d'eau distillée en présence de toluène. On laissait séjourner douze heures à la glacière et on expérimentait avec le liquide de filtration.

Les résultats obtenus furent constamment les mêmes qu'avec le suc du caecum ou du sac pylorique.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE

On opère de la façon suivante :

Tube a. — 4 cc. 5 suc digestif + 0 cc. 5 d'HCl N/2. Acidité pour 1.000, 1,82.

Tube b. — 4 cc. 5 suc digestif + 0 cc. 5 d'H²O. Réaction neutre.

Tube c. — 4 cc. 5 suc digestif + 0 cc. 5 CO²Na² N/2. Alcalinité pour 1.000, 2,62.

On laisse les trois tubes au bain-marie à 40° pendant trois heures. On neutralise exactement ensuite, les volumes étant maintenus constants par addition d'H²O.

On fait alors dans trois autres tubes les mélanges suivants :

1° 1 cc. 5 de gélatine neutre à 10 pour 100 + 0 cc. 5 du tube *a.*

2° 1 cc. 5 de gélatine neutre à 10 pour 100 + 0 cc. 5 du tube *b.*

3° 1 cc. 5 de gélatine neutre à 10 pour 100 + 0 cc. 5 du tube *c.*

Résultats. — Au bain-marie à 40°

	Après 1/4 d'heure	Après 1/2 heure	Après 1 heure
Tube 1.....	gélifié	gélifié	liquide
Tube 2.....	liquide	liquide	liquide
Tube 3.....	gélifié	gélifié	gélifié

Cette expérience prouve que le ferment a résisté en partie à l'action du milieu acide. Elle prouve, en outre, que des traces d'alcali ont suffi pour l'anéantir.

VALEUR DIGESTIVE COMPARÉE DU SUC DE *Loligo* ET DE LA PEPSINE, D'APRÈS LA NATURE DU MILIEU D'ACTION

Nous avons réalisé des expériences identiques à celles exposées dans le chapitre précédent au sujet des Crustacés décapodes.

EXPÉRIENCES

Préparation de la substance à digérer. — On prépare une solution obtenue en diluant au quart 50 centimètres cubes d'ovalbumine par de l'eau salée physiologique. On ajoute 4 centimètres cubes d'HCl normal. On agite. On filtre après 2 heures de séjour à la glacière.

On prend :

A) 120 centimètres cubes de ce filtrat auquel on ajoute 10 centimètres cubes d'eau. La solution ainsi obtenue ne contient pas d'acide libre sensible au diméthylamidoazobenzol. Acidité à la phthaléine, 4 pour 1.000.

B) 60 centimètres cubes de ce même filtrat auquel on ajoute 5 centimètres cubes d'HCl normal. Acidité au diméthylamidoazobenzol, 2 pour 1.000. Acidité faible, 1 pour 1.000.

Préparation de la solution de ferment. — 1° On dissout 0 gr. 500 de pepsine commerciale litre 100 dans 15 centimètres cubes d'eau.

2° On mélange 3 centimètres cubes de suc du cæcum de Calmar à 12 centimètres cubes de solution physiologique de chlorure de sodium.

Composition des liquides de digestion. — *Premier tube :* 20 centimètres cubes de la solution protéique A + 5 centimètres cubes de solution de pepsine. On dose immédiatement N¹, (N² + N³), N³ (témoin).

Deuxième tube : Il contient les mêmes mélanges. On laisse au bain-marie à 40° pendant 15 heures, puis on effectue les mêmes dosages.

Troisième tube renferme 20 centimètres cubes de la solution protéique B + 5 centimètres cubes de la solution de pepsine. On laisse 15 heures à 40° et on effectue le dosage de (N² + N³), N³.

Un quatrième tube contient 20 centimètres cubes de la solution protéique B + 5 centimètres cubes de la solution de suc digestif de Calmar. On fait identiquement les mêmes dosages.

Le Tableau X montre que la pepsine a peu digéré en milieu faiblement acide (3,5 pour 100). Le suc de Calmar s'est montré plus actif (11,9 pour 100).

Au contraire, en milieu plus fortement acide, la digestion pepsique a été complète (100 pour 100), tandis que le suc de Calmar a fort peu agi (5,5 pour 100).

La marche de la protéolyse s'est effectuée, pour le Calmar, suivant un processus nettement tryptique. En effet, la valeur du rapport $\frac{N^2}{N^3}$ a été 2,7, tandis qu'il atteint pour la pepsine 49 et 24.

L'action légère du ferment en milieu acide est à signaler, mais

TABLEAU X

MILIEU D'ACTION	SUCS DIGESTIFS	RÉPARTITION DE N (in 20 cc. liquide)						GAIN NET		RAPPORTS	
		DURÉE de la digestion	N ¹	N ²	N ³	N ¹ +N ²	N ²	N ³	$\frac{100(N^2+N^3)}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$	
Acidité faible 1 gramme pour 1.000	Pepsine	Avant digestion	66,70	57,82	4,48	4,40	—	—	—	—	
		Après dig. (45h.)	66,70	53,82	6,38	4,50	2,00	1,90	0,10	3,5	19,0
	Suc de <i>Calmar</i>	Avant digestion	81,20	69,60	6,00	5,60	—	—	—	—	
		Après digestion	81,20	61,40	12,00	7,80	8,20	6,00	2,20	11,9	2,7
Acidité faible 1 gramme pour 1.000 + Acidité forte 2 grammes pour 1.000	Pepsine	Avant digestion	66,70	57,74	4,48	4,48	—	—	—	—	
		Après digestion	66,70	0,00	39,92	6,78	57,74	55,44	2,30	100,0	24,0
	Suc de <i>Calmar</i>	Avant digestion	81,20	69,60	6,00	5,60	—	—	—	—	
		Après digestion	81,20	63,80	9,10	6,30	3,80	3,10	0,70	5,5	4,4

elle ne permet pas d'affirmer la présence de la pepsine dans le suc digestif du Calmar.

ACTION DU SUC DIGESTIF DE *Sepia* SUR DIVERSES MATIÈRES PROTÉIQUES

EXPÉRIENCES

1° *Action sur la caséine.* — On prend 21 cc. 5 de lait dégraissé et dilué de moitié. On ajoute 0 cc. 5 de suc digestif de *Sepia* recueilli dans le caecum pylorique. 2 centimètres cubes sont prélevés, ils servent au dosage de N^1 . 3 centimètres cubes servent au dosage de $N^2 + N^3$, 3 centimètres cubes au dosage de N^3 . Les 10 centimètres cubes qui restent sont laissés 15 heures à 40°. Après digestion, on dose dans 5 centimètres cubes de liquide ($N^2 + N^3$) et N^3 comme précédemment. Les résultats exprimés en azote sont rapportés à 20 centimètres cubes de liquide.

2° *Action sur divers sérums d'Invertébrés.* — On prend 25 centimètres cubes de chacun de ces sérums (*Maja*, *Cancer*, *Sepia*) dilués de moitié avec de la solution physiologique de chlorure de sodium et on les additionne de 0 cc. 5 de suc de *Sepia*. L'expérience est conduite comme précédemment.

Action sur la gélatine. — On fait une solution neutre de gélatine à 10 pour 100. 21 cc. 5 de cette solution sont additionnés de 0 cc. 5 de suc de *Sepia*. On dose N^1 et N^3 (voir tableau XI).

L'activité protéolytique globale a varié avec la matière mise en expérience.

La caséine a été bien digérée (71,3 pour 100).

Les sérums de *Maja* et de *Cancer* ont été peu transformés (13,6 pour 100 pour *Maja*, 9,7 pour 100 pour *Cancer*).

Celui de *Sepia* a résisté à l'action digestive (1).

Le rapport $\frac{N^2}{N^3}$ a varié entre 1,7 et 3,4.

Enfin il a été libéré 11 milligrammes d'azote aminé aux dépens de la solution de gélatine.

1 Cette résistance à l'action protéolytique est due à l'action antitryptique de ces sérums, comme nous l'avons montré (voir l'indication bibliographique, p. 70). L'inactivité à peu près totale du suc digestif de *Sepia* sur son propre sérum est un fait intéressant à constater.

TABLEAU XI

SOLUTIONS PROTÉIQUES	DURÉE DES DIGESTIONS	RÉPARTITION DE N. in 20 cc. liquide				GAIN NET		RAPPORTS	
		N ⁱ	N ²	N ³	N ²	N ³	$\frac{100(N^2+N^3)}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$	
Caséine	Avant digestion	48,00	0,94	2,80	—	—	—	—	
	Après 15 heures	48,00	23,34	9,80	24,4	7,00	71,3	3,4	
Sérum de <i>Maja</i>	Avant digestion	70,00	0,00	4,48	—	—	—	—	
	Après 15 heures	70,00	5,60	7,78	5,60	3,30	13,6	1,7	
Sérum de <i>Cancer</i>	Avant digestion	84,00	0,00	3,36	—	—	—	—	
	Après 15 heures	84,00	5,56	5,60	5,56	2,24	9,7	2,4	
Sérum de <i>Sepia</i>	Avant digestion	86,00	0,00	3,36	—	—	—	—	
	Après 15 heures	86,00	1,12	3,36	1,12	0,00	1,3	—	
Gélatine	Avant digestion	120,00	—	4,48	—	—	—	—	
	Après 15 heures	120,00	—	15,48	—	11,00	—	—	

ACTION DU SUC DIGESTIF DE *Loligo* SUR DIVERSES
MATIÈRES PROTÉIQUES

Des expériences réalisées avec le suc du cœcum de Calmar ont fourni des résultats comparables : 69 pour 100 de la caséine ont été digérés après 45 heures : 46,7 pour 100 du sérum de *Cancer* : 8,9 pour 100 d'ovalbumine : 9 milligr. 5 de la solution de peptone WITTE ont été transformés en amino-acides (*Voir Tableau XII*).

ACTION DU SUC DIGESTIF DE *Sepia* SUR LA CASÉINE
APRÈS DES TEMPS VARIABLES

EXPÉRIENCES

On prend 80 centimètres cubes de lait dilué de moitié que l'on additionne de 2 centimètres cubes de suc digestif de *Sepia*. Des prises sont faites aussitôt pour doser N^1 , $(N^2 + N^1)$, N^1 ; 2 centimètres cubes pour N^1 , 5 centimètres cubes pour $(N^2 + N^1)$, 5 centimètres cubes pour N^3 . On porte à 40° le liquide de digestion. Après 30 minutes, 2 heures, 5 heures, 11 heures, 25 heures, on fait de nouvelles prises de 5 centimètres cubes qui serviront au dosage de $(N^2 + N^3)$, de N^1 (*Voir Tableau XIII*).

On voit qu'après 30 minutes 45,2 pour 100 de la caséine sont déjà digérés. Dans la suite, la digestion progresse encore, elle est maxima vers 11 heures (80 pour 100). Puis un phénomène de régression comparable à celui que nous avons signalé pour les Crustacés se manifeste, car après 25 heures on ne trouve plus que 71,9 pour 100 de la caséine de digérés. Nous avons déjà indiqué la constance et la difficulté de son interprétation.

ACTION DE LA TEMPÉRATURE SUR LA DIGESTION PROTÉOLYTIQUE
DU SUC DIGESTIF DE *Sepia*

EXPÉRIENCES

Dans une série de tubes à essais contenant 21 cc. 5 de lait dilué de moitié, on ajoute 0 cc. 5 de suc digestif de *Sepia*. Dans l'un d'eux

TABLEAU VII

SOLUTIONS PROTÉIQUES	DURÉE de la DIGESTION A 40°	RÉPARTITION DE N in 20 cc. liquide)						GAIN NET		RAPPORTS	
		N ¹	N ²	N ³	N ⁴	N ⁵	N ⁶	N ⁷	N ⁸	$\frac{100(N^2+N^3)}{N^1}$	N ² N ³
Caséine	Avant digestion	54,68	5,60	4,48	—	—	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	54,68	22,00	8,38	16,4	3,90	69,0	4,2	—	—	—
Ovalbumine	Avant digestion	95,12	8,12	8,12	—	—	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	95,12	12,76	10,44	4,64	2,32	8,9	2,0	—	—	—
Sérum de <i>Cancer papaveris</i>	Avant digestion	52,20	3,68	7,04	—	—	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	52,20	8,22	9,36	4,54	2,32	16,7	4,9	—	—	—
Peptones Witte	Avant digestion	110,20	95,00	8,20	—	—	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	110,20	92,50	17,70	0,00	9,50	—	—	—	—	—

TABLEAU XIII

TEMPS	RÉPARTITION DE N. en 20 cc. liquide				GAIN NET			RAPPORTS	
	N ¹	N ²	N ³	N ⁴	N ¹ +N ²	N ²	N ³	$\frac{100(N^2+N^3)}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$
Avant digestion.....	47,60	42,40	2,80	2,80	-	-	-	-	-
Après 30 minutes...	47,60	23,00	19,36	3,04	19,00	16,76	2,24	63,2	7,3
— 2 heures.....	47,60	14,80	26,40	6,70	27,20	23,30	3,90	64,7	5,9
— 5 heures.....	47,60	9,60	30,20	7,80	32,60	27,40	5,00	77,1	5,4
— 11 heures.....	47,60	8,40	29,7	9,50	33,60	26,90	6,70	80,0	4,0
— 25 heures.....	47,60	11,80	24,5	11,30	30,20	24,70	8,50	71,9	2,5

témoin) on fait des prises immédiates pour doser N^1 , ($N^2 + N^3$), N^3 . On les place au bain-marie à des températures variables : 12°, 44°, 60°, 73° pendant 15 minutes (1).

On dose dans chacun de ces tubes ($N^2 + N^3$), N^3 (voir Tableau XIV).

Le maximum d'action du ferment s'est exercé à 60°, car 62,3 pour 100 de la caséine ont été digérés. A 44°, la digestion a également été importante (59,7 pour 100). A 73°, elle est encore très notable (46,7 pour 100).

ROLE DU CÆCUM DES CÉPHALOPODES

Le rôle du cæcum des Céphalopodes (*fig. 3 et 4, C*), différemment dénommé selon les espèces (sac pylorique de la Seiche, cæcum spiral du Calmar), a depuis longtemps suscité la curiosité des biologistes. Il communique d'un côté avec la poche gastrique et il reçoit, par un autre côté, le suc sécrété par l'hépatopancréas.

DUVERNOY (2) et CUVIER (3) pensaient que les aliments se rendaient de l'estomac dans le cæcum pour y être digérés.

PAUL BERT (4) soutint, au contraire, que chez la Seiche les substances alimentaires n'y pénétraient point.

C'est également l'opinion de BOURQUELOT (5), qui n'a jamais rencontré d'aliments dans le cæcum d'un Céphalopode frais. Ils resteraient dans l'estomac pendant la digestion. Pour s'en assurer, dit cet auteur, « il suffit de fendre en long, dans son milieu, la paroi postérieure du manteau d'un Poulpe en vie et en digestion, de manière à dégager l'estomac et les parties du tube digestif qui en sont voisines. Si l'estomac est plein, les contractions, qui sont fréquentes et très puissantes, refoulent le chyme vers le jabot, jamais il n'en entre dans le cæcum. Si, empêchant par la pression le mouvement du chyme vers le jabot, on comprime l'estomac avec précaution, les aliments passent dans l'intestin. »

1 Pour des expériences d'aussi courte durée, il faut placer préalablement chaque tube à la température voulue avant d'y introduire l'agent digestif.

2 DUVERNOY, Anatomie comparée de CUVIER, édition belge, t. II, p. 141 d'après BOURQUELOT.

3 CUVIER, Mémoires sur les Céphalopodes, p. 29.

4 PAUL BERT, Comptes rendus de l'Académie des Sciences, t. LXV, 1867, p. 300

5 BOURQUELOT, Archives de Zoologie expérimentale, t. III, 1885, p. 67.

TABLEAU XIV

TEMPÉRATURE	RÉPARTITION DE N (in 20 cc. liquide)				GAIN NET			RAPPORTS	
	N ¹	N ²	N ³	N ⁴	N ¹ +N ²	N ²	N ³	$\frac{100 N^2+N^3}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$
	Avant digestion	47,60	43,12	2,24	2,24				
12°	47,60	38,64	3,04	3,92	4,48	2,80	1,68	10,4	1,7
44°	47,60	17,42	23,46	6,72	23,70	21,22	4,48	39,7	4,7
60°	47,60	16,24	23,52	7,84	26,72	21,22	5,60	62,5	3,8
73°	47,60	23,00	18,44	6,16	20,12	16,20	3,92	46,7	4,1

FALLOISE (1) démontre par l'expérience suivante qu'une partie du chyme gastrique pénètre dans le cæcum : « On injecte dans l'œsophage d'*Eledone* vivant, au moyen d'une sonde fine et souple introduite par la bouche, un liquide coloré quelconque, du rouge Congo par exemple. On ouvre l'animal après un certain temps, on voit par transparence le liquide coloré qui distend le jabot et l'estomac. Très souvent une partie du liquide coloré se trouve dans le cæcum. Si on excite les nerfs viscéraux on détermine des contractions énergiques de tout l'appareil digestif; on voit le contenu de l'estomac refluer vers le gésier, le contenu du cæcum pénétrer dans l'estomac, puis le courant se renverse, le contenu de l'estomac file en majeure partie dans l'intestin, une petite partie pénètre dans le cæcum. Si on opère sur des animaux morts et que l'on injecte une solution colorée dans l'œsophage, elle passe dans le jabot, l'estomac et l'intestin, sans pénétrer dans le cæcum comme l'avait constaté BOUQUELOT, mais si l'on provoque des contractions de l'appareil digestif par excitation des nerfs viscéraux, une partie du contenu stomacal pénètre dans le cæcum.

» Comment se comporte à ce point de vue la bouillie alimentaire? Si l'on examine l'appareil digestif d'*Eledone* alimentés par des crabes dont les lissus ont été colorés en rouge par du carmin, on constate que, dans la plupart des cas, le cæcum contient une quantité plus ou moins grande de chyme rouge.

» Ces expériences démontrent que le cæcum n'est pas uniquement un réservoir pour le suc sécrété par l'hépatopancréas mais que les aliments peuvent y pénétrer. »

Nos observations concordent avec celles de FALLOISE quant à la possibilité de pénétration des substances alimentaires. Toutefois nous sommes convaincu que les produits solubilisés par les actes digestifs pénètrent seuls dans le cæcum, à l'exclusion des substances solides.

Il s'agit maintenant de savoir si le chyme arrivant de l'estomac dans le cæcum parvient jusqu'au foie en passant par les canaux hépatopancréatiques. S'il en est ainsi, le cæcum apparaîtra comme un organe préposé à deux fonctions : 1° comme

(1) FALLOISE, *Archives internationales de Physiologie*, vol. III, fascicule III, mars 1906, p. 302-304.

un réservoir de suc digestif; 2° comme un réservoir des produits solubles de la digestion. La question se poserait alors de savoir si la transformation de ces produits solubles ne se continuerait pas dans cet organe, qui ensuite les absorberait directement à travers sa paroi.

ENRIQUES (1) et CENOT (*loc. cit.*) admettent qu'il en est ainsi mais seulement pour les graisses.

Recherches personnelles

D'après ce qui vient d'être dit, le cæcum doit être envisagé d'abord comme un réservoir de suc digestif, puis comme un organe où s'accumulent les substances alimentaires fluidifiées, avant de passer dans le foie.

La plupart de nos expériences sur le ferment protéolytique des Céphalopodes, exécutées avec du suc recueilli dans le cæcum, prouvent la réalité de la première fonction. Il restait à prouver l'existence de la deuxième.

Pour cela, nous avons : 1° déterminé les rapports au poids total de l'animal, du foie d'une part et du cæcum d'autre part; 2° recherché, puis dosé les corps aminés comparativement dans ces deux organes.

Les indications consignées dans le tableau montrent que le rapport du poids du foie de Calmar au poids total est de 2,11 pour 100 (moyenne effectuée sur 7 animaux). Le rapport analogue du cæcum est de 5 pour 100.

Pour la Seiche, les résultats sont inverses. Le rapport du poids du foie au poids total est de 4,4 (moyenne effectuée sur 4 animaux). Il est environ le double de celui du Calmar. Le rapport du poids du cæcum au poids total est très faible.

Ces faits s'expliquent facilement, car le cæcum de la Seiche contient habituellement peu de suc, tandis que celui du Calmar en est constamment rempli. L'absorption des produits digestifs, rapide chez la Seiche, est plus lente chez le Calmar. Ces faits se dégagent des constatations indiquées dans le Tableau XV et aussi des expériences suivantes.

(1) ENRIQUES, *Mittheilungen Zool. Stat. Neapel*, XV, p. 281, 1902.

TABLEAU XV

ESPÈCES ANIMALES	POIDS EN GRAMMES			RAPPORT p. 100 du POIDS TOTAL	
	POIDS TOTAL de l'animal	du FOIE	du SUC COECUM	du FOIE	du SUC COECUM
<i>Loligo</i>					
N° 1	114	2,67	11,18	2,3	9,8
N° 2	117	2,30	1,62	2,0	1,3
N° 3	315	7,26	24,65	2,3	7,8
N° 4	105	2,25	4,23	2,1	4,0
N° 5	272	5,63	20,30	2,0	7,4
N° 6	178	3,17	6,65	1,7	3,7
N° 7	90	1,90	0,92	2,1	1,0
(à jeun huit jours)	<u>1491,0</u>	<u>25,18</u>	<u>69,55</u>	<u>2,11</u>	<u>5,0</u>
<i>Sepia</i>					
N° 1	165	7,8	1,2	4,7	0,73
N° 2	65	3,0	0,0	4,6	—
N° 3	1070	43	0,8	4,0	0,07
N° 4	830	37	3,2	4,3	0,3
	<u>2148</u>	<u>89,8</u>	<u>5,2</u>	<u>4,4</u>	<u>—</u>

DOSAGES COMPARÉS DES PRODUITS DIGESTIFS DANS LE FOIE
ET DANS LE CÆCUM

Nous avons employé notre technique habituelle pour doser les protéoses et les acides aminés.

Des expériences comparatives effectuées avec le tissu hépatique et avec le suc du cæcum nous ont donné les résultats contenus dans le Tableau XVI.

TABLEAU XVI

	LOLIGO		SEPIA	
	FOIE Milligr. N pour 100 gr. tissu	SUC CÆCUM Milligr. N pour 100 cc.	FOIE Milligr. N pour 100 gr. tissu	SUC CÆCUM Milligr. N pour 100 cc.
N ^o total.....	3396	4330	3448	1232
N ^o albumine.....	2146	1711	2942	1184
N ^o peptones-albumoses..	810	1739		
N ^o acides aminés.....	640	900	506	48

Si on rapproche les faits contenus dans les Tableaux XV et XVI, on voit qu'ils fournissent des indications identiques.

Le cæcum de Loligo et de Sepia renferme à la fois du suc digestif et des corps aminés.

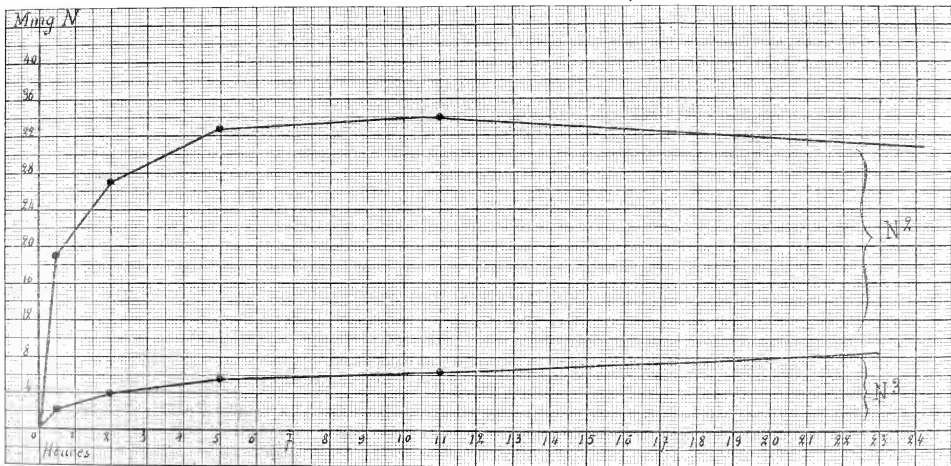
On peut interpréter ces résultats en admettant que la digestion protéolytique, réalisée en partie dans la poche gastrique, se continue dans le cæcum, mais seulement sur les substances alimentaires préalablement liquéfiées.

Les produits digestifs se rendent ensuite dans le foie, comme en témoigne leur présence dans cet organe.

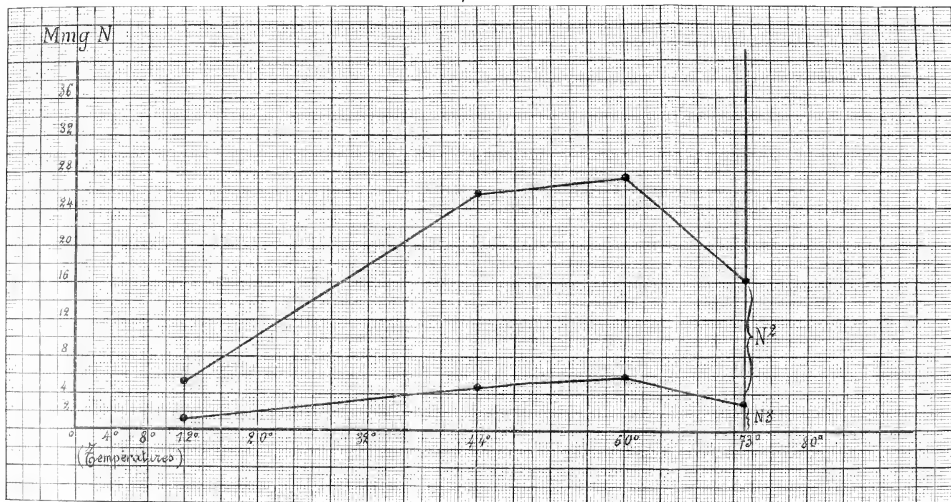
En résumé, le ferment protéolytique de *Loligo* et de *Sepia* transforme facilement la caséine. Il ne dissout pas l'ovalbumine coagulée.

Les matières protéiques des sérums de *Maja* et de *Cancer* sont transformées d'une façon appréciable. Le suc digestif d'un

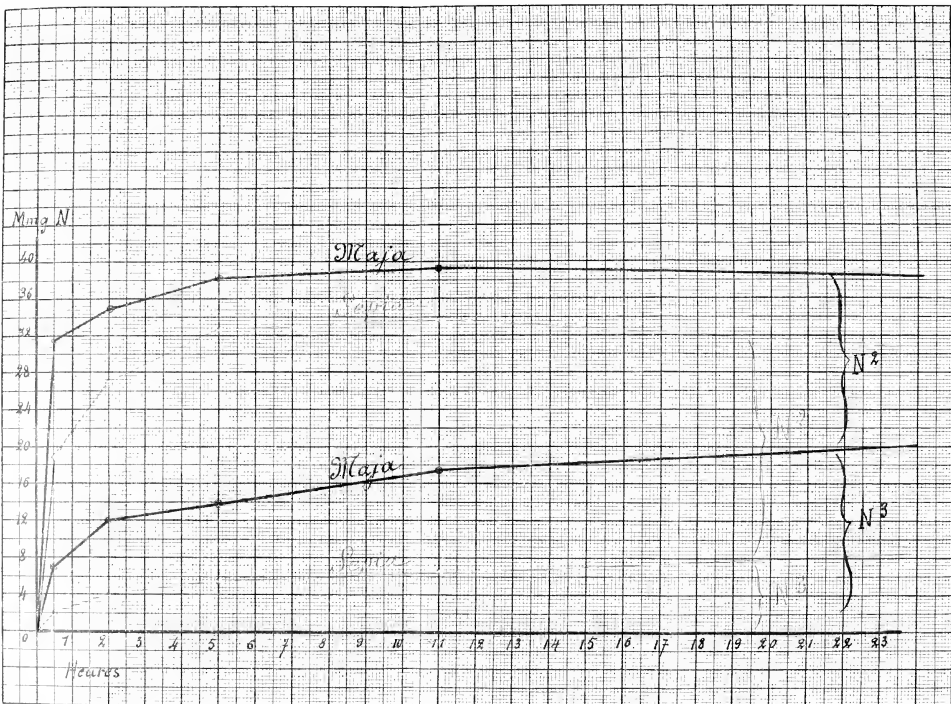
N^o 3 - Graphique montrant l'action du Suc digestif de Sepia sur la Caséine après des temps variables, à la même température



N°4. Graphique montrant l'action du Suc digestif de Sepia sur la Caséine à diverses températures



N^o.5



animal est impuissant à digérer les albumines de son propre sérum.

Les solutions d'ovalbumines sont très peu attaquées.

L'action sur la gélatine et sur les peptones de WITTE libère facilement des corps aminés.

La température exerce une action progressivement favorisante jusque vers l'optimum de 60°.

La marche du phénomène, après des temps variables, montre la mise en liberté rapide de protéoses, puis la formation progressive de corps aminés.

Le ferment protéolytique de Loligo et de Sepia digère donc les substances protéiques à la façon de la trypsine.

Leur cæcum contient à la fois du suc digestif et des acides aminés.

(Le graphique n° 5 ci-contre représente l'action digestive comparée du suc digestif de *Maja* et de *Sepia* sur la caséine dans des conditions identiques.)

III

MOLLUSQUES GASTÉROPODES

Anatomie de l'appareil digestif. — Nous avons utilisé pour nos recherches trois espèces herbivores, l'Escargot de Bourgogne et deux espèces d'Aplysie.

L'appareil digestif de l'Escargot est bien connu. Après un bulbe buccal muni d'un manchon et d'une radula commence

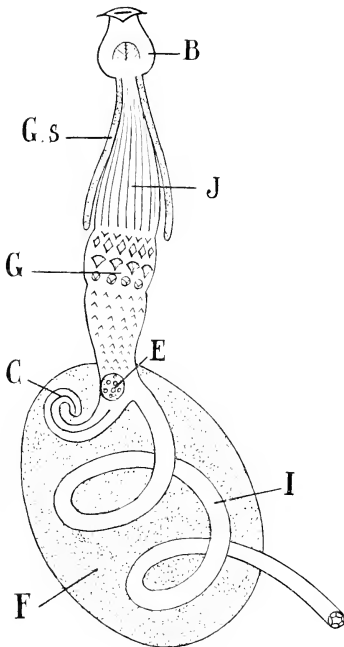


FIG. 6. — Appareil digestif d'*Aplysia* (d'après J. GRÉMY).

B. Bulbe buccal. — G.s. Glandes salivaires. — J. Jabot. — G. Gésier. — E. Orifices hépatiques. — C. Cæcum hépatique. — F. Foie. — I. Intestin.

l'œsophage sur lequel reposent les glandes salivaires; il pénètre dans un foie volumineux et y forme des circonvolutions. Les canaux des lobes droit et gauche du foie débouchent dans une dilatation contournée, dite estomac ou cæcum, qui reçoit le liquide digestif en abondance.

Le tube digestif de l'Aplysie (fig. 6) offre beaucoup d'analogie avec le précédent. Avant d'entrer dans le foie, il forme un bulbe buccal (B), un jabot (J) très extensible où s'accumulent les herbes mangées par le Mollusque, puis un gésier (G) tapissé de dents chitineuses en nombre variable avec les espèces. Grâce à un dispositif spécial, les aliments ne passent que graduellement dans l'estomac, prolongement du gésier; ses parois sont minces et peu glandulaires; les canaux hépatiques

y débouchent par plusieurs orifices (*E*) : latéralement est un long caecum (*C*) où séjournent un peu les aliments conséquence du régime herbivore de l'animal. L'intestin (*I*) forme plusieurs circonvolutions dans la masse du foie. Chez tous les Gastéropodes (les Eolidiens excepté), cet organe est revêtu d'un endothélium cylindrique non glandulaire auquel les auteurs n'accordent aucun rôle dans la digestion. Les cellules digestives, sécrétrices et absorbantes sont les cellules hépatiques.

ACTION PROTÉOLYTIQUE CHEZ *Helix*

Il est généralement admis que la sécrétion du suc digestif est d'origine hépatique. On a beaucoup étudié la propriété protéolytique chez *Helix*, mais les résultats obtenus sont contradictoires.

KRUCKENBERG (1) a trouvé dans l'extrait glycériné du foie une « Helicopepsine », différente de la pepsine des Vertébrés par son inactivité sur la fibrine cuite, tandis qu'elle peptoniserait facilement la fibrine crue: ce ferment, d'après YUNG (2), perd son activité en milieu alcalin.

MAX LEVY (3) a trouvé de la pepsine mais pas de trypsine.

Par contre, BIEDERMANX et MORITZ (4), en opérant dans des conditions physiologiques variées, ont toujours constaté l'inactivité digestive de l'extrait aqueux ou de l'extrait glycériné du foie.

Cependant, ENRIQUES (5), qui a constaté l'absorption des granules libres de chlorophylle par le foie, pensait que cet organe sécrète probablement un enzyme protéolytique, mais seulement

(1) KRUCKENBERG, Der Verdauungsvorgang bei einigen Cephalopoden und Pulmonaten. *Untersuchungen d. Physiol. Inst. Heidelberg*, t. 2, 1878, p. 2.

(2) YUNG, Contribution à l'histoire physiologique de l'Escargot, 1887. *Memoires couronnés et Memoires des savants étrangers, publiés par l'Acad. roy. de Bruxelles* t. 49, 1888, p. 1, 116.

(3) MAX LEVY, Zoochemische Untersuchungen der Mitteldarmdrüse (Leber) von *Helix pomatia*. *Zeitschrift Biol.*, t. 27, 1890, p. 398-414.

(4) BIEDERMANX et MORITZ, Beiträge zur vergleichenden. Physiologie der Verdauung, I. III, 1899. Ueber die Funktion der sog. Leber der Mollusken. *Arch. ges. Physiol.*, t. 73, p. 1-86.

(5) ENRIQUES, Il fegato dei Molluschi e le sue funzioni. *Mitt. Zool. Stat. Neapel*, t. 13, 1901, p. 374.

lorsque les aliments pénètrent dans l'estomac et au moment où la digestion des hydrates de carbone commence.

En opérant soit avec du suc digestif provenant d'animaux à jeun ou en digestion, soit avec un mélange de ce liquide avec de l'extrait d'intestin, JORDAN (1) vérifia et précisa les conclusions de BIEDERMANN et MORITZ. L'action fut négative dans tous les cas : cet auteur ne réussit pas à découvrir une kinase active.

Enfin, STÜBEL (2) constata la même inactivité. Néanmoins, une partie de l'albumine fournie étant utilisée, il suppose l'existence d'un enzyme protéolytique.

Recherches personnelles chez Helix

Nous avons utilisé pour nos études soit l'extrait de foie, soit le suc digestif recueilli sur des animaux à jeun ou en digestion.

Ce dernier liquide, de couleur groseille, est riche en matières protéiques. Il est neutre au tournesol et à la phthaléine et précipite par les acides (AzO_2H ou HCl). Additionné de soude, il se prend en masse. La chaleur le coagule facilement.

ÉTUDE DE L'ACTION PROTÉOLYTIQUE

EXPÉRIENCES

Action sur l'albumine coagulée en tube de METTE. — L'albumine n'a pas été dissoute après trente heures à 40°. Il ne semble pas y avoir de proferment pouvant être activé, car le suc est encore inactif quand il est acidifié, alcalinisé ou calcifié. La neutralité protéolytique se maintient après mélange avec de l'extrait hépatique ou avec de l'extrait intestinal.

Action sur le lait. — On fait dans des tubes à essais les mélanges suivants :

Tube *a.* — 0 cc. 1 de suc digestif + 4 cc. 5 de lait normal + 0 cc. 5 H_2O .

Tube *b.* — 0 cc. 1 de suc digestif + 4 cc. 5 de lait normal + 0 cc. 5 HCl N/5 .

(1) JORDAN, Der gegenwärtige Stand der Frage nach der Eiweissverdauung bei niederen Tieren. *Biologisches Centralblatt*, 1907, v. 27, p. 380.

(2) STÜBEL, Zur Frage der Eiweissverdauung der Landputmonaten (*Physiol. Instüt. Jena*). *Zentralblatt f. Physiol.*, t. 22, p. 525-528.

Tube *c*. — 0 cc. 1 de suc digestif + 4 cc. 5 de lait normal + 0 cc. 5 CO^2Na^2 N/5.

Tube *d*. — 0 cc. 1 de suc digestif + 4 cc. 5 de lait calcifié à 5 grammes pour 1.000 + 0 cc. 5 H^2O .

Après vingt-quatre heures, le lait n'a subi aucune modification. La caséine n'a été ni coagulée ni digérée. La réaction de l'eau bromée est négative.

L'extrait aqueux de foie fournit les mêmes résultats.

Ces faits contredisent les conclusions de KRUCKENBERG, de YUNG et de Max LÉVY, et confirment celles de BIEDERMANX et MORITZ, de JORDAN et de STÜBEL.

ACTION PROTÉOLYTIQUE CHEZ *Aplysia*

BOTAZZI (1) admet la présence dans le liquide gastrique d'*Aplysia limacina* d'au moins deux enzymes actifs en milieu acide : l'un amylolytique, l'autre protéolytique. « Le liquide gastrique doit contenir au moins deux enzymes : un amylolytique et l'autre protéolytique, et tous deux doivent être actifs dans un milieu acide. Nous nous sommes assuré de la grande activité du premier par des expérimentations faites sur l'amidon cuit de riz, lequel, en peu de temps, est transformé en sucre par le liquide filtré du contenu gastrique, malgré sa forte acidité.

» L'enzyme protéolytique doit nécessairement dissoudre les corps cellulaires et les chloroplastes, autrement on ne pourrait expliquer la mise en liberté de la chlorophylle. Celle-ci, qui est insoluble dans l'eau du contenu gastrique, à mesure qu'elle est mise en liberté, précipite dans le contenu susdit sous forme de granules irréguliers, très fins, qui y restent suspendus. Ces enzymes sont un produit de l'activité sécrétante de l'hépatopancréas, par les canalicules duquel ils s'épanchent, par la chambre hépatique, dans le tube digestif. »

BOTAZZI ne cite toutefois aucune expérience démontrant la réalité de son opinion.

(1) BOTAZZI, Contributions à la physiologie comparée de la digestion. La fonction digestive de l'*Aplysia limacina*. Archives italiennes de Biologie, 1901, vol. 33, p. 322.

Recherches personnelles chez *Aplysia*

Nous avons expérimenté soit avec le suc digestif, soit avec l'extrait aqueux du foie d'*Aplysia punctata* ou d'*Aplysia fasciata*.

Action sur le lait. — 21 centimètres cubes de lait dilué de moitié sont additionnés de 0 cc. 5 de suc d'*Aplysia*. On prélève aussitôt 2 centimètres cubes pour doser l'azote total N^1 . 5 centimètres cubes servent au dosage de l'azote non précipitable par l'acide trichloracétique $[N^2 - N^1]$, 5 centimètres cubes pour N^1 . Les 10 centimètres cubes qui restent sont laissés quinze heures à 40°. On dose alors les mêmes éléments dans 5 centimètres cubes de liquide.

Action sur le sérum de Maja. — Avec le même dispositif expérimental on remplace le lait par du sérum de *Maja* dilué de moitié par du sérum physiologique.

Action sur la gélatine. — 21 centimètres cubes de gélatine à 10 pour 100 sont mis en digestion avec 0 cc. 5 de suc digestif d'*Aplysia*. On procède au dosage de N^1 et de N^2 .

Le Tableau XVII montre l'inactivité sur ces diverses matières protéiques. La caséine, pourtant si facilement transformée par les ferments protéolytiques, est restée intacte, car le très faible résultat trouvé est négligeable. Le lait a d'ailleurs conservé tous ses caractères physiques au cours de l'expérience.

Nos expériences nous permettent de conclure à l'inactivité protéolytique des sucs digestifs d'*Helix pomatia*, d'*Aplysia punctata* et d'*Aplysia fasciata*.

L'hypothèse d'une kinase activante semble peu probable, car des expériences de JORDAN ont constamment donné des résultats négatifs. On sait d'ailleurs que les ferments des Invertébrés sont directement actifs et qu'ils ont jusqu'ici résisté aux diverses tentatives d'activation.

Le mécanisme d'absorption des matières protéiques chez ces êtres reste donc mystérieux. L'existence d'un processus digestif intra-cellulaire ne nous paraît pas invraisemblable, bien que son mécanisme nous échappe.

TABLEAU XVII

SOLUTIONS PROTÉIQUES	DURÉE DES DIGESTIONS	RÉPARTITION DE N in 20 cc				GAIN NET			RAPPORTS	
		N ¹	N ²	N ³	N ⁴	N ¹ +N ²	N ¹	N ²	$\frac{100 \cdot N^2 + N^3}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^3}$
Caséine	Avant digestion	68,00	3,36	42,40	2,24	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	68,00	4,48	51,28	2,24	1,12	0,00	1,12	2,6	—
Sérum de <i>Maja</i>	Avant digestion	72,00	0,00	66,40	5,60	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	72,00	0,00	66,40	5,60	0,00	0,00	0,00	0,00	—
	+ 24 heures	72,00	0,00	66,40	5,60	0,00	0,00	0,00	0,00	—
Gélatine	Avant digestion	120,00	—	—	5,60	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	120,00	—	—	5,60	—	—	—	—	—
	+ 24 heures	120,00	—	—	5,60	—	—	—	—	—

IV

ANNÉLIDES CHÉTOPODES (*Aphrodite aculeata*, fig. 9 et 10)

Appareil digestif. — L'appareil digestif (fig. 7) se compose

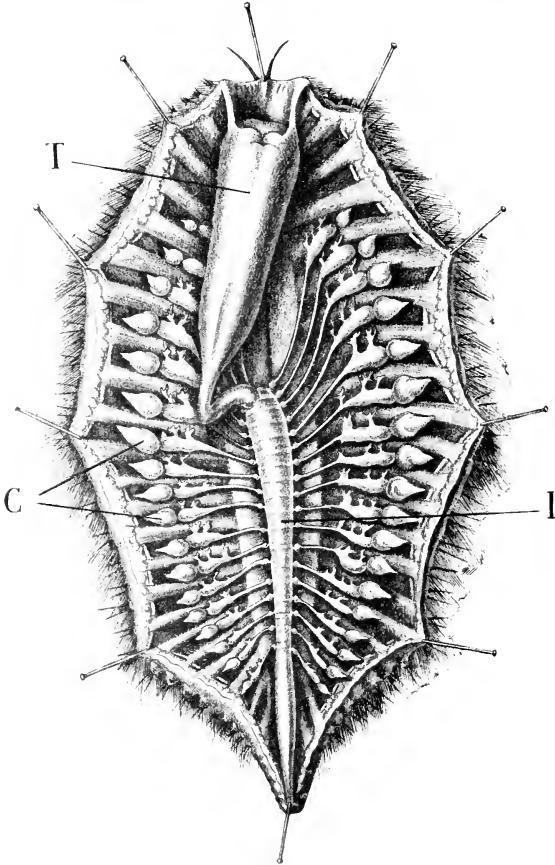


FIG. 7. — Appareil digestif d'*Aphrodite aculeata* L.
T. Trompe. — I. Intestin. — C. Cæcums.

de deux parties : une « trompe » (*T*), à parois épaisses et musculueuses, et un intestin rectiligne présentant une série de contractions annulaires correspondant aux divers segments de l'animal. Mais les parties annexes de l'intestin le rendent fort complexe. En effet, au niveau de chacune de ces contractions, et de chaque côté, débouche un long caecum où les aliments ne pénètrent point et dont l'orifice, bordé de cils gigantesques, est disposé de telle façon que l'émission de son contenu est nécessairement discontinue. La figure 7 montre en grandeur naturelle la disposition de ces caecums ; l'un d'eux, isolé et un peu grossi, est dessiné sur la figure 8. On y distingue : 1° Un long col (*C*) ; 2° un sac dorsal (*D*) très ramifié ; 3° un sac ventral de forme ovoïde, distendu par un liquide brunâtre. Le sac dorsal et le sac ventral sont réunis par un deuxième col (*C*).

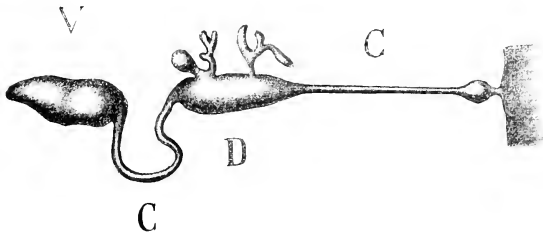


FIG. 8. — *Aphrodite aculeata* L. — Caecum
C. Col. — D. Sac dorsal. — V. Sac ventral.

Le revêtement épithélial de l'intestin est formé de cellules cylindriques plus ou moins allongées, souvent bourrées vers leur extrémité libre de spérules d'aspect huileux. La structure du col rappelle d'abord celle de l'intestin, puis son caractère glandulaire s'accroît progressivement vers le sac dorsal : celui-ci, d'après HASWELL (1), serait la seule partie sécrétante, tandis que DARBOUX attribue à toute l'étendue des caecums le rôle glandulaire. Trois sortes de cellules se rencontrent surtout dans leur épithélium.

(1) Cité par G. DARBOUX.

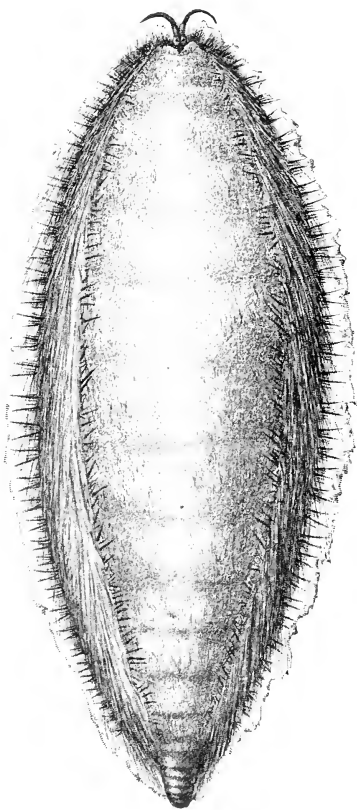


FIG. 9 — *Aphrodite aculeata* L. (face dorsale .

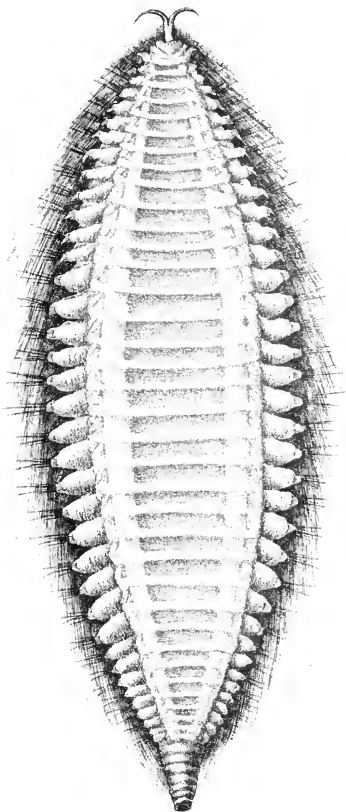


FIG. 10. — *Aphrodite aculeata* L. face ventrale.

1° Les cellules excrétrices (*fig. 11*): leur noyau toujours assez petit se trouve dans la partie profonde, plongé dans du protoplasma dense. A la partie périphérique, de nombreuses vacuoles

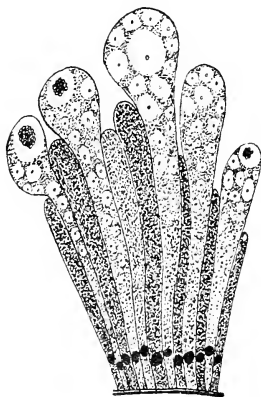


FIG. 11. — *Aphrodite aculeata*, L.

Papille du caecum formée de cellules excrétrices (d'après G. Darboux).

renferment un liquide incolore où flotte une concrétion jaunâtre; l'une d'elles est plus développée que les autres.

2° Les cellules sécrétrices (*fig. 12*): dans leur protoplasma,

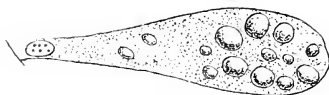


FIG. 12. — *Aphrodite aculeata* L.

Cellules sécrétrices de la paroi du caecum (d'après G. Darboux).

privé de vacuoles, flottent, isolées ou réunies en amas de 4 à 20 gouttelettes hyalines et même plus, se colorant sur les coupes, en rouge vif par l'éosine, ou après fixation par un liquide à l'acide osmique, en rouge orangé par la safranine: ce sont là des réactions de ferments.

3° Des cellules encore jeunes et indifférenciées. Parfois les cellules sont groupées en papilles; de celles-ci se détachent les « ballots d'excrétions » (*fig. 13*).

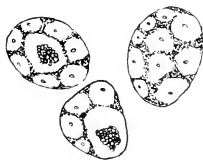


FIG. 13. — *Aphrodite aculeata* L.
Ballots d'excrétion [contenu du cæcum] (d'après G. Darboux).

ACTION PROTÉOLYTIQUE

On doit à KRÜKENBERG (1) les premiers essais sur la nature digestive. Cet auteur signala en particulier un ferment protéolytique qui digérait énergiquement l'albumine en milieu neutre, alcalin et faiblement acide; toutefois, quelques heures de contact avec HCl à 0,2 pour 100 le détruisaient. Au lieu d'étudier directement le liquide extrait des cæcums frais, G. DARBOUX (2) s'est préoccupé de démontrer leur fonction sécrétrice. Voici comment il opérait : « Après avoir séjourné quelques jours dans l'alcool, les cæcums sont exposés à l'air libre, sur une feuille de buvard, jusqu'à complète évaporation de l'alcool qu'ils contenaient; la masse sèche ainsi obtenue, est pilée dans un mortier, avec un peu de sable préalablement lavé et séché. On traite le magma ainsi obtenu par l'eau thymolisée et l'on obtient ainsi l'extrait aqueux de cæcum sous la forme d'un liquide blanc jaunâtre.

Des tubes à essais, préparés d'autre part, contenaient les uns de l'eau pure, les autres de l'eau acidulée, d'autres enfin de l'eau additionnée de 1 à 2 pour 1.000 de carbonate de soude: dans

(1) KRÜKENBERG, Vergleichend. physiologische Beiträge zur Kenntnis der Verdauungsvorgänge. *Untersuchungen des physiol. Inst. Heidelberg*, t. 2, 1882, p. 37-40.

(2) G. DARBOUX, Recherches sur les Aphroditiens. *Travaux de l'Institut de Zoologie de l'Université de Montpellier et de la Station maritime de Cette*, 1899. Mémoire n° 6.

chacun de ces tubes se trouvait un petit fragment de fibrine de sang de porc. L'addition d'une petite quantité de l'extrait aqueux de caecum à chacun de ces tubes amenait les résultats suivants :

Eau acidulée	Néant
Eau pure	Digestion de la fibrine
Eau alcalinisée	Digestion de la fibrine, plus rapide que dans le cas précédent

La durée de l'expérience n'a jamais excédé trois heures dans le second cas.

J'ai vérifié que des muscles d'Annélides divers, de Mollusques (*Tapes*) étaient aussi digérés. Enfin des fragments d'Arthropodes (*Craugon*) sont aussi complètement digérés, exception faite pour la chitine qui persiste. Nous voyons donc que les caecums des Aphroditiens sont à la fois des organes sécréteurs et excréteurs ». Ces résultats diffèrent peu de ceux obtenus déjà par KRUKENBERG. Mais ces deux auteurs n'émettent aucune opinion précise sur la nature de la diastase protéolytique. Est-ce une pepsine ? Est-ce une trypsine ?

Recherches personnelles

EXPÉRIENCES

Action sur l'ovalbumine coagulée. — Un cube d'ovalbumine pesant 0 gr. 250, mis en présence de suc digestif d'*Aphrodite aculeata* à 40°, est digéré presque entièrement après trente-six heures.

Action sur la gélatine. — 4 centimètres cubes de gélatine à 10 pour 100 exactement neutralisée par du CO^2Na^2 , mis en présence de 0 cc. 1 de suc, ne gélifient plus après deux heures à 40°. Le liquide de digestion s'est notablement acidifié.

Action sur le lait. — On met dans un tube à essai stérilisé 10 centimètres cubes de lait frais, plus une goutte de suc digestif. On porte au bain-marie à 40°. Après quelques minutes, la caséine se précipite en flocons qui s'agglomèrent pour former un coagulum gélatineux. Ce coagulum est très rapidement dissout. Le lait s'éclaircit. Le liquide de digestion contient des amino-acides, titrables au formol. L'eau bromée donne la réaction du tryptophane.

Etude du milieu d'action. — Dans une série de tubes à essais on introduit 0 cc. 5 de suc digestif d'*Aphrodite aculeata* et des quantités

variables d'acide HCl N/5 et d'alcali CO³Na² N/5, les volumes étant maintenus constants par addition convenable d'eau distillée. Le pouvoir protéolytique est mesuré par le procédé de METTE, après vingt-quatre heures à 40°. L'expérience est faite comparativement avec du suc de *Maja*.

	Réaction	Milligr. d'albumine dissoute après 28 heures à 40°	
		Aphrodite	Maja
0 cc. 5 de suc + 0,1 d'HCl N/5 + 0,4 H ² O	0 gr. 7 HCl ^o / ₁₀₀	0,0	0,0
0 cc. 5 — + 0,0 — ± 0,5 H ² O	neutre	7,3	17
0 cc. 5 — + 0,1 CO ³ Na ² N/5 + 0,4 H ² O	1 gr. 0 CO ³ Na ² ^o / ₁₀₀	4,0	8,7
0 cc. 5 — + 0,3 — + 0,2 H ² O	3 gr. 1 —	2,5	0,0
0 cc. 5 — + 0,5 — + 0 gr. H ² O	5 gr. 2 —	0,7	0,0

Le ferment d'*Aphrodite* résiste donc mieux que celui de *Maja* à l'action du milieu alcalin.

ACTION SUR DIVERSES MATIÈRES PROTÉIQUES

EXPÉRIENCES

Action sur le lait. — On prend 21 cc. 5 de lait dilué de moitié, on l'additionne de 0 cc. 5 de suc digestif; 2 centimètres cubes sont prélevés pour le dosage de N¹, 5 centimètres cubes pour déterminer la teneur en azote non précipitable par l'acide trichloracétique (N² + N³), 5 centimètres cubes pour N³. Les 10 centimètres cubes qui restent sont laissés quinze heures à 40°. On dose alors les mêmes éléments dans 5 centimètres cubes de liquide.

Action sur le sérum de Maja. — Même dispositif expérimental, le lait est remplacé par du sérum de *Maja* dilué de moitié par du sérum physiologique.

Action sur la gélatine. — 21 cc. 5 de gélatine à 10 pour 100 sont mis en présence de 0 cc. 5 de suc. On dose N¹ et N³ (Voir Tableau XVIII).

La caséine a été digérée à peu près totalement (96,3 pour 100). La valeur du rapport $\frac{N^3}{N^2}$ est voisine de 1.

On constate pour le sérum de *Maja* une digestion relativement bonne (13,4 pour 100 après quinze heures et 33,9 pour 100 après vingt-cinq heures).

TABLEAU XVIII

SOLUTIONS PROTÉIQUES	DURÉE des DIGESTIONS	RÉPARTITION de N in 20 cc. liquide)						GAIN NET			RAPPORTS		
		N ⁰	N ¹	N ²	N ³	N ² + N ³	N ³	$\frac{100(N^2 + N^3)}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^1}$	$\frac{N^3}{N^1}$			
Caséine	Avant digestion	68,00	63,52	2,24	2,24	—	—	—	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	68,00	2,10	27,98	17,92	41,42	25,74	15,68	96,3	1,6	—	—	
Sérum <i>Maja</i>	Avant digestion	72,00	66,40	0,00	5,60	—	—	—	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	72,00	57,54	5,30	8,96	8,86	5,30	3,36	13,4	1,6	—	—	
	+ 25 heures	72,00	44,00	12,32	15,68	13,54 + 6,82	6,72	33,9	1,0	—	—	—	
Gélatine	Avant digestion	120,00	—	—	5,60	—	—	—	—	—	—	—	—
	Après 15 heures	120,00	—	—	25,70	—	—	20,10	16,7	—	—	—	
	+ 25 heures	120,00	—	—	31,30	—	—	5,60	21,3	—	—	—	

Les amino-acides se forment facilement aux dépens de la gélatine (16,7 pour 100 après quinze heures de digestion et 21,30 après vingt-cinq heures).

ACTION SUR LA CASÉINE APRÈS DES TEMPS VARIABLES

EXPÉRIENCES

On mélange 40 centimètres cubes de lait dilué de moitié et 1 centimètre cube de suc. On dose immédiatement N^1 ($N^2 + N^3$, N^4 témoin) avec 2 centimètres cubes pour N^1 , 3 centimètres cubes pour ($N^2 + N^3$), 5 centimètres cubes pour N^4 . Le reste du liquide est porté à 40°. Les mêmes éléments sont dosés après trente minutes, deux heures, dix-huit heures sur 5 centimètres cubes de liquide (*Voir Tableau XVI*).

La digestion globale de la caséine, dans cette expérience, s'est élevée jusqu'à 80,7 pour 100 après trente minutes. La marche du phénomène s'est ralentie dans la suite pour atteindre 83,3 pour 100 après deux heures et 88,5 pour 100 après dix-huit heures. La valeur du rapport $\frac{N^2}{N^3}$ a varié en sens inverse, de 2,44 après trente minutes à 1,6 après deux heures pour finalement arriver à 1,1 après dix-huit heures.

La peptonisation atteint donc rapidement son maximum, tandis que la mise en liberté des amino-acides ne se fait que progressivement.

On dira en résumé que l'ovalbumine est facilement dissoute par le suc digestif d'*Aphrodite aculeata*.

Le ferment est favorisé par le milieu neutre ou faiblement alcalin.

De faibles doses d'acide suffisent pour l'anéantir.

L'action hydrolytique montre un processus nettement tryptique.

TABLEAU XIX

DURÉE DE LA DIGESTION	RÉPARTITION de N (in 20 cc. liquide)				GAIN NET			RAPPORTS	
	N^1	N^2	N^3	N^4	$N^2 + N^3$	N^2	N^4	$\frac{100 \cdot N^2 + N^4}{N^1}$	$\frac{N^2}{N^1}$
Avant digestion.....	48,00	42,96	2,24	2,80	—	—	—	—	—
Après									
30 minutes.....	48,00	8,24	26,88	12,88	34,72	24,64	10,08	80,7	2,4
2 heures.....	48,00	7,14	24,62	16,24	35,82	22,38	13,44	83,3	1,6
48 heures.....	48,00	4,88	22,40	20,72	38,08	20,16	17,92	88,5	1,1

CHAPITRE V

Recherches sur l'action éreptique (Cohnheim) ou peptolytique (Abderhalden)

L'étude précédente nous a renseigné sur l'action protéolytique, dissociée elle-même en ses deux éléments : Action peptonisante d'une part, action éreptique d'autre part. Elle nous a montré, en outre, qu'il n'était pas nécessaire de recourir à l'emploi d'agents activateurs, analogues à la kinase des Vertébrés, dont les recherches de PAWLOW et CHEPOWALNIKOFF (1) sur le Chien, de DELEZENNE (2) sur beaucoup d'autres animaux et de nous-même (3) sur les Poissons cartilagineux ont établi l'importance.

On pourrait, sans doute, supposer l'existence intra-glandulaire d'une diastase activante qui conférerait l'activité à une protrypsine, mais toutes les tentatives pour en démontrer la réalité ont jusqu'ici échoué.

Quoi qu'il en soit, il resterait à étudier l'ordre d'apparition des acides aminés au cours de la protéolyse, puis l'action du ferment sur les divers polypeptides de synthèse. Des expériences comparatives exécutées avec des sucs de diverses provenances, sur des matières protéiques variées, aboutiraient probablement à des conclusions intéressantes, car toute la question de la spécificité des ferments protéolytiques est comprise dans cette

(1) CHEPOWALNIKOFF, La physiologie du suc intestinal. *Thèse inaug. de Saint-Petersbourg*, 1899.

(2) DELEZENNE, L'entérokinase et l'action favorisante du suc intestinal sur la trypsine dans la série des Vertébrés. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1901, p. 1164.

(3) J. SELLIER, De l'action favorisante du suc intestinal sur la digestion pancréatique des matières albuminoïdes chez les Poissons cartilagineux. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1902, p. 1407.

étude. On sait d'ailleurs combien ont été fécondes les recherches de FISCHER et d'ABDERHALDEN exécutées dans cette voie. Nos expériences chez les Invertébrés n'ont pas encore été poussées bien loin, car nous n'avons pu nous procurer de polypeptides de synthèse. Toutefois, nous avons pu caractériser certains acides aminés à l'aide de quelques réactions simples.

Inactive sur les albumines natives (sauf la caséine), l'érepsine dissocie, au contraire, beaucoup de polypeptides en leurs constituants amino-acides. ABDERHALDEN a désigné ce phénomène sous le nom de *peptolyse* et il a appelé *ferment peptolytique* l'agent transformateur. Ces « polypeptidases » paraissent d'ailleurs très répandues. ABDERHALDEN (1) et ses collaborateurs les ont rencontrées dans le foie, les muscles, le rein, etc., de divers animaux (Chien, Bœuf, Cheval, Lapin, etc.), VERNON, dans le pancréas et dans le foie, BERGMANN, dans la muqueuse intestinale des Herbivores, SAVARÉ, dans le placenta humain, FALLOISE, dans l'hépto-pancréas des Céphalopodes.

Ces agents ne paraissent pas identiques, car la décomposition des peptides varie avec le suc étudié (2).

Le meilleur procédé pour une telle étude, d'après ABDERHALDEN, consiste à employer, parmi ces derniers corps, ceux qui sont optiquement actifs et à suivre pas à pas les variations de leur pouvoir rotatoire durant leur décomposition.

D'autres méthodes, moins précises mais plus simples, peuvent être utilisées. On peut notamment choisir ceux qui donnent la réaction du biuret, mais dont les produits de transformation ne la donnent pas, ou utiliser des polypeptides qui libèrent du tryptophane, dont l'eau bromée décèle la présence.

Avec ces deux derniers procédés, il faut tenir compte du fait que la solution albumineuse de ferment peut donner par elle-même la réaction du biuret et même libérer du tryptophane.

Enfin une technique commode, et suffisamment exacte, consiste dans l'emploi de peptides solubles, mais contenant des amino-acides insolubles dans l'eau (tyrosine, leucine, cys-

(1) Voir pour la bibliographie de cette question : Maurice JAVILLIER, Les ferments protéolytiques, 1909, p. 183 et 184. Vigot frères, éditeurs, Paris.

2 La pepsine ne libère jamais d'acides-amino (voir Tableau II). Elle est aussi totalement inactive sur les polypeptides.

tine, etc). Leur décomposition sera décelée par la précipitation de l'acide aminé.

Nos recherches ont été exécutées à l'aide des procédés suivants :

- 1^o Méthode de SÖRENSEN.
- 2^o Procédé des peptones ROCHE.
- 3^o Procédé de la disparition de la réaction du biuret.
- 4^o Réaction de l'eau bromée.
- 5^o Réaction de la tyrosinase.

Méthode de Sarreusen. — Ce procédé nous fixait sur la valeur globale de la protéolyse. Nous avons exposé son principe à la page 13.

Procédé des peptones Roche. — Cette substance, obtenue par hydrolyse partielle de la soie, est riche en tyrosine. L'érepsine, en décomposant la peptone, provoquera la précipitation de ce dernier corps; ceci permettra de constater et même de mesurer l'intensité du phénomène.

Voici comment nous avons opéré : On prend 2 centimètres cubes de peptone ROCHE à 10 pour 100 exactement neutralisée. On ajoute 0 cc. 1 de suc digestif. Le tube, placé au bain-marie à 40°, est examiné de temps en temps. Lorsque le suc est très actif, la tyrosine précipite rapidement, le phénomène est déjà manifeste après quelques heures. Au contraire, si l'action est faible, il est nécessaire de prolonger l'expérience de trois à quatre jours. On laisse alors refroidir, car la tyrosine est encore moins soluble à froid.

Procédé de la disparition de la réaction du biuret. — Nous avons expérimenté de la façon suivante : On prend 5 centimètres cubes de solution neutre et toluénée de peptone de WITTE à 5 pour 100; on l'additionne de 0 cc. 1 de suc digestif. Le tube est placé au bain-marie à 40°. La disparition de la réaction du biuret prouve l'existence de l'érepsine.

Réaction de l'eau bromée. — L'existence du tryptophane est facilement décelée par cette réaction. Voici un type d'expérience : On prend 10 centimètres cubes de lait + 0 cc. 1 de suc digestif. Le tout est placé au bain-marie à 40°. Après des temps variables, trois heures, six heures, douze heures, etc., on ajoute par goutte de l'eau de brome. L'apparition de la couleur rouge vio-

lacé indique la présence de ce corps à l'état libre. On peut même, à l'aide de ce procédé, noter approximativement la rapidité et l'intensité du processus.

Réaction de la tyrosinase. — Une réaction biologique nous a permis de constater et même de mesurer qualitativement la libération de la tyrosine. Pour cela, nous avons utilisé le liquide coelomique des Crustacés, qui contient de la tyrosinase (1), l'expérience suivante le prouve :

On place dans un tube 10 centimètres cubes d'une solution saturée à froid de tyrosine et on y ajoute 0 cc. 1 de liquide coelomique de Crustacés (*Maja* ou *Cancer*). Au bout de peu de temps apparaît une coloration d'abord brune, puis de plus en plus foncée. Un témoin contenant les mêmes substances, mais préalablement porté à l'ébullition, conserve indéfiniment sa coloration initiale.

Le Tableau XX contient les résultats obtenus avec ces diverses méthodes.

Chez *Maja*, l'action du suc sur le sang est toujours intense. Le tryptophane est rapidement libéré. Les peptones de WITTE sont facilement transformées en corps abiurétiques. Au contraire, toutes choses égales, la précipitation de la tyrosine est plus lente. On constate chez *Cancer* et *Homarus* les mêmes phénomènes, mais plus affaiblis.

1 La découverte de la tyrosinase dans le sang des Crustacés est attribuée à F. HEIM (VOIR ORTO VON FÜRTH, *Vergleichende chemische Physiologie*, p. 78, en note). Cet auteur vit sans doute la formation d'un pigment dans le sang des Crustacés sous l'influence de la trypsine, mais il n'en comprit pas le mécanisme. La notion de ferment oxydant, en effet, due à G. BERTRAND, date seulement de 1896, époque où il signala l'action de la tyrosinase sur la matière chromogène cristallisée (tyrosine) de la Russule. (Sur une nouvelle oxydase ou ferment soluble oxydant d'origine végétale. *Bulletin de la Société chimique de Paris*, 3^e série, t. 15, 1896, p. 794.)

Voici d'ailleurs comment s'exprime F. HEIM (Etudes sur le sang des Crustacés décapodes. *Thèse de la Faculté des sciences de Paris*, 1892, p. 67) :

« Nos essais nous permettent de conclure que ce corps mélanine, ou du moins un corps très voisin, naît en l'absence totale d'hémoglobine. Il apparaît chez les Crustacés vraisemblablement à la suite de l'action de la trypsine contenue dans le foie et le sang sur les albuminoïdes. Le résultat de cette fermentation serait l'apparition de corps analogues à l'indol et au scatol; ces corps jouissent, on le sait, de la propriété de fixer l'oxygène pour donner naissance à des pigments noir violacés ». Et plus loin, page 119: « Un véritable pigment mélanique se forme, *in vitro*, par action d'une trypsine sur les albuminoïdes du sang et du foie et au contact de l'oxygène. »

TABLEAU XX

+++ = Action rapide. ++ = Action assez rapide. + = Action lente
0 = Action nulle

SUCS DIGESTIFS	Activité peptolytique globale (Méthode au formol)	Lait	Sérum Crustacés (<i>Maja Cancer</i>)	Peptones ROCHE	Peptones WITTE
		Tryptophane Réaction	Noircissement Tyrosinase	Précipitation de la tyrosine	Disparition de la réaction du biuret
Suc gastrique pur de Chien	0	0	0	0	0
Pancréatine GRÜBLER	+++	+++	++	+++	++
CRUSTACÉS					
<i>Maja squinado</i>	+++	+++	+	++	+++
<i>Cancer pagurus</i>	++	+	-	+	+
<i>Homarus vulgaris</i>	++	+	-	+	+
CÉPHALOPODES					
<i>Sepia officinalis</i>	++	++	+++	+++	+
<i>Loligo vulgaris</i>	++	++	+++	+++	+
VERS					
<i>Aphrodite aculeata</i>	+++	++	++	++	++
GASTÉROPODES					
<i>Helix pomatia</i>	0	0	0	0	0
<i>Aplysia fasciata</i>	0	0	0	0	0
<i>Aplysia punctata</i>	0	0	0	0	0

Le suc du cœcum des Céphalopodes (*Sepia, Loligo*) a une action moindre que chez les Crustacés.

La réaction du biuret ne disparaît pas complètement, même après huit jours de digestion à 40°. Ce dernier fait est conforme aux résultats de FALLOISE.

Au contraire, le tryptophane apparaît promptement dans le lait éclairci par l'action digestive. Le brunissement du sang des Crustacés se produit rapidement : la couleur devient noire comme de l'encre.

On constate chez *Aphrodite aculeata* des faits analogues à ceux des Crustacés.

Des expériences semblables ont toujours fourni chez *Helix* et *Aplysia* des résultats négatifs.

RECHERCHES SUR LES FERMENTS ÉREPTIQUES DES TISSUS

Nous venons de constater l'action éreptique des sucs digestifs : il nous a paru nécessaire de rechercher ce phénomène dans divers tissus d'Invertébrés. ABDERHALDEN, après l'avoir signalé dans des organes ne contenant pas de ferments protéolytiques, a fait avec R. HEISE (1) quelques expériences dans ce sens chez les Invertébrés. Ils isolaient l'intestin moyen de divers êtres, puis, après l'avoir débarrassé de son contenu, ils le plaçaient dans une solution neutre de peptone ROCHE à 50 pour 100. Le tout additionné de toluol était porté à 37°. Les cristaux de tyrosine se déposaient sur l'intestin d'abord, puis au fond du tube. La précipitation, souvent notable après quelques heures, n'augmentait plus après le troisième jour. On pesait la tyrosine après filtration.

C'est cette technique fort simple que nous avons employée. Voici comment les expériences étaient conduites :

1° Dans une solution de peptone ROCHE à 10 pour 100 (2 centimètres cubes), neutralisée par du carbonate de soude, on introduisait soit un petit morceau d'organe (foie, muscle, etc.) fraîchement prélevé sur l'animal vivant et aussitôt lavé avec

1 ABDERHALDEN et HEISE, Ueber das Vorkommen peptolytischer Fermente bei den Wirbellosen. *Zeitschrift für physiolog. Chemie*, 1909, t. 62, p. 138-139

une solution physiologique de chlorure de sodium, soit une portion d'intestin moyen, ou bien encore, 0 cc. 5 de sang ou de liquide de la cavité générale. On plaçait le tout au bain-marie à 40°, après l'avoir additionné de quelques gouttes de toluol.

2° Dans un mortier contenant du sable lavé et 2 à 4 centimètres cubes d'eau distillée, on broyait 0 gr. 500 de tissus, puis on ajoutait peu à peu 10 centimètres cubes de lait. On versait le mélange homogène dans un tube à essai, lequel était porté au bain-marie à 40° après addition de quelques gouttes de toluol. Au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures, on recherchait le tryptophane.

Nos résultats sont consignés dans le Tableau XXI.

Toutes ces expériences montrent l'étroite relation de la peptolyse et de la fonction protéolytique. L'intestin moyen et son annexe l'hépto-pancréas sont, en effet, seuls capables de libérer de la tyrosine ou de fournir du tryptophane. Toutefois, lorsque l'expérience se prolonge quelques jours, on aperçoit même sur le muscle (Crustacés, Céphalopodes) quelques rares cristaux de tyrosine. Le sang et le liquide de la cavité générale sont constamment inactifs.

Les organes digestifs d'*Helix* et d'*Aplysia* ont une action également nulle.

Enfin la marche du phénomène est variable. La tyrosine et le tryptophane ne se libèrent pas, en effet, en proportions équivalentes chez les divers êtres que nous avons étudiés. Chez les Echinodermes notamment (Synapte, Oursin), la tyrosine précipite facilement, tandis que le tryptophane est mis lentement en liberté. C'est l'inverse chez *Sipunculus* et *Arenicola*.

En résumé, ces diverses expériences démontrent l'existence chez les Invertébrés d'une diastase analogue à l'érepsine. On ne la rencontre que dans les sucs ou organes digestifs qui possèdent une action protéolytique.

TABLEAU XXI

+++ Action rapide. ++ Action plus lente. + Action lente.
0 Pas d'action -- = N'a pas été recherché.

ESPÈCES ANIMALES	PEPTONES ROCHE Précipitation de la tyrosine				CASÉINE Tryptophane Réaction			
	Foie hépatopancr.	Intestin moyen	Muscle	Sang ou liquide de cavité général.	Foie ou hépatopancr.	Intestin moyen	Muscle	Sang ou liquide de cavité général.
ECHINODERMES								
<i>Asterias rubens</i>	+++	-	-	-	+	-	-	-
<i>Synapta digitata</i>	-	+++	-	-	-	Traces	-	-
<i>Strongylocentrotus lividus</i>	-	+++	-	-	-	Traces	-	-
VERS								
<i>Sipunculus auidus</i>	-	+	-	-	-	+++	-	0
<i>Arenicola piscatorum</i>	-	-	-	-	-	+++	-	0
CÉPHALOPODES								
<i>Sepia officinalis</i>	+++	-	0	0	++	-	0	0
<i>Loligo vulgaris</i>	++	-	0	0	++	-	0	0
CRUSTACÉS								
<i>Maja squinado</i>	++	-	Traces	0	++	-	0	0
<i>Cancer pagurus</i>	+	-	Traces	0	+	-	0	0
<i>Homarus vulgaris</i>	+	-	Traces	0	+	-	0	0
GASTÉROPODES								
<i>Helix aspersa</i>	0	-	0	0	0	-	0	0
<i>Aplysia fasciata</i>	0	-	0	0	0	-	0	0
<i>Aplysia punctata</i>	0	-	0	0	0	-	0	0

CHAPITRE VI

I

La présure des Invertébrés

La présure a été signalée par MESNIL (1) dans l'extrait des filaments mésentériques d'Actinies, par COTTE (2), chez les Spongiaires (*Suberites*), par COHNHEIM (3), dans le foie du Poulpe, par GERBER et DAUMEZON (4) chez les Tuniciers.

Mais ces auteurs s'étant bornés à constater l'action coagulante de la diastase sur le lait, n'ont pas observé les divers phénomènes qui se succèdent au cours de cette action.

Nous-même, dans plusieurs notes (5) échelonnées de 1906 à 1909, nous avons fait les mêmes constatations en serrant la question

(1) Félix MESNIL, Recherches sur la digestion intra-cellulaire et les diastases des Actinies. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1901, t. 13, p. 384.

(2) Jules COTTE, Note sur les diastases du *Suberites domuncula* (Spongiaires). *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1901, p. 96.

(3) COHNHEIM, Weitere Mittheilungen über Eiweissresorption. Versuche an Octopoden. *Zeitschrift für physiol. Chem.*, 1902.

(4) GERBER et DAUMEZON, La présure des Ascidies. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 1909, p. 193.

(5) J. SELLIER, Existence de la présure dans le suc digestif des Crustacés. *Congrès de l'Association française pour l'avancement des sciences*. Lyon, août 1906.

Existence de la présure dans le suc digestif des Crustacés. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 1906, t. LXI, p. 449.

Existence de la présure chez les Invertébrés. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 1907, t. LXII, p. 693.

Action présurante et protéolytique du suc digestif des Céphalopodes. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 1907, p. 705.

Sur l'identité du ferment protéolytique et de la présure. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 1908, p. 754.

Quelques conditions réclamées par les sucs digestifs protéolytiques des Invertébrés marins pour la mise en évidence de leur action présurante. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, 1909, t. LXVII, p. 237.

de plus près, sans l'étudier à fond, chez les Crustacés décapodes, les Mollusques céphalopodes, les Annélides et les Echinodermes. Nous nous proposons ici de décrire en détail les expériences plus complètes que nous avons faites ultérieurement et d'énoncer les conclusions qui en découlent.

Or voici ce qu'apprend une première expérience : Dans un tube à essai contenant 10 centimètres cubes de lait, on ajoute du suc de *Maja* venant d'être recueilli dans la poche gastrique. Après quelque temps au bain-marie à 40°, le lait est entièrement coagulé et le tube peut être retourné sans qu'une seule parcelle de substance s'en détache. Dans la suite le coagulum formé se dissout jusqu'à complète disparition. Il est remplacé par un liquide clair et légèrement opalescent.

Cette expérience montre la succession de deux phénomènes :

1° La coagulation de la caséine (action présurante) :

2° La dissolution du caillot (action digestive).

Toutefois le premier ne se produit pas toujours. Il n'apparaît que si l'expérience porte sur des doses faibles de suc.

Exemple. — Si à 10 centimètres cubes de lait on ajoute 1/2 goutte ou 1 goutte de suc, la coagulation se produit nettement. Avec des doses plus élevées (0 cc. 1, 0 cc. 2, 0 cc. 3), le phénomène se manifeste plus promptement encore, mais le coagulum reste mou et gélatineux. Enfin 1 centimètre cube digère rapidement la caséine, mais sans coagulation préalable.

Etude de l'action présurante. — L'expérience suivante fait connaître la loi qui régit la coagulation du lait par les doses faibles.

EXPÉRIENCE

On place au bain-marie à 40° des tubes à essais qui contiennent chacun 5 centimètres cubes de lait frais de vache. On les additionne respectivement de : 1 goutte, 1/2, 1/3, 1/10, 1/20 de goutte de suc digestif. On note les temps de coagulation, qui sont de 3, 6, 14, 34, 64 minutes.

Le produit de la proportion de diastase par ces temps de coagulation est un nombre constant (3 environ). En effet : $3 \times 1 = 3$; $6 \times 1/2 = 3$; $14 \times 1/3 = 2,8$; $34 \times 1/10 = 3,4$; $64 \times 1/20 = 3,2$.

Le phénomène présurant obéit donc à la loi de proportionna-

lité (loi de SEGELKE-STORCH) et l'on sait par les expériences de DUCLAUX (1) que la présure HANSEN suit cette loi pour des volumes de lait compris entre 2.000 et 12.000 fois le volume de présure. On sait aussi que dans les mêmes conditions d'expériences la pepsine fournit des résultats différents; en effet, IVAR BANG (2) d'abord, puis BRIOT (3) ont constaté que les coagulations obtenues avec la parachymosine sont toujours très rapides. Une dose de pepsine coagule en un temps T, par exemple, une certaine quantité de lait, tandis que $\frac{A}{2}$ ne coagule pas le même volume en un temps 2 T, mais en un temps plus long, ou même pas du tout.

GERBER (4) a toutefois signalé l'exactitude de la loi à la température de 25° et G. BECKER (5) a observé le même phénomène en opérant avec du suc gastrique humain sur du lait acidifié par l'acide chlorhydrique.

Etude du phénomène digestif. — Le tube étant laissé au bain-marie à 40°, le coagulum perd peu à peu sa consistance. Il devient d'abord mou et gélatineux, puis il se dissout peu à peu: il est bientôt remplacé par un liquide clair et légèrement opalescent. L'eau bromée y décèle le tryptophane. L'addition de formol neutre y fait apparaître une acidité due à des amino-acides.

La caséine a donc été digérée suivant le processus tryptique.

DUCLAUX (6), qui avait observé des phénomènes analogues en opérant avec des présures microbiennes (*Tyrothrix tenuis*) ou avec des morceaux de pancréas, considérait qu'il en était toujours ainsi lorsque, dans le liquide diastasique, « la caséase est

(1) DUCLAUX, Traité de microbiologie. Première partie: Etude systématique des diastases, p. 163.

(2) IVAR BANG, Ueber Parachymosin, ein neues Labferment. *Pflüger's Archiv*, vol. 79, p. 425-441.

(3) BRIOT, Etudes sur le Labferment des solutions de pepsine ou parachymosine. *Journal de physiologie et de pathologie générales*, 1907, p. 784-792.

(4) GERBER, La loi de Segelke-Storch et la parachymosine. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 30 novembre 1907, p. 575.

(5) G. BECKER, Untersuchungen über das Zeitgesetz des menschlichen Labfermentes und dessen qualitativen Bestimmung. *Beiträge zur chem. Physiol. und Pathol.*, vol. 7, p. 89-120.

(6) DUCLAUX, *Loc. cit.*, p. 621-623.

en excès sur la présure ». La caséase étant, d'après cet auteur, le ferment qui liquéfie le coagulum.

Mais nos expériences prouvent que cette dernière doit être confondue avec la trypsine, car les produits auxquels elle donne naissance sont des acides aminés.

La digestion sans coagulation préalable par les fortes doses de ferment paraît attribuable aux modifications rapides de la caséine sous l'influence de l'agent protéolytique, qui l'empêcherait de se prendre en masse. D'ailleurs, KÜHNE (1) avait déjà observé que l'extrait de pancréas coagule le lait comme la présure, mais si l'extrait pancréatique n'était pas *atténué*, on observait simplement la digestion sans coagulation.

PAWLOW (2) de son côté, en étudiant le suc pancréatique kinasé de Chien, constata que l'action présurante était fugitive et difficile à déterminer avec les doses fortement actives, aussi acidifiait-il le lait afin de le rendre plus facilement coagulable en retardant sa digestion protéolytique.

Tous ces faits sont identiques à ceux que nous venons de signaler chez les Crustacés. On les reproduira facilement en opérant avec un suc ou un extrait glandulaire à *processus tryptique*.

Les expériences suivantes, exécutées avec de la Gastérine FRÉMONT (suc gastrique pur de Chien), apportent, en effet, un argument nouveau en faveur de cette manière de voir.

EXPÉRIENCES

Dans un tube à essai *a* on introduit 10 centimètres cubes de lait frais, plus deux gouttes de Gastérine FRÉMONT (3), plus quelques gouttes de toluol. On porte à 40°. On fait des mélanges identiques dans un tube *b*, mais le suc digestif a été porté préalablement à 100° (témoin). Après douze heures, on voit dans le tube *a* un coagulum mou. En *b* le lait

(1) KÜHNE, d'après BRIOT, Thèse de la Faculté des sciences de Paris, 1900, p. 53.

(2) PAWLOW et PARASTSCHUK, Ueber die ein und demselben Eiweissfermente zukommende proteolytische und milchkoagulierende Wirkung verschiedener Verdauungssäfte. *Zeitschrift für physiol. Chemie*, t. 42, p. 415-452.

(3) Le suc acide n'a pas été neutralisé, car la présure peptique parachymosine est très sensible à l'alcali. Mais la cause d'erreur provenant de ce fait est négligeable, vu la très faible quantité de Gastérine mise en expérience (deux gouttes). Le tube témoin renseigne, d'ailleurs, sur la nature de la coagulation.

est resté normal; peu à peu le coagulum de *a* devient plus compact, il se colle à la paroi du tube, il se rétracte; après huit jours il est encore volumineux, il baigne dans un liquide louche.

Après trois jours, une précipitation floconneuse de la caséine s'est effectuée en *b*, causée par l'acidification du lait. Après huit jours l'aspect est identique.

L'eau bromée ne donne la réaction du tryptophane pas plus en *a* qu'en *b*. L'acidité après formol (très faible) est identique dans les deux tubes. Il n'y a donc pas eu libération d'amino-acides.

LA PRÉSURE DES INVERTÉBRÉS EST TOUJOURS ASSOCIÉE A UN FERMENT A PROCESSUS TRYPTIQUE

L'action sur le lait du suc digestif des Crustacés nous a permis de constater son action, à la fois présurante et tryptique. D'autres groupes d'Invertébrés nous montrent qu'il en est toujours ainsi. Toutefois, pour déceler le premier phénomène (en dehors des doses faibles de suc), il faut employer, quelquefois, certains artifices, tels que acidification légère du lait ou addition de faibles quantités de chlorure de calcium.

La coagulation ainsi obtenue ne doit pas être attribuée à ces agents activateurs, car des expériences témoins indiquent qu'elle est due uniquement au ferment.

Nous prenions, en outre, la précaution d'ajouter aux liquides d'expériences quelques gouttes de toluol afin d'éviter l'ingérence des microbes.

Voici comment nous avons opéré :

Dans un mortier, en présence de 1 centimètre cube d'eau distillée et de quelques gouttes de toluol, on broyait 0 gr. 500 de tissus (foie, hépato-pancréas, intestin moyen) venant d'être prélevés sur l'animal vivant. Le tout, placé dans un tube à essai, était additionné de 10 centimètres cubes de lait, puis porté au bain-marie à 40°. On notait le temps de coagulation. Les mêmes essais étaient faits avec du lait légèrement acidifié ou calcifié et avec des macérés préalablement bouillis.

Dans d'autres expériences (si cela nous était possible), nous expérimentions avec du suc recueilli dans la poche gastrique.

A côté de l'action coagulante nous notions toujours la présence ou l'absence de tryptophane.

Les résultats obtenus sont consignés dans le Tableau XXII.

TABLEAU XXII

ESPÈCES ANIMALES	SUC DIGESTIF ou macérés d'organes	POUVOIR PRÉSERVANT		Réaction du tryptophane dans liquide de digestion après 24 heures
		Lait normal	Lait calcifié	
ECHINODERMES				
<i>Asterias rubens</i>	Cæcums radiaires	—	—	positive
<i>Synapta digitata</i>	Intestin	0	0	0
<i>Strongylocentrotus lividus</i>	Intestin	+	++	positive
VERS				
<i>Sipunculus nudus</i>	Intestin	++	+++	positive
<i>Arenicola piscatorum</i>	Intestin	++	+++	positive
<i>Aphrodite aculeata</i>	Suc des cæcums	+	++++	positive
CRUSTACÉS DÉCAPODES				
<i>Maja squinado</i>	Suc stomacal	+++	++++	positive
<i>Cancer pagurus</i>	Hépatopancre.	+	+++	positive
<i>Astacus fluviatilis</i>	Hépatopancre.	+	+++	positive
CÉPHALOPODES				
<i>Sepia officinalis</i>	Suc stomacal	+	++++	positive
<i>Loligo vulgaris</i>	Hépatopancre.	+	+++	positive
<i>Octopus vulgaris</i>	Hépatopancre.	++	+++	positive
GASTÉROPODES				
<i>Aplysia fasciata</i>	Suc stomacal	0	0	négative
<i>Aplysia punctata</i>	ou foie	0	0	négative
<i>Helix pomatia</i>		0	0	négative
LAMELLIBRANCHES				
<i>Mya arenaria</i>	Foie	0	0	négative
<i>Mytilus edulis</i>	Foie	0	0	négative
Pancréatine GRÜBLER	—	+++	++++	positive
Gastérine FREMONT pepsine	—	+++	++++	négative

Cette étude montre que l'action coagulante et l'action protéolytique (mesurée par la libération du tryptophane) marchent toujours de pair. Ses résultats concordent avec ceux concernant les Crustacés; ils indiquent une association constante de la présure et de la trypsine.

Nous devons ajouter que le suc d'*Aphrodite aculeata*, faiblement coagulant sur le lait normal, est au contraire très actif sur le lait calcifié ou faiblement acidifié. Le phénomène se produit dans le minimum de temps, toutes choses égales, à la température de 70° à 72° qui est voisine de celle où le ferment protéolytique est détruit.

Chez les Mollusques céphalopodes (*Sepia*, *Loligo*), le suc du cæcum, fortement protéolytique, coagule difficilement le lait normal ou acidifié; le phénomène est, au contraire, très rapide sur le lait calcifié.

Enfin, des expériences de comparaison, exécutées soit avec des extraits de muscles ou d'organes génitaux, soit avec du sang ou autres liquides organiques, ont constamment fourni des résultats négatifs, même quand le lait était acidifié ou calcifié.

La présure est donc très répandue chez les Invertébrés. Nous l'avons décelée dans tous les sucs digestifs ou extraits d'organes possédant un ferment à processus tryptique.

II

Propriétés de la présure des Invertébrés

Nous venons de caractériser la diastase à processus tryptique qui accompagne l'agent coagulant. Il nous reste à étudier les propriétés de cette présure dans le but de la distinguer ou de l'identifier avec celles déjà connues.

ACTION DE LA TEMPÉRATURE SUR LE POUVOIR PRÉSURANT
DU SUC CHAUFFÉ

EXPÉRIENCES

Du suc digestif de *Maja* placé en tube scellé est porté à des températures progressivement croissantes : *a*, à 55° ; *b*, à 60° ; *c*, à 65° ; *d*, à 70° ; *e*, à 75°, pendant une demi-heure.

On mesure ensuite l'activité présurante par rapport au même suc normal témoin.

a)	Suc normal. 0 cc. 2 + 3 cc. lait	coagulation en	1'
a)	Suc à 55° 0 cc. 2 + 3 cc. lait	coagulation en	1'
b)	Suc à 60° 0 cc. 2 + 3 cc. lait	coagulation en	5'
c)	Suc à 65° 0 cc. 2 + 3 cc. lait	coagulation en	30'
d)	Suc à 70°-72° 0 cc. 2 + 3 cc. lait	coagulation en	1 h. 40'
e)	Suc à 75° 0 cc. 2 + 3 cc. lait	pas de coagulation.	

Cette expérience montre l'atténuation progressive du ferment à partir de 60° jusqu'à 70°-72°. A 75° il est totalement anéanti.

COAGULATION DU LAIT CHAUFFÉ A DIVERSES TEMPÉRATURES

EXPÉRIENCES

Dans une série de tubes à essais on introduit 10 centimètres cubes de lait, on les place respectivement à 25°, 40°, 55°, 60°, 65°, 75°, 85°. On introduit alors dans chaenn des tubes soit 0 cc. 1 de suc de *Maja*,

soit 0 cc. 5 de macéré hépato-pancréatique du même animal. On note les temps de coagulation.

	TEMPS DE COAGULATION	
	0 cc. 1 suc <i>Maja</i>	0 cc. 5 macere hépato-pancréatique
Lait porté à 25° (10 cc.)	15'	18'
— à 40° —	2'	8'
— à 55° —	1'	4'
— à 60° —	0' 30"	3'
— à 65° —	0' 20"	2' 30"
— à 75° —	0' 15"	—
— à 85° —	Néant	Néant

Tandis que la présure ordinaire exerce son maximum d'action vers 40°, cette série d'expériences montre que l'activité du ferment de *Maja* croît avec la température jusque vers 75°; son optimum est voisin de la température de destruction.

GERBER (1) qui a vu ce même phénomène, l'attribue à une résistance spéciale de cette présure à la chaleur; elle se rapprocherait ainsi, d'après cet auteur, des présures végétales.

ÉTUDE COMPARÉE DES PRÉSURES HANSEN, PEPTIQUE, PANCRÉATIQUE DE *Maja* AU POINT DE VUE DE LEUR VITESSE DE COAGULATION DU LAIT CHAUFFÉ

EXPÉRIENCES

Même dispositif expérimental que précédemment, bain-marie à 40°, 55°, 60°, 65°, 70°, 80°, contenant une série de tubes à essais avec 10 centimètres cubes de lait frais. On mesure l'action présurante de diverses solutions obtenues en dissolvant 0 gr. 050 de présure HANSEN dans 10 centimètres cubes d'H₂O, de pepsine (1 gramme dans 10 centimètres cubes), de pancréatine (1 gramme dans 10 centimètres cubes). Ces expériences sont faites par comparaison avec 0 cc. 1 de suc digestif de *Maja* et 0 cc. 5 de macéré hépato-pancréatique du même animal ou encore avec des macérés de cæcum d'Astérie.

(1) GERBER, La présure des Crustacés décapodes. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 1908, p. 708.

TABLEAU XXIII

	40°	55°	60°	65°	70°	80°	88°
Présure HANSEN	1'	—	—	—	—	—	—
Présure peptique	1'	—	—	—	—	—	—
Présure pancréat.	18'	6'	4'	2'30"	—	—	—
Suc de <i>Maja</i>	2'	1'	30"	20"	15"	Instant.	—
Macéré hépato-pancréatique de <i>Maja</i>	18'	8'	4'	3'	2'30"	—	—
Macérés de cæcums d' <i>Astérie</i>	7'	3'	2'30"	2'15"	2'	—	—

Le Tableau XXIII montre que la présure HANSEN et la présure peptique sont impuissantes à coaguler le lait chauffé à 55°. La pancréatine est encore active à 65°. Le même phénomène se manifeste encore nettement à 70° pour les présures de *Maja* et d'*Asterias*. A 80° il est instantané. Le parallélisme d'action des présures pancréatiques de *Maja* et d'*Asterias* jusqu'à 65° doit être remarqué.

ACTION COMPARÉE DE LA CHALEUR SUR DES PRÉSURES D'ORIGINES DIVERSES

EXPÉRIENCES

On chauffe pendant une demi-heure en tube scellé à 60°, 62°, 70°, 72°, 80°, des solutions de diverses présures HANSEN, pepsine, pancréatine) ainsi que du suc digestif de *Maja*. On les fait alors agir sur 10 centimètres cubes de lait chauffé à 40° et calcifié à 5 grammes pour 1.000, afin de faciliter la coagulation. Des expériences témoins sont faites avec des solutions non chauffées des mêmes ferments.

Le Tableau XXIV montre que la présure peptique est plus résistante que les autres à l'action de la température. Ce fait a déjà été signalé par BANG (*loc. cit.*). Une comparaison des expé-

TABLEAU XXIV

PRÉSURES diverses	Sue normal (Témoin)		Chauffé à 60-62°		Chauffé à 70-72°		Chauffé à 80°	
	Dose	Temps de coagu- lation	Dose	Temps de coagu- lation	Dose	Temps de coagu- lation	Dose	Temps de coagu- lation
Présure HANSEN 0,050 <i>in</i> 10 cc., H ₂ O	0,1	1'	0,3	30'	0,3	Néant	0,3	Néant
Présure peptique 1 gr. <i>in</i> 10 cc., H ₂ O	0,3	1'	—	1'	—	3'	—	Néant
Présure pancréat. 1 gr. <i>in</i> 10 cc., H ₂ O	0,1	11'	—	20'	—	Néant	—	Néant
Sue digestif de <i>Maja</i>	0,05	1'	—	3'	—	Néant	—	Néant
Macéré hépato-pancréa- tique <i>Maja</i>	0,3	20'	—	28'	—	Néant	—	Néant

riences relatives au Tableau XXIII et au Tableau XXIV montre qu'il n'y a pas de corrélation entre l'optimum du phénomène coagulant et la résistance du ferment à la chaleur, car la pepsine ne coagule pas le lait chauffé à 60°. On voit encore que la présure des Crustacés et la pancréatine ont une action sensiblement parallèle jusque vers 65° : mais tandis que cette dernière est inactive à une température plus élevée, la première coagule instantanément du lait à 80°.

ACTION DE LA PRÉSURE DE *Maja* SUR LE LAIT ACIDIFIÉ PAR L'ACIDE CHLORHYDRIQUE

EXPÉRIENCES

On acidifie du lait frais à 1 pour 1.000 environ avec HCl : on fait agir sur 10 centimètres cubes au bain-marie à 40° des quantités varia-

bles de suc digestif de *Maja*. La même expérience est faite avec du lait normal. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

QUANTITÉ DE SUC		TEMPS DE COAGULATION	
		Lait normal	Lait acidifié
Suc dilué au 1/40.	1 goutte	80'	pas de coagulation
Suc dilué au 1/10.	1 goutte	22'	pas de coagulation
Suc normal.	1 goutte	3'	3'
Suc normal.	5 gouttes	digestion sans coagulation	1'

On voit que l'acidification du lait, retardatrice de la coagulation pour les doses faibles, est au contraire accélératrice pour les doses plus fortes.

ACTION DE DIVERSES PRÉSURES SUR LE LAIT SENSIBILISÉ PAR LE BARBOTAGE DE L'ACIDE CARBONIQUE

Le barbotage du lait par l'acide carbonique active beaucoup sa coagulation par la présure ordinaire ou la parachymosine (présure peptique) (1); l'effet est, au contraire, nul ou insignifiant sur le phénomène présurant de la pancréatine ou du suc de *Maja*.

EXPÉRIENCES

		TEMPS DE COAGULATION A 40°	
		Lait normal	Lait barboté par CO ²
Pancréatine (solution, 1 gr. in 40 cc.)	1 goutte	15'	12'
Suc digestif de <i>Maja</i> dilué au 1/10.	1 goutte	15'	14'
Présure HANSEN (0 gr. 050 in 40 cc.).	1 goutte	60'	16'
Pepsine (solution, 1 gr. in 40 cc.) . . .	1 goutte	pas de coagulation	3'

1. BRON, Etudes sur le Labferment des solutions de pepsine ou parachymosine. *Journal de physiologie et pathologie générales*, 1907, p. 785.

COAGULATION DU LAIT NORMAL PAR DIVERSES PRÉSURES PRÉALABLEMENT SOUMISES A L'INFLUENCE DE L'ACIDE OU DE L'ALCALI

Ces expériences consistent à acidifier et à alcaliniser directement la solution de présure. Au bout d'un certain temps, on ramène à la neutralité. On mesure alors le pouvoir coagulant par rapport à un témoin.

Voici des expériences faites avec des solutions de pepsine, de pancréatine et de présure HANSEN, par comparaison avec du suc digestif de *Maja*.

EXPÉRIENCES

On dissout dans 10 centimètres cubes d'eau distillée : 1° 1 gramme de pepsine litre 100 ; 2° 1 gramme de pancréatine litre 100 ; 3° 0 gr. 250 de présure HANSEN. On prend 10 centimètres cubes de chacune de ces solutions, on les additionne de 0 cc. 8 HCl $\frac{N}{2}$ + 0 cc. 2 H²O, le volume est de 2 centimètres cubes, la réaction est acide. On prend également 1 centimètre cube de chaque solution, on les additionne de 1 centimètre cube H²O ; le volume est de 2 centimètres cubes, la réaction est neutre.

On alcalinise 1 centimètre cube de chaque solution par addition de 0,8 CO'Na² $\frac{N}{2}$ plus 0,2 H²O. Le volume est de 2 centimètres cubes, la réaction est alcaline. Après séjour de vingt-quatre heures à 40°, on neutralise exactement chaque tube, les volumes étant maintenus constants par addition d'eau distillée. On mesure l'action présurante sur 10 centimètres cubes de lait.

Volume de solution mis en expérience	TEMPS DE COAGULATION			
	Solution acide	Solution témoin	Solution alcaline	
Solution de pepsine.	0 cc. 3	20'	4'	Néant
Solution de pancréatine.	0 cc. 3	40'	3'	20'
Présure HANSEN.	0 cc. 3	2'	1'	Néant
Suc digestif de <i>Maja</i>	0 cc. 3	Néant	3'	4'

Il y a donc une différence très nette entre la présure de *Maja* et la présure pancréatique d'une part, la présure HANSEN et la présure peptique d'autre part. Les premières ont été peu influencées par le milieu alcalin ; les secondes, au contraire, y ont été anéanties. Le milieu acide a produit un effet inverse.

Ces faits prouvent que la présure de Maja doit être rangée à côté de la présure pancréatique.

III

**Sur l'identité du ferment protéolytique
et de la présure**

Nous devons maintenant aborder la question de savoir si le phénomène protéolytique et le phénomène présurant, qui s'accompagnent toujours, sont tributaires du même ferment ou de deux ferments distincts. HAMMARSTEN a soutenu la dualité, tandis que PAWLOW et d'autres ont fourni de sérieux arguments en faveur de l'identité. Or, si cette dernière opinion est la vraie, la présure pancréatique se distinguera de la présure peptique par certaines propriétés, correspondantes à celles de la pepsine et de la trypsine. Les travaux nombreux publiés dans cette voie n'ont pas, à notre avis, suffisamment mis en évidence les caractères qui permettent d'établir cette distinction.

PAWLOW et PARASTCHUK (*loc. cit.*) constatèrent les premiers que le suc pancréatique pur non kinasé, protéolytiquement inactif, ne coagule pas le lait. Cependant, lorsqu'on l'additionne de suc intestinal, les deux phénomènes deviennent manifestes. D'autres expériences exécutées avec des sucs pancréatiques de diverses origines (suc de Chien à fistule permanente, obtenu dans des conditions différentes d'alimentation et étudié à diverses heures de la période de sécrétion; suc de Chien à fistule temporaire, obtenu par excitation du vague et du sympathique; suc de sécrétine, etc.) montrèrent un parallélisme constant entre les deux actions. Le phénomène présurant était mesuré par l'activité de 0 cc. 2 de suc pancréatique sur 10 centimètres cubes de lait acidifié (1 centimètre cube d'HCl à 0,5 pour 100). L'action protéolytique, par la longueur en millimètres d'albumine dissoute en tube de METTE.

En se plaçant dans diverses conditions expérimentales, PAWLOW et PARASTCHUK constatèrent, en outre, l'affaiblissement parallèle du ferment protéolytique et de la présure: ils conclurent à l'identité des deux ferments.

De son côté, VERNON (1) montra que la précipitation fractionnée de l'extrait pancréatique à l'aide de l'alcool modifiait également le pouvoir protéolytique et présurant, tandis que les autres diastases (amylase et lipase) étaient diversement influencées. Ces faits, en apportant un argument en faveur de l'identité, vérifiaient aussi l'indépendance physiologique des ferments du pancréas déjà démontrée par DASTRE (2).

SAWITSCH (3) arriva à des conclusions identiques en constatant l'affaiblissement parallèle de la trypsine et de la présure sous l'influence de la température.

DELEZENNE (4) a montré également que le suc pancréatique inactif acquiert, sous l'influence de faibles doses de calcium, le pouvoir protéolytique et labique. En opérant avec des sucres dialysés, cet auteur vit l'apparition simultanée des deux phénomènes. Dans d'autres conditions, il constata leur affaiblissement parallèle. Il conclut que « dans les conditions expérimentales indiquées, les sels de chaux nous apparaissent comme des agents activateurs rigoureusement spécifiques de la trypsine et du lab, lesquels d'ailleurs ne constituent peut-être, suivant la conception de PAWLOW, qu'un seul et même ferment. »

Contre cette théorie de l'identité nous trouvons l'opinion de GLASSNER (5), qui n'a pas trouvé de lab ferment dans le suc pancréatique humain. Ce fait serait important à retenir s'il était bien démontré, mais cet auteur n'a vraisemblablement pas opéré dans les conditions requises pour la manifestation du phénomène coagulant.

1 VERNON, The precipitability of pancreatic ferments by alcohol, 1903 (Physiol. Lab., Oxford. *Journal of physiol.*, t. 29, p. 302-334.

2 DASTRE, Contribution à l'étude des ferments du pancréas. *Arch. de physiol. norm. et pathol.*, 1893, t. 5, p. 774-777.

3 SAWITSCH, Zur Frage nach der Identität der milchkoagulierenden und proteolytischen Fermente. *Physiol. Lab. Inst. exp. med. Saint-Petersbourg* 1908. *Zeitschrift f. physiol. Chemie*, t. 55, p. 84-106.

4 DELEZENNE, Formation d'un ferment lab dans le suc pancréatique soumis à l'action des sels de calcium. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1907, p. 98.

Sur la formation du lab pancréatique. Spécificité du calcium. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1907, p. 187.

Nouvelles observations sur la spécificité des sels de calcium dans la formation de la trypsine. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1907, p. 274.

5 GLASSNER, Ueber menschliches Pankreassekret. *Physiol. Inst. Berlin*, 1904. *Zeitschrift für physiol. Chemie*, vol. 40, p. 465-479.

WOLGEMUTH (1), en effet, qui lui aussi a fait des expériences avec du suc pancréatique humain, décela dans ce liquide le ferment lab. L'activation du suc par l'extrait intestinal ou par l'acide chlorhydrique faisait apparaître simultanément l'action présurante et l'action tryptique.

Recherches personnelles

Nos études chez les Invertébrés ne nous ont jamais permis de constater l'indépendance du ferment protéolytique et de la présure; nous avons toujours vu des activités correspondantes. Dans certaines expériences nous mesurions l'action coagulante par le temps que mettait la caséine à se prendre en masse, et la force protéolytique par celui que mettait le coagulum ainsi formé à disparaître. Ce procédé permet, entre autre avantage, de mesurer les deux processus dans des conditions rigoureusement identiques à l'aide de la même substance, la caséine. Ces expériences montrent que le coagulum disparaît dans un temps dix à douze fois environ plus considérable que celui qui est nécessaire à le produire.

Un macéré d'organe, par exemple, qui coagulait 10 centimètres cubes de lait en soixante minutes, dissolvait le coagulum dans douze heures environ. Une dose a de suc digestif qui coagulait 10 centimètres cubes de lait en cinq minutes, liquéfiait la caséine dans une heure, tandis que $\frac{a}{2}$ réclamait dix minutes pour la formation du coagulum et deux heures pour sa liquéfaction.

D'autres expériences faites en mesurant l'activité protéolytique par le procédé de METTE nous ont fourni des résultats analogues. Ayant constaté que l'activité protéolytique du suc de *Cancer pagurus* est généralement plus faible que celle de *Maja squinado*, nous avons recherché s'il en était de même du pouvoir coagulant. Le parallélisme le plus parfait a toujours été trouvé entre les deux actions; l'expérience suivante le prouve :

On met 0 cc. 1 de suc digestif de *Cancer pagurus* dans un tube à essai contenant 10 centimètres cubes de lait. Le tout est placé au bain-marie à 40°. La coagulation se fait en vingt minu-

1 WOLGEMUTH, Untersuchungen über den Pankreassaft des Menschen. Ueber das Labferment, 1907. *Bioch. Zeitschr.*, vol. 2, fas. 4-6, p. 350-356.

tes. Ce pouvoir présurant (exprimé par le volume de lait coagulé par 0,1 de suc en quarante minutes à 40 degrés) est, par conséquent, égal à 20. Le même suc digère 2 millimètres d'albumine du tube de METTE après vingt-quatre heures à 40°. Le pouvoir protéolytique (mesuré par la longueur d'albumine dissoute) est égal à 2. Le rapport entre le pouvoir coagulant et le pouvoir protéolytique est donc de $\frac{20}{2} = 10$.

Si maintenant on expérimente avec du suc de *Maja squinado* exactement dans les mêmes conditions, on constate que 10 centimètres cubes de lait sont coagulés en cinq minutes. Le pouvoir coagulant (exprimé par la quantité de lait coagulé par 0 cc. 1 à 40 degrés en quarante minutes) sera 80. Le même suc digère 8 millimètres d'albumine après vingt-quatre heures à 40°. Le pouvoir protéolytique est donc égal à 8. Ici encore le rapport du pouvoir coagulant au pouvoir protéolytique est égal à $\frac{80}{8} = 10$.

Voici des faits d'un autre ordre qui parlent dans le même sens.

Nous avons vu que le ferment protéolytique des Crustacés est relativement peu sensible à l'action de l'alcali (p. 115), celui des Céphalopodes, au contraire (p. 133), perd très rapidement ses propriétés en milieu alcalin. Or, la réaction chimique du milieu influence dans le même sens le ferment présurant de ces deux groupes d'animaux.

Ainsi, du suc digestif de *Maja* alcalinisé à divers titres par du CO_3Na^2 , laissé trois heures à 40°, ou vingt-quatre heures à 15° puis neutralisé, a conservé à la fois, quoique affaiblies, l'activité présurante et l'activité protéolytique. Celui des Céphalopodes, traité de la même manière, est devenu complètement inactif. Il ne peut ni coaguler le lait calcifié ni digérer la caséine.

D'autre part, d'après les expériences suivantes, réalisées avec du suc de *Maja*, l'acide ou l'alcali atténuent ou détruisent parallèlement la trypsine et la présure.

EXPÉRIENCES

Dans une série de tubes à essais, contenant le même volume de suc de *Maja* (0 cc. 5) on ajoute des doses variables d' HCl N/5 et de

TABLEAU XXV
RÉSUMANT LES PROPRIÉTÉS DE QUELQUES PRÉSURES ANIMALES PAR COMPARAISON AVEC CELLE DE *Maja*

FACTEURS DIVERS	Présure HANSEN	Présure peptique	Présure pancréatique	Présure de <i>Maja</i>
DOSÉS) variables) Faibles Fortes	Coagulation. Coagulation.	Pas de coagulation Coagulation.	Coagulation. Pas de coagulation. Digestion rapide. Eclaircissement.	Coagulation. Pas de coagulation. Digestion rapide. Eclaircissement.
Loi d'action à 40°.	Loi de proportionnalité.	Pas de loi nette.	Loi de proportionnalité. Doses faibles.	Loi de proportionnalité. Doses faibles.
Phénomènes consécutifs à la coagulation :				
a) Coagulum	Rétraction lente du coagulum, exsudation d'un sérum clair.	Comme pour la présure HANSEN.	Dissolution du coagulum avec formation d'un liquide louche.	Comme pour la présure pancréatique.
b) Liquide exsudé.	Pas d'acido-acides.	Pas d'acido-acides.	Présence d'acido-acides. Réaction du tryptophane positive.	Présence d'acido-acides. Réaction du tryptophane positive.
Température de destruction du ferment chauffé une demi-heure en tube scellé.	65-70°	75-80°	70-75°	70-75°
Vitesse de coagulation du lait chauffé (Température optima de coagulation).	Température optima à 40°. Coagulation de plus en plus lente jusqu'à 55-60°.	Température optima à 40°. Coagulation de plus en plus lente jusqu'à 55-60°.	Température optima à 65°. Pas de coagulation pour des températures plus élevées.	Température optima à 75-80°. Pas de coagulation pour les températures plus élevées.
De la coagulation du lait sensibilisé :				
a) Lait acide.	Accélération proportionnelle. Sensibilisation nette.	Accélération proportionnelle. Sensibilisation encore plus nette.	Phase retardatrice pour faible dose et accélératrice pour forte dose. Pas de sensibilisation.	Phase retardatrice pour faible dose et accélératrice pour forte dose. Pas de sensibilisation.
b) Lait + CO ₂ .				
Sensibilité du ferment :				
1° A l'acide.	Peu sensible. Sensible.	Peu sensible. Très sensible.	Sensible. Pas sensible.	Sensible. Pas sensible.
2° A l'alcali.				

$\text{CO}^3\text{Na}^2 \text{ N}/3$. Après douze heures de contact à 45° , l'acide et l'alcali sont exactement neutralisés et les volumes rendus égaux par addition de solution physiologique de NaCl. Dans chaque tube on mesure le pouvoir protéolytique par la méthode de METTE (après vingt-quatre heures à 40°) et le pouvoir coagulant en prélevant dans chacun des tubes 0 cc. 1 de suc que l'on fait agir sur 10 centimètres cubes de lait à 40° . Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

Composition du liquide laissé 12 heures à 45° puis exactement neutralisé	Réaction	Temps de coagul. de 10 cc. de lait + 0 cc 1 de suc	Pouvoir protéol. en millim. d'albumine dissous après 12 h à 40°
0 cc. 5 suc <i>Maja</i> +			
— 0.3 HCl N/2 + 0.2 H ² O	2,19 μ HCl	Néant	Néant
— 0.1 HCl N/5 + 0.4 H ² O	0,73 μ /...	33'	2,8
— 0.0 + 0,5 H ² O	0.00	12'	10,3
— 0.3 $\text{CO}^3\text{Na}^2 \text{ N}/3$ + 0.2 H ² O	3.15 μ CO^3Na^2	13'	10
— 0.5 $\text{CO}^3\text{Na}^2 \text{ N}/3$ + 0.0 H ² O	5,25 μ /...	20'	5

L'activité protéolytique et l'activité coagulante ont donc été affaiblies dans le même sens, soit par l'acide, soit par l'alcali.

Signalons enfin que la température de destruction de ces deux ferments se produit à la même température, vers 72° .

En résumé, tous ces faits montrent que la diastase tryptique et la présure des Invertébrés doivent être envisagées comme un seul et même ferment.



CHAPITRE VII

Destination des produits de la digestion protéolytique Leur présence dans le foie

De nombreux auteurs ont montré l'importance de l'hétopancréas des Invertébrés comme organe digestif. Son rôle d'organe de réserve du fer, de la graisse, du glycogène et parfois de phosphate de calcium est également bien établi. Mais la présence d'acides aminés n'y avait point encore été démontrée d'une façon précise, bien que sa fonction absorbante ait été signalée chez les Mollusques gastéropodes par CUÉNOT (1), BIEDERMANN et MORITZ (2), ENRIQUES (3); chez les Céphalopodes par CUÉNOT; chez les Crustacés par SAINT-HILAIRE (4), CUÉNOT, JORDAN (5); chez les Lamellibranches par LIST (6). Enfin CHAPEAUX (7) a signalé un rôle

(1) CUÉNOT, La fonction excrétrice du foie des Gastéropodes pulmonés. *Arch. de zool. expér.* [3], VII, *Notes et Revue*, p. 25.

Etude physiologique sur les Gastéropodes pulmonés. *Archives de Biologie*, XII, p. 683.

Etude physiologique sur les Crustacés décapodes. *Archives de Biologie*, XIII, p. 245.

Fonctions absorbante et excrétrice du foie des Céphalopodes. *Arch. de zool. expér. et génér.*, IV^e série, 1907, t. VII, p. 227 à 245.

(2) BIEDERMANN et MORITZ, Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung. III. Ueber die Function der sogenannten « Leber » der Mollusken. *Archiv für die ges. Physiol.*, LXXV, p. 1.

(3) ENRIQUES, Il fegato dei Molluschi et le sue funzioni. Ricerche prevalentemente microscopiche. *Monat. zool. Stat. Neapel*, XV, p. 281.

(4) SAINT-HILAIRE, Sur la résorption chez l'Écrevisse. *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique* [3], XXIV, p. 506.

(5) JORDAN, Die Functionen der sogen. Leber bei *Astacus fluviatilis*. *Verhandl. der deutsch. zool. Gesells.*, 12^e Versamml., p. 183.

(6) LIST, Die Mytiliden. *Fauna und Flora des Golfes von Neapel*. XXVII^e Monog.

(7) CHAPEAUX, Sur la nutrition des Echinodermes. *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique* [3], XXVI, p. 227.

absorbant des cæcums radiaires de l'Astérie. « On voit donc, dit CUÉNOT, que chez tous les Invertébrés pourvus d'un foie ou d'un organe analogue, les produits solubles et dialysables de la digestion passent à travers son épithélium; la graisse seule est parfois absorbée à une autre place, par l'épithélium du segment intestinal qui suit immédiatement le foie (Céphalopodes, Nudibranches, Crustacés décapodes). »

D'autres recherches ont démontré que des particules alimentaires solides pouvaient être directement absorbées par les cellules hépatiques; BIEDERMANN et MORITZ l'admettent chez *Helix*; LIST a la même opinion sur *Mytilus*, et ENRIQUES sur *Aplysia* et sur *Limnæa*.

Ce dernier auteur a même vu des cellules végétales entières incluses dans l'épithélium hépatique. De même LIST (*Loc. cit.*), en faisant ingérer de l'encre à des Moules, retrouva des particules de noir dans les cellules du foie. DASTRE (1), d'un autre côté, a trouvé dans le foie de plusieurs Mollusques lamellibranches et gastéropodes un pigment chlorophylloïde, soluble dans l'alcool-chloroforme, donnant un spectre à quatre bandes analogue à celui de la chlorophylle; c'est l'entéro-chlorophylle de MAC-MUNN, l'hépatochlorophylle de DASTRE et FLORESCO (2). Ce pigment est, sans aucun doute, d'origine alimentaire, car il n'existe pas chez les Invertébrés carnivores et il disparaît quand on supprime l'alimentation chlorophyllée pendant un temps suffisant.

ENRIQUES a vu au microscope l'absorption phagocytaire des grains verts et bruns qui remplissent les cellules du foie d'*Aplysia depilans*. Le contenu de ces mêmes cellules est parfaitement incolore chez les animaux à jeun depuis dix à quinze jours. Mais si l'animal mange de nouveau des matières vertes, les cellules hépatiques augmentent de volume et l'on y retrouve des chloroplastes d'abord verts, puis bruns. L'imprégnation de ces cellules par les substances alimentaires chlorophylliennes est donc évidente. Quant à la destination ultérieure de ces dernières, les opinions sont différentes. ENRIQUES pense qu'il y a vraisemblablement utilisation par digestion endo-cellulaire.

(1) DASTRE, La chlorophylle du foie chez les Mollusques. *Journal de physiol. et pathol. générales*, t. I, p. III.

(2) DASTRE ET FLORESCO, Pigments du foie en général. II. Pigments hépatiques chez les Invertébrés. *Archives de physiologie* [3], p. 289.

DASTRE croit, au contraire, que ces substances sont éliminées par l'intestin.

Tous ces faits permettent de penser que l'imprégnation des cellules hépatiques des Invertébrés par les produits de digestion est un fait d'ordre général.

D'ailleurs, la littérature fournit un certain nombre de documents qui appuient cette opinion.

J. FRENZEL (1), en effet, a signalé la présence de leucine et de tyrosine dans le foie des Crustacés. DOHRN (2) a également vu la leucine dans le foie d'*Astacus* et aussi une substance qu'il a désignée sous le nom d' « Astacin », non identique à la tyrosine mais qui s'en rapprocherait beaucoup par sa composition élémentaire et ses propriétés chimiques. Ces résultats ont été précisés par COHNHEIM (3) dans un important travail sur la composition chimique de l'extrait aqueux de foie du Poulpe ; il y a vu une notable quantité d'albumine précipitable par l'acide acétique à chaud. Le filtrat, qui contient peu d'albumoses (faible précipité par le sulfate d'ammoniaque à saturation), donne, par contre, une forte réaction du biuret, ce qui indique la présence de peptones vraies. L'auteur s'en débarrasse en les précipitant par l'acide phosphotungstique, mais il constate par la réaction de MILLOX que le filtrat contient encore une notable quantité d'azote, et COHNHEIM a pu y déceler des cristaux de leucine.

Le Tableau XXVI reproduit à titre documentaire ces intéressants résultats. L'auteur conclut en disant sa surprise, étant donné ce qu'on sait des Vertébrés, que plus de la moitié de l'azote du foie de Poulpe (extrait aqueux fait extemporanément) ne soit pas de l'albumine coagulable ; une partie se composerait de peptones, l'autre appartiendrait sans aucun doute à des produits cristallisés provenant de l'albumine (leucine, tyrosine).

Enfin GUÉNOT a constaté dans l'épithélium hépatique de *Sepia officinalis* qu' « un grand nombre de cellules, mais pas toutes,

(1) J. FRENZEL, Ueber die Mitteldarmsdrüse der Crustaceen. *Mittheil. der zool. Station zu Neapel*, t. 3, 1884, p. 30-101.

(2) DOHRN, *Analecta ad historiam naturalem Astaci fluviatilis*. Diss. Berlin, 1861 (d'après OTTO VON FÜRTH).

(3) COHNHEIM, Weitere Mittheilungen über Eiweissresorption (*Zool. Stat. Neapel u. Physiol. Inst. Heidelberg*). *Zeitschrift für physiol. Chemie*, vol. 33, p. 396-413.

TABLEAU XXVI

cent. c.	N total		N albumine		N non albumine		N non précipitable par l'acide phosphotungstique		
	grammes		grammes	‰	grammes	‰	grammes	‰	
580	4,359		0,606	44,6	0,737	53,7	—	—	} 4 foies 2 gros foies d'Octop. 3 foies
670	—		2,899	46,9	3,287	53,1	0,751	12,1	
360	0,948		0,444	46,9	0,489	51,6	0,192	20,2	
Le même après 17 jours	0,893		0,343	38,4	0,549	61,5	0,307	34,4	

présentent vers le sommet une vacuole, presque entièrement remplie par un magma irrégulier, de couleur jaune, renfermant des granules incolores, jaunes ou rougeâtres et de grands cristaux, en aiguille, isolés ou groupés, qui rappellent beaucoup par leur forme des cristaux de tyrosine. »

Recherches personnelles

Nous avons vu dans le Chapitre III que les sucs digestifs des Invertébrés transforment les matières albuminoïdes en corps aminés; d'autre part, les faits qui viennent d'être rappelés montrent que leur foie absorbe les produits digestifs et qu'il contient même quelquefois de la leucine et de la tyrosine. Il restait donc à faire une étude plus approfondie de cette nouvelle fonction de réserve.

La technique utilisée est analogue à celle dont s'est déjà servi H. DELAUNAY (1) pour ses recherches sur l'azote titrable au formol dans les tissus. Elle consiste à doser d'abord l'azote total par la méthode de KJELDHAL, dans un poids déterminé de tissus, puis celui qui est titrable au formol.

Voici comment nous avons opéré :

1° *Dosage de l'azote total.* — 1 gramme de tissus frais est introduit dans un ballon de KJELDHAL, additionné de 5 centimè-

(1) DELAUNAY, Rôle des acides aminés dans l'organisme animal. *Thèse de la Faculté de médecine de Bordeaux*, 1910.

tres cubes d'oxalate neutre de potasse à 30 pour 100, puis de 5 centimètres cubes d'acide sulfurique pur. On transforme en sulfate d'ammoniaque; après dissolution, on neutralise exactement. Dans le liquide ainsi neutralisé, on ajoute du formol neutre en excès pour titrer avec NaOH N/5 l'acidité qui prend naissance.

Soit n le nombre de centimètres cubes de soude employé, le nombre de milligrammes d'azote total (pour 100 grammes de tissu frais) sera : $n \times 2,8 \times 100$.

2° *Dosage de l'azote titrable au formol* (amino-acides, plus ammoniaque). — 1 gramme de tissu est broyé dans un mortier avec du sable lavé et un peu d'eau distillée. Le tout est versé dans un vase à saturation, puis neutralisé par NaOH N/5 jusqu'à coloration très faible, en présence de phtaléine du phénol.

Soit n le nombre lu à la burette, il correspond à l'acidité directe. On ajoute 10 centimètres cubes de formol neutre. La coloration rose disparaît. Pour la faire reparaitre, il faut ajouter une quantité n' de soude N/5. Cette acidité décelée par le formol est due, comme on sait, aux acides aminés et à des corps ammoniacaux.

Quant à l'acidité directe, elle est due à plusieurs facteurs; une grande partie peut être attribuée aux amino-acides et l'autre à des éléments contenus habituellement dans les tissus, tels l'acide carbonique, l'acide lactique et divers sels à fonctions acides, etc. Le virage à la phtaléine peut, en outre, être perturbé par la présence d'ammoniaque dans le tissu étudié.

Quoi qu'il en soit, les amino-acides et l'ammoniaque forment toute l'acidité après formol et une grande partie (difficile d'ailleurs à déterminer) de l'acidité directe. Cette dernière, plus faible que l'acidité après formol, lui est toujours proportionnelle. Par suite, si l'on transforme en milligrammes d'azote l'acidité après formol d'une part et l'acidité totale d'autre part, on obtient deux chiffres, dont l'un représente l'azote aminé (chiffre faible N formol minimum) et l'autre plus fort (N formol maximum), puisque l'acidité due aux amino-acides est comprise entre l'acidité après formol et l'acidité totale. Les deux chiffres, d'ailleurs assez voisins, donnent une valeur suffisamment approchée de la teneur des tissus en amino-acides.

Calcul :

n = NaOH N/5 saturant l'acidité directe.

n' = NaOH N/5 saturant l'acidité après formol.

$n + n'$ = NaOH N/5 saturant l'acidité totale.

Milligr. d'azote ($\text{NH}^2 + \text{NH}^2$) maximum = $n + n' \times 2,8 \times 100$.

Milligr. d'azote ($\text{NH}^2 + \text{NH}^2$) minimum = $n' \times 2,8 \times 100$.

3° *Azote ammoniacal.* — Pour doser rigoureusement et uniquement l'ammoniaque contenue dans les tissus, sans toucher à l'azote aminé, nous avons employé la technique de GRAFE : 20 à 30 grammes de tissus sont broyés dans un mortier avec de l'eau distillée et du sable lavé. Le tout est introduit dans un ballon avec 50 centimètres cubes de solution de NaCl saturée à froid, plus 50 centimètres cubes de solution de CO^2Na^2 également saturée à froid, plus 50 centimètres cubes d'alcool. La distillation de l'ammoniaque est effectuée sous une pression de 20 millimètres de mercure à 38°-40° pendant quatre heures.

L'appareil dont nous nous sommes servi est à peu près celui qu'employèrent KRÜGER et REICHE pour le dosage de l'ammoniaque dans l'urine. L'indicateur employé a été le Lakmoïd Malachitgrün de NENKI et ZALESKI.

Calcul :

Soit par exemple n centimètres cubes de SOH^2 N. 5, neutralisé par l'ammoniaque qui s'est dégagée de 25 grammes de tissus.

Milligr. N ammoniacal pour 100 grammes de tissus = $n \times 2,8 \times 4$.

Les résultats obtenus sont consignés dans le Tableau XXVII et sur les graphiques ci-contre. Ils sont relatifs :

1° *A l'azote total du tissu hépatique (Graphique 6).*

On voit que les chiffres exprimant les milligrammes d'azote de 100 grammes de foie varient de 1.500 à 3.600, selon les types d'Invertébrés étudiés. Une étude comparative chez les Vertébrés montre une constance beaucoup plus grande de la teneur azotée.

2° *A l'azote titrable au formol du tissu hépatique (Graphiques 7 et 8).*

Il existe donc un parallélisme évident entre l'azote titrable au formol (chiffre minimum) et l'azote titrable au formol (chiffre maximum). On constate encore, chez les divers types d'Invertébrés, des variations de N total de 10 à 18 % pour 100 gram-

TABLEAU XXVII

ESPÈCES ANIMALES	N total (1) mg.	N Formol (1) mg.		NH ³ (1) mg.	Rapport pour 100 de N total	
		Minimum	Maximum		N Formol Minimum	NH ³
VERTÉBRÉS						
Chien	2660	168	210	12	6,4	0,46
Chien	2500	196	238	12	7,9	0,46
Cheval	2968	182	252	10	6,2	0,34
Lapin	2958	168	252	10	5,8	0,33
Poule	2376	182	224	16	7,0	0,64
Tortue	2492	168	196	—	6,3	—
Torpille	2036	168	224	12	8,4	0,6
INVERTÉBRÉS (2)						
<i>Octopus</i>	3136	540	736	20	17,4	0,64
<i>Sepia</i>	3448	506	652	17	14,8	0,50
<i>Loligo</i>	3396	639	784	—	18,2	—
<i>Maja squinado</i>	2240	392	560	14	17,8	0,63
<i>Astacus</i>	1972	319	377	12	16,0	0,60
<i>Asterias rubens</i>	3032	434	532	11,8	14,8	0,40
<i>Helix</i>	1340	154	210	9	10,0	0,60
<i>Aplysia</i>	1682	232	319	14	13,6	0,82

(1) Pour 100 grammes de tissu frais.
(2) Résultats obtenus en collaboration avec M. le Dr DELAUNAY à la Station Biologique d'Arcachon.

mes de tissus frais. Chez les Vertébrés, au contraire, dont le foie ne contient d'ailleurs qu'une faible quantité d'azote titrable au formol, la teneur azotée varie peu.

3° A l'ammoniaque (Graphiques 7 et 8).

Chez les Invertébrés comme chez les Vertébrés, l'ammoniaque varie, pour 100 grammes de tissu hépatique, entre 10 et 20 milligrammes (Graphique 7). Le rapport de ces chiffres pour 100 de N total est compris entre 0,2 et 4 (Graphique 8). C'est donc une quantité insignifiante, et l'on peut attribuer aux acides

aminés la presque totalité de l'azote titrable au formol du tissu hépatique.

Si l'on considère les rapports entre la constitution azotée du foie et l'alimentation dans la série animale, on voit qu'il y a un parallélisme manifeste chez les Invertébrés.

Le foie des Herbivores (*Helix*, *Aplysia*) est le moins riche. Celui des Carnivores (*Maja*, *Asterias*, *Octopus*, *Loligo*) est au contraire au sommet de l'échelle.

Ces résultats se distinguent de ceux fournis par divers types de Vertébrés (Chien, Cheval, Lapin, Poule, Torpille) où la teneur en substances azotées, exprimée soit en azote total, soit en azote titrable au formol, est à peu près la même.

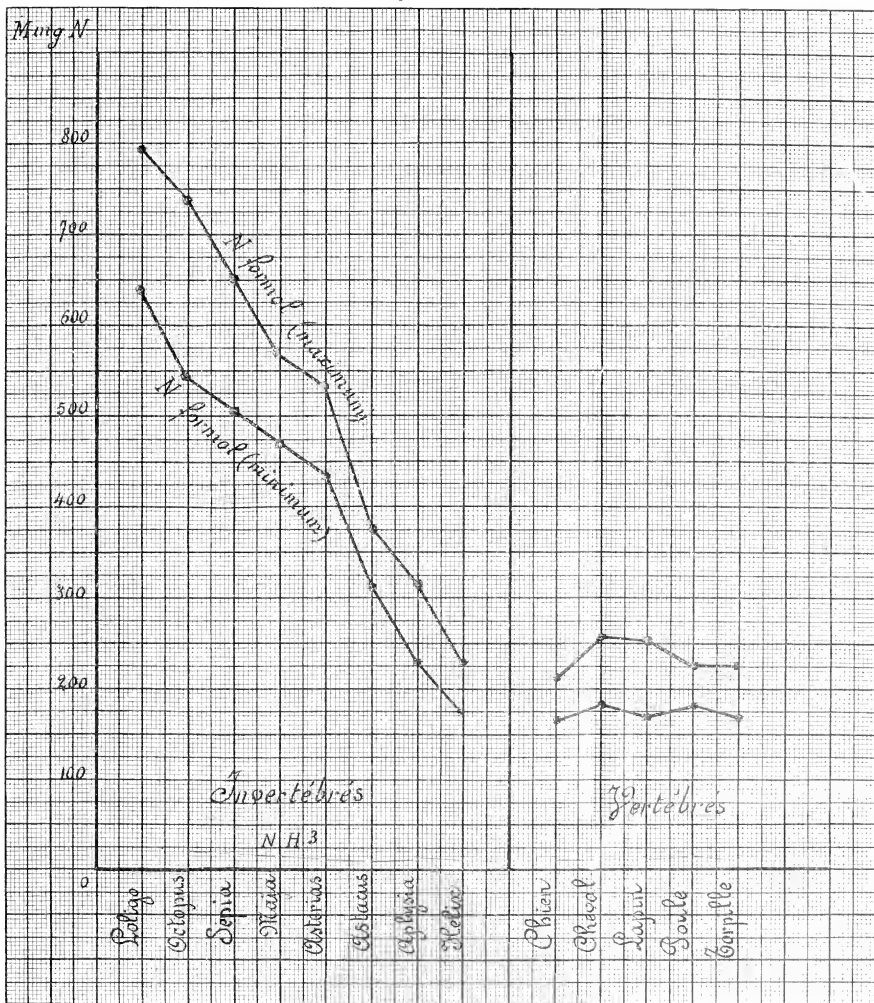
En résumé, le foie des Invertébrés est d'autant plus riche en azote total et en amino-acides que leur alimentation est plus riche en matières albuminoïdes. Cela permet de penser qu'il retient les produits de la digestion protéolytique (amino-acides) (1). On sait, d'autre part, que la glande hépatique de la plupart d'entre eux ne contient pas de glycogène (Céphalopodes). La question entièrement neuve qui se pose maintenant est de déterminer l'utilisation physiologique de ces corps de réserve ; mais elle dépasse le cadre de ce travail.

(1) Ces corps existent dans les tissus frais et ne sont pas des formations *post mortem*, comme l'avait supposé Otto von FÜRTH, *Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere*, p. 234.

N°6. - N. Total pour 100 grammes de Tissu frais de Foie

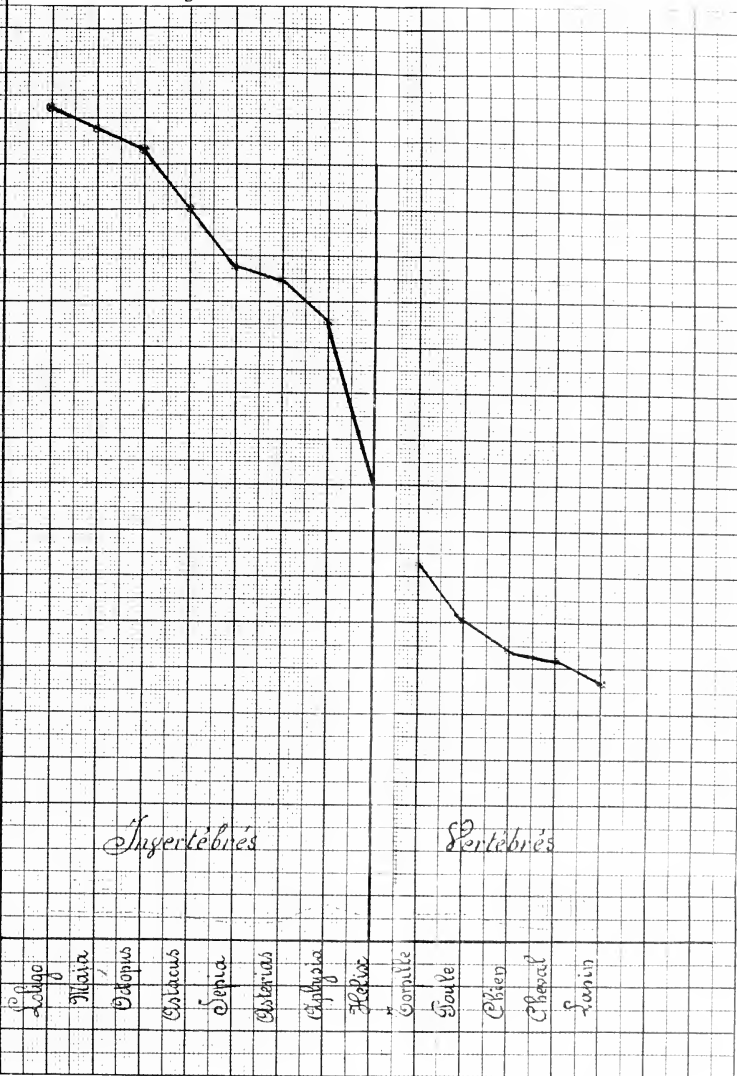


N°7. - N titrable au formol (minimum et maximum)
 et NH^3 - pour 100 gr. de tissu frais de Foie



N.º Rapport pour 100 de N total
de N formol minimum et de NH^3

100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0



Invertébrés

Vertébrés

RÉSUMÉ GÉNÉRAL ET CONCLUSIONS

Dans le Chapitre I, nous exposons la technique utilisée pour nos recherches : entre autres avantages, elle présente celui de permettre de suivre pas à pas la transformation de la matière albuminoïde au cours des divers processus protéolytiques.

Dans le Chapitre II, après avoir rappelé les caractères distinctifs de la pepsine, de la trypsine et de l'érepsine, nous exposons un certain nombre d'expériences personnelles qui amènent à conclure que la pepsine et la trypsine se différencient par trois caractères :

1° *Par le milieu d'action.* — La pepsine agit seulement en présence d'une acidité notable : l'intensité de la digestion augmente jusqu'à une certaine limite quand on élève la teneur du milieu en acide.

2° *Par les variations de l'acidité au cours de la protéolyse « in vitro ».* — Dans les liquides de digestion peptique, l'acidité forte diminue et l'acidité faible augmente. L'acidité après formol reste invariable.

Dans les liquides de digestion pancréatique, il y a augmentation progressive et parallèle de l'acidité directe et après formol, cette dernière étant due à la libération d'acides-amino.

3° *Par le processus d'action.* — La pepsine est un ferment peptonisant et non éreptique. La trypsine possède la double propriété de peptoniser et de transformer les substances protéiques en acides-amino. Au cours des digestions *in vitro*, l'activité peptonisante et l'activité éreptique sont sensiblement égales.

Le Chapitre III est consacré à l'étude de la réaction chimique des sucs digestifs des Invertébrés ; nous concluons que la plupart d'entre eux sont habituellement neutres ou peu acides.

Dans tous les cas, et contrairement à l'opinion de plusieurs auteurs, leur acidité paraît insuffisante pour permettre l'action peptique. Chez certains, tels que *Maja* et *Cancer* parmi les Crustacés décapodes, *Sepia* et *Loligo* parmi les Mollusques céphalopodes (suc du cæcum spiral), cette acidité est manifestement due aux amino-acides.

L'hydrolyse des matières protéiques, sous l'influence de sucs divers (Crustacés, Céphalopodes, Gastéropodes, Aphroditiens), est étudiée dans le Chapitre IV. Nous avons démontré que, en général, ils digèrent facilement la gélatine et la caséine, tandis que leur action est sensiblement moindre sur les sérums d'Invertébrés : ceci ne saurait surprendre puisque ces sérums renferment un agent antitryptique (SELLIER). La protéolyse, étudiée par le dosage respectif des albumoses et des peptones d'une part et des amino-acides d'autre part, s'est constamment effectuée, dans les conditions variées de nos expériences, selon le processus tryptique. Chez les Céphalopodes, cependant, le rapport entre la quantité de peptones libérée et le taux d'acides aminés formés est toujours plus élevé que chez les autres groupes d'Invertébrés : leur activité éreptique est donc moindre. Leur cæcum contient à la fois du suc digestif et des acides aminés.

Les sucs digestifs et les macérés hépato-pancréatiques d'*Helix pomatia*, d'*Aplysia punctata*, d'*Aplysia fasciata* sont inactifs au point de vue protéolytique.

Dans le Chapitre V, nous avons démontré la présence de l'érepsine à l'aide de plusieurs méthodes (méthode de SÖRENSEN, peptones ROCHE, disparition de la réaction du biuret, réaction de l'eau bromée, réaction de la tyrosinase).

Nous sommes, en outre, arrivé aux résultats suivants : Le sang des Crustacés (*Maja*, *Cancer*), sur lequel agit le suc digestif du même animal, libère facilement de la tyrosine ; le noircissement du liquide de digestion, oxydé par la tyrosinase, le prouve.

Ce suc produit rapidement du tryptophane en agissant sur la caséine. Il transforme les peptones WITTE en corps abiurétiques. Il précipite facilement la tyrosine des peptones ROCHE.

Les résultats obtenus chez les Céphalopodes (*Sepia*, *Loligo*) sont du même ordre, mais avec quelques particularités. Ainsi, l'érepsine du suc de leur cæcum ne transforme pas complètement les peptones WITTE en corps abiurétiques, même après

huit jours de digestion à 40°. FALLOISE avait déjà signalé ce fait. Le tryptophane apparaît au contraire promptement dans le lait. Le sang des Crustacés brunit rapidement et devient même d'un noir foncé.

Le suc digestif des Vers (*Aphrodite aculeata*) présente les mêmes propriétés que celui des Crustacés.

Celui des Mollusques gastéropodes (*Helix*, *Aplysia*), soumis aux mêmes expériences, a constamment fourni des résultats négatifs.

D'autres recherches, poursuivies sur les tissus de divers Invertébrés, nous ont permis de constater que l'érepsine existe seulement dans les sucs digestifs ou dans les extraits d'organes qui possèdent une action protéolytique.

Nous avons signalé antérieurement la présure chez plusieurs groupes d'Invertébrés. Notre Chapitre VI l'étudie en détail. Elle se rencontre dans tous les sucs ou extraits d'organes possédant un ferment à processus tryptique. En comparant celle de *Maja* à d'autres présures animales, nous arrivons à la conclusion qu'elle se rapproche de la présure pancréatique.

Enfin, en accord avec les données de Pawlow, nous avons constaté que les actions protéolytique et présurante, bien que distinctes, paraissent être produites par un même ferment.

Le foie étant un organe absorbant, le Chapitre VII est relatif à la recherche et au dosage des produits azotés de la digestion, particulièrement des aminoacides, qui y sont contenus. Celui des Carnivores (*Asterias*, *Maja*, *Sepia*, *Octopus*, *Loligo*) est plus riche en acides aminés que celui des Herbivores (*Helix*, *Aplysia*) et leur présence paraît dépendre du genre d'alimentation : elle semble aussi en rapport avec la fonction protéolytique, puisque cette dernière manque chez *Helix* et *Aplysia*.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	67
CHAPITRE PREMIER. — Mesure des processus protéolytiques	73
Dosage de N ¹	76
Dosage de (N ² + N ³)	78
Dosage de N ³	79
Lecture des tableaux d'expériences	82
CHAPITRE II. — Pepsine, Trypsine, Erepsine	85
1 ^o Rapport entre la quantité de substances protéiques et les divers facteurs de l'acidité	89
2 ^o Variations de l'acidité au cours des processus digestifs ...	90
CHAPITRE III. — Réaction des sucs digestifs des Invertébrés	97
Nature et rôle de l'acidité digestive des Invertébrés d'après les auteurs	103
Recherches personnelles	104
CHAPITRE IV. — Etude de la protéolyse chez quelques types d'Inver- tébrés	109
I. Crustacés décapodes	109
Action protéolytique	111
Recherches personnelles sur la digestion protéolytique des Crustacés	113
Sensibilité du suc digestif à l'acide et à l'alcali	115
Etude de l'action hydrolytique	115
Valeur digestive comparée d'après la nature du milieu d'action du suc digestif de <i>Maja</i> et de la pepsine	116
Action du suc digestif de <i>Maja</i> sur diverses matières pro- téiques	119
Action du suc digestif de <i>Maja</i> sur la caséine, après des temps variables à la même température	121
Action du suc digestif de <i>Maja</i> sur la caséine à diverses tem- pératures	123
Action hydrolytique comparée de divers sucs digestifs de Crustacés sur les matières protéiques	123
II. Mollusques céphalopodes	128
Action protéolytique	132

	Pages
Recherches personnelles sur les ferments protéolytiques des Mollusques céphalopodes.....	133
Etude du milieu d'action.....	134
Valeur digestive comparée du suc de <i>Loligo</i> et de la pepsine, d'après la nature du milieu d'action.....	135
Action du suc digestif de <i>Sepia</i> sur diverses matières protéiques.....	138
Action du suc digestif de <i>Loligo</i> sur diverses matières protéiques.....	140
Action du suc digestif de <i>Sepia</i> sur la caséine après des temps variables.....	140
Action de la température sur la digestion protéolytique du suc digestif de <i>Sepia</i>	140
Rôle du caecum des Céphalopodes.....	143
Recherches personnelles.....	146
Dosages comparés des produits digestifs dans le foie et dans le caecum.....	148
III. Mollusques gastéropodes.....	150
· Action protéolytique chez <i>Helix</i>	151
Recherches personnelles chez <i>Helix</i>	152
Etude de l'action protéolytique.....	152
Action protéolytique chez <i>Aplysia</i>	153
Recherches personnelles chez <i>Aplysia</i>	154
IV. Annélides chétopodes.....	156
Action protéolytique.....	161
Recherches personnelles.....	162
Action sur diverses matières protéiques.....	163
Action sur la caséine après des temps variables.....	165
CHAPITRE V. — Recherches sur l'action éreptique (CÖHNHEIM) ou peptolytique (ABDERHALDEN).....	167
Recherches sur les ferments éreptiques des tissus.....	172
CHAPITRE VI. — Présure.....	175
I. La présure des Invertébrés.....	175
Etude de l'action présurante.....	176
Etude du phénomène digestif.....	177
La présure des Invertébrés est toujours associée à un ferment à processus tryptique.....	179
II. Propriétés de la présure des Invertébrés.....	182
Action de la température sur le pouvoir présurant du suc chauffé.....	182
Coagulation du lait chauffé à diverses températures.....	182
Etude comparée des présures de HANSEN, peptique, pancréatique de <i>Maja</i> au point de vue de leur vitesse de coagulation du lait chauffé.....	183
Action comparée de la chaleur sur des présures d'origines diverses.....	184

Action de la présure de <i>Maja</i> sur le lait acidifié par l'acide chlorhydrique	185
Action de diverses présures sur le lait sensibilisé par le bactotage de l'acide carbonique.....	186
Coagulation du lait normal par diverses présures préalablement soumises à l'influence de l'acide ou de l'alcali.....	187
III. Sur l'identité du ferment protéolytique et de la présure.....	188
Recherches personnelles.....	190
CHAPITRE VII. -- Destination des produits de la digestion protéolytique. Leur présence dans le foie.....	195
Recherches personnelles.....	198
RÉSUMÉ GÉNÉRAL ET CONCLUSIONS.....	203



TABLE GÉNÉRALE DES MATIÈRES

13^e ANNÉE (1910)

	Pages
Georges MATISSE : Action de la chaleur et du froid sur l'activité motrice et la sensibilité de quelques Invertébrés marins..	1
Jean GAUTRELET : Contribution à l'étude des extraits organiques d'Invertébrés. Leur action sur la pression sanguine. . . .	33
J. SELIER : Recherches sur les ferments protéolytiques des Invertébrés	67

1^{er} Fascicule (15 Décembre 1910)

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
ET SOCIÉTÉ SCIENTIFIQUE D'ARCACHON

BULLETIN

DE LA

STATION BIOLOGIQUE

D'ARCACHON

TREIZIÈME ANNÉE

(1910)

BORDEAUX

FERET & FILS, LIBRAIRES-ÉDITEURS

15. Cours de l'Intendance. 15

1910

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
ET SOCIÉTÉ SCIENTIFIQUE D'ARCACHON

BULLETIN

DE LA

STATION BIOLOGIQUE D'ARCACHON
(TRAVAUX DES LABORATOIRES)

FONDÉ PAR

LE D^r F. JOLYET

DIRECTEUR DE LA STATION BIOLOGIQUE
PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE BORDEAUX

LE D^r F. LALESQUE

PRÉSIDENT HONORÉ DE LA SOCIÉTÉ SCIENTIFIQUE
MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE
DE MÉDECINE

Les Mémoires doivent être adressés à M. le Dr J. SELLIER, Secrétaire de la Publication, Directeur adjoint de la Station biologique (29, rue Boudet, à Bordeaux). Ils sont soumis à l'agrément d'un Comité de publication.

Les auteurs reçoivent gracieusement 50 exemplaires de leur Mémoire. Ils peuvent en faire tirer un nombre plus considérable à leurs frais au tarif ci-dessous; dans ce cas, ils devront l'indiquer sur le manuscrit, en retournant les épreuves corrigées :

50 exemp.	100 exemp.	150 exemp.	200 exemp.	250 exemp.	500 exemp.
5	7	10	12	14	18
8	12	16	18	20	23
12	18	23	30	32	42

Un quart de feuille (4 pages) F.

Une demi-feuille (8 pages)

Une feuille entière (16 pages)

STATION BIOLOGIQUE

Présidents d'honneur

- M. le RECTEUR de l'Université de Bordeaux ;
- M. le DOYEN de la Faculté des Sciences de Bordeaux ;
- M. le DOYEN de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux ;
- M. le PRÉFET de la Gironde ;
- M. le MAIRE d'Arcachon.

Président honoraire perpétuel

- M. le D^r Gustave BAMEAU (Arcachon) $\frac{1}{2}$.

Président honoraire

- M. le D^r F. LALESQUÈ, membre correspondant de l'Académie de médecine (Arcachon).

Directeur honoraire de la Station biologique

- M. E. DURÈGNE, ingénieur (Bordeaux).

Conseil d'administration

Président : D^r A. BAMEAU (Arcachon).

Vice-Présidents : $\left\{ \begin{array}{l} \text{C. SÉMIAC, pharmacien (Arcachon) ;} \\ \text{M. C. SAUVAGEAU, professeur à la Faculté des Sciences} \\ \text{de Bordeaux.} \end{array} \right.$

Secrétaire général : D^r PAILLÉ (Arcachon).

Treasorier : M. Gaston NOËL (Arcachon).

Bibliothécaire et Conservateur du Musée : D^r DUPOUY, professeur à la Faculté de Médecine de Bordeaux.

Administrateurs : $\left\{ \begin{array}{l} \text{J. SABY, conducteur principal des Ponts et Chaussées} \\ \text{(Arcachon) ;} \\ \text{G. BUSQUET, entrep. de travaux publics (Arcachon) ;} \\ \text{M. ORMIÈRES, ancien élève de l'École des Beaux-Arts,} \\ \text{architecte (Arcachon) ;} \\ \text{D^r CAZABAN (Arcachon).} \end{array} \right.$

Directeur de la Station biologique : D^r JOLYET, professeur à la Faculté de Médecine de Bordeaux (Arcachon).

Directeur adjoint de la Station biologique : D^r SELIER, chargé de cours à la Faculté de Médecine de Bordeaux.

Délégué de l'Université : M. C. PÉREZ, professeur à la Faculté des Sciences de Bordeaux.



2^{me} Fascicule (1910)

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
ET SOCIÉTÉ SCIENTIFIQUE D'ARCACHON

BULLETIN

DE LA

STATION BIOLOGIQUE

D'ARCACHON

TREIZIÈME ANNÉE

(1910)

BORDEAUX

FERET & FILS, LIBRAIRES-ÉDITEURS

15, Cours de l'Intendance, 15

1910

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
ET SOCIÉTÉ SCIENTIFIQUE D'ARCACHON

BULLETIN

DE LA

STATION BIOLOGIQUE D'ARCACHON

(TRAVAUX DES LABORATOIRES)

FONDÉ PAR

LE D^r F. JOLYET

DIRECTEUR DE LA STATION BIOLOGIQUE
PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE BORDEAUX

LE D^r F. LALESQUE

PRÉSIDENT HONOR^e DE LA SOCIÉTÉ SCIENTIFIQUE
MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE
DE MÉDECINE

Les Mémoires doivent être adressés à M. le Dr J. SELLIER, Secrétaire de la Publication, Directeur adjoint de la Station biologique (29, rue Boudet, à Bordeaux). Ils sont soumis à l'agrément d'un Comité de publication.

Les auteurs reçoivent gracieusement 50 exemplaires de leur Mémoire. Ils peuvent en faire tirer un nombre plus considérable à leurs frais au tarif ci-dessous; dans ce cas, ils devront l'indiquer sur le manuscrit, en retournant les épreuves corrigées :

	50 exemp.	100 exemp.	150 exemp.	200 exemp.	250 exemp.	500 exemp.
Un quart de feuille (4 pages) F.	5	7	10	12	14	18
Une demi-feuille (8 pages)	8	12	16	18	20	25
Une feuille entière (16 pages)	12	18	25	30	32	42

SOCIÉTÉ SCIENTIFIQUE D'ARCACHON

STATION BIOLOGIQUE

Présidents d'honneur

M. le RECTEUR de l'Université de Bordeaux ;
M. le DOYEN de la Faculté des Sciences de Bordeaux ;
M. le DOYEN de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux ;
M. le PRÉFET de la Gironde ;
M. le MAIRE d'Arcachon.

Président honoraire perpétuel

M. le D^r Gustave HAMEAU (Arcachon) †.

Président honoraire

M. le D^r F. LALESQUE, membre correspondant de l'Académie de médecine (Arcachon).

Directeur honoraire de la Station biologique

M. E. DURÉGNE, ingénieur Bordeaux .

Conseil d'administration

Président : D^r A. HAMEAU (Arcachon).

Vice-Présidents : $\left\{ \begin{array}{l} \text{C. SÉMIAC, pharmacien (Arcachon) ;} \\ \text{M. G. SAVVAGEAU, professeur à la Faculté des Sciences} \\ \text{de Bordeaux.} \end{array} \right.$

Secrétaire général : D^r PAILLÉ (Arcachon).

Trésorier : M. Gaston NOËL (Arcachon).

Bibliothécaire et Conservateur du Musée : D^r DUPOUY, professeur à la Faculté de Médecine de Bordeaux.

Administrateurs : $\left\{ \begin{array}{l} \text{J. SABY, conducteur principal des Ponts et Chaussées} \\ \text{(Arcachon) ;} \\ \text{G. BESQUET, entrepr^s de travaux publics (Arcachon) ;} \\ \text{M. ORMIÈRES, ancien élève de l'École des Beaux-Arts,} \\ \text{architecte (Arcachon) ;} \\ \text{D^r CAZABAN (Arcachon).} \end{array} \right.$

Directeur de la Station biologique : D^r JOLYET, professeur à la Faculté de Médecine de Bordeaux (Arcachon).

Directeur adjoint de la Station biologique : D^r SELLIER, chargé de cours à la Faculté de Médecine de Bordeaux.

Délégué de l'Université : M. C. PÉREZ, professeur à la Faculté des Sciences de Bordeaux.



MBL WHOI LIBRARY



WH 19YZ %

