

Sur la concentration moléculaire du sang et des tissus chez les animaux aquatiques

PAR

LÉON FREDERICQ.

§ I. — SANG ET LIQUIDES DU MILIEU INTÉRIEUR.

La concentration moléculaire et la teneur en sels du *milieu extérieur* (eau de mer plus ou moins salée, eau douce) exercent une influence très inégale sur la composition des liquides nourriciers (sang, hémolymphe) qui constituent le *milieu intérieur* chez les différents animaux aquatiques.

On peut distinguer ici trois cas ⁽¹⁾ :

A. Le milieu intérieur (sang, hémolymphe) présente la même concentration moléculaire et approximativement la même teneur saline (rapportée non à un même volume de liquide mais à un même poids d'eau) que le milieu extérieur (eau de mer) dans lequel vit l'animal. C'est le cas pour les liquides nourriciers de tous les Invertébrés marins examinés par moi.

(¹) Voir ma notice : *Sur la perméabilité de la membrane branchiale* (Bull. de l'Acad. roy. de Belgique (Classe des sciences), 1901, n° 2, pp. 68-70).

B. Le sang ou milieu intérieur présente la même concentration moléculaire que l'eau de mer dans laquelle l'animal vit, mais sa teneur en sels est beaucoup plus faible que celle de l'eau de mer : le complément de concentration moléculaire est atteint grâce à la présence de substances organiques dissoutes dans le sang. Sang des poissons plagiostomes.

C. Le sang présente une concentration moléculaire et une teneur saline très différentes de celles de l'eau extérieure. Sang des poissons osseux tant marins que d'eau douce. Sang des Invertébrés d'eau douce, notamment de l'Écrevisse.

A. — *Le milieu intérieur (sang, hémolymphe) présente la même concentration moléculaire et approximativement la même teneur saline que le milieu extérieur (eau de mer) dans lequel vit l'animal.*

J'ai montré, en 1882 et 1884 ⁽¹⁾, que la proportion de sels solubles contenus dans le sang des Crustacés et des Invertébrés marins en général ne diffère pas beaucoup de la teneur en sels de l'eau de mer dans laquelle vivent les animaux. Ceux de la Méditerranée ont un sang plus salé que ceux de l'Atlantique ou de la mer du Nord. De plus, on peut faire varier, dans des limites assez larges, le degré de salure du sang de ces animaux en les transportant successivement dans de l'eau plus ou moins salée. Le sang paraît, chez ces animaux, être *in vivo* à l'état d'équilibre de diffusion saline vis à vis de l'eau extérieure : si l'on place un échantillon de ce sang dans un dialyseur suspendu *in vitro* dans de l'eau de mer, la diffusion, prolongée pendant plusieurs jours, ne modifie pas sensiblement la teneur en sels.

Ces faits ont été confirmés par Quinton ⁽²⁾ et par Bot-

⁽¹⁾ Bull. de l'Acad. roy. de Belgique, 1882 — Livre jubil. Soc. méd. Gand, 1884, p. 271. — Arch. zool. exp., 1884 et 1891, p. 117.

⁽²⁾ QUINTON. Comptes rendus de la Soc. de biol., 30^e octobre 1897, pp. 935-936 — Comptes rendus de l'Acad. des sciences de Paris, 26 novembre et 3 décembre 1900.

tazzi⁽¹⁾. Ce dernier expérimentateur a déterminé, chez un certain nombre d'Invertébrés du golfe de Naples, la concentration moléculaire du sang ou des liquides nourriciers par le procédé de l'abaissement du point de congélation (au moyen de l'appareil de Beckman) et l'a trouvé très voisin de celui de l'eau de mer ($\Delta = -2^{\circ},29$).

J'ai étudié, à Naples, chez un certain nombre d'Invertébrés marins, l'influence que les variations de la concentration moléculaire de l'eau de mer exercent sur la concentration moléculaire des liquides nourriciers. Lorsque la concentration ou la dilution ne sont pas poussées trop loin, il suffit de quelques heures chez beaucoup d'espèces pour que l'équilibre isotonique se rétablisse entre le *milieu extérieur*, artificiellement dilué, ou concentré, et le *milieu intérieur*, comme le montrent les exemples du tableau suivant. Les animaux en expérience étaient placés dans de grands aquariums remplis d'eau de mer diluée ou concentrée. L'eau était aérée par une injection continue d'air sous pression. La concentration moléculaire fut déterminée au moyen de l'appareil de Beckman, modifié par Hans Friedenthal⁽²⁾.

J'avais eu l'occasion de vérifier que les animaux vivant dans l'eau de mer ordinaire donnaient une valeur de Δ très voisine de celle de l'eau de mer. Ainsi *Maja verrucosa* vivant dans de l'eau pour laquelle $\Delta = -2^{\circ},17$ fournit du sang pour lequel $\Delta = -2^{\circ},13$.

De même *Sipunculus nudus* vivant dans de l'eau à $\Delta = -2^{\circ},11$ fournit du sang avec $\Delta = -2^{\circ},13$.

(1) F. BOTTAZZI. *La pression osmotique du sang des animaux marins* (Arch. ital. de Biologie, 1897, XXVII, 61).

(2) *Centralblatt f. Physiologie*, XIII, 484.

ESPÈCE ANIMALE.	DURÉE DU SÉJOUR dans l'eau diluée ou concentrée.	VALEUR DE A.	
		Liquide nourricier.	Eau de mer.
<i>Sipunculus nudus</i>	après 24 h.	— 2,48	— 2,49 concentrée.
<i>Asterias glacialis</i>	Liquide cavitaire id. 24 h.	— 2,68	— 2,65 id.
<i>Holothuria tubulosa</i>	id. 24 h.	— 2,61	— 2,65 id.
<i>Aplysia depilans</i>	après 24 h.	— 2,68	— 2,65 id.
<i>Octopus vulgaris</i>	id. 17 h.	— 1,60	— 1,60 diluée.
<i>Palinurus vulgaris</i>	id. 5 h.	— 2,80	— 2,98 concentrée.
<i>Maja squinado</i>	Sang id. 6 h. 30 m.	— 2,88	— 2,98 id.
<i>Maja verrucosa</i>	id. 5 h. 30 m.	— 2,90	— 2,96 id.
<i>Id.</i>	id. 6 h. 30 m.	— 2,94	— 2,98 id.
<i>Id.</i>	id. 24 h.	— 1,40	— 1,38 diluée.

Si la durée du séjour est faible, l'équilibre n'est pas atteint complètement :

ESPÈCE ANIMALE.	DURÉE.	Δ (sang).	Δ (eau).
<i>Eledone Aldrovandi</i>	2 h. 45 m.	- 2°,50	- 2°,82 concentrée.
<i>Octopus vulgaris</i>	11 h.	- 1,78	- 1,58 diluée.
<i>Maja verrucosa</i>	4 h.	- 1,40	- 1,25 id.

Tous les animaux ne s'adaptent pas avec la même rapidité que *Maja verrucosa* aux variations de concentration de l'eau de mer, comme le montrent les valeurs suivantes de Δ , qui se rapportent au sang d'exemplaires de *Carcinus maenas* ayant vécu plus ou moins longtemps dans de l'eau de mer concentrée ou diluée :

ESPÈCE ANIMALE.	DURÉE du séjour.	Concentration du sang. Valeur de Δ	Concentration de l'eau. Valeur de Δ .
<i>Carcinus maenas</i>	1 h.	- 2°,08	- 1°,1 diluée.
	3 h. 30 m.	- 2	- 1,1 id.
	15 h.	- 1,68	- 1,1 id.
	7 h.	- 1,77	- 1,08 id.
	24 h.	- 1,85	- 1,16 id.
	3 fois 24 h.	- 1,68	- 1,19 id.
	3 fois 24 h.	- 3,12	- 3,11 concentrée.
	3 fois 24 h.	- 3,83	- 3,84 id.

L'équilibre s'établit donc fort lentement entre le milieu extérieur (eau de mer) et le sang ou milieu intérieur chez *Carcinus maenas*. Ceci fait supposer que les surfaces d'échange entre

l'organisme de cette espèce et le milieu extérieur sont peu perméables, tant à l'eau qu'aux substances dissoutes.

Les expériences suivantes montrent en effet que les sels que l'on ajoute à l'eau de mer passent fort lentement dans le sang de *Carcinus maenas*.

Des *Carcinus maenas* séjournent dans de l'eau de mer additionnée de 5 ‰ de *ferrocyanure de sodium*. Au bout de cinq heures, on recherche ce sel dans le sang et dans le contenu de l'estomac, au moyen du *perchlorure de fer* légèrement acidulé. A cet effet, le sang est reçu directement sur du papier à filtre, qu'on laisse sécher. Les taches de sang ne donnent pas la réaction caractéristique du *ferrocyanure*, tandis que le contenu stomacal se colore en bleu (*bleu de Prusse*) par addition de perchlorure de fer acide.

Au bout de vingt-trois heures de séjour, le sang donne la réaction du *ferrocyanure*.

Comme cette réaction n'est pas très sensible quand il s'agit de liquides albumineux, j'ai repris les expériences au moyen d'eau de mer additionnée de nitrate de sodium à 2.5 ‰.

La réaction caractéristique des nitrates (coloration indigo par addition d'une goutte de solution sulfurique de diphenylamine à une goutte de sang) commença à se montrer au bout d'une demi-heure à une heure de séjour ; au bout d'une heure à une heure et demie de séjour, elle était très marquée. Dans tous les cas, le contenu de l'estomac donna la réaction plus fortement que le sang : il n'est donc pas possible de décider si le sel étranger pénètre dans le sang par la voie des branchies ou par celle de la surface de l'intestin.

En plongeant les Crabes dans de l'eau de mer additionnée de 1 ‰ de nitrate de sodium, on observe que le sang donne déjà fortement la réaction des nitrates au bout d'une demi-heure de séjour. Cette eau de mer présente une valeur de $\Delta = -2^{\circ},52$. Au bout de quarante-huit heures, le sang des Crabes donnait $\Delta = -2^{\circ},40$.

L'équilibre osmotique était donc presque atteint. Cet équi-

libre provenait moins d'une entrée de nitrate dans le sang que d'un échange d'eau entre le sang et l'eau extérieure. En effet, le dosage des nitrates dans le sang par la méthode de SCHULZE-TIEMANN (1) donna 5 centimètres cubes de N^2O^2 pour 10 centimètres cubes de sang, tandis que 5 centimètres cubes d'eau extérieure fournirent 13 centimètres cubes de N^2O^2 , c'est-à-dire cinq fois plus. Il est fort possible que chez *Carcinus maenas*, la branchie soit seulement perméable à l'eau, l'intestin étant à la fois perméable à l'eau et aux sels. Dans cette manière de voir, les échanges d'eau tendant à égaliser les conditions de pression osmotique auraient leur siège au niveau de la membrane branchiale, tandis que les échanges de sels se feraient à travers l'épithélium intestinal.

Chez les Céphalopodes, la branchie est très perméable à certaines substances, notamment à la *strychnine*, comme l'ont montré les expériences de Paul BERT et d'Emile Yung (2). Je place un petit *Octopus Defilippii* dans de l'eau de mer contenant 5 centigrammes de *sulfate de strychnine* par litre. Il est presque aussitôt pris de convulsions et meurt au bout de quelques minutes. Résultat analogue avec un second exemplaire, placé dans de l'eau ne contenant que 1 centigramme de sel de *strychnine* par litre (solution au cent-millième).

Chez *Octopus vulgaris*, la branchie paraît peu perméable aux sels dissous. Un *Octopus* est placé dans de l'eau de mer contenant 2‰ de *ferrocyanure de sodium*. On le saigne au bout d'une heure trente-cinq minutes. Le sang ne donne pas la réaction du ferrocyanure.

Un autre *Octopus vulgaris* est placé dans de l'eau contenant 5‰ de *ferrocyanure*. Au bout de six heures, l'animal est retiré fort malade. Son sang donne la réaction du ferrocyanure.

(1) SCHULZE, *Zeitschr. f. anal. Chemie*, 1870, IX, 401. — TIEMANN, *Ber. der deuts. chem. Ges.*, 1873, VI, 1041.

(2) P. BERT, *Physiologie de la Seiche*. — E. YUNG, *Comptes rendus*, 1880, vol. 91, p. 238.

Conclusion. — Chez les Invertébrés marins examinés, l'organisme est perméable à l'eau et aux sels dissous. La branchie paraît perméable à l'eau, mais il n'est pas prouvé qu'elle le soit partout aux sels dissous. Il est possible que chez certaines espèces, les substances dissoutes pénètrent dans le sang par la voie intestinale.

Quoi qu'il en soit, chez les animaux vivant à l'état de nature, il s'est établi un équilibre complet au point de vue de la diffusion saline entre le sang et l'eau de mer extérieure. Cet équilibre ne sera plus modifié, si l'on place le sang d'un poulpe, d'une langouste, d'un crabe dans un dialyseur (boyau de papier parchemin) que l'on suspend dans un vase renfermant de l'eau de mer que l'on renouvelle par un courant continu. On peut dialyser pendant plusieurs jours sans modifier la teneur en sels du sang. J'avais déjà constaté le fait en 1891 pour le sang de *Maja squinado*. Je l'ai vérifié récemment encore pour le sang d'*Octopus* et pour celui de *Maja verrucosa*.

Sels du sang avant et après dialyse.

	Avant dialyse.	Après dialyse.
Sang d' <i>Octopus</i>	3 ‰	3 ‰
Sang de <i>Maja verrucosa</i> . .	3.55 ‰	3.62 ‰

On remarquera que l'équilibre de diffusion est atteint entre le sang et l'eau de mer, quoique la proportion de sels contenue dans le sang soit notablement plus faible que celle de l'eau de mer. C'est à la présence de matières albuminoïdes dans le sang que ce fait est dû.

B. — *Le milieu intérieur (sang) présente la même concentration moléculaire que l'eau de mer, mais sa teneur en sels est beaucoup plus faible.*

J'ai signalé, en 1884 et 1891, la faible teneur saline du sang des poissons marins, notamment des poissons plagiostomes.

D'autre part, BOTTAZZI (1) découvrait que la concentration moléculaire du sang des poissons plagiostomes est cependant la même que celle de l'eau de mer dans laquelle ils vivent. Ainsi le point de congélation du sang de *Mustelus vulgaris*, de *Torpedo marmorata* et de *Trygon violacea* fut trouvé par lui respectivement de $-2^{\circ},36$, $-2^{\circ},26$. $-2^{\circ},44$, alors que l'eau d'où les poissons avaient été retirés se congelait à $-2^{\circ},29$, BOTTAZZI avait été frappé de la contradiction qui semblait exister entre la faible teneur saline et la haute concentration moléculaire du sang des plagiostomes. L'explication est cependant fort simple : v. SCHRÖDER (2) a découvert que le sang de *Scyllium* contient 2 à 3 % d'urée. C'est cette urée et sans doute d'autres substances organiques du sang qui, s'ajoutant aux sels du sang, viennent parfaire la concentration moléculaire répondant à $\Delta = -2^{\circ}$. Le fait a été confirmé récemment par QUINTON (3), par RODIER (4) et par moi-même (5).

Le milieu extérieur (eau de mer) se met donc en équilibre osmotique (même concentration moléculaire, même valeur de Δ) avec le sang de l'animal; mais il n'est nullement en équilibre de diffusion, puisque l'animal conserve dans son sang jusque 2.5 à 3 % d'une substance aussi diffusible que l'urée, qui ne passe pas dans l'eau extérieure, et que pareillement le sang contient seulement 1.6 % de sels solubles contre plus de 4 % de sels de l'eau extérieure.

Il semble donc que les surfaces d'échange (branchies) entre le milieu extérieur et le milieu intérieur laissent passer l'eau

(1) F. BOTTAZZI, *Arch. ital. de biol.*, 1897, XXVIII.

(2) V. SCHRÖDER, *Zeitsch. f. physiol. Chemie*, XIV, p. 376.

(3) R. QUINTON, *Comptes rendus de la Soc. de biol.*, 14 mars 1899.

(4) RODIER, *Soc. scient. et stat. zool. d'Arcachon*, 1899. — *Comptes rendus de l'Acad. des sciences*, 10 décembre 1900.

(5) *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*, 1901, MUSKENS (*Eene physiologische zoutso-lutie voor zeedie en* [Tijdschr. der nederl. dierkund. Vereen., 1893-1894, IV, p. 314]) considère la solution de NaCl à 2.25 % comme physiologique vis-à-vis du sang, des muscles et des spermatozoïdes des Sélaciens (*Raja clavata*).

pour permettre l'équilibre isotonique, mais ne se laissent pas traverser par les substances dissoutes, sels, urée, etc. Ces surfaces se comportent donc comme si elles étaient constituées par des membranes semi-perméables. J'ai fait quelques expériences dont les résultats cadrent entièrement avec cette manière de voir.

J'ai d'abord vérifié encore une fois la faible teneur en sels solubles (1.6 ‰), la grande richesse en urée du sang de *Scyllium catulus* (2 à 3 ‰), ainsi que l'identité de sa concentration moléculaire avec celle de l'eau extérieure ($\Delta =$ au moins -2°).

Scyllium catulus A, ayant vécu dans de l'eau de mer d'une densité de 1,030 environ et pour laquelle $\Delta = -2^{\circ},13$.

Sang $\Delta = -2^{\circ},18$, avec 1.71 ‰ de sels dont 1.5 ‰ solubles et 0.21 ‰ insolubles.

Scyllium B, Eau de mer, densité 1,030 $\Delta = -2^{\circ},12$.

Sérum centrifugé, $\Delta = -2^{\circ},14$. Sels du sérum, premier échantillon, 1.72 ‰ dont 1.62 solubles et 0.1 insolubles; second échantillon, 1.70 ‰ dont 1.60 solubles et 0.1 insolubles.

Les sels de 10 centimètres cubes de sérum redissous dans 10 centimètres cubes d'eau donnent $\Delta = -1^{\circ},02$. Le sérum contenait 2.93 ‰ d'urée (1), représentant un abaissement de $\Delta = -0^{\circ},92$ environ.

J'ai constaté ensuite que si l'on place un *Scyllium* dans de l'eau de mer diluée par addition d'eau douce, ou concentrée par évaporation, le sang ne tarde pas à se modifier de manière à se mettre au bout de quelques heures en équilibre osmotique avec le milieu extérieur. Ainsi le point de congélation du sang s'élève ou s'abaisse dans la même mesure que celui de l'eau extérieure.

Le nouvel équilibre osmotique semble s'établir par simple transport d'eau de l'eau de mer extérieure vers le sang (pour le cas où l'on a dilué l'eau), ou du sang vers l'extérieur (pour le

(1) Dix centimètres cubes de sérum furent coagulés par 50 centimètres cubes d'alcool, le coagulum épuisé par l'alcool, les liquides alcooliques évaporés au bain-marie, dissous dans 10 centimètres cubes d'eau et traités par l'hypobromite de sodium dans mon uréomètre. — Voir *Un nouvel uréomètre* (Livre jubilé, Soc. biol. et Trav. Labor., VI, 1904).

cas où l'on a employé de l'eau concentrée), sans que les substances dissoutes prennent part à ce transport. Le sang paraît se diluer ou se concentrer en bloc, par addition ou soustraction d'eau, comme le montrent les variations dans les proportions absolues de sels, d'urée, etc., et le peu de variations au contraire dans les proportions de sels comparées à celles de l'urée.

L'absorption d'eau par le plasma sanguin dans le cas d'expérience faite dans l'eau de mer diluée, a pour effet d'augmenter notablement la masse du sang, mais presque exclusivement au profit du plasma, les globules variant peu. L'animal fournit beaucoup de sang, mais ce sang contient peu de globules et beaucoup de plasma, comme on peut s'en assurer en faisant, au moyen de l'appareil à force centrifuge de Runne, la séparation des globules et du plasma dans le sang défibriné.

Réciproquement, lorsque le *Scyllium* a vécu dans l'eau de mer concentrée, son sang se concentre, par perte d'eau, au profit du milieu extérieur. La masse diminue, mais presque exclusivement au détriment du plasma, les globules variant peu. On recueille relativement peu de sang, mais ce sang est riche en globules, pauvre en plasma.

Voici le détail des expériences.

EAU DE MER DILUÉE.

Scyllium C, de 76 centimètres de long, pesant un peu moins de 2 kilogrammes, ayant vécu pendant vingt-sept heures dans 100 litres d'eau de mer diluée ($\Delta = - 1^{\circ},67$), aérée par un barbotement continu d'air. L'eau fut changée entièrement deux fois, d'abord au bout de six heures, puis au bout de dix-huit heures. Au bout de vingt-quatre heures, on ajoute $\frac{1}{1000}$ de nitrate de sodium (NaAzO_3).

Au bout de vingt-sept heures, l'animal fut rincé par un séjour de quelques minutes dans de l'eau de mer ordinaire, puis essuyé et saigné: il donna beaucoup de sang pauvre en globules. Le sang défibriné fut soumis à l'appareil à force centrifuge.

Eau, $\Delta = - 1^{\circ},67$; sérum, $\Delta = - 1^{\circ},70$; sels solubles et insolubles du sérum, 1.34 % et 1.36 % (deux déterminations), moyenne, 1.35 %; urée du sérum, 2.48 %.

Les sels solubles de 10 centimètres tubes de sérum redissous dans 10 centimètres cubes d'eau donnent $\Delta = - 0^{\circ},77$. L'urée (2.48 %)

aurait donné $\Delta = - 0^{\circ}78$. Le sérum essayé par la diphénylamine ne donna pas la réaction des nitrates.

EAU DE MER CONCENTRÉE.

Scyllium D, ayant vécu pendant vingt-quatre heures dans de l'eau de mer, additionnée graduellement d'eau concentrée, de manière à présenter une valeur $\Delta = - 2^{\circ}72$ au bout de sept heures et demie. A la dix-huitième heure, on ajoute 2.5 ‰ de nitrate de sodium (NaAzO^3). L'animal fournit une petite quantité de sang, riche en globules, pauvre en plasma.

Sérum, $\Delta = - 2^{\circ}70$; sels, 2.24 ‰; urée, 3.22 ‰.

Les sels solubles de 10 centimètres cubes de sérum redissous dans 10 centimètres cubes d'eau donnent $\Delta = - 1^{\circ},18$. L'urée (3.22 ‰) aurait donné $\Delta = - 1^{\circ}$ environ.

EAU DE MER CONCENTRÉE PAR ADDITION D'UN SEL ÉTRANGER.

Un *Scyllium E* (73 centimètres de long, poids 1,490 grammes) séjourna pendant quatorze heures dans de l'eau de mer additionnée de 5 ‰ de (NaAzO^3), puis pendant neuf heures dans de l'eau de mer additionnée de 10 ‰ de (NaAzO^3).

Eau, $\Delta = - 2^{\circ},49$; sérum, $\Delta = - 2^{\circ},48$.

L'équilibre isotonique était donc réalisé complètement entre le sang et l'eau. Quelle part l'entrée du nitrate dans le sang avait-elle eue ici pour contribuer à parfaire cet équilibre? Pour résoudre cette question, le sel fut dosé à la fois dans le sérum et l'eau de mer, dans laquelle l'animal avait vécu, à l'état de bioxyde d'azote, d'après le procédé de Schulze-Tiemann.

Dix centimètres cubes d'eau de mer donnèrent 26 centimètres cubes de gaz; 10 centimètres cubes de sang donnèrent 3cc,1.

Le sang contenait donc huit à neuf fois moins de sel que l'eau de mer. La pénétration du nitrate n'avait donc joué qu'un rôle tout à fait secondaire. Il est bien possible d'ailleurs que ce nitrate ait pénétré dans l'organisme par une autre voie que celle des branchies, par celle du tube digestif, par exemple. La présence du nitrate en quantité notable dans l'estomac fut démontrée chez les trois *Scyllium C, D, E*, qui avaient vécu dans de l'eau additionnée de nitrate.

Enfin j'utilisai le sang d'un dernier *Scyllium* disponible pour vérifier ce fait que la dialyse augmente la teneur en sels du sang, mais qu'après épuisement de l'action de la diffusion, le sang contient cependant moins de sels que l'eau extérieure.

Un *Scyllium F* ayant vécu dans de l'eau de mer ordinaire (longueur 62 centimètres, poids 910 grammes) fournit 28 centimètres cubes de sang, dont 21.5 de sérum.

Le sérum, soumis pendant trois fois vingt-quatre heures à la dialyse vis-à-vis de l'eau de mer dans un boyau de papier parchemin, fournit 3.26 ‰ de sels.

Dans mon travail de 1891, j'avais donné les chiffres de quelques expériences analogues. Le sérum du sang de raie m'avait fourni 1.77 ‰ de sels avant la dialyse et 3.28 ‰, puis 3.44 ‰ de sels après dialyse vis-à-vis d'eau de mer (de Banyuls).

Ces expériences sont à rapprocher de celles qui se rapportent à la dialyse du sang de poulpe, de homard, etc., vis-à-vis de l'eau de mer. (Voir plus haut, p. 716.)

Elles montrent qu'un liquide albumineux se trouve en équilibre de diffusion avec des solutions purement salines, dont la teneur en sels est notablement supérieure à celle du liquide albumineux.

C. — *Le sang présente une concentration moléculaire et une teneur saline très différentes de celles de l'eau extérieure.*

BOTTAZZI avait déjà constaté que la valeur de Δ était notablement plus faible chez *Charax puntazzo* ($\Delta = -1^{\circ},04$ et $-1^{\circ},035$) et chez *Cerna (Serranus) gigas* ($-1^{\circ},035$ et $-1^{\circ},034$), que pour l'eau de mer dans laquelle ces poissons osseux avaient vécu.

J'ai obtenu des valeurs encore plus faibles que BOTTAZZI pour les poissons osseux marins (1).

(1) RODIER (*Soc. scient. et stat. zool. d'Arcachon*, 1899) a publié des valeurs de concentration moléculaire du sang de plusieurs poissons.

Lophius $\Delta = -0^{\circ},62$ à $0^{\circ},80$; *Esturgeon* $\Delta = -0^{\circ},76$.

HAMBURGER a trouvé (*Arch. f. Physiol.*, 1887, p. 42) que le sang de *Tinca* est isotonique avec une solution de NaCl à 0.936 ‰ ($\Delta = -0^{\circ},35$).

Sang de *Crenilabrus pavo* $\Delta = -0^{\circ},76$ et $-0^{\circ},74$.

Box salpa. . . $\Delta = -0^{\circ},88$ et $-0^{\circ},82$.

Chez les poissons osseux marins, le sang présente donc une concentration moléculaire notablement plus faible que l'eau de mer extérieure.

Chez les poissons osseux d'eau douce et chez l'Écrevisse, le sang présente une concentration moléculaire notablement plus forte que celle de l'eau extérieure.

<i>Astacus fluviatilis</i>	$\Delta = -0^{\circ},80$.
<i>Barbus fluviatilis</i>	$\Delta = -0^{\circ},475$.
— —	$\Delta = -0^{\circ},50$.
— —	$\Delta = -0^{\circ},50$.
<i>Leuciscus dobula</i> (<i>Squalius cephalus</i>)	$\Delta = -0^{\circ},45$.
<i>Anguilla vulgaris</i>	$\Delta = -0^{\circ},58$.
— —	$\Delta = -0^{\circ},69$.

§ II. — CONCENTRATION MOLÉCULAIRE DES TISSUS.

La détermination de la concentration moléculaire, par le procédé de l'abaissement du point de congélation, est rarement applicable directement aux tissus solides. Les muscles, les glandes, etc., même réduits en bouillie aussi ténue que possible, ont encore une consistance trop solide pour pouvoir être brassés dans l'appareil de BECKMAN.

Il n'y a guère que les tissus transparents et très riches en eau de certains animaux pélagiques qui se prêtent à cette opération. Ainsi, un lambeau de l'ombelle d'un grand *Rhizotoma pulmo*, découpé en menus fragments, laissa découler un liquide dont la densité, la teneur en sel et le point de congélation Δ étaient très voisins de ceux de l'eau de mer.

Mais le plus souvent, il faut avoir recours à des procédés indirects. J'en ai utilisé deux :

L'un consiste à épuiser complètement par l'eau distillée bouillante les fragments de tissus soumis au préalable à la dessiccation à l'étuve à $+110^{\circ}$. On réunit toutes les eaux de lavage et on les réduit par évaporation au volume qu'occupait l'eau d'imbibition du tissu. Le liquide ainsi obtenu doit avoir

une concentration moléculaire très voisine de celle du suc naturel du tissu. On la détermine par l'abaissement de son point de congélation, tel que le fournit l'appareil de BECKMAN. Il faut nécessairement déterminer au préalable la richesse du tissu en eau. Ce procédé est malheureusement assez long.

L'autre procédé, plus expéditif, mais moins sûr, consiste à rechercher par tâtonnements la concentration qu'il faut donner à une solution saline (eau de mer diluée ou concentrée), pour qu'un fragment de tissu suspendu dans cette solution ne change ni de poids ni de volume. La solution peut être alors considérée comme *isotonique* par rapport au tissu.

BOTTAZZI et ENRIQUEZ (1) avaient appliqué ce procédé au tissu des glandes salivaires d'*Octopus*. Ils avaient constaté que ces glandes ne varient pas de poids quand on les laisse séjourner dans l'eau de mer; qu'elles augmentent de poids (par absorption d'eau) dans les liquides *hypotoniques*, plus dilués que l'eau de mer; qu'elles diminuent, au contraire, de poids (par perte d'eau) dans les liquides *hypertoniques*, c'est-à-dire plus concentrés que l'eau de mer.

Malheureusement, la pesée directe est difficilement applicable à des fragments de muscles ou d'autres tissus à surface rugueuse, qu'il est malaisé d'essayer convenablement sans en perdre des fragments.

J'ai eu l'idée d'employer la balance à densité de WESTPHAL, pour rechercher, par tâtonnements, la concentration qu'il faut donner à la solution saline (eau de mer), pour qu'un fragment de tissu, qu'on y suspend, conserve son volume et son poids.

Voici comment j'opère : Un fragment de muscle, de glande, etc. (de 3 à 6 grammes, par exemple), est suspendu, au moyen d'un crochet et d'un fil de platine fort mince, à la place du flotteur de l'appareil de WESTPHAL. On plonge le fragment de tissu dans le liquide que l'on veut essayer, puis l'on équilibre très exactement le fléau au moyen des cavaliers en métal de

(1) F. BOTTAZZI et P. ENRIQUEZ, *Sulle proprietà osmotiche, etc.* Ricerche... dedicate al. Prof. Luigi Luciani, Milano, 1900, p. 219.

l'appareil. Au besoin, on ajouterait des cavaliers supplémentaires, en métal ou en verre. Si l'équilibre se maintient pendant dix à quinze minutes, le liquide peut être considéré comme *isotonique* par rapport au tissu.

Quand le liquide est *hypotonique*, il cède de l'eau au tissu ; celui-ci gonfle, augmente de volume, mais diminue de densité ; il tend donc à remonter à la surface, par suite de l'augmentation de la poussée hydrostatique, et l'équilibre de la balance est rompu.

Pareillement, quand le liquide est *hypertonique* par rapport au tissu, il enlève de l'eau à ce dernier ; le tissu se ratatine, augmente de densité et tend donc à couler à fond. L'équilibre est de nouveau rompu, mais dans l'autre sens.

Ce procédé est basé sur la différence de densité du liquide essayé et de l'eau absorbée ou perdue par le tissu. Il ne donnera des résultats satisfaisants qu'avec des solides à concentration moléculaire élevée, voisine, par exemple, de celle de l'eau de mer, comme c'est le cas pour un grand nombre d'animaux marins. Ce procédé serait probablement d'une application moins heureuse (à cause des nombreuses causes d'erreur qu'il comporte) chez les animaux d'eau douce, dont tout l'organisme est relativement pauvre en sels et en substances dissoutes. Ajoutons que le procédé suppose que les enveloppes des tissus sont des membranes semi-perméables, permettant un équilibre osmotique, par entrée ou sortie d'eau, mais ne se prêtant pas aux phénomènes de diffusion. Il est probable que cette supposition n'est pas tout à fait exacte, et qu'à la longue, au moins, le transport de l'eau se complique de phénomènes de diffusion. C'est pour cela qu'il est bon de ne faire que des expériences de courte durée, ne dépassant guère quinze minutes.

En appliquant les méthodes dont il vient d'être question, et en les combinant avec la détermination quantitative directe de la teneur en sels des tissus, j'ai été conduit à les ranger en trois catégories : *A, B, C*, analogues aux trois catégories de sang *A, B, C*.

A. — Tissus à concentration moléculaire et à teneur saline voisines de celles du milieu extérieur (eau de mer).

Il faut ranger dans cette catégorie les tissus transparents très aqueux des animaux pélagiques. Ces tissus contiennent extrêmement peu de matériaux solides organiques et sont presque entièrement formés d'eau et des sels de l'eau de mer (1).

Un autre exemple nous est fourni par le manteau d'*Ascidia mamillata* (exemplaires de Pouzzoles près de Naples), qui contient 4 % de sels solubles et se montre dans la balance de WESTPHAL isotonique par rapport à l'eau de mer.

B. — Tissus à concentration moléculaire égale à celle du milieu extérieur (eau de mer), mais contenant beaucoup moins de sels minéraux que le milieu extérieur.

Depuis longtemps, j'ai été frappé de la faible teneur saline des tissus des animaux marins. Ainsi, parmi les animaux achetés à Liège, j'ai trouvé pour les muscles de *Palinurus vulgaris* 1.51 et 1.44 % de sels solubles (22 % de matériaux solides); pour les muscles adducteurs de *Mytilus edulis*, 1 %, puis 1.2 % de sels solubles, avec 26 % de matériaux solides; pour les muscles adducteurs d'*Ostrea edulis*, 1 % de sels solubles, avec 23.66 % de matériaux solides (2).

J'ai fait également à Naples quelques déterminations de sels solubles; en voici les chiffres :

Ovaires de <i>Spherechinus granularis</i> . . .	1.51 %	sels solubles.
Peau avec muscles de <i>Sipunculus nudus</i> . . .	1.29 %	—
Manteau de <i>Tethys leporina</i>	2 %	—
Manteau et muscles de <i>Cytherea chione</i> . . .	1.1 %	—
Manteau musculoux d' <i>Eledone moschata</i> . .	1.46 et 1.49 %	—
Muscles du pied d' <i>Haliotis tuberculata</i> . .	0.6 et 0.6 %	—

(1) Voir VERRON, *Journ. of physiol.*, 1896, XIX, p. 48 et 1899, XXV, p. 132.

(2) D'après RUSSEL et CHITTENDEN (cités dans *Maly's Jahresber. f. Therchemie*, 1873, p. 204), les muscles de *Pecten irradians* fournissent 4.26 et 1.24 % de cendres.

D'après HEMALA (*Maly's Jahresber.*, 1889), les muscles de homard donnent de 1.53 à 1.8 % de cendres.

Tous les organes d'Invertébrés marins examinés, ainsi que les muscles de *Torpedo* et de *Scyllium*, suspendus dans la balance de WESTPHAL, furent trouvés *isotoniques*, soit à l'eau de mer ordinaire (d'une densité de 1,030 pour l'eau du golfe de Naples), soit à l'eau de mer légèrement diluée (densité 1,028 à 1,029), ou plus souvent légèrement concentrée (1,031 à 1,032).

Voici quelques exemples :

TISSUS.	DENSITÉ de l'eau de mer isotonique avec le tissu.
Muscles d' <i>Octopus vulgaris</i>	1,030 à 1,031
Glandes salivaires d' <i>Octopus vulgaris</i>	1,030 à 1,031
<i>Sepia officinalis</i>	1,032
<i>Sipunculus</i>	1,031
Muscles de { <i>Palinurus vulgaris</i>	1,031
<i>Torpedo</i>	1,030
<i>Scyllium</i>	1,030

Le procédé de la détermination de l'abaissement du point de congélation des extraits aqueux fut appliqué aux muscles de *Sipunculus*, à ceux d'*Octopus*, de *Loligo* et de *Palinurus*, et fournit des résultats concordant avec les précédents.

Les extraits aqueux de muscles de *Sipunculus nudus*, redissous dans un volume d'eau représentant 75 % du poids des muscles, fournirent un liquide dont le point de congélation ($\Delta = -2^{\circ},18$) était voisin de celui de l'eau de mer ($-2^{\circ},11$) et du sang de siponcle ($-2^{\circ},13$).

Les extraits aqueux de muscles d'*Octopus vulgaris*, réduits à 80 % du volume des muscles, fournirent un liquide se congelant à $-2^{\circ},2$ valeur voisine de celle de l'eau de mer et du sang de poulpe.

Les extraits aqueux de muscles de *Loligo vulgaris*, réduits à 75 % du volume des muscles, fournirent un liquide se congelant à $-2^{\circ},17$, valeur voisine de celle de l'eau de mer.

Les extraits aqueux de muscles de *Palinurus vulgaris*, réduits à 75 % du volume des muscles, fournirent un liquide se congelant à $-2^{\circ},16$.

Les tissus de la plupart des Invertébrés marins se comportent donc, au point de vue de la concentration moléculaire et de la teneur en sels, non comme le sang de ces animaux, mais comme le sang des poissons plagiostomes. Ici aussi, la faible teneur en sels n'exclut nullement une concentration moléculaire élevée, la différence étant comblée par des substances organiques (notamment la *taurine* chez les muscles des Mollusques céphalopodes). Il serait intéressant de rechercher les substances organiques qui existent en si grande abondance dans les tissus de la plupart des Invertébrés marins.

Chez les poissons plagiostomes, les tissus sont également isotoniques par rapport au sang de ces animaux ou par rapport à l'eau de mer. Ces tissus sont relativement pauvres en sels, mais très riches en urée.

C. — *Organes à concentration moléculaire et à teneur saline très différentes de celles du milieu extérieur.*

Il faut ranger ici les tissus des poissons osseux, tant d'eau de mer que d'eau douce, et ceux des Invertébrés d'eau douce.

Les muscles des poissons osseux marins que j'ai examinés, m'ont fourni, par les deux méthodes employées, des valeurs de concentration moléculaire inférieures à celle de l'eau de mer.

La méthode de la balance de WESTPHAL a fourni les valeurs suivantes de densité de l'eau de mer isotonique par rapport aux muscles des différentes espèces.

TISSUS.		DENSITÉ de l'eau de mer isotonique avec le tissu.
	<i>Scomber scomber</i>	1,027
	<i>Clupea aurita</i>	1,026
	<i>Mugil capito</i>	1,024
	<i>Trachinus draco</i>	1,0205
	<i>Box Boops</i>	1,0205
	<i>Trachurus trachurus</i>	1,020
Muscles de	<i>Sargus vulgaris</i>	1,020
	<i>Sphyræna vulgaris</i>	1,0194 à 1,020
	<i>Conger vulgaris</i>	1,0194
	<i>Smaris vulgaris</i>	1,0195
	<i>Charax puntazzo</i>	1,019
	<i>Scorpaena porcus</i>	1,019
	<i>Sargus annularis</i>	1,018

Ces valeurs ne doivent être utilisées qu'avec précaution : elles sont probablement trop fortes, surtout en ce qui concerne *Scomber scomber* et *Clupea aurita*.

J'ai pu appliquer la seconde méthode à des échantillons de muscles de ces deux espèces, recueillis à Naples et analysés à Liège.

20^{gr},85 de muscles de *Clupea aurita* fournirent 5^{cc},136 de résidu sec et contenaient par conséquent 15^{cc},715 d'eau. Les extraits aqueux réduits à 15^{cc},7 fournirent un liquide se congelant à — 1^o,24.

27^{gr},52 de muscles de *Scomber scomber* fournirent 7^{gr},171 de

résidu sec et 20^{cc},355 d'eau. Les extraits réduits à 20^{cc},4 fournissent un liquide se congelant à - 1^o,18.

Ces valeurs - 1^o,24, - 1^o,18 correspondent au point de congélation d'eau de mer diluée de manière à présenter une densité de 1,016 à 1,017. Elles sont plus élevées que celles fournies par le sang des poissons osseux examinés. Malheureusement, il n'a pas été possible de déterminer la valeur de Δ pour le sang de *Scomber scomber* et de *Clupea aurita* (1).

CONCLUSION.

Comme BUNGE (2), QUINTON (3) et moi-même l'avons montré, le milieu nourricier intérieur des animaux marins se confond primitivement plus ou moins avec l'eau de mer extérieure. A mesure que l'organisme se perfectionne, le milieu intérieur s'isole de plus en plus du milieu extérieur, les surfaces d'échange (branchie, intestin) devenant de moins en moins perméables (stades A, B, C).

Les tissus solides des animaux marins nous montrent une évolution analogue (stades A, B, C); eux aussi s'isolent et s'émancipent graduellement de l'influence du milieu extérieur. Mais chez eux, cet isolement est réalisé beaucoup plus tôt que pour les liquides nourriciers. Les tissus de la plupart des Invertébrés marins en sont déjà au stade B (faible teneur saline), alors que leur sang en est au stade A typique.

(1) Voir d'après ALIÉN (cité par *Maly's Jahresber. f. Tierchemie*, 1877), la proportion centésimale de sels dans les muscles de plusieurs poissons osseux. *Muraena anguilla* 0.92 ‰, *Scomber scomber* 1.70 ‰, *Salmo salar* 1.49 ‰, *Clupea* 1.63 ‰, *Pleuronectes platessa* 1.46 ‰, *Perca fluviatilis* 1.38 ‰, *Gadus callarias* 1.44 ‰, *Esox lucius* 1.13 ‰.

D'après CHITTENDEN (*Maly's Jahresber.*, 1877, p. 310), les muscles d'*Hippoglossus americanus* fournissent 1.38 ‰ de cendres

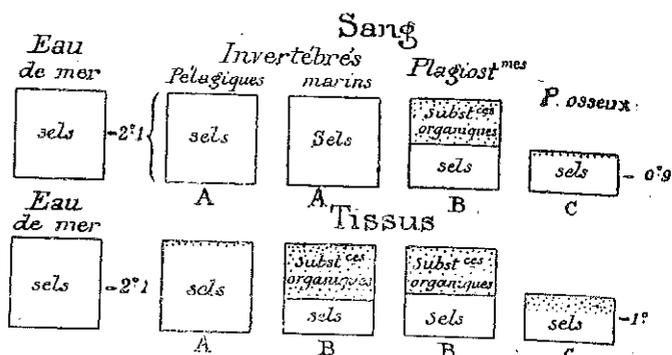
Voir aussi ATWATER, *Ber. d. d. chem. Ges.*, 16, pp. 1837-1846 (*Maly's Jahresber.*, 1883).

(2) *Lehrb. der physiol. u. pathol. Chemie*, Leipzig, 1887, p. 118.

(3) *Comptes rendus de la Soc. de biol.* 11 mars 1899.

On peut représenter graphiquement les relations qui existent entre la concentration moléculaire du sang et des tissus des différents animaux aquatiques et la concentration moléculaire de l'eau dans laquelle ils vivent.

Représentation graphique de la concentration moléculaire et de la teneur saline du sang et des tissus des animaux marins.



Ces recherches ont été exécutées à la *Stazione zoologica* de Naples au printemps de 1901. J'y ai toujours été abondamment pourvu de matériaux frais, grâce à l'obligeance inépuisable de M. le Dr Lo BIANCO. Je lui dois aussi la détermination des espèces utilisées. M. le Dr NATHANSOHN a bien voulu m'initier à la pratique des procédés de dosage et de recherche des nitrates. Enfin, M. le professeur MAYER m'a communiqué plusieurs indications bibliographiques.

Je tiens à leur exprimer ici tous mes remerciements.