

Sensibilité et adaptation des organismes à la concentration des solutions salines,

PAR

JEAN MASSART,

Docteur en sciences naturelles.

INTRODUCTION.

La couche hyaline qui limite le protoplasme vivant des cellules végétales, laisse passer très facilement l'eau pure, mais elle est presque imperméable aux substances dissoutes. Lorsqu'une cellule est placée dans l'eau, les molécules des substances dissoutes dans le suc cellulaire attirent les molécules d'eau, et celles-ci entrent dans la cellule en traversant la couche externe du protoplasme. La pénétration de l'eau détermine un accroissement du volume de la cellule ; mais pour les cellules adultes, pourvues d'une enveloppe résistante, cet accroissement n'est pas indéfini : en effet, la membrane de cellulose, très élastique, mais peu extensible, est bientôt tendue et son élasticité fait équilibre à la pression de dedans en dehors exercée par le suc cellulaire. A ce moment, la pénétration de l'eau cesse, mais aussi la cellule est devenue le siège d'une pression parfois très considérable. Celle-ci est connue sous le nom de *turgescence*.

Si cette cellule turgescente est transportée dans une solution saline, les molécules d'eau du suc cellulaire sont soumises à deux attractions opposées : d'une part, celle qui est exercée par les molécules des matières dissoutes dans le suc cellulaire ; d'autre part, celle qui est déterminée par les molécules salines de l'extérieur. Si la solution qui baigne la cellule est suffisamment concentrée, les molécules d'eau obéissent à l'attraction

venant du dehors et traversent la couche membraneuse du protoplasma. A mesure que l'eau quitte la cellule, le volume de celle-ci diminue et la membrane de cellulose se relâche. Il arrive un moment où le protoplasme ne remplit plus entièrement l'espace délimité par la membrane et l'on voit, en un ou plusieurs points, la masse protoplasmique se détacher de l'enveloppe. Ce phénomène a reçu le nom de *plasmolyse*. Comme le protoplasme est sensiblement imperméable pour les substances dissoutes, l'eau seule abandonne la cellule et le suc cellulaire se concentre; ainsi s'établit l'équilibre entre la force attractive du suc cellulaire et celle de la solution saline externe. Dès cet instant, l'élimination de l'eau cesse.

Il n'a pas été possible de mesurer directement la pression exercée sur leur membrane par des cellules turgescentes. Mais M. Pfeffer (1) a montré que des solutions salines faibles, telles qu'on en trouve souvent dans les cellules, peuvent déterminer une pression de plusieurs atmosphères. D'après M. H. de Vries, la pression des cellules du pédoncule floral du *Plantago amplexicaulis* équivaut à 6 1/2 atmosphères (2). Dans les cellules des jeunes baies du *Sorbus Aucuparia*, elle est de 9 atmosphères (3), et dans les cellules de la moelle de *Helianthus*, elle est d'au moins 13 1/2 atmosphères (4). Ainsi que je le montrerai dans la suite, la tension atteint parfois 15 atmosphères chez les Infusoires. Je me hâte d'ajouter que ceux-ci n'y résistent pas.

En se fondant sur des considérations trop longues à exposer, M. de Vries (3) admet que la pression qui règne dans une cellule plasmolysée par une solution de nitrate de potassium à 1 %, est au moins de 3 atmosphères. Ce chiffre concorde assez bien avec celui qui fut trouvé par M. Pfeffer (1) par des méthodes purement physiques.

M. de Vries (3) a étudié pourquoi des solutions salines contenant un même poids de sel exercent une action différente sur une même cellule. Ainsi une cellule qui est plasmolysée par une solution de chlorure de sodium à 1 % ne l'est ni par l'iodure de potassium, ni par le phosphate de potassium, ni par

le sulfate de magnésium à des concentrations identiques. On observe des différences d'action tout aussi marquées lorsque, au lieu de solutions contenant une même quantité absolue de sels, on emploie des solutions ayant une même densité à l'aréomètre. Les recherches très nombreuses et très ingénieuses de M. de Vries lui ont permis de conclure que le pouvoir plasmolysant d'un corps est en rapport avec la grosseur et avec la structure de sa molécule. Lorsque les sels employés ont une constitution moléculaire analogue, il faut un même nombre de molécules pour produire le plasmolyse : il faut donc que les solutions renferment des quantités de sel proportionnelles aux poids moléculaires. Ainsi une solution de 0,746 gr. % de chlorure de potassium est *isotonique* ⁽¹⁾ avec une solution de 1,661 gr. % d'iodure de potassium, puisque le poids moléculaire de Cl K est 74.6 et celui de IK, 166.1.

Cet exemple montre que l'attraction des sels pour l'eau et partant, leur pouvoir plasmolysant, dépend de la grosseur de leur molécule. Mais elle est aussi en rapport avec la structure moléculaire. Ainsi le sulfate de magnésium (poids moléculaire = 120) a une action bien plus faible que le bromure de potassium (poids moléculaire = 119.1). Le pouvoir plasmolysant du citrate de lithium (poids moléculaire = 152) dépasse également celui du sulfo-sulfate de sodium (poids moléculaire = 158). Le sulfate d'ammonium a une action double de celle de l'asparagine, quoique les deux corps aient le même poids moléculaire (132). Ces variations dans l'attraction pour l'eau tiennent aux différences de constitution chimique :

L'asparagine est un corps organique non salin ;

Le sulfate de magnésium est formé par un équivalent de métal alcalino-terreux et un équivalent d'acide ;

Le bromure de potassium, par un équivalent de métal alcalin et un équivalent d'acide ;

(1) M. de Vries appelle solutions *isotoniques*, celles qui exercent une même pression osmotique sur la membrane de la cellule qui les renferme, ou bien, ce qui revient au même, celles qui possèdent un même pouvoir plasmolysant.

Le sulfate d'ammonium, par deux équivalents de métal et un équivalent d'acide;

Le citrate de lithium, par trois équivalents de métal et un équivalent d'acide.

En laissant de côté le poids moléculaire, on peut exprimer par un nombre simple, la valeur de l'attraction exercée sur l'eau par les corps appartenant à ces différents groupes. C'est à ce nombre que l'auteur a donné le nom de *coefficient isotonique* (1). Comme unité de coefficient isotonique, il a choisi le tiers de la valeur de l'attraction qu'exerce sur l'eau, une molécule de nitrate de potassium. Les coefficients déterminés par M. de Vries (3) sont :

Composés organiques ne renfermant pas de métal. (Ex. : sucres, asparagine) 2.

Sels des métaux alcalins,

avec *un* atome de métal par molécule. (Ex. : ClK, Az O⁵ K) 3.

avec *deux* atomes de métal par molécule. (Ex. : SO⁴ Am², PhO⁴ Na² H) 4.

avec *trois* atomes de métal par molécule. (Ex. : C⁶ O⁷ H³ Li³) 5.

Sels des métaux alcalino-terreux et des métaux du groupe du magnésium,

avec *un* équivalent d'acide par molécule. (Ex. : So⁴ Mg) 2.

avec *deux* équivalents d'acide par molécule. (Ex. : (Az O³)² Ca) 4.

En se basant sur les coefficients isotoniques, il est facile de calculer les solutions isotoniques pour des sels quelconques. Ainsi, je suppose que l'on désire avec la saccharose, le sulfate de potassium, le citrate de lithium, le sulfate de magnésium et le chlorure de calcium, obtenir des solutions dont la concentration soit isotonique avec celle de 0,746 gr. % de chlorure de potassium (0,746 étant le centième du poids moléculaire de K Cl exprimé en grammes (2); il faudra prendre $\frac{3}{2 \times 100}$ Pm

(1) Je n'ai pas à m'occuper ici des travaux récents des physiciens et particulièrement de M. van 't Hoff et de M. Arrhenius sur la constitution intime des solutions. (Voir *Zeitschrift für physikalische Chemie*. Bd. 1 à 4.)

(2) Dans la suite de ce travail, nous désignerons toujours par Pm, le poids moléculaire exprimé en grammes

de sucre ($Pm = 342$), ou 5,13 gr., $\frac{3}{4 \times 100} Pm$ de sulfate de potassium ($Pm = 174,2$), ou 1,306 gr., $\frac{3}{5 \times 100} Pm$ de citrate de lithium ($Pm = 152$) ou 0,912 gr., $\frac{3}{2 \times 100} Pm$ de sulfate de magnésium ($Pm = 120$), ou 1,80 gr., enfin $\frac{3}{4 \times 100} Pm$ de chlorure de calcium ($Pm = 111$) ou 0,833 gr. Il résulte de ces chiffres que des solutions contenant 0,746 gr. % de ClK , 0,833 gr. % de $Ca Cl^2$, 0,912 gr. % de $C^6 O^7 H^5 Li^3$, 1,306 gr. % de $So^4 K^2$, 1,800 gr. % de $So^4 Mg$, enfin 5,13 gr. % de $C^{12} H^{22} O^{11}$, exercent la même action plasmolytante.

Les lois des coefficients isotoniques permettent aussi d'expliquer les faits observés par M. F. Plateau (5), par Paul Bert (6 et 7) et par M. H. de Varigny (8). Ces savants ont constaté que des animaux d'eau douce meurent lorsqu'ils sont placés dans l'eau de mer. Dans le but d'étudier la part qui revient à chacun des sels que renferme ce liquide, M. Plateau (5) plongea les animaux dans des solutions contenant un même poids des sels suivants : chlorure de sodium, chlorure de magnésium et sulfate de magnésium ; la solution de chlorure de sodium est plus nuisible que celle de chlorure de magnésium et cette dernière l'est plus que la solution de sulfate de magnésium. Ainsi que l'ont montré M. Emery (9) et M. Plateau (5) lui-même, les individus en expérience absorbent par la peau une certaine quantité de sel, mais rien ne prouve que ces sels pénètrent *dans* les cellules et puissent leur nuire par leur présence. Il est bien plus probable que la mort est plutôt due à une perte d'eau, perte déterminée par l'attraction qu'exercent les molécules des sels dissous. Paul Bert (7) a montré qu'en plongeant une grenouille dans l'eau de mer, elle meurt après avoir perdu un tiers ou un quart de son poids. Dès lors, les résultats obtenus par M. Plateau (5) et vérifiés par Paul Bert (6) et par M. de Varigny (8) se comprennent aisément. Les solutions employées par M. Plateau (5) contenaient respecti-

vement 3,046 gr. % de Cl Na, 3,046 gr. % de Cl² Mg et 3,046 gr. % de So⁴ Mg. Or des solutions de Cl² Mg (Pm = 94, coefficient isotonique = 4) et de So⁴ Mg (Pm = 120, coefficient isotonique = 2), isotoniques avec une solution de Cl Na à 3,046 gr. %, contiennent 3,636 gr. % de Cl² Mg et 9,369 gr. % de So⁴ Mg. Rien d'étonnant à ce que, à poids égal, le chlorure de magnésium ait une action un peu plus lente que le chlorure de sodium et le sulfate de magnésium une action beaucoup plus lente.

Lorsque des animaux marins sont plongés dans l'eau douce, on observe des phénomènes analogues, mais en sens inverse. La plupart des espèces meurent au bout d'un certain temps. La solution de Cl Na leur est moins funeste que celle de Cl² Mg au même poids, et surtout que celle de So⁴ Mg. Il est regrettable que les naturalistes qui se sont occupés de cette question n'aient pas recherché si le poids des animaux marins ainsi traités, augmente. Si la mort est due à l'absorption exagérée d'eau plutôt qu'à la perte de substances salines, il doit en être ainsi.

M. Hambürger a vérifié les coefficients isotoniques par des expériences faites sur le sang d'un grand nombre de Vertébrés. Il a recherché à quelle concentration le sang reste inaltéré et à quelle autre les globules perdent leur hémoglobine (10). Dans un second mémoire (11) il a décrit ses études sur la plasmolyse des globules sanguins : ces éléments se ratatinent sous l'influence de solutions salines à concentration plus forte que celle du sang. Paul Bert (6) avait montré que lorsqu'on plonge dans l'eau de mer des animaux d'eau douce à respiration branchiale, il se forme des embolies dans les vaisseaux branchiaux. Ces embolies sont constituées par des globules rouges déformés. Les sels de l'eau de mer enlèvent l'eau au sang à travers la mince membrane branchiale, et le sang devenu plus concentré fait se ratatiner les hématies.

Dans l'étude de la sensibilité et de l'accoutumance aux solutions concentrées, j'ai employé les corps ci-dessous. Pour faciliter la comparaison de ces substances, je donne leur poids moléculaire. Je n'ai pas tenu compte ici de l'eau de cristalli-

<i>Coëfficient isotonique = 2.</i>		
* Urée.	$\text{Co (Az H}^2)^2$.	60.
* Glycérine.	$\text{C}^3 \text{H}^5 (\text{O H})^3$.	92.
Asparagine.	$\text{C}^4 \text{H}^4 \text{O}^3 (\text{Az H}^2)^2$.	132.
* Dextrose.	$\text{C}^6 \text{H}^{12} \text{O}^6$.	180.
* Saccharose.	$\text{C}^{12} \text{H}^{22} \text{O}^{11}$.	342.
Lactose.	$\text{C}^{12} \text{H}^{22} \text{O}^{11}$.	342.
— Sulfate de magnésium.	$\text{S O}^4 \text{Mg}$.	120.
<i>Coëfficient isotonique = 3.</i>		
Chlorure d'ammonium.	Cl Az H^4 .	53,5.
Chlorure de sodium.	Cl Na .	58,5.
Cyanure de potassium.	C Az K .	65,1.
Chlorure de potassium.	Cl K .	74,6.
Azotate d'ammonium.	$\text{Az O}^3 \text{Az H}^4$.	80.
Azotate de sodium.	$\text{Az O}^3 \text{Na}$.	85.
Azotate de potassium.	$\text{Az O}^3 \text{K}$.	101,1.
Bromure de potassium.	Br K .	119,1.
Chlorate de potassium.	$\text{Cl O}^3 \text{K}$.	122,6.
Iodure de potassium.	I K .	166,1.
<i>Coëfficient isotonique = 4.</i>		
Carbonate de sodium.	$\text{Co}^3 \text{Na}^2$.	83.
Sulfite de sodium.	$\text{So}^3 \text{Na}^2$.	126.
Sulfate d'ammonium.	$\text{So}^4 (\text{Az H}^4)^2$.	132.
Phosphate d'ammonium.	$\text{Ph O}^4 \text{H} (\text{Az H}^4)^2$.	132.
Carbonate de potassium.	$\text{Co}^3 \text{K}^2$.	138,2.
Sulfate de sodium.	$\text{So}^4 \text{Na}^2$.	142.
Phosphate de sodium.	$\text{Ph O}^4 \text{H Na}^2$.	142.
Sulfosulfate de sodium.	$\text{S}^2 \text{O}^3 \text{Na}^2$.	158.
Oxalate de potassium.	$\text{C}^2 \text{O}^4 \text{K}^2$.	166,2.
Sulfate de potassium.	$\text{So}^4 \text{K}^2$.	174,2.
Phosphate de potassium.	$\text{Ph O}^4 \text{H K}^2$.	174,2.
Tartrate de potassium.	$\text{C}^4 \text{O}^6 \text{H}^4 \text{K}^2$.	226,2.
— Azotate de calcium.	$(\text{Az O}^3)^2 \text{Ca}$.	164.
<i>Coëfficient isotonique = 5.</i>		
Citrate de lithium.	$\text{C}^6 \text{O}^7 \text{H}^5 \text{Li}^3$.	152.

(*) Pour les quatre substances, le coëfficient isotonique réel est un peu inférieur à 2.

sation, mais il est évident que l'excédent de poids, provenant de l'eau de cristallisation, n'est jamais une quantité négligeable; les proportions que j'indique se rapportent toujours aux sels anhydres.

SENSIBILITÉ A LA CONCENTRATION.

M. Pfeffer (12 et 13) est, à ma connaissance, le seul auteur qui se soit occupé de la sensibilité des cellules vivantes aux solutions concentrées. Il a fait porter ses recherches sur des spermatozoïdes de Cryptogames et sur des êtres inférieurs: Bactéries et Flagellates. Il a constaté que ces cellules fuient les solutions salines concentrées. Néanmoins, il n'admet pas que celles-ci agissent par leur concentration; d'après lui, la répulsion dépend de la qualité spécifique du composé chimique. Il se fonde sur plusieurs observations dont j'aurai l'occasion de parler plus loin.

Mes expériences ont été faites sur diverses Bactéries, sur divers Infusoires Flagellés, sur les Hydres, sur la grenouille verte, enfin sur l'homme.

La Bactéries et les Flagellates se comportent de trois façons différentes vis-à-vis d'une solution concentrée :

α) Ils fuient la solution (*Spirillum Undula*, *Bacillus Megatherium*, *Chilomonas Paramœcium* et *Bodo saltans*).

β) Ils entrent dans la solution et sont immédiatement plas-molysés (*Polytoma Uvella*).

γ) Ils entrent mais s'adaptent tout de suite à la concentration; ils restent donc mobiles (*Bacterium Termo* et *Tetramitus rostratus*).

A. — Bactéries.

La méthode que j'ai employée est à peu près celle de M. Pfeffer. Une goutte du liquide contenant les Bactéries est suspendue à un couvre-objet dans une chambre humide formée par un cadre de carton. Dans la goutte, on introduit des tubes capillaires en verre, contenant la solution dont on veut étudier l'action. Dans mes expériences, cette solution renferme, outre le sel à essayer, une quantité bien déterminée d'un corps qui attire

vivement les Bactéries. Je me suis toujours servi, dans ce but, de carbonate de potassium à 0,00691 gr. $\%$ (5/100,000 Pm $\%$). Lorsqu'un tube capillaire rempli de cette solution très diluée de carbonate de potassium est placé dans une goutte de purin contenant des spirilles, ceux-ci sont attirés et entrent en grand nombre dans le tube. Au bout de 20 à 30 minutes, il en est littéralement encombré. Mais lorsque, à la solution de $\text{CO}^3 \text{K}^2$ on ajoute des quantités croissantes d'un corps neutre, tel que le chlorure de sodium, on constate que les organismes ne pénètrent que dans les solutions les plus faibles, tandis que les solutions concentrées les repoussent. Il existe entre ces deux extrêmes, une concentration qui permet aux Bactéries de s'accumuler près de l'entrée du tube.

Dans les expériences de M. Pfeffer (13) les tubes ne contenaient qu'un seul corps en solution, de sorte que l'attraction et la répulsion étaient déterminées par cette seule substance à des concentrations différentes. Mais pour que les sels minéraux neutres, alcalins et alcalino-terreux, attirent les Bactéries, il faut que la goutte où nagent les individus en expérience soit exempte de la moindre trace de ces sels; aussi M. Pfeffer (13) plaçait-il ses organismes dans l'eau pure; mais dans ces conditions anormales, la sensibilité des Bactéries est très émoussée, comme M. Pfeffer l'a reconnu lui-même. Il y a là une cause d'erreur que j'ai évitée en laissant les êtres dans leur liquide de culture. Dans ces conditions, les sels minéraux neutres ne les attirent pas, et le sel que j'ajoutais à la solution de carbonate de potassium intervenait uniquement comme agent de répulsion. L'attraction absolue, c'est-à-dire celle qui est déterminée par le $\text{CO}^3 \text{K}^2$, restant la même, les différences observées dans la façon de réagir des Bactéries sont dues exclusivement à la concentration de la solution saline. Nous assistons au conflit entre l'attraction provenant du $\text{CO}^3 \text{K}^2$ et la répulsion provenant des sels. Suivant que la répulsion est faible ou forte, les Bactéries entrent ou n'entrent pas.

Je me suis servi dans mes expériences des espèces suivantes : *Spirillum Undula*, *Bacillus Megatherium* et *Bacterium Termo*.

Les deux premières sont seules sensibles à la concentration. Quant à la dernière, elle entre et vit parfaitement dans des solutions très concentrées (azotate de potassium à 20 %, saccharose à 30 %, etc.) ; aussi ne m'en suis-je plus occupé. Je crois inutile d'ajouter que je n'attache pas grande importance aux termes par lesquels je désigne les espèces.

Dans les tableaux I, II et III sont consignés les résultats que j'ai obtenus avec les *Sp. Undula* et *B. Megatherium*. Les deux formes vivaient en mélange dans du purin. Dans chaque goutte j'introduisais trois tubes capillaires contenant une même solution. Pour chacune des substances essayées, je faisais 10 solutions de concentrations croissantes ; la plus faible contenait 1/1000 Pm %, la plus forte, 10/1000 Pm % ; ainsi que je l'ai dit, les solutions contenaient en outre 5/100000 Pm de Co^3K^2 . Relativement à la quantité de sel contenue dans les solutions, cette faible dose de Co^3K^2 ne pouvait pas influencer d'une façon sensible sur leurs propriétés plasmolysantes.

Dans ces trois tableaux, Sp. U. = *Spirillum Undula*, B. M = *Bacillus Megatherium*. A indique que les Bactéries ont pénétré dans toute la longueur du tube, c'est-à-dire que la répulsion est nulle ; a, qu'elles ne se sont accumulées que près de l'entrée, là où la solution est diluée par suite de la diffusion, c'est-à-dire que la répulsion est faible ; o, que rien n'est entré : l'attraction du Co^3K^2 est entièrement détruite par la concentration saline. Les chiffres 1 à 10 indiquent la dose du sel en millièmes du poids moléculaire exprimé en grammes, la quantité d'eau étant 100 grammes.

De ce tableau, il résulte que, sauf de légères divergences, les *Spirillum Undula* et les *Bacillus Megatherium* sont entrés dans les solutions dont la concentration était égale ou inférieure à 4/1000 Pm % ; que la répulsion était manifeste lorsque la concentration atteignait 5/1000 et 6/1000 Pm % ; qu'elle était devenue prépondérante à 7/1000 Pm % et au delà.

La solution la plus forte qui n'exerce aucune répulsion sensible est presque partout de 4/1000 Pm % : pour produire une action égale, il faut donc un même nombre de molécules. Si,

TABLEAU I.

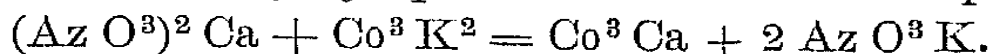
Coëfficient isotonique = 3		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Chlorure d'ammonium	Sp. U.	A	A	A	a	a	o	o	o	o	o
	B. M.	A	A	A	A	a	o	o	o	o	o
Chlorure de sodium	Sp. U.	A	A	A	A	a	a	o	o	o	o
	B. M.	A	A	A	A	a	a	o	o	o	o
Cyanure de potassium	Sp. U.	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
	B. M.	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Chlorure de potassium	Sp. U.	A	A	A	A	a	a	o	o	o	o
	B. M.	A	A	A	A	a	a	o	o	o	o
Azotate d'ammonium	Sp. U.	A	A	A	A	a	a	o	o	o	o
	B. M.	A	A	A	a	a	a	o	o	o	o
Azotate de sodium	Sp. U.	A	A	A	A	a	a	a	o	o	o
	B. M.	A	A	A	A	a	a	o	o	o	o
Azotate de potassium	Sp. U.	A	A	A	A	a	a	o	o	o	o
	B. M.	A	A	A	a	a	o	o	o	o	o
Bromure de potassium	Sp. U.	A	A	A	A	a	o	o	o	o	o
	B. M.	A	A	A	A	a	a	o	o	o	o
Chlorate de potassium	Sp. U.	A	A	A	A	a	o	o	o	o	o
	B. M.	A	A	A	A	a	o	o	o	o	o
Iodure de potassium	Sp. U.	A	A	A	A	a	a	o	o	o	o
	B. M.	A	A	A	A	a	o	o	o	o	o

au lieu de préparer les solutions en tenant compte des poids moléculaires, on faisait des solutions contenant des poids absolus égaux des sels, on constaterait que la répulsion est inversement proportionnelle au poids moléculaire. Il en résulte que le chlorure d'ammonium à 0,3 gr. % exerce une répulsion plus que triple de l'iodure de potassium à 0,3 gr. %, puisque le poids moléculaire de Cl am est 53,5 et celui de IK, 166,1.

Le cyanure de potassium repousse les Bactéries dans toutes

Dans la grande majorité des cas, la forte attraction cesse à 3/1000 Pm ‰; la répulsion se fait sentir dès que la concentration atteint 4/1000 Pm ‰.

Plusieurs corps ont donné des résultats divergents. L'oxalate de potassium repousse même à 1/1000 Pm ‰. Ses propriétés chimiques y jouent évidemment un rôle. L'azotate de calcium agit très faiblement; il y a probablement double décomposition :



Tout le carbonate de potassium étant détruit, il n'y a pas de raison pour que les Bactéries entrent dans le tube capillaire, à moins qu'ils n'y soient attirés par le carbonate de calcium, ce qui ne paraît pas être le cas.

Le carbonate de sodium a une action répulsive énergique à cause de sa réaction franchement alcaline : les effets de l'alcalinité et de la concentration s'additionnant. Il est à remarquer que lorsqu'on présente aux Bactéries une solution de carbonate de sodium pur, sans carbonate de potassium, on ne constate jamais d'attraction, contrairement à ce qui a lieu pour le carbonate de potassium pur.

Le carbonate de potassium en solution assez concentrée repousse également, mais d'une façon moins manifeste, puisqu'il attire d'une part, en vertu de ses propriétés chimiques, et repousse de l'autre, en vertu de son alcalinité et de sa concentration, de sorte que les Bactéries ne le fuient que lorsqu'il est suffisamment concentré.

Pour les autres corps figurant à ce tableau, nous pouvons tirer des conclusions analogues à celles du tableau I : pour produire une même répulsion, il faut un même nombre de molécules; la répulsion est inversement proportionnelle au poids moléculaire.

Les résultats obtenus avec les corps qui figurent au tableau III sont des plus discordants. Par l'urée et la lactose, la forte attraction se fait sentir jusqu'au 6 ou 7. Pour la glycérine, elle existe à toutes les concentrations. M. Pfeffer (13) avait observé également que les organismes inférieurs entrent dans des solutions concentrées de glycérine. C'est surtout sur ce fait qu'il se

base pour rejeter l'action répulsive de la concentration. Quant à l'asparagine, elle ne repousse pas les *Spirillum Undula*, tandis que les *Bacillus Megatherium* ne se portent en masse que dans des solutions contenant au maximum 6 millièmes du poids moléculaire exprimé en grammes. La dextrose et la saccharose ne repoussent que très faiblement l'une et l'autre des Bactéries essayées.

TABLEAU III.

Coëfficient isotonique = 2.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Urée	Sp. U.	A	A	A	A	A	A	A	a	a	a
	B. M.	A	A	A	A	A	A	a	a	a	o
Glycérine	Sp. U.	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	B. M.	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Asparagine	Sp. U.	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	B. M.	A	A	A	A	A	A	a	a	o	o
Dextrose	Sp. U.	A	A	A	A	A	A	A	A	a	a
	B. M.	A	A	A	A	A	A	A	A	a	a
Saccharose	Sp. U.	A	A	A	A	A	A	A	A	a	a
	B. M.	A	A	A	A	A	A	A	A	a	a
Lactose	Sp. U.	A	A	A	A	A	A	a	a	a	a
	B. M.	A	A	A	A	A	A	a	a	a	a
Sulfate de magnésium	Sp. U.	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
	B. M.	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o

M. de Vries (14) a démontré que le coëfficient isotonique réel de la glycérine est plus faible que celui que l'on trouve théoriquement. Une petite quantité de ce corps pénètre à l'intérieur de la cellule ; l'attraction du suc cellulaire pour l'eau augmente, et pour plasmolyser la cellule, il faut employer la glycérine à une concentration plus élevée que ne l'indique le calcul. Il est probable que chez les Bactéries cette substance passe également dans la cellule : l'individu dont la turgescence est ainsi augmentée ressent moins les effets de la concentration.

Il en est probablement de même, mais à un moindre degré, de l'asparagine pour les Spirilles, de la dextrose et de la saccharose pour les deux Bactéries. Pour ces deux derniers cas, M. de Vries (3) a également trouvé un coefficient isotonique trop faible : 1,81 et 1,88 au lieu de 2.

Les tubes contenant le sulfate de magnésium n'ont jamais montré la moindre attraction. Il est probable qu'il s'agit ici d'une double décomposition comme pour le nitrate de calcium :



Si nous jetons un coup d'œil d'ensemble sur les trois tableaux qui précèdent, nous constatons que le *Spirillum Undula* et le *Bacillus Megatherium* ont à peu près la même sensibilité à la concentration. La seule différence bien manifeste consiste dans leur inégale sensibilité à l'asparagine. Le Spirille ne paraît pas influencé tandis que le Bacille est repoussé dès que la concentration dépasse 6/1000 Pm ‰.

La quantité de sel nécessaire pour empêcher l'attraction du carbonate de potassium de se produire, est parfois bien faible. Ainsi il suffit de 0,214 gr. ‰ de chlorure d'ammonium pour mettre en fuite les Bactéries. (Tableau I.)

Pour obtenir un même effet, il faut que la solution contienne un même nombre de molécules salines.

Dans les tableaux I et II (sels minéraux et organiques), les résultats fournis par les corps de chaque groupe sont assez concordants. Dans le tableau III, l'urée et la lactose pour les deux Bactéries et l'asparagine pour le *Bacillus Megatherium* ont donné des chiffres qui se rapportent à 6/1000 de Pm ‰. Ce sont probablement les seuls corps de ce tableau qui ne pénètrent pas dans la cellule. Il est vraiment remarquable que l'urée ne paraisse pas traverser les Bactéries étudiées. En effet, M. de Vries (15) a constaté que le protoplasma de certaines plantes est perméable pour cette substance. Si nous laissons de côté les autres substances qui figurent à ce tableau, nous trouvons donc que pour les corps à coefficient isotonique égal à 2, l'attraction cesse à 6/1000 Pm ‰; pour les substances à coefficient isotonique égal à 3, elle cesse à 4/1000 Pm ‰; pour celles à coefficient

isotonique égal à 4, elle cesse à 3/1000. Si l'on veut bien se reporter aux explications que nous avons données dans l'introduction, pour les solutions isotoniques, on s'apercevra que les solutions qui repoussent les Bactéries ont la même attraction pour l'eau, c'est-à-dire qu'elles sont isotoniques. Nous pouvons donc affirmer que *la répulsion exercée par les corps dissous est proportionnelle à leur coefficient isotonique et inversement proportionnelle à leur poids moléculaire.*

En présence de ce fait, il est logique d'admettre que la sensibilité à la concentration est mise en jeu par les modifications que subit le protoplasma par suite de l'élimination de l'eau. L'organisme s'aperçoit de la perte d'eau et il tend à quitter les régions où il est exposé à cette cause de destruction. Il est à remarquer qu'il fuit des solutions bien plus faibles que celles où il subirait le ratatinement. En effet, les *Spirillum Undula* ne sont pas encore déformés par une solution à 20/1000 Pm % de ClNa, tandis qu'ils sont repoussés par une solution à 5/1000 Pm % du même sel.

Il existe des corps, tels que le cyanure de potassium et l'oxalate de potassium, qui possèdent un pouvoir répulsif considérable, même à très faible dose. C'est un fait analogue à la répulsion constatée par M. Pfeffer (13) pour l'alcool. Ceci est un argument invoqué par cet auteur pour prouver que la répulsion n'est jamais due qu'aux propriétés chimiques des corps. Il est évident que le cyanure de potassium, l'oxalate de potassium et l'alcool agissent en vertu de leur influence délétère sur les êtres vivants, mais il reste vrai que les corps neutres ne repoussent que lorsqu'ils sont assez concentrés pour exercer une action osmotique déterminée. Si nous réservons le nom de *chimiotactisme négatif* à la répulsion exercée par les premiers corps, nous pouvons appeler *tonotactisme négatif* la répulsion déterminée par les corps dissous, en vertu de la concentration.

B. — *Infusoires Flagellés* (1).

Les expériences sur les Flagellates ont été faites de la même

(1) Voyez l'appendice à la fin de ce travail.

manière que celles sur les Bactéries. Dans le purin contenant les Bactéries des recherches précédentes, se trouvaient un grand nombre de *Polytoma Uvella*. Ceux-ci entrèrent dans tous les tubes, même dans les solutions à 10/1000 Pm ‰. Cette espèce pénètre dans des liquides bien plus concentrés encore : ainsi ils se portent en masse dans des tubes capillaires contenant des solutions de saccharose à 20 ‰, de glycérine à 10 ‰, d'extrait de viande (Cibils) à 10 ‰, d'acétate de potassium à 10 ‰, de phospholactate de calcium à 10 ‰, etc. ; mais à peine entrés, ils subissent la plasmolyse, leurs mouvements cessent et ils tombent dans les portions déclives du tube. Ils entrent aussi dans des solutions de carbonate de potassium et de carbonate d'ammonium à 10 ‰ ; ils gonflent et meurent aussitôt qu'ils arrivent en contact avec ces solutions ; ils s'accumulent en si grand nombre dans le capillaire que l'orifice en est bientôt obstrué ; la diffusion du liquide continuant, de nouveaux individus arrivent constamment et pénètrent dans le tube en repoussant devant eux l'obstacle formé par les cadavres. Lorsqu'un tube capillaire contenant cette solution est plongé dans une goutte où nagent des *Polytoma*, ceux-ci sont tous pris au piège au bout de quelques minutes.

Le *Bodo saltans* a été étudié par M. Pfeffer (13). J'ai fait quelques expériences avec le *Chilomonas Paramœcium*. Ces deux Flagellates, mais surtout le dernier, sont très sensibles à la concentration. Les *Chilomonas* sont fortement attirés par une solution d'asparagine à 1/1000 Pm ‰ ; la solution à 2/1000 Pm ‰ les repousse déjà ; aucun individu n'entre dans une solution à 5/1000 Pm ‰.

Quant au *Tetramitus rostratus*, mes expériences ne sont pas assez nombreuses pour que je puisse en tirer des conclusions formelles. Je me contenterai de faire remarquer qu'il entre et vit sans en paraître incommodé dans des solutions contenant, outre 5/100000 Pm ‰ de CO^3K^2 , 50/1000 Pm ‰ de nitrate de potassium.

Le groupe de Flagellates nous présente donc un organisme qui pénètre dans les solutions concentrées sans subir aucune influence nuisible (*Tetramitus*), un autre qui y entre mais y est

plasmolysé (*Polytoma*), d'autres enfin qui sont sensibles à la concentration (*Bodo* et *Chilomonas*). Ce dernier est même plus sensible que les Bactéries.

C. — *Hydres*.

Les expériences sur ces animaux sont très difficiles à exécuter. Lorsqu'on approche de l'extrémité d'un des bras d'une Hydre bien étalée, la pointe effilée d'une pipette contenant une solution saline concentrée, on constate que l'animal retire le bras aussitôt qu'on laisse couler sur lui un mince filet de liquide concentré. Quand la solution est faible, le bras reprend, au bout de peu de secondes, sa longueur primitive; mais lorsque la concentration est plus élevée, les deux bras voisins du bras excité se rétractent à leur tour, puis encore les deux voisins et ainsi de suite jusqu'à ce que tous les bras soient contractés; puis, d'un mouvement brusque, le corps lui-même se raccourcit et l'individu tout entier prend la forme ovoïdale. On constate très bien ici l'irradiation des réflexes: il suffit d'agir sur l'extrémité libre d'un des bras pour que l'excitation se propage de proche en proche à tous les bras, puis au corps de l'animal. L'expérience réussit d'une manière particulièrement favorable avec les grands individus d'Hydre brune. Il faut avoir soin de ne pas toucher directement le bras et de provoquer le moins possible de courants dans le liquide.

Par suite des nombreuses causes d'erreur provenant de la rapide diffusion de la solution, il n'a pas été possible de vérifier les lois des coefficients isotoniques.

D. — *Grenouille* (1).

Pour étudier la sensibilité à la concentration chez les grenouilles, il est indispensable d'annihiler la motilité volontaire: il suffit d'employer des individus dont le cerveau a été récemment détruit ou dont la tête a été enlevée au niveau de la première vertèbre cervicale. La patte plongée dans une solution

(1) Les recherches sur les grenouilles ont été faites au laboratoire de physiologie humaine, à l'Université de Bruxelles.

concentrée en est retirée instantanément par voie réflexe, par l'animal; dans le cas où la solution est plus faible, la rétraction totale du membre est précédée de petits mouvements de rétraction partielle et de frémissements peu marqués. Dans une solution plus faible encore, aucune manifestation ne se produit.

J'avais l'intention de rechercher si les lois des coefficients isotoniques sont applicables à ce mode de sensibilité de la grenouille. Mais je n'ai pas pu déduire de mes expériences, des conclusions suffisamment nettes. Il y a pour cela plusieurs raisons: la sensibilité à la concentration varie considérablement suivant les individus; lorsqu'une même grenouille est soumise à beaucoup d'expériences successives, elle éprouve des modifications dans sa sensibilité: celle-ci est tantôt augmentée, tantôt diminuée. C'est ce que montrent clairement les tableaux IV, V et VI. Les résultats de chaque tableau ont été fournis par une grenouille différente. Les chiffres 1 à 10 qui surmontent les tableaux indiquent la teneur en centièmes du poids moléculaire exprimé en grammes. Dans les tableaux, les chiffres en petits caractères désignent le nombre de centièmes de minute après lesquels se produisaient des frémissements ou des rétractions partielles et les chiffres en gros caractères indiquent le temps écoulé entre l'immersion du membre dans l'eau et sa rétraction totale.

TABLEAU IV.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Chlorure de sodium.	rien	rien	50 40 60	50 42 51	18 21	11	6	6	8	8
Chlorure d'ammonium.	rien	rien	18 24 à 36 47 60 87	17 50 55	50 35 40 55	50 54	40	9	5	5
Sulfate de sodium.	13	10	5	22 36	5	8	7	3	5	9

TABLEAU V.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sulfate de sodium.	rien	rien	rien	rien	rien	92	12 90	9 8)	8 80	10 70
Chlorure d'ammonium.		26 33 57 à 60 68 80	21 33 49 60 70	17 34 44 50	11 17 20	16 30	12 22	12	10	9
Chlorure de sodium.	rien	rien	rien	rien	21	8	16	rien	rien	rien

TABLEAU VI.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sulfate de sodium.		30 38 70 81	18 24 50	19	16	20	22	20	32	15
Chlorure d'ammonium.	rien	34	21	19 21	17 20	10	10	12	8	9
Chlorure de sodium.	rien	rien	rien	rien	rien	7	6	6	11	15

Ainsi, l'on voit dans le tableau IV que la patte immergée dans la solution de chlorure d'ammonium à 5/100 P^m o/o, a éprouvé des frémissements et des rétractions partielles, lorsqu'elle y avait séjourné pendant 30/100 de minute, elle revint au calme pendant 5/100, puis présenta des frémissements; revint encore une fois au calme pendant 5/100, frémit de nouveau lorsque le métronome battit pour la 40^e fois, resta au repos pendant 15/100, enfin elle fut retirée entièrement après un séjour total de 55/100 de minute.

Je me suis servi du chlorure de sodium, du chlorure d'am-

monium et du sulfate de sodium. Pour bien mettre en lumière la part qui revient aux modifications survenues dans l'excitabilité des grenouilles, j'ai interverti dans les deux dernières séries d'expériences l'ordre d'emploi de ces différents sels. J'ai toujours fait agir d'abord la solution la plus faible, puis des solutions graduellement croissantes. Entre deux immersions consécutives, la patte était plongée quelques instants dans l'eau pure. Enfin lorsque toute la série des solutions d'un même sel était épuisée, la grenouille était mise au repos pour une heure.

En comparant les tableaux IV, V et VI, on constate que les grenouilles réagissent parfaitement à la concentration lorsqu'elles sont récemment décapitées (premières expériences de chaque tableau). Le *stade latent de l'excitation* diminue de longueur à mesure que la concentration augmente, sans qu'il y ait aucune relation constante entre ces deux termes. A la seconde série d'expériences de chaque tableau et surtout à la troisième série, les résultats deviennent très discordants, ce qui est évidemment dû aux troubles apportés dans l'excitabilité par le traumatisme et par les excitations subies antérieurement. Enfin, les diverses grenouilles ont fourni des résultats différents. Il ne peut en être autrement. Quand on décapite les grenouilles, il est absolument impossible de trancher la moelle exactement au même point pour tous les individus : l'un conservera plus de cellules nerveuses que l'autre, ce qui doit donner lieu à des divergences dans la rapidité et la régularité avec lesquelles se produisent les réflexes.

En somme les mouvements réflexes de la grenouille peuvent servir à démontrer la sensibilité à la concentration, mais nullement à en déterminer les lois.

E. — *Homme.*

La conjonctive est constamment mouillée par les larmes, c'est-à-dire par un liquide aqueux tenant en solution des sels et des substances albuminoïdes. Ces derniers corps ont un poids moléculaire trop élevé pour qu'ils puissent modifier d'une

manière appréciable, l'attraction pour l'eau des substances salines contenues dans les larmes. Les sels doivent donc seuls entrer en ligne de compte lorsqu'on veut déterminer le pouvoir plasmolysant de la sécrétion lacrymale.

Chacun sait que le contact de l'eau pure produit sur l'œil une sensation désagréable, et que d'autre part l'introduction entre les paupières d'une solution saline concentrée irrite également la conjonctive. Il existe entre ces deux extrêmes, des liquides qui n'irritent pas plus la conjonctive que ne le font les larmes. Je m'étais proposé de rechercher quelle est la concentration qui est complètement indifférente. Cette solution doit être isotonique avec les larmes.

Les expériences ont été faites sur deux hommes. Les solutions étaient chauffées à 35° ou 36° dans une étuve à température constante. Le sujet en expérience ne savait pas quelle solution était introduite dans son œil. Cette ignorance était indispensable pour éviter l'auto-suggestion et les erreurs d'appréciation qui en résultent. A l'aide d'une pipette, quelques gouttes étaient instillées dans l'angle interne de l'œil; des essais préliminaires avaient montré que l'angle interne est beaucoup plus sensible à la concentration que le restant de l'organe.

Les solutions contenaient de 5/1000 à 50/1000 Pm ‰. J'ai essayé les corps suivants : chlorure de sodium, sulfate de sodium, urée, citrate de lithium, asparagine, sulfate de magnésium, azotate de calcium et phosphate de potassium. Les quatre premiers ont seuls donné des résultats satisfaisants. Les autres corps irritent fortement l'œil; l'asparagine et le phosphate de potassium ont une réaction acide; quant à l'azotate de calcium et au sulfate de magnésium, leur action irritante tient peut-être à leurs propriétés chimiques.

On sent très distinctement la différence entre les solutions *hypisotoniques* et les solutions *hypérisotoniques* (1). L'excitation

(1) M. Hamburger (10) appelle solutions *hypisotoniques*, celles dont la concentration est inférieure à la solution isotonique, et *hypérisotoniques*, celles dont la concentration est supérieure.

déterminée par les premières est diffuse et ne se produit qu'après quelques instants. La sensation que l'on éprouve est celle d'un frottement : c'est comme si la conjonctive palpébrale glissait difficilement sur la conjonctive bulbaire. On a une tendance à tenir les paupières ouvertes. Les solutions hypérisotoniques provoquent une irritation presque instantanée et nettement localisée à la caroncule lacrymale. Les paupières sont spasmodiquement serrées et il faut une grande force de volonté pour les tenir ouvertes. Ainsi que l'a montré M. Magaard (16), toute irritation de la conjonctive provoque une hypersécrétion lacrymale. Ici, l'on observe également un afflux de larmes très prononcé.

TABLEAU VII.

	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	S. I.
Chlorure de sodium.	—	—	—	—	o	+	+	+	+	+	25
Sulfate de sodium	—	—	o	+	+	+	+	+	+	+	15
Citrate de lithium	—	—	o	o	+	+	+	+	+	+	17.5
Urée	—	—	—	—	—	o	o	+	+	+	32,5

TABLEAU VIII.

	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	S. I.
Chlorure de sodium.	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	22,5
Sulfate de sodium	—	—	—	o	+	+	+	+	+	+	20
Citrate de lithium	—	—	o	+	+	+	+	+	+	+	15
Urée	—	—	—	—	o	o	+	+	+	+	27.5

Les résultats consignés aux tableaux VII et VIII ont été fournis par les deux sujets en expérience. Les chiffres placés

au-dessus des colonnes verticales désignent la dose de substance en millièmes du poids moléculaire exprimé en grammes. Le signe (—) indique que la solution était sentie comme hypisotonique, le signe (+), qu'elle était sentie comme hypérisotonique, le signe (O), qu'elle ne produisait aucune sensation, c'est-à-dire qu'elle était isotonique avec les larmes. Dans la dernière colonne verticale, marquée S. I., sont collationnées les concentrations indifférentes.

En comparant les résultats fournis par les diverses substances, on voit que pour l'un et l'autre des observateurs, la solution indifférente de $\text{So}^4 \text{Na}^2$ et de $\text{C}^6 \text{O}^7 \text{H}^5 \text{Li}^3$ contient moins de molécules que la solution analogue de Cl Na , tandis que la solution de $\text{Co} (\text{Az H}^2)^2$ en contient davantage. Ces faits tendent à faire admettre que *la sensibilité de l'œil à la concentration suit les lois des coefficients isotoniques.*

La solution indifférente de chlorure de sodium est celle qui contient 25/1000 Pm ‰ pour l'un des sujets (tableau VII) et 22,5/1000 Pm ‰ pour le second (tableau VIII) : la moyenne est de 23,75/1000 Pm ‰. Cette solution renferme 23,75/1000 \times 58,5 gr. de Cl Na ‰, c'est-à-dire 1,39 gr. ‰. Les analyses de larmes données jusqu'à présent sont contradictoires. M. Lerch (cité par M. Beaunis (17)) a trouvé 1,3 gr. de Na Cl ‰; M. Magaard (16) donne le chiffre de 0,42 ‰ de sels dont le principal et le seul important serait le chlorure de sodium. Le chiffre de 1,39 que nous avons trouvé par une méthode purement physique, concorde assez bien avec celui de 1,3 trouvé par M. Lerch, en faisant l'analyse chimique des larmes.

Comment peut-on expliquer l'action des solutions salines sur la conjonctive? Les cellules épithéliales contiennent des substances qui attirent l'eau avec une certaine force. Nous pouvons jusqu'à un certain point nous rendre compte de la valeur de cette attraction par la concentration des solutions indifférentes ou plutôt par la concentration des larmes. Il est probable que les cellules épithéliales attirent l'eau avec une force au moins égale à celle qu'exercent les sels renfermés dans le liquide lacrymal, de sorte que ces cellules ne perdent ni

n'acquièrent de l'eau. La concentration du liquide qui imbibe le protoplasma de ces cellules équivaldrait donc à peu près à 0,025 Pm ‰ de Cl Na. Supposons que la conjonctive, au lieu d'être baignée par les larmes, soit arrosée d'eau pure : l'eau entrera dans les cellules et distendra la membrane jusqu'au moment où la tension élastique de celle-ci fera équilibre à la pression intra-cellulaire. La tension qui règnera dans la cellule sera en ce moment de $\frac{3}{4}$ d'atmosphère, puisque nous savons qu'une solution de Cl Na à 0,1 Pm ‰ peut donner au moins 3 atmosphères. La cellule épithéliale doit donc tendre à acquérir la forme sphérique; la déformation sera surtout marquée vers le lieu de moindre résistance, c'est-à-dire vers la surface. Comme les cellules qui tapissent la conjonctive bulbaire et celles de la conjonctive palpébrale sont soumises aux mêmes influences, il en résulte que la surface primitivement lisse, présente maintenant une petite bosselure au niveau de chaque cellule. C'est ce qui fait que, outre la sensation diffuse désagréable que l'on ressent lorsqu'on tient les paupières ouvertes après l'introduction d'eau pure dans l'œil, on perçoit encore une sensation de frottement lorsqu'on ferme et qu'on ouvre alternativement l'œil dans ces conditions. Un liquide indifférent se reconstitue bientôt par l'affluence des larmes et surtout par l'évaporation de la solution hypotonique : c'est pour faciliter cette dernière action que l'on tient les yeux ouverts après l'introduction d'un liquide de faible concentration.

Lorsqu'on instille dans l'œil une solution concentrée, les cellules perdent de l'eau; ce drainage peut être suffisant pour les plasmolyser. Il se produit alors une cuisson très nette, mais pas de sensation de frottement.

Il était intéressant de rechercher si l'œil peut être anesthésié pour la concentration comme il l'est, par la cocaïne, pour la douleur et le contact. Lorsqu'on introduit dans l'œil une solution de chlorhydrate de cocaïne à 1 ‰, l'instillation subséquente d'une goutte d'une solution de Cl Na à $\frac{1}{10}$ Pm ‰ (5,85 gr. ‰) ne donne aucune sensation désagréable, tandis que ce liquide détermine une cuisson intense dans l'œil non anesthésié. Mais

le résultat est tout différent lorsque à la solution de cocaïne on ajoute d'emblée une certaine quantité de Cl Na. L'expérience suivante le prouve.

On fait une solution contenant :

Eau	100.
Chlorhydrate de cocaïne	1.
Chlorure de sodium	5,85.

Le liquide est chauffé à 36° puis on en instille 3 c. c. dans l'œil; on laisse couler goutte à goutte de manière à introduire les 3 c. c. en l'espace de 3 ou 4 minutes. Dès le début de l'instillation, l'œil est complètement anesthésié pour le contact et la douleur, comme on s'en assure en promenant un corps étranger à la surface du globe. Néanmoins on ressent une douleur intense, presque insupportable, identique à celle que donne l'introduction dans l'autre œil d'une solution de Cl Na à la même concentration. L'œil est alors rincé soigneusement avec la solution de Cl Na à 5,85 ‰; la douleur persiste.

Cette expérience semble démontrer que les différentes sensibilités de la muqueuse oculaire sont l'apanage exclusif de terminaisons nerveuses indépendantes. Il y aurait dans cette hypothèse une sorte de terminaisons ayant pour fonction de sentir la concentration. Les éléments seront d'autant plus sensibles à la concentration que des solutions s'écartant moins de la solution indifférente, y provoqueront des modifications plus accentuées. Supposons qu'une solution *très légèrement* hypotonique donne lieu à la pénétration d'eau dans ces cellules terminales : le protoplasma se gorge de liquide et éprouve une altération : celle-ci est le point de départ d'une impression qui se transmet au cerveau. Au contraire, une solution *un peu* hypérisotonique provoque l'élimination de l'eau qui imbibe le protoplasma ; celui-ci se dessèche partiellement et il subit encore une fois une légère altération qui est communiquée par les filets nerveux aux cellules sensibles du cerveau. On comprend dès lors que les terminaisons nerveuses excitables par la concentration seront d'autant plus facilement impressionnées que leur protoplasma est plus perméable à l'eau. Il

faut que la plus faible hypisotonie du liquide ambiant provoque la pénétration de l'eau dans les cellules, et inversement. Il est donc logique de supposer que de toutes les terminaisons nerveuses que renferme la conjonctive, les éléments que nous considérons en ce moment sont les premiers plasmolysés par une solution hypérisotonique. Mais le premier effet de la plasmolyse est d'empêcher l'absorption par les terminaisons nerveuses du liquide étalé sur la muqueuse oculaire. En effet, la plasmolyse nous indique qu'il s'est produit un courant de l'intérieur de la cellule vers l'extérieur, tandis que l'absorption n'est sensible que lorsqu'il y a un courant se dirigeant vers l'intérieur.

La cocaïne ne peut influencer les terminaisons nerveuses que lorsqu'elle pénètre dans leur protoplasma; si certaines cellules sont plasmolysées par le véhicule de cet alcaloïde, elles risquent d'échapper à son action. C'est à ce résultat que nous sommes parvenus en instillant dans l'œil la cocaïne additionnée de ClNa . Les cellules ordinaires et les terminaisons nerveuses pour la douleur et le contact absorbent l'alcaloïde avant d'être plasmolysées et subissent par conséquent l'anesthésie. Mais les corpuscules sensibles à la concentration sont plasmolysés avant tous les autres éléments, en vertu même de leur fonction; la cocaïne n'étant pas absorbée, leur anesthésie n'a pas lieu, et la cuisson intense, résultant de l'application de la solution concentrée, est parfaitement perçue.

On peut se demander quel profit les organismes retirent de leur sensibilité à la concentration. Pour les êtres inférieurs, l'avantage est évident : comme les solutions concentrées sont nuisibles à presque tous, ils ont un grand intérêt à posséder un moyen qui leur fasse connaître les solutions à éviter. Il en est de même pour les Hydres et les Batraciens.

Les larmes sont constamment étalées à la surface de l'œil humain par les mouvements des paupières. Mais par suite de l'évaporation, elles tendent à se concentrer. Si l'organisme n'avait pas un mode de sensibilité qui le prévînt de l'imminence du danger, l'évaporation continuerait à agir et la conjonctive

serait bientôt desséchée. Le résultat inévitable serait l'ulcération de la cornée et la perte fonctionnelle de l'organe. Mais à peine la concentration atteint-elle une certaine limite que le réflexe du clignement se produit, les paupières étalent à la surface de la cornée une nouvelle goutte de larmes, tandis que le liquide concentré s'accumule dans le lac lacrymal pour passer de là dans les voies lacrymales.

Cohnheim a décrit sur la cornée des filaments nerveux spéciaux dont les ramifications très déliées passent entre les cellules épithéliales, et se terminent par un petit renflement. Ce bouton qui flotte librement dans le liquide lacrymal pourrait bien être l'élément qui est impressionné par la concentration.

ADAPTATION AUX SOLUTIONS CONCENTRÉES.

On sait depuis longtemps que des organismes inférieurs, placés dans une faible solution saline, y vivent parfaitement. Ils continuent à se bien porter malgré l'évaporation de la solution : la concentration augmente, mais l'organisme s'y adapte à merveille. Les phénomènes intimes de cette accoutumance ont été étudiés par divers physiologistes.

On a constaté que des cellules placées dans des solutions qui les plasmolysent, reprennent en peu de temps leur aspect normal. Si on ajoute alors une nouvelle quantité de corps soluble, ou si on les transporte dans une solution un peu plus concentrée, elles subissent de nouveau la plasmolyse, mais encore une fois, celle-ci disparaît au bout de quelques heures (24 et 25). Inutile d'ajouter qu'il ne faut jamais les mettre en contact avec des solutions par trop fortes, car, dans ce cas, la plasmolyse persiste. Ainsi, M. Klebs (18) a vu que des cellules d'Algues restent contractées lorsqu'on les place dans une solution de saccharose à 16 ou à 20 %.

Pour que les cellules plasmolysées reprennent leur aspect normal, il faut que la tension interne augmente, ce qui ne peut être produit que par l'accroissement de la concentration ; il existe donc en ce moment dans le suc cellulaire des substances

qui ne s'y trouvaient pas, lorsque la cellule a été plongée dans la solution plasmolysante : ou bien le protoplasme a fabriqué de nouveaux principes solubles, ou bien la substance externe a pénétré dans le suc cellulaire. Dans le plus grand nombre des cas, sinon dans tous, c'est le dernier phénomène qui a eu lieu. Les preuves qu'on peut fournir à l'appui de la perméabilité du protoplasme sont, les unes, directes, les autres, indirectes. Parmi les preuves indirectes, je ne citerai que ce fait que les cellules se nourrissent de la solution qui les entoure.

On peut aussi, dans certains cas, démontrer directement la pénétration des corps solubles dans la cellule. Je me contenterai de citer quelques faits observés par divers savants. M. Certes (19) montra, le premier, que certains Infusoires, ainsi que les leucocytes de la grenouille se colorent en bleu lorsqu'on les dépose dans une solution très étendue de cyanine (bleu de quinoléine). La teinte bleue est surtout manifeste dans les granulations graisseuses du protoplasme. Les noyaux restent incolores. M. Pfeffer (20) appliqua cette méthode aux cellules végétales ; il obtint la coloration, puis la précipitation intracellulaire de plusieurs couleurs d'aniline. D'après M. Francotte (21), le brun de Bismarck injecté sous la peau de la grenouille, teint les tissus sans que l'animal en paraisse incommodé. M. Campbell (35) a obtenu la coloration des noyaux vivants dans un grand nombre de cellules végétales. Je puis encore citer quelques expériences que j'ai faites sur le même sujet : des *Colpoda cucullus* placés dans une solution très diluée de vert de méthyle présentent en peu de minutes un noyau élégamment teint en vert ; ils continuent à nager normalement pendant plusieurs jours. Les Infusoires présentent de grandes différences dans leur sensibilité à ce réactif : ainsi, des Hypotriches traités comme les Colpodes, meurent et se désagrègent au bout de peu d'instant.

On a aussi pu mettre en évidence la pénétration de l'ammoniac dans les cellules vivantes. D'après M. de Vries (22), les cellules de la betterave rouge, placées dans une solution très diluée d'ammoniac, prennent une teinte brune sans que le

protoplasme soit lésé. Des modifications de teinte analogues ont permis à M. Pfeffer (1) d'étudier la perméabilité du protoplasma pour certains alcalis et acides. De plus, ce dernier auteur (23), après avoir coloré une cellule vivante par la cyanine est parvenu à la décolorer en la plongeant dans une solution diluée d'eau oxygénée. La cellule a donc absorbé d'abord la cyanine, puis le bioxyde d'hydrogène.

Enfin d'autres auteurs ont prouvé la pénétration dans la cellule vivante de l'azotate de potassium, en la traitant par le réactif de Molisch (acide sulfurique 50, diphénylamine 0,25). Les azotates prennent une coloration bleue caractéristique. M. Janse (24) a fait ces expériences sur les Spirogyres, et M. Wieler (25), sur de jeunes pieds de Phanérogames. J'ai dit antérieurement que M. de Vries a observé la pénétration dans les cellules végétales de la glycérine (14) et de l'urée (15).

Il existe de nombreuses observations sur l'adaptation des animaux marins à l'eau douce et inversement. Les anguilles, les saumons et bien d'autres poissons vivent alternativement dans l'eau douce et dans l'eau salée ; les crevettes remontent l'Escaut jusqu'au delà d'Anvers. Il est probable que chez ce Crustacé, la quantité de sels contenus dans le sang, varie suivant l'habitation. M. Frédéricq (26) a trouvé dans le sang d'un *Carcinus mænas* de Roscoff, 3,07 % de sels, et dans celui d'un individu de la même espèce, mais provenant de l'embouchure de l'Escaut, 1,48 % de sels seulement. De faibles différences de salure peuvent influencer la composition du sang chez les Crustacés. Ainsi, l'eau du Golfe de Naples contient un peu plus de sels que celle de la Manche à Roscoff : le sang des *Maja squinado* de Naples, renferme 3,37 % de sels, tandis que le sang de ceux de Roscoff n'en renferme que 3,045 %. En transportant dans de l'eau de moins en moins salée, les *Carcinus mænas* de Roscoff, M. Frédéricq (26) a pu abaisser la quantité de sels du sang de 3,07 à 1,65 %. D'après le même physiologiste, le sang des poissons de mer, au contraire, n'est guère plus salé que celui des poissons d'eau douce. M. Janse (24) a fait une constatation analogue pour les Algues.

Certaines mers, et entre autres la Baltique, renferment peu de sels. Par suite de l'énorme quantité d'eau douce qui s'y déverse et de la lenteur de l'évaporation, la proportion de chlorure de sodium dans cette mer ne dépasse pas en été 4 à 5 ‰. Dans ces conditions, la grenouille peut y déposer ses œufs; mais d'autre part la plupart des animaux marins y périssent. Aussi la faune y est-elle d'une pauvreté excessive; l'huître elle-même ne s'y est pas maintenue: on trouve pourtant beaucoup de coquilles de ce Mollusque dans les Kjökenmöddings du rivage (27), ce qui fait supposer que la salure de la Baltique était jadis plus forte.

A côté des phénomènes présentés par les mers à faible salure, voyons ce qui arrive lorsque la quantité de sel augmente dans la mer. D'après M. Reclus (cité par M. de Lapparent (28)), le golfe de Kara-Boghoz ou Gouffre-Noir de la Caspienne possède une salure considérable; ses eaux ne contiennent aucun être vivant; les poissons qui y sont amenés par le courant deviennent aveugles en 5 jours. L'opacification du cristallin est le résultat constant de l'immersion d'un vertébré dans une solution trop concentrée; elle se produit même très rapidement chez une grenouille dont le tube digestif est traversé par un courant de solution concentrée de glucose.

Certains crustacés d'eau douce paraissent s'accoutumer assez facilement à l'eau de mer. M. Plateau (5) a habitué à ce liquide des *Asellus aquaticus* qu'il avait fait passer lentement et progressivement dans un grand nombre de solutions intermédiaires. Paul Bert (7) a obtenu un résultat analogue avec des Daphnies. Il est à remarquer que pour ces deux espèces, ce ne sont pas les individus primitifs qui s'adaptent à l'eau de mer; elles se reproduisent en captivité, et ce sont leurs descendants qui peuvent vivre dans le liquide salé.

Le résultat le plus curieux qui ait été obtenu dans ce genre d'études, est assurément celui qui fut publié par M. Schmankewitsch (29 et 30). La famille des *Branchiopoda* parmi les Crustacés Branchiopodes renferme deux genres principaux: *Branchipus* et *Artemia*. Les espèces du premier vivent dans

l'eau douce; le second possède deux espèces, dont l'une, *A. salina*, habite l'eau saumâtre, et l'autre, *A. Miihlhausenii*, l'eau salée. Quand ce dernier est placé dans des liquides de moins en moins concentrés, il se modifie et acquiert des caractères de l'*A. salina*; en faisant agir sur celui-ci de l'eau moins salée encore, jusqu'à arriver à l'eau pure, on en fait le *Br. stagnalis*. On peut aussi transformer inversement le *Br. stagnalis* en *A. salina* et celui-ci en *A. Miihlhausenii*. De quelque façon que l'on procède, on obtient toujours toute la série des formes intermédiaires entre le *Br. stagnalis* et l'*A. Miihlhausenii* en passant par l'*A. salina*.

J'ai étudié l'adaptation aux solutions concentrées sur une Bactérie, sur un Flagellate, sur divers Infusoires ciliés et sur l'Hydre verte.

A. — Bactéries.

Lorsqu'un *Spirillum Undula* est placé dans une solution saline concentrée, il subit un ratatinement. Avec un peu d'attention, ce phénomène est bien visible. Le corps, au lieu de rester régulier, paraît déprimé en certains points. Quand le Spirille est laissé dans une solution qui le plasmolyse énergiquement, il ne tarde pas à être tué. Dès lors, le protoplasma n'oppose plus la moindre résistance à l'osmose, et la cellule reprend sa forme normale. L'introduction dans le liquide d'une très faible quantité de vert de méthyle, permet de distinguer les individus morts des individus vivants, mais momentanément immobiles. Les morts se colorent très vivement en vert tandis que les vivants ne prennent qu'une légère teinte bleuâtre.

Le tableau IX montre l'action de solutions concentrées sur les Spirilles. Les chiffres indiquent la dose de sel en centièmes du poids moléculaire exprimé en grammes, v. n. p. indique que les Spirilles sont vivants, non plasmolysés; v. p., qu'ils sont vivants mais plasmolysés; m., qu'ils sont morts et ne présentent donc plus la plasmolyse. Les observations étaient faites 19 heures après l'immersion des Bactéries dans la solution saline.

Ainsi que le montre l'inspection de ce tableau, le chlorure

TABLEAU IX.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Chlorure de sodium.	v.n.p.	v.n.p.	v. p.	v. p.	v. p.	m.	m.	m.	m.	m.
Azotate de potassium.	v.n.p.	v.n.p.	v. p.	v. p.	v. p.	m.	m.	m.	m.	m.
Glycérine.	v.n.p.	v.n.p.	v.n.p.	v.n.p.	v.n.p.	v.n.p.	v.n.p.	m.	m.	m.

de sodium et l'azotate de potassium agissent énergiquement sur les Spirilles, tandis que ceux-ci peuvent vivre dans des solutions de glycérine de concentration bien supérieure. Il paraît même que ce corps ne les plasmolyse pas. Il pénètre très facilement dans les cellules; mais dès que sa concentration dans le protoplasma atteint une certaine limite, il détermine sa mort. Je m'étais proposé d'essayer la sensibilité à la concentration des Spirilles ainsi traités pendant 19 heures par des solutions assez fortes de Cl Na. J'ai dû renoncer à ce dessein parce que ces organismes deviennent malades dès que la solution est à 1/100 Pm ‰; dans ces conditions, leurs mouvements présentent la plus grande irrégularité.

Pour étudier les modifications qu'un séjour prolongé dans une solution normale apporte dans la sensibilité des Spirilles, j'ai placé ces êtres pendant 20 heures dans des solutions contenant 3/1000, 6/1000 et 9/1000 Pm ‰ de chlorure de sodium. Dans ces liquides, leur motilité n'est pas altérée. Les observations sont résumées dans le tableau X. Les lettres ont la même signification que celles des tableaux I, II et III. Les expériences furent également faites de la même façon : des capillaires contenant les solutions de chlorure de sodium à essayer étaient glissés dans la goutte où nageaient les Spirilles. De

TABLEAU X.

	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
Spirilles sortant du purin ordinaire	a	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Spirilles cultivés 20 h. dans le purin additionné de $\frac{3}{1000}$ Pm o/o de Cl Na.	A	A	a	a	o	o	o	o	o	o
Spirilles cultivés 20 h. dans le purin additionné de $\frac{6}{1000}$ Pm o/o de Cl Na.	A	A	A	a	a	o	o	o	o	o
Spirilles cultivés 20 h. dans le purin additionné de $\frac{9}{1000}$ Pm o/o de Cl Na.	A	A	A	A	a	a	a	a	o	o

même que dans les expériences résumées dans les tableaux I, II et III, le liquide des capillaires contenait outre le chlorure de sodium, 5/1000,000 Pm o/o de carbonate de potassium qui exerçait l'attraction. Les chiffres placés au-dessus des colonnes verticales indiquent la dose de chlorure de sodium des tubes capillaires, en millièmes du poids moléculaire exprimé en grammes.

De l'inspection de ce tableau, il résulte que les Spirilles cultivés dans les solutions de chlorure de sodium, pénètrent dans des solutions bien plus concentrées que celles qui repoussent activement les individus ordinaires. Tandis que ceux-ci n'entrent en masse que dans des solutions de chlorure de sodium à 4/1000 Pm o/o, les Spirilles cultivés dans du purin contenant 9/1000 Pm o/o de ce sel, ne sont pas même repoussés sensiblement par une solution à 20/1000 Pm o/o. On peut en conclure que ces êtres peuvent s'adapter en peu de temps à des liquides 5 fois plus concentrés que leur milieu de culture ordinaire.

B. — *Infusoire Flagellé.*

Parmi les êtres appartenant à ce groupe, *Polytoma Uvella* a été seul examiné. Un individu placé dans une solution concentrée est aussitôt plasmolysé; lorsque la concentration n'est pas trop forte, il reprend bientôt sa forme normale. C'est ce que prouve l'expérience suivante :

A du purin contenant des *Polytoma*, j'ajoute de l'azotate de potassium, de façon à former une solution à 1/100 Pm ‰ : tous les Flagellates sont plasmolysés.

Après un jour, ils sont revenus à leur état primitif. J'ajoute encore du nitrate, de manière à constituer une solution à 2/100 Pm ‰. Immédiatement après, les individus sont de nouveau plasmolysés.

Le lendemain, la plasmolyse a persisté. La solution est alors additionnée de saccharose de telle sorte qu'elle en contienne 1/100 Pm ‰.

24 heures après, tout a repris son aspect normal.

Le premier jour, il est entré dans la cellule, assez de nitrate pour que le liquide protoplasmique puisse faire équilibre à la solution extérieure; mais le protoplasma refuse de se laisser encore traverser par le nitrate. Il est néanmoins resté perméable pour la saccharose; en effet, il entre dans la cellule assez de sucre pour faire équilibre, non seulement au sucre ajouté la veille, mais encore au nitrate de potassium ajouté l'avant-veille.

Après l'absorption de sucre, les *Polytoma* sont bourrés de grains d'amidon. Ceux-ci proviennent évidemment de la transformation du sucre.

Par un procédé identique, on démontre la perméabilité du protoplasma de ce Flagellate pour les corps suivants :

acétate de potassium,
butyrate de calcium,
phospholactate de calcium,
glycérine,
tartrate d'ammonium,
asparagine,
glycose,

benzoate de sodium,
salicine,
et phloridzine.

Toutes ces substances peuvent servir à la nutrition hydrocarbonée du *Polytoma Uvella*.

C. — Infusoires Ciliés.

De tous les organismes que j'ai eu l'occasion d'étudier, ce sont les Infusoires Ciliés qui se prêtent le mieux aux recherches sur l'accoutumance aux solutions concentrées. A cause de la facilité avec laquelle on les observe, j'ai employé surtout les kystes de ces animaux.

Lorsque des kystes anciens d'Infusoires sont déposés dans une solution saline, on observe suivant la concentration du liquide, des phénomènes différents et que j'indiquerai par des signes spéciaux :

La solution est très faible : rien ne se produit (0).

La solution est faible : il s'est formé dans le kyste une vacuole animée de pulsations rythmées mais très espacées (v.).

La solution est un peu plus forte : l'individu est plasmolysé mais la vacuole a conservé sa forme sphérique (v.p.).

La solution est plus forte encore : la vacuole est réduite à une mince fissure ; la plasmolyse du corps est plus manifeste (p.).

La solution est très forte. La plasmolyse est assez marquée pour que l'Infusoire ait entièrement perdu sa forme, il n'y a plus de trace de vacuole (P.).

Dans le tableau XI, j'ai résumé les observations faites sur des kystes de *Colpoda cucullus* et sur des kystes de *Vorticella nebulifera*. Les premières constatations furent faites immédiatement après l'immersion des kystes dans les solutions, et les secondes, après qu'ils y eurent séjourné pendant 19 heures. Le sel employé était le nitrate de potassium. Les chiffres indiquent la teneur en millièmes du poids moléculaire exprimée en grammes.

En comparant les deux séries d'observations, on remarque de suite que les Infusoires s'adaptent très facilement aux solu-

TABLEAU XI.

Observations faites immédiatement après l'immersion des kystes dans les solutions de nitrate :

	2	5	8	10	12	14	16	18	20	25	30	40
Vorticelles. . . .	o	v.	v.	v.	v.p.	v.p.	v.p.	v.p.	v.p.	p.	P.	P.
Colpodes	o	o	v.	v.	v.	v.	v.	v.	v.	v.	v.	v.

Observations faites après que les kystes eurent séjourné 19 heures dans les solutions :

Vorticelles. . . .	o	o	o	o	o	o	o	o	v.	v.	v.p.	v.p.
Colpodes	o	o	o	o	o	o	o	o	o	v.	v.	v.

tions concentrées. Les Colpodes ne présentent plus aucun symptôme lorsqu'ils ont séjourné 19 heures dans une solution à 20/1000 Pm ‰. Les Vorticelles qui étaient plasmolysées au plus haut point par une solution à 40/1000 Pm ‰, ne présentent plus, au bout de 19 heures, que la petite vacuole, signe précurseur de l'altération protoplasmique.

Trois heures après que les dernières observations eurent été faites sur ces kystes, ceux qui avaient passé 22 heures dans la solution à 18/1000 Pm ‰ et qui ne présentaient plus aucun signe de malaise, furent transportés dans des solutions plus concentrées d'azotate. Le tableau XII résume les observations recueillies immédiatement après l'introduction dans ces nouveaux liquides, et celles qui furent faites 40 heures plus tard. Les signes ont la même valeur que dans le tableau précédent.

Les kystes qui étaient restés pendant 22 heures dans la solution à 30/1000 Pm ‰ et qui avaient une petite vacuole (voir tableau XI) furent également transportés dans des liquides concentrés. Les observations faites sur ces kystes sont consignées au tableau XIII. De même que dans les tableaux précédents, les chiffres qui se trouvent au-dessus des

colonnes verticales indiquent la dose de nitrate de potassium en millièmes du poids moléculaire exprimé en grammes.

TABLEAU XII.

Observations faites immédiatement après l'immersion des kystes dans les solutions concentrées d'azotate :

	20	25	30	35	40	50
Vorticelles	v.	v.p.	v.p.	p.	P.	P.
Colpodes	o	v.	v.	v.p.	p.	P.
<i>Observations faites après que les kystes y eurent séjourné 40 heures</i>						
Vorticelles	o	v.	v.	v.p.	P.	P.
Colpodes	o	v.	v.	v.	v.	v.

TABLEAU XIII.

Observations faites immédiatement après l'immersion dans les kystes dans les solutions concentrées de nitrate :

	30	35	40	50
Vorticelles	v.p.	p.	P.	P.
Colpodes	v.	v.p.	v.p.	v.p.
<i>Observations faites après que les kystes y eurent séjourné 40 heures.</i>				
Vorticelles	o	v.p.	p.	P.
Colpodes	o	v.	v.	v.

Les tableaux montrent que les kystes de Vorticelle et de Colpode peuvent s'adapter à tel point à des solutions à 30/1000 Pm ‰ de NO^3K , qu'ils ne présentent même plus la petite vacuole, signe précurseur de la plasmolyse, alors que

les kystes primitifs de *Vorticelle* étaient déjà influencés par une solution à 3/1000 Pm ‰ de $\text{N O}^3\text{K}$ (tableau XI).

Les kystes de Colpode placés pendant 22 heures dans une solution à 50/1000 ne présentent aucun phénomène de plasmolyse. Les recherches de M. de Vries (3) ont fait voir que des cellules qui ne sont pas plasmolysées par une telle solution, exercent sur leur membrane une pression d'au moins 15 atmosphères, lorsqu'on les place dans l'eau. Je décrirai plus loin les phénomènes qui ont lieu lorsque ces kystes sont plongés dans l'eau pure.

Il est intéressant de remarquer que l'introduction d'un kyste d'Infusoire Cilié dans une solution saline faible, détermine la formation d'une vacuole pulsatile. Ce fait ne s'explique qu'en admettant que la vacuole est chargée d'éliminer au fur et à mesure le sel qui pénètre dans le protoplasma. La vacuole pulsatile des Infusoires serait donc un organe d'excrétion. M. Klebs (31) a constaté que lorsque les Euglènes sont placées dans une solution saline faible, leur vacuole pulsatile devient beaucoup plus apparente. J'ai observé que cette dilatation de la vacuole s'obtient particulièrement bien avec une solution de chlorure ferrique à 1 ‰. Le même observateur (31) a montré que la vacuole des Flagellates est l'*ultimum moriens*. Ce fait se retrouve, d'après M. de Vries (32), dans la vacuole remplie de suc cellulaire des végétaux. Le tonoplaste résiste à la mort lorsque tout le reste de la cellule est déjà détruit.

J'ai également fait quelques recherches sur l'accoutumance chez les Infusoires mobiles, notamment chez *Glaucoma scintillans*, *Vorticella nebulifera* et *Chilodon cucullulus*. J'ai pu les habituer à une solution de chlorure de sodium à 25/1000 Pm ‰. J'ajoutais cette substance par petites quantités à la fois. A chaque addition de sel, les Infusoires étaient déformés, leur volume diminuait par suite de la soustraction d'eau et ils présentaient des sillons irrégulièrement dirigés d'avant en arrière. Le lendemain, ils étaient revenus à leur forme ordinaire; j'ajoutais alors une nouvelle dose de sel. De cette façon j'obtins en 5 jours une solution à 25/1000 Pm ‰. Ce liquide ne conte-

nait plus qu'un nombre restreint d'individus ; il m'est impossible d'assurer que les Infusoires se soient reproduits et que l'adaptation ait eu lieu pour les descendants, comme chez les Daphnies étudiées par Paul Bert (7), et chez les Aselles étudiés par M. Plateau (5). Toujours est-il que les individus accoutumés à des solutions de plus en plus concentrées y vivent parfaitement et ne paraissent aucunement incommodés.

Lorsqu'on ajoute progressivement de petites quantités d'eau à la solution saline qui contient ces Infusoires, on peut les habituer de nouveau à vivre dans l'eau. Mais lorsqu'ils sont immergés brusquement dans l'eau, ils présentent des altérations qui aboutissent ordinairement à leur destruction. Voici en quoi consistent ces modifications :

Glaucoma scintillans. Au lieu de continuer à franchir d'un bond un espace considérable, l'individu remis dans l'eau ne présente plus qu'un léger tremblement et se déplace à peine. Il gonfle fortement sa vacuole ; celle-ci présente des diastoles très étendues pendant lesquelles elle acquiert un volume considérable (3 ou 4 fois son diamètre normal). Puis l'individu reste immobile, la vacuole s'arrête en diastole et le protoplasma tout entier se creuse en quelques instants d'un grand nombre de petites vacuoles claires. Brusquement celles-ci se rompent et le protoplasma devient hyalin avec quelques granulations. On voit en ce moment l'Infusoire entouré d'une quantité de Bactéries et de Flagellates, ce qui indique que déjà des substances solubles diffusent hors de l'individu malade ; en effet, M. Pfeffer (12 et 13) a montré que ces êtres sont attirés par beaucoup de substances solubles et il emploie la méthode des Bactéries pour démontrer que les cellules végétales vivantes ne laissent passer vers l'extérieur aucun corps qui attire les Bactéries en présence. Peu d'instants après la rupture des petites vacuoles, les cils disparaissent et il se produit dans la cuticule une déchirure par laquelle le protoplasma vient s'écouler.

Vorticella nebulifera. La suite des modifications est exactement la même que dans l'espèce précédente.

Par ces deux exemples, on voit que chez les Infusoires cultivés

dans une solution saline concentrée, puis replacés dans l'eau pure, il y a gonflement du corps et rupture de la cuticule. Je montrerai plus loin que l'accoutumance aux solutions concentrées s'établit par l'absorption de la solution saline extérieure, de telle sorte que la concentration intérieure devienne à peu près égale à la concentration extérieure. Lorsque l'individu est immergé dans l'eau, les sels qu'il contient attirent l'eau et il doit naturellement acquérir un volume plus considérable qu'auparavant ; à mesure que le volume du protoplasma et de la vacuole pulsatile augmente, la cuticule se distend et il arrive un moment où sa limite d'élasticité étant dépassée, elle se rompt et livre passage à son contenu. D'après M. Pfeffer (33), les grains de pollen déposés dans l'eau pure présentent la même succession de phénomènes.

Chilodon cucullulus. L'individu placé dans l'eau, s'arrête brusquement, puis gonfle. La vacuole se dilate, mais jamais le protoplasma ne devient vacuoleux comme chez le Colpode et la Vorticelle. Au bout de peu d'heures, l'individu a repris ses mouvements et son aspect normal. M. Saville Kent (34) dit d'ailleurs que cette espèce se rencontre aussi bien dans la mer que dans l'eau douce.

Chez les kystes de Colpodes sortant de 50/1000 Pm % de chlorure de sodium (voir tableau XIII) la suite des phénomènes après immersion dans l'eau, est la même que chez les *Vorticelles* et les *Glaucoma* mobiles. Mais le processus ne va jamais jusqu'à faire éclater la paroi du kyste qui est d'ailleurs bien plus résistante que la cuticule. On observe la vacuolisation du protoplasma et la destruction des vacuoles ; à cette phase, on constate que les Bactéries nageant dans le liquide s'accumulent autour du kyste.

Tous ces phénomènes qui se produisent chez les Infusoires replacés dans l'eau, tendent à faire admettre que le sel pénètre dans leur protoplasme ; il était néanmoins désirable de le prouver directement : il suffit de rincer soigneusement à l'eau les kystes de *Vorticelles* sortant de la solution à 30/1000 Pm % de nitrate de potassium, puis de les traiter par le réactif de Molisch

(acide sulfurique 50 ; diphénylamine 0,25). Le protoplasma prend une teinte bleue très prononcée, ce qui est une preuve incontestable de la présence de nitrate. On s'assure aisément que ce sel n'existe pas dans les kystes normaux.

D. — *Hydre verte.*

Lorsqu'une Hydre est déposée dans une solution saline, elle ne tarde pas à se contracter fortement et à mourir ; dès le lendemain, elle est complètement désagrégée. Des solutions contenant 2/1000 Pm ‰ de chlorure de sodium suffisent pour produire ce résultat. Mais il est facile d'accoutumer les Hydres à des liquides bien plus concentrés. Il faut simplement les placer dans une solution à 1/1000 Pm et ajouter chaque jour du sel de façon à augmenter la concentration d'un millième à chaque addition. Je suis arrivé ainsi à des solutions à 6/1000 Pm ‰ de Cl Na, dans lesquelles les individus d'Hydre verte se portaient à merveille.

Transportés directement dans l'eau pure, ces sujets meurent bientôt ; mais pour les accoutumer de nouveau à l'eau pure, il suffit de les placer pendant un jour dans une solution à 3/1000.

Maintenant que nous sommes parvenus au terme de notre étude, jetons un coup d'œil en arrière et voyons quelles conclusions nous pourrions tirer de ces recherches.

1. Un grand nombre d'actions extérieures agissent comme excitants sur l'organisme vivant. La lumière, la chaleur, la pesanteur, le courant électrique, la vapeur d'eau, le contact, les propriétés chimiques des corps, sont autant d'excitants qui mettent en jeu l'irritabilité des cellules. Les expériences relatives dans cette notice démontrent qu'à côté de ces excitants généralement reconnus, il faut admettre aussi la concentration des liquides avec lesquels l'organisme est mis en rapport.

2. L'excitation produite par les solutions salines et autres, est variable suivant le poids moléculaire et suivant la structure moléculaire de la substance considérée ; la répulsion exercée est

inversement proportionnelle au poids moléculaire et proportionnelle au coefficient isotonique. C'est chez les Bactéries que cette loi se vérifie avec le plus de précision.

Cette méthode permettrait de contrôler et de vérifier le poids moléculaire d'un grand nombre de corps solubles, comme l'a déjà indiqué M. de Vries.

3. Certaines substances paraissent faire exception aux lois énoncées plus haut; ce sont celles qui peuvent aisément pénétrer dans la cellule.

4. La conjonctive est sensible, non seulement aux solutions plus concentrées que les larmes, mais encore aux solutions plus faibles; elle peut être anesthésiée pour la douleur et le contact, tout en restant parfaitement sensible à la concentration.

5. Le degré de concentration nécessaire pour mettre en fuite les Bactéries, varie suivant le mode de culture; on peut les rendre insensibles à des solutions dont la concentration dépasse de beaucoup celles qui repoussent les Bactéries sortant du liquide de culture ordinaire.

6. Tous les êtres sur lesquels les expériences ont été instituées dans ce but, ont montré de l'accoutumance aux solutions concentrées. Cette adaptation est due à la perméabilité du protoplasma pour les substances dissoutes.

En terminant ce travail, qu'il me soit permis d'adresser mes plus vifs remerciements à MM. les professeurs L. Errera, P. Héger et F. Plateau, qui ont bien voulu me guider de leurs conseils.

APPENDICE.

J'ai eu l'occasion d'étudier la sensibilité à la concentration chez un grand nombre d'Infusoires, lorsque le présent travail était déjà livré à l'impression.

La méthode des tubes capillaires, à l'aide de laquelle j'ai obtenu les résultats que j'ai consignés dans le cours de cette notice, n'est évidemment applicable que pour les organismes qui possèdent, à un degré suffisant, la sensibilité chimique. Or, d'après les recherches de M. Pfeffer (13), recherches que j'ai pu vérifier, les Flagellates colorés sont peu impressionnables par les substances chimiques, et les Infusoires Ciliés y sont absolument insensibles. Pour déceler les phénomènes de tonotactisme chez ces animaux, j'ai donc dû opérer d'une autre façon.

Une goutte allongée, mais peu épaisse, du liquide qui contient les êtres à étudier, est suspendue à la face inférieure d'une grande lamelle de verre; celle-ci est posée sur un cadre de carton, imbibé d'eau: la goutte est ainsi soustraite à l'évaporation. A l'une des extrémités de cette goutte on dépose quelques petits morceaux d'un corps neutre soluble. Ces parcelles se dissolvent lentement et leur solution aqueuse diffuse peu à peu vers l'autre extrémité. Il faut une certaine habitude pour bien réussir ces expériences. La grosseur des fragments de sel doit être en rapport avec l'épaisseur de la goutte. Lorsqu'ils sont trop volumineux, tout le liquide s'accumule autour d'eux et la majorité des Infusoires sont entraînés par le moindre mouvement qu'on imprime à l'appareil et ils se répandent partout. Les dimensions des morceaux de sel doivent être à peu près égales à l'épaisseur de la goutte.

J'ai essayé une dizaine de corps: chlorure de potassium, sulfate de potassium, azotate de potassium, chlorure de sodium, phosphate de sodium, azotate d'ammonium, chlorure de calcium, saccharose, glycose et urée. Toutes ces substances donnent des résultats identiques, ce qui prouve bien que les phénomènes observés ne sont pas dûs aux propriétés chimiques

des solutions en présence. J'ai aussi fait quelques recherches avec la glycérine ; une gouttelette en était déposée sur le bord du liquide où nageaient les Infusoires. Ce corps ne donne pas des résultats aussi nets que les matières que l'on peut réduire en petits fragments.

Aussitôt après leur introduction dans la goutte, les particules de sel commencent à se dissoudre et elles s'entourent ainsi d'une zone dont la concentration est élevée. La solution saline ainsi constituée diffuse lentement à mesure que le fragment se liquéfie. Si les organismes qui nagent dans la goutte sont sensibles à la concentration, ils fuient le liquide qui diffuse et se rassemblent dans la portion où la concentration est restée normale. Les individus insensibles à la concentration n'évitent pas la zone dangereuse : ils pénètrent dans la solution saline et y trouvent la mort.

L'examen de la limite entre le liquide de culture et la solution qui diffuse est très intéressant. On voit d'un côté les Infusoires non sensibles à la concentration : ils s'avancent dans le liquide salin jusqu'au moment où la soustraction d'eau qu'ils éprouvent les amène au repos ; d'un autre côté, les espèces qui fuient la concentration : celles-ci ne s'aventurent jamais au delà de la limite extrême des cercles de diffusion ; lorsque dans leurs évolutions elles arrivent au contact de la solution saline, elles se rejettent tout à coup en arrière. Ce recul a été décrit par M. Pfeffer (12) pour le *Chlamydomonas Pulvisculus*. Il est analogue au "mouvement de frayeur", observé par M. Engelmann. D'après ce physiologiste, lorsque le *Bacterium photometricum* (36) ou les Bactéries pourprées (37) passent d'une zone éclairée à une zone obscure, elles effectuent un mouvement de recul qui les rejette en pleine lumière.

J'ai étudié un très grand nombre d'Infusoires Ciliés et d'Infusoires Flagellés (y compris les Volvocinées). Je consigne dans le tableau XIV les résultats que j'ai obtenus avec les espèces que je pouvais me procurer en quantité suffisante pour répéter plusieurs fois les expériences. Les déterminations sont faites d'après M. Saville Kent (34).

TABLEAU XIV.

		Sensibles à la concentration.	Insensibles à la concentration.
Infusoires Ciliés.	HOLOTRICHES.	<i>Trachelophyllum apiculatum.</i> † <i>Paramœcium Aurelia.</i> — <i>Bursaria.</i> <i>Colpidium cucullus.</i>	† <i>Colpoda cucullus.</i> <i>Coleps hirtus.</i>
	PERITRICHES.	<i>Vorticella sphærica.</i> * — <i>putrinum.</i>	† <i>Vorticella nebulifera.</i> — <i>fasciculata.</i>
	HYPOTRICHES.	* † <i>Chilodon cucullulus.</i> <i>Uroleptus piscis.</i> <i>Oxytricha œruginea.</i> * <i>Euplotes Charon.</i>	
Infusoires Flagellés.	INCOLORES.	<i>Cephalothamnium cuneatum.</i> † <i>Tetramitus rostratus.</i> <i>Chilomonas Paramœcium.</i>	* <i>Polytoma Uvella.</i>
	VERTS (incl. Volocinées).	† <i>Euglena gracilis.</i> <i>Phacus Pleuronectes.</i> <i>Trachelomonas hispida.</i> — <i>volvocina.</i>	* <i>Euglena viridis.</i>
		<i>Chlamydomonas Pulvisculus.</i> <i>Volvox sp.</i>	<i>Chlamydococcus pluvialis.</i>
	JAUNE.		<i>Cryptomonas ovata.</i>
	DINOFLAGELLATE.		<i>Glenodinium Pulvisculus.</i>

Parmi les espèces que j'ai étudiées, un certain nombre habitent aussi bien les eaux marines que les eaux douces; ces espèces sont marquées d'un astérisque. D'autres s'adaptent facilement à des solutions salines bien plus concentrées que ne l'est leur milieu habituel; elles sont marquées d'une croix. Ce sont : un *Euplotes*, d'après M. Cohn (38); un *Paramœcium*, d'après M. Fabre-Domergue (39); les *Euglènes*, d'après M. Klebs (31); enfin *Colpoda cucullus*, *Chilodon cucullulus* et *Vorticella nebulifera*, d'après les expériences citées plus haut (voir p. 550). Parmi ces espèces, les unes prirent la solution concentrée, les autres n'y paraissent pas sensibles.

Un autre fait curieux qui se dégage du tableau XIV, c'est que certains groupes et même certains genres (*Vorticella* et *Euglena*) renferment à la fois des espèces sensibles et d'autres

espèces insensibles à la concentration. Les *Vorticella sphaerica* et *V. putrinum*, qui toutes deux fuient la concentration, étaient des individus libres, pourvus de deux couronnes de cils. Les Vorticelles non excitables étaient, au contraire, attachées à leur pédicelle. On pourrait supposer à première vue que ces dernières paraissaient insensibles uniquement parce qu'elles ne pouvaient pas se détacher à volonté et qu'elles devaient nécessairement se laisser surprendre par la solution saline. Mais il est facile de les libérer en les secouant énergiquement. Elles nagent alors en tous sens, mais elles n'en sont pas moins incapables d'éviter la solution dangereuse. Tous les Hypotriches que j'ai examinés se sont montrés très sensibles à la concentration : ils restent à une plus grande distance des fragments salins que des Infusoires sensibles appartenant à d'autres ordres. Le *Paramecium aurelia* notamment se permet assez souvent une petite incursion dans les zones extrêmes de la solution saline, dans lesquelles, par suite de la diffusion, la concentration est moindre. Les Hypotriches évitent même ces liquides dilués.

Les Infusoires Ciliés qui pénètrent dans la solution concentrée ne tardent pas à présenter des modifications caractéristiques. Leurs allures deviennent anormales. Les *Vorticella nebulifera* et *V. sphaerica* nagent encore un certain temps en tous sens, mais leurs mouvements sont saccadés et incertains. Le *Colpoda cucullus* tourne sur place autour de son axe longitudinal. Le *Coleps hirtus* tombe immédiatement dans la portion déclinive de la goutte; ses battements ciliaires persistent, mais lents, irréguliers, et incapables de produire aucune translation de l'animal. Pendant ce stade, les Vorticelles et les Colpodes présentent déjà le ratatinement dû à la soustraction d'eau. Le plissement est irrégulier chez les premiers; il est antéro-postérieur chez les derniers. Quant aux *Coleps*, ils ne montrent jamais cette contraction plasmolytique.

Après être restés sous cette forme pendant quelques minutes, les Vorticelles et les Colpodes reprennent lentement leurs dimensions premières. Dès le début de l'augmentation de vo-

lume, le noyau est bien net, ce qui indique la mort de la cellule. La pénétration de l'eau continuant, le volume normal est bientôt dépassé, et l'on voit apparaître sur la cuticule une ou plusieurs petites hernies hyalines, affectant la forme sphérique. Ces sphères claires ont été observées par tous les auteurs qui se sont occupés des Infusoires Ciliés. M. Bütschli (40) les décrit longuement; je crois donc inutile d'y insister.

Le *Coleps hirtus* présente également ces sphères hyalines; mais, comme je l'ai dit plus haut, il ne subit pas le ratatinement.

Dans le tableau XIV, j'ai divisé les Infusoires Flagellés (*exclus.* Dinoflagellates) en incolores, verts et jaunes. Ce groupement a uniquement pour objet de mettre ensemble les espèces qui sont sensibles à la lumière (Flagellates verts et jaunes).

Parmi les espèces dépourvues d'une chromophylle quelconque, il n'en est qu'une que je n'aie pas encore étudiée : c'est le *Cephalothamnium cuneatum*. Il forme des colonies globuleuses sur les *Cyclops*. En secouant fortement ces derniers, les Flagellates se détachent, et les colonies se mettent à nager en tournoyant. Elles sont très sensibles à la concentration.

Des trois autres espèces, une seule présente de l'intérêt : lorsque le *Tetramitus rostratus* vient au contact de la solution saline, il exécute un mouvement de frayeur aussi marqué que celui des Infusoires les plus sensibles. Nous avons vu précédemment que cette espèce entre et vit parfaitement dans des solutions concentrées, lorsque le tube capillaire contient, outre le sel, un corps qui exerce une attraction chimique. Ces expériences contradictoires s'expliquent si l'on admet que tout en pouvant vivre dans des solutions concentrées, le *Tetramitus* préfère, *cæteris paribus*, les solutions faibles. Mais quand le premier de ces liquides renferme un corps qui l'attire fortement, le Flagellate surmonte sa répugnance pour la concentration, et pénètre dans cette solution qui, du reste, ne lui est pas mortelle. Dans les expériences faites avec un fragment de sel, le *Tetramitus* évite la solution saline où rien ne l'attire; lorsqu'on y ajoute une très petite quantité de carbonate de potassium ou de carbonate d'ammonium, il ne s'écarte plus.

Les Flagellates colorés sont les uns sensibles, les autres insensibles à l'excitant que nous étudions. Les recherches sur ces organismes doivent se faire à l'obscurité. Nous savons, en effet, par les travaux des botanistes et particulièrement de M. Strassburger (41) et de M. Engelmann (42), que ces organismes se dirigent vers le point le plus éclairé. Deux d'entre eux présentent un intérêt particulier à cause de leur affinité probable avec des Flagellates incolores : ce sont le *Chlamydomonas Pulvisculus* et le *Cryptomonas ovata*. D'après M. Cohn (38) et M. Schneider (43), le *Polytoma Uvella* ne serait qu'une espèce hyaline de *Chlamydomonas* (*Chl. hyalina* Cohn). M. Stein (44) suppose que le *Chilomonas Paramœcium* et le genre *Cryptomonas* auraient entre eux un rapport analogue. L'expérience montre que le *Chlamydomonas* coloré est sensible à la concentration et que son congénère hyalin ne l'est pas, tandis que chez les *Cryptomonas*, c'est l'hyalin qui est sensible et le coloré qui ne l'est pas. Ces résultats ne prouvent ni en faveur, ni en défaveur de l'affinité des espèces à chromatophores et des espèces incolores, puisqu'un genre voisin, *Euglena*, présente une espèce sensible et une autre insensible à la concentration.

L'*Euglena gracilis*, le *Chlamydomonas* et les *Trachelomonas*, qui sont doués à la fois de phototactisme et de tonotactisme, m'ont permis de faire une expérience curieuse sur l'action combinée des deux excitants. Je dispose la goutte de telle façon que la lumière y arrive par l'extrémité où se trouvent les fragments de sel soluble ; il suffit pour cela d'orienter le grand axe de la goutte parallèlement aux rayons incidents et de déposer les parcelles solubles à l'extrémité qui est tournée vers la lumière. Dans ces conditions, les Flagellates sont attirés par la lumière du côté de la solution concentrée. Au moment où ils touchent celle-ci, les *Chlamydomonas* se rejettent brusquement en arrière. Chez les *Euglena* et les *Trachelomonas*, la réaction est moins vive : ils côtoient un instant le liquide salin, puis s'en éloignent. Le résultat est le même dans les deux cas : les individus excités sont ramenés dans le liquide normal. Ils retombent alors sous l'influence exclusive de la lumière ; ils se rapprochent de nouveau

de la solution concentrée, la touchent et s'en éloignent pour la seconde fois. Après quelques va-et-vient, ils finissent toujours par se laisser surprendre : attirés par la lumière, ils s'aventurent dans la zone dangereuse et ne parviennent plus à en sortir.

La succession de phénomènes que je viens de décrire est celle qui s'observe lorsque la lumière a une intensité moyenne, telle que celle d'une lampe à pétrole à double courant d'air (lampe Sépulchre) éloignée de 40 à 50 centimètres. Pour une lumière plus forte, les mouvements de fuite sont moins marqués : l'attraction phototactique est alors de beaucoup supérieure à la répulsion tonotactique, et suffit pour vaincre presque instantanément cette dernière. Comme on peut faire varier à volonté la valeur de l'influence lumineuse tout en laissant à la répulsion tonotactique une valeur constante, on arrive facilement, en déplaçant la lampe, à rendre l'attraction inférieure à la répulsion : dès lors, les Flagellates ne vont plus se faire tuer par la solution saline. Ce résultat s'obtient en éloignant la source lumineuse de 2 mètres à 2,50 mètres. Mais cette lumière suffit encore à les attirer ; de sorte que les Flagellates s'accumulent tout autour de la solution. Examinée à l'œil nu, celle-ci montre un liseré vert. A mesure que la solution diffuse, ce liseré se déplace et il arrive un moment où la solution saline atteignant presque l'autre extrémité de la goutte, tous les individus se trouvent accumulés sur un très petit espace. Ainsi acculés, ils ne peuvent plus se soustraire par la fuite à la solution qui avance toujours, et ils meurent plasmolysés.

Si, au lieu de déposer le fragment sain à l'une des extrémités de la goutte, on le place au milieu, on constate encore que les Flagellates viennent butter contre la solution et qu'ils se retirent immédiatement ; seulement, la plupart parviennent à contourner l'obstacle et il se produit une accumulation notable à l'extrémité tournée vers la lumière.

En présence d'une lumière d'une intensité donnée, les quatre espèces de Flagellates verts que j'étudie en ce moment, ne montrent pas nécessairement les mêmes phénomènes tonotac-

tiques. Lorsqu'on fait un grand nombre d'expériences successives avec des lumières d'intensité graduellement décroissante, on observe que c'est en premier lieu le *Chlamydomonas Pulvisculus* qui parvient à se soustraire à la mort par plasmolyse : il évite déjà définitivement la solution concentrée quand les trois autres espèces s'y laissent encore prendre. Ce fait est dû ou bien à ce que la sensibilité lumineuse du *Chlamydomonas* est plus faible, ou bien à ce que sa sensibilité à la concentration est plus forte. La première hypothèse paraît bien improbable lorsqu'on tient compte de la vivacité avec laquelle il recherche le point le plus éclairé d'une préparation. La facilité relative avec laquelle il évite la concentration serait donc un effet de sa grande sensibilité à cet excitant.

J'ai eu l'occasion de faire quelques expériences du même genre, avec une espèce de *Chlamydomonas* que je n'ai pas déterminée. Au lieu de se diriger vers la lumière, ce Flagellate la fuit, son phototactisme est négatif. Il faut pour celui-ci retourner le dispositif que j'ai décrit plus haut, de telle sorte que la solution concentrée soit vers l'extrémité la plus éloignée de la lumière. Suivant l'intensité plus ou moins forte de celle-ci, le *Chlamydomonas* pénètre dans la solution ou l'évite absolument comme les espèces précédentes.

J'ai pu également faire quelques recherches sur l'influence simultanée de la sensibilité à la pesanteur et de la sensibilité à la concentration chez *Euglena gracilis* (pour la description de cette espèce, voir Klebs, 30). On sait depuis la publication du travail de M. Schwarz (45) que les Euglènes sont excitables par la pesanteur ; elles sont négativement géotactiques et s'éloignent du centre de la terre. J'ai employé la même méthode que cet auteur. Le liquide à Euglènes est mélangé à du sable et celui-ci est versé dans une éprouvette. Quand on laisse l'appareil dans une position verticale pendant 24 heures, on constate que les Euglènes qui étaient primitivement réparties dans toute la masse sont maintenant rassemblées à la partie supérieure de la colonne de sable. Si on place le tout à la lumière, les Flagellates se rapprochent de la face éclairée

tout en se maintenant dans les portions les plus élevées. Les choses se passent autrement lorsqu'au début de l'expérience, on a déposé à la surface libre du sable quelques fragments d'un sel soluble : alors les Euglènes ne s'élèvent pas aussi haut : elles s'arrêtent au niveau où elles arrivent au contact de la solution saline, et elles n'y pénètrent pas. Elles forment une couche sensiblement horizontale, qui extérieurement apparaît comme un anneau vert. Si l'on poursuit l'expérience pendant plusieurs jours, et qu'on a soin de remplacer au fur et à mesure le sel dissous, on observe que l'anneau vert descend de plus en plus jusqu'à ce qu'il atteigne enfin le fond du vase. Les Flagellates se retirent devant la solution qui gagne en diffusant des couches de plus en plus profondes. Ce mouvement de translation qu'effectuent les organismes montre qu'ils ne sont pas morts et partant qu'ils n'ont pas pénétré dans la solution concentrée. Une autre preuve de leur vitalité, c'est qu'ils sont restés sensibles à la lumière : lorsque des rayons lumineux unilatéraux frappent l'éprouvette, on voit l'anneau vert se rompre et tous les individus se porter vers le côté le plus éclairé.

Cette expérience montre que le géotactisme de l'*Euglena gracilis* n'atteint pas une valeur suffisante pour surmonter son tonotactisme. Il serait intéressant de répéter à ce point de vue, les expériences que M. Schwarz a faites avec la force centrifuge.

Les Infusoires Flagellés qui entrent dans une solution concentrée subissent bientôt le ratatinement plasmolytique. Mais la mort de l'animal et la pénétration d'eau qui lui succède tendent ordinairement à se produire. Le *Polytoma*, les *Euglena*, le *Chlamydococcus* et le *Glenodinium* peuvent garder pendant des heures leur aspect contracté. Seul le *Cryptomonas* présente une mort assez rapide. Peu de temps après la plasmolyse, on voit le corps augmenter de volume. Les deux chromatophores apparaissent avec une netteté bien plus grande que pendant la vie et on perçoit clairement leur teinte jaune. Puis le corps diffuse, et les chromatophores gonflent jusqu'à perdre entièrement leur forme.

L'irritabilité de certains Infusoires par la concentration permet de rassembler sur un très petit espace tous les individus sensibles qui se trouvent dans un liquide donné, ou bien de tuer tous ceux qui ne sont pas sensibles. En se basant sur l'inégale sensibilité de la concentration du *Chlamydomonas Pulvisculus* et de l'*Euglena gracilis* on peut tuer tous les derniers et ne conserver vivants que les premiers. Lorsqu'un liquide renferme en petite quantité des Infusoires sensibles qu'on veut faire servir à d'autres études, il suffit de verser le liquide dans un vase allongé et peu profond et de déposer à l'une des extrémités quelques cristaux d'un sel soluble. Tous les animaux se rassemblent à l'autre bout où il est facile de les pêcher avec une pipette. Veut-on se débarrasser des espèces non sensibles, on agit de même ; elles se feront tuer par la concentration, tandis que les autres se rassemblent dans le liquide de culture resté normal.

Lorsque cette méthode est employée avec un peu d'habileté, elle fournit pour la récolte des Infusoires un moyen d'une application très aisée.

BIBLIOGRAPHIE.

1. W. PFEFFER. *Osmotische Untersuchungen*. Leipzig, 1877.
2. HUGO DE VRIES. *Untersuchungen über die mechanischen Ursachen der Zellstreckung*. Leipzig, 1877.
3. — *Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft*. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik. Bd. 14, 1884.
4. N. J. C. MÜLLER. *Botanische Untersuchungen*. Bd. 1, Heft 2, 1872.
5. FÉLIX PLATEAU. *Recherches physico-chimiques sur les Articulés aquatiques*, 1^{re} partie. Mémoires couronnés et mémoires des savants étrangers, publiés par l'Académie de Belgique. Tome 36, 1870. (Les conclusions de ce mémoire ont été reproduites sous le titre : *Influence de l'eau de mer sur les animaux d'eau douce et de l'eau douce sur les animaux marins*, dans les Comptes rendus de l'Académie des Sciences de Paris. Tome 97, p. 467, 1883.)
6. PAUL BERT. *Sur la cause de la mort des animaux d'eau douce qu'on plonge dans l'eau de mer et réciproquement*. Comptes rendus de l'Académie des Sciences de Paris. Tome 73, p. 382 et 464, 1871.
7. — *Sur les phénomènes et les causes de la mort des animaux d'eau douce qu'on plonge dans l'eau de mer*. Comptes rendus de l'Académie des Sciences de Paris. Tome 97, p. 133, 1883.
8. H. DE VARIGNY. *Influence exercée par les principes contenus dans l'eau de la mer sur le développement des animaux d'eau douce*. Comptes rendus de l'Académie des Sciences de Paris. Tome 97, p. 54, 1883.
9. H. EMERY. *Notes physiologiques*. 1^o *De l'absorption cutanée chez les Batraciens*. Annales des sciences naturelles. Zoologie. 5^e série, tome 12, p. 305, 1869.
10. HAMBÜRGER. *Untersuchungen über den Einfluss chemischer Verbindungen auf Blutkörperchen im Zusammenhange mit ihren Moleculargewichten*. Archiv für Anatomie und Physiologie. Physiologische Abtheilung. 1886.
11. — *Ueber die durch Salz- und Rohrzucker-Lösungen bewirkten Veränderungen in Blutkörperchen*. Ibid., 1887.

12. W. PFEFFER. *Locomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize*. Untersuchungen aus dem Botanischen Institut zu Tübingen. Bd. 1, p. 363, 1884.
13. — *Ueber chemotactische Bewegungen von Bacterien, Flagellaten und Volvocineen*. Ibid. Bd. 2, p. 582, 1888.
14. HUGO DE VRIES. *Ueber den isotonischen Coëfficient des Glycerins*. Botanische Zeitung, nos 15 et 16, 1888.
15. — *Ueber die Permeabilität der Protoplaste für Harnstoff*. Botanische Zeitung, nos 19 et 20, 1889.
16. H. MAGAARD. *Ueber das Secret und die Secretion des menschlichen Thränendrüse*. Virchow's Archiv. Bd. 89, 1882.
17. H. BEAUNIS. *Nouveaux éléments de Physiologie humaine*. 3^e édition, Paris, 1888.
18. G. KLEBS. *Beiträge zur Physiologie der Pflanzenzelle. 1. Ueber die Zellhaut*. Untersuchungen aus dem Botanischen Institut zu Tübingen. Bd. 2, p. 489, 1888.
19. CERTES. *Sur un procédé de coloration des Infusoires et des éléments anatomiques pendant la vie*. Comptes rendus de l'Académie des Sciences de Paris. Tome 92, no 8, 1881. Ce travail a été reproduit avec une notice complémentaire dans *Zoologischer Anzeiger*. Tome 4, p. 209, 1881.
20. W. PFEFFER. *Ueber Aufnahme von Anilinfarbe durch lebende Zellen*. Untersuchungen aus dem Botanischen Institut zu Tübingen. Bd. 2, p. 179, 1886.
21. P. FRANCOTTE. *Manuel de technique microscopique*. Paris, 1886.
22. H. DE VRIES. *Sur la perméabilité du protoplasme des betteraves rouges*. Archives néerlandaises, Vol. 6, 1871.
23. W. PFEFFER. *Ueber Oxydationsvorgänge in lebenden Zellen*. Berichte der Deutsche Botanische Gesellschaft. Bd. 75, H. 2, p. 82, 1889.
24. JANSE. *Plasmolytische Versuchen an Algen*. Botanisches Centralblatt, Bd. 32, n. 40, 1887.
25. A. WIJELER. *Plasmolytische Studien mit unverletzten phanerogamen Pflanzen*. Berichte des Deutschen Botanischen Gesellschaft. Bd. 5, p. 275, 1887.
26. LÉON FRÉDÉRICQ. *Composition saline du sang et des tissus de animaux marins*. Livre jubilaire de la Société de Médecine de Gand, 1884.
27. — *La lutte pour l'existence chez les animaux marins*. Paris, 1889
28. A. DE LAPPARENT. *Traité de Géologie*. Paris, 1883.

29. M. SCHMANKEWITSOH. *Ueber das Verhältniss des ARTEMIA SALINA Miln.-Edw. zur ARTEMIA MÜLLHAUSENII Miln.-Edw, und dem Genus BRANCHIPUS Schæff.* Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie. Bd. 25 (Supplementband), p. 193, 1875.
30. — *Zur Kenntniss des Einflusses der äusseren Lebensbedingungen auf die Organisation der Thiere.* Ibid. Bd. 29, p. 429, 1877.
31. G. KLEBS. *Ueber die Organisation einiger Flagellatengruppen.* Untersuchungen aus dem Botanischen Institut zu Tübingen. Bd. 1, 1883.
32. HUGO DE VRIES. *Plasmolytische Studien über die Wand der Vacuolen.* Jahrbücher für wissenschaftl. Botanik. Bd. 16, 1885.
33. W. PFEFFER. *Pflanzenphysiologie.* Bd. 1, *Stoffwechsel.* Leipzig, 1881.
34. SAVILLE KENT. *A Manual of Infusoria.* London, 1880.
35. DOUGLAS H. CAMPBELL. *The Staining of living Nuclei.* Untersuchungen aus dem Botanischen Institut zu Tübingen. Bd. 2, p. 569, 1888.
36. TH.-W. ENGELMANN. *Bacterium Photometricum.* Ein Beitrag zur vergleichenden Physiologie des Licht- und Farbensinnes. Pflüger's Archiv. Bd. 30, p. 95, 1883.
37. — *Les Bactéries pourprées et leurs rapports avec la lumière.* Archives néerlandaises. T. 23, p. 151, 1889.
38. F. COHN. *Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der mikroskopische Algen und Pilze.* Nov. Act. Acad. Cæs. Leop. Carol. Bd. 24, 1854.
39. FABRE-DOMERGUE. *Recherches anatomiques et physiologiques sur les Infusoires Ciliés.* Annales des sciences naturelles, Zoologie. 1^{re} série, t. 5, 1888.
40. O. BÜTSCHLI. *Protozoa in "Bronn's Klassen und Ordnungen des Thierreichs."* 2^{te} Auflage.
41. ED. STRASSBURGER. *Wirkung des Lichtes und der Wärme auf Schwarmsporen.* Iena, 1878.
42. TH.-W. ENGELMANN. *Ueber Licht- und Farbenperception niederster Organismen.* Pflüger's Archiv. Bd. 29, 1882.
43. SCHNEIDER. *Beiträge zur Naturgeschichte der Infusorien.* Müller's Archiv für Anatomie und Physiologie, 1854.
44. STEIN. *Der Organismus der Infusionsthier.* 3^{te} Abtheilung.
45. FR. SCHWARZ. *Der Einfluss der Schwerkraft auf die Bewegungserscheinungen von Chlamydomonas und Euglena.* Berichte der Deutsche Botanische Gesellschaft. Bd. II, p. 51, 1884.