

# Études sur la composition chimique de l'œuf et de ses enveloppes chez la grenouille commune.

## I. Sur l'enveloppe muqueuse de l'œuf.

Par le

**Dr. Piero Giacosa.**

---

(Der Redaktion zugegangen am 4. September 1882).

Les études des corps vivants qu'on comprend aujourd'hui sous la dénomination appropriée d'études biologiques ont suivi deux phases bien distinctes: dans la première on s'occupait presque exclusivement de la forme, de la structure et des modifications qu'elles subissent dans les diverses périodes du développement, ou dans la manifestation des activités organiques, ou des fonctions de la vie: dans la deuxième phase l'esprit de recherche aiguë par les connaissances acquises, s'est dirigé non plus à la forme et au phénomène extérieur, mais à la cause intime qui le produit, ou au moins à l'étude des modifications matérielles, profondes et invisibles de qui dépendent les manifestations apparentes de la vie. En un mot, la morphologie dans toute l'acception de ce mot, a précédé la vraie chimie et physique physiologique.

Cette loi générale du développement scientifique se trouve admirablement confirmée dans l'histoire des études embryologiques. Nos connaissances sur beaucoup de points de l'évolution morphologique des animaux sont très anciennes, et les dernières études ont ajouté un matériel si détaillé et si complet, que l'on peut considérer la morphologie embryologique comme une des sciences les plus avancées parmi celles qui ont trait avec la biologie. Considérons au contraire

le côté chimique de cette science; il est évident que toutes nos connaissances peuvent aisément tenir place en deux ou trois pages, et que l'obscurité la plus complète règne encore sur la plus grande partie des phénomènes.

Les œufs des batraciens ont été dès longtemps l'objet d'études sérieuses et poursuivies, études qui ont éclairé beaucoup de points obscurs d'embryologie. Ils doivent cette préférence à la facilité qu'on a de se les procurer, à la possibilité de les conserver frais et vivants dans des conditions qu'on peut aisément réaliser, enfin à leurs dimensions et à leur transparence. Je n'ai pas l'intention d'énumérer ici tous les auteurs qui ont publié des travaux sur cet argument: pour cela je renvoie le lecteur à l'excellent traité d'embryologie comparée du regretté professeur J. Maitland Balfour de l'université de Cambridge, si tôt enlevé à la science sur les glaciers de nos alpes. Dans la suite de ce mémoire j'indiquerai les auteurs qui se sont occupés d'arguments ayant directement rapport avec la matière que je traite.

On sait que les grenouilles pondent des œufs qui sont entourés d'une substance muqueuse, transparente, molle et élastique qui a extérieurement la forme d'une sphère. Cette substance entoure l'œuf à sa sortie de la cloaque de la femelle, et c'est à travers d'elle que doivent passer les némaspermes du mâle, qui féconde les œufs en les arrosant de liqueur séminale au fur et mesure qu'ils sont émis par la femelle.

Pour étudier cette enveloppe glaireuse il faut choisir la *Rana temporaria* dont les œufs sont plus volumineux et par suite plus riches de cette substance<sup>1)</sup>: cette espèce en

<sup>1)</sup> Voyez à ce propos une excellente monographie du professeur Lessona dans laquelle les caractères spécifiques des batraciens piémontais et beaucoup de détails sur leur développement et sur leurs habitudes sont donnés avec beaucoup de soin. *Studi sugli anfibi anuri del Piemonte.* — *Memoria del prof. M. Lessona.* — *Reale accademia dei Lincei.* Anno CCLXXIV (1876—1877), Roma, coi tipi del Salviucci.

Piémont pond les œufs dans les premiers jours du printemps c'est-à-dire vers la moitié du mois de mars.

Les œufs que j'ai étudiés avaient précisément été pondus dans le réservoir du laboratoire de physiologie de l'université de Turin, du 15 au 20 mars, et se présentaient sous l'aspect de masses volumineuses et tremblotantes composées d'une foule de petites sphérules adhérentes les unes aux autres de façon à simuler comme une énorme grappe; chaque sphérule avait de 7 à 8 mm. de diamètre, le centre était occupé par une masse ronde noirâtre dont les dimensions étaient de 2 à 3 mm. et qui constituait l'œuf proprement dit. Plus tard, vers la moitié d'avril, ayant eu besoin de me procurer la même substance glaireuse pour mes études, je dus en chercher dans les étangs qui se trouvent dans la campagne aux environs de Turin. Mais je ne pus y trouver que des œufs de la grenouille d'eau (*Rana exculenta*) qui sont beaucoup plus petits, plus pauvres en substance mucilagineuse, et très difficiles à avoir purs, parce qu'ils sont déposés au fond des étangs adhérents aux filaments, aux branches, aux herbes et aux débris de toute sorte qui s'accumulent dans ces endroits.

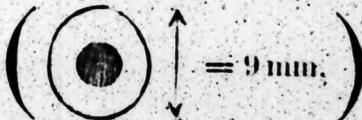
Une des propriétés les plus saillantes de cette substance mucilagineuse est celle d'absorber de grandes quantités d'eau et de se gonfler; les œufs immédiatement après avoir été émis par la femelle sont beaucoup plus petits qu'après deux ou trois heures et l'accroissement de leur dimensions est dû entièrement à la zone transparente qui les entoure: si à une grenouille on extrait artificiellement les œufs par les cloaques, on en retire une masse composée de globules noirs enveloppés d'une couche transparente très mince, et ce n'est qu'après un séjour de quelques heures dans l'eau que l'œuf a acquis son maximum de volume.

Ce phénomène est très bien décrit dans la monographie de Roesel<sup>1)</sup> à la page 7:

<sup>1)</sup> *Historia naturalis Ranarum nostralium, cum prefatione Alberti von Haller, edidit accuratissime iconibus ornavit August. Johann. Ruessel von Rosenhof. Norimbergæ, Typis J. J. Fleischmann, 1758.*

«Simul ac excreta sunt, (ova) in fundum aquae subsidunt, cohesione eorundem haud soluta: non autem ita multo post increscit illorum albumen sensim sensimque, vitello pristinam formam retinente, atque hinc obtinet quodlibet eorum, spatio quatuor horarum formam figuræ septimæ

( = 7 mm. ) ; elapsis autem octo horis in multo majorem

expanduntur molem, quam octava figura ( = 9 mm. )

indicat; sed aucta sic mole leviora etiam redduntur ita, ut omnia simul, quippe etiam nunc coherentia, ab aqua eleventur ipsique innatent: quod si vero frigida forte ingruat nox diutius etiam in fundo morantur».

Tous les auteurs qui se sont occupés de cet argument ont observé ce fait du gonflement de l'enveloppe glaireuse de l'œuf de grenouille; Rusconi le décrit dans son célèbre mémoire: Sur le développement de la grenouille depuis le moment de sa naissance jusqu'à son état parfait<sup>1)</sup> en ces termes: «L'ovule est enveloppé tout autour d'une substance glaireuse, qui absorbe l'eau et se gonfle, de manière que les germes qui à leur sortie sont adossés l'un à l'autre, se trouvent une heure après la ponte éloignés l'un de l'autre, et chacun d'eux paraît comme renfermé dans une sphère de cristal très transparente». Mais la véritable signification de ce fait et son importance pour le développement de l'œuf furent reconnues par Prévost et Dumas qui en 1824 dans leur Deuxième mémoire sur la génération (Annales des sciences naturelles, T. 2, p. 100) ont démontré que, pendant leur imbibition par l'eau, les œufs se laissent pénétrer sans difficulté par les matières colorantes dissoutes, et même par des corps solides (animalcules spermatiques); et ce passage des nemaspermes à travers l'enveloppe muqueuse gonflée a été de nouveau constaté et décrit par Newport<sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> Milan MDCCCXXVI. — Chez Paolo Emilio Giusti, imprimeur et fondeur.

<sup>2)</sup> On the impregnation of the Ovum in the Amphibia (second

Si on laisse séjourner longtemps des œufs de grenouille non-fécondés dans l'eau à la température ordinaire, pendant les premiers jours on n'observe aucune modification, mais au bout d'une semaine les œufs qui sont à la surface sont devenus moins viscidés, moins adhérents les uns aux autres de sorte qu'on ne peut plus les prendre et les retirer en masse du vase ou ils sont immergés comme il arrive pour ceux qui sont profonds. Le vitellus de ces œufs se déforme et on voit quelque petite bulle gazeuse à sa surface emprisonnée comme lui par l'enveloppe muqueuse ramollie. Si l'on continue à conserver les œufs, la liquéfaction de l'enveloppe muqueuse continue encore; mais même après six semaines et par une température de 15° à 20° on n'observe encore la complète dissolution de l'enveloppe et la mise en liberté des globules noirs des vitellus. La masse répand une légère odeur nauseabonde, mais ni sa réaction (neutrale), ni les autres caractères n'annoncent point une véritable et franche décomposition par putréfaction comme cela arriverait avec d'autres substances animales. En effet, même après deux mois, on peut encore par les réactifs appropriés extraire de ces œufs la même substance et à peu près dans la même quantité que fournissent les œufs frais.

En un mot, la substance glaireuse qui enveloppe l'œuf de la grenouille résiste longtemps à la putréfaction; j'ai pu constater ce même fait en mélangeant des œufs avec un liquide où j'avais suspendu du pancréas finement haché, et qui était en pleine putréfaction. Les œufs séjournèrent du 16 avril au 10 mai dans ce liquide qui fourmillait de bactéries et qui répandait une odeur repoussante, et malgré cela ils avaient encore leur enveloppe muqueuse (légèrement colorée en jaune rougeâtre par imbibition) et une fois lavés ils n'envoyaient point d'odeur putride.

La résistance de l'enveloppe muqueuse des œufs de grenouille à la putréfaction n'est point partagée par le

vitellus de l'œuf: j'ai dit qu'au bout de quelque jours on le voyait au centre de l'œuf, déformé, et accompagné de quelques bulles gazeuses. Prévost et Dumas<sup>1)</sup> après avoir parlé du ramolissement du mucus décrivent cette altération du contenu de l'œuf. Rusconi au contraire<sup>2)</sup> qui n'a pas observé assez exactement ce phénomène affirme que, «lorsque la température de l'eau est un peu élevée, le glaire dont les œufs sont enveloppés passe vite à la fermentation, et l'air qui s'en dégage restant attaché en partie au glaire rend celui-ci spécifiquement moins pesant, de manière que toute la masse des œufs vient à la surface». Cet air, qui selon Rusconi, se dégage du glaire, pourrait très bien être formé en partie de ces bulles qui se soulèvent incessamment du fond des marais et qui restent emprisonnées par les œufs et en partie par l'air de petites bulles, dont la formation à l'intérieur de l'œuf provient de la décomposition du vitellus de l'œuf même.

Pour isoler de l'œuf la substance glaireuse de l'enveloppe, j'ai cherché un réactif capable de la dissoudre. Ce réactif est l'eau de chaux saturée. En y immergeant les œufs et en agitant de temps en temps on peut voir qu'au bout de 12 ou 15 heures les vitellus sont tombés au fond soit entiers, soit sous la forme de petites granulations noirâtres, tandis que le liquide surnageant a acquis une couleur opaline et est devenue légèrement trouble. Je séparais par décantation le liquide du dépôt du fond: ce dernier fera l'objet d'études spéciales sur lesquelles je reviendrai dans une autre partie de ce travail. Quant au liquide, mes essais pour le filtrer ne m'ont conduit à aucun bon résultat; ou bien la filtration s'interrompait après quelques gouttes, et cela même en filtrant avec la pompe, ou bien le liquide filtré ne contenait aucune substance dissoute. Je pris donc le parti de couler la solution alcaline de l'enveloppe muqueuse des œufs à travers un linge fin. J'obtins de cette façon une bouillie sémi-transparente, qui ne contenait plus de trace de granulations noirâtres, et qui était plus ou moins gluante et

<sup>1)</sup> Loco citato.

<sup>2)</sup> Loco citato pag. 5, nota.

filante selon la quantité d'eau de chaux employée. Traitée par l'acide acétique 10% la solution donnait un précipité abondant, à flocons, dont la couleur et la structure dépendaient de la quantité d'eau de chaux employée et du temps qu'elle avait été en contact avec les œufs. Si l'eau de chaux était en proportion trop petite (p. ex. 0,5 solution  $\text{Ca}(\text{OH})^2$  : 1 œuf) et si le contact des deux substances avait été court (6—8 heures) les flocons obtenus par l'acide acétique étaient volumineux, grisâtres, et s'attachaient à la baguette de verre avec laquelle j'agitai le liquide. Si on prenait plus d'eau de chaux, et si on la laissait plus longtemps en contact avec les œufs, la dissolution de l'enveloppe se faisait mieux, et l'on obtenait une solution, qui traitée par l'acide acétique, précipitait en menus flocons parfaitement blancs, qui ne s'attachaient point à la baguette et qui peu à peu tombaient au fond du récipient et étaient surmontés par le liquide absolument transparent. Naturellement c'est ce mode de traitement que je choisis, car il me donnait évidemment la substance dans l'état le plus pur.

Pour obtenir ce résultat on peut prendre deux parties en poids d'eau de chaux pour une d'œuf, et les laisser en contact 24 heures. Les flocons furent lavés d'abord par décantation avec de l'eau légèrement acidulée par l'acide acétique, puis par de l'eau distillée. Enfin rassemblés sur un filtre on les lava avec de l'eau contenant 0,5% d'acide acétique, ayant observé que par les lavages à l'eau pure ils finissaient par se gonfler, obstruaient les pores du filtre, ce qui empêchait la filtration, et ne pouvaient plus se détacher du papier.

La précipitation en flocons peut s'obtenir aussi en employant de l'alcool au lieu de l'acide acétique : toutefois je n'eus recours à ce dernier que pour laver la substance floconneuse sur le filtre après l'avoir traitée avec l'eau acidulée.

Les essais faits pour redissoudre cette substance floconneuse dans l'eau de chaux, ou dans d'autres solutions alcalines ne m'ayant donné de bons résultats, je me décidais à la soumettre directement à l'analyse après l'avoir purifiée par les extractions avec l'alcool et l'éther dans l'appareil de Drechsel, et séchée à  $110^\circ$  jusqu'à poids constant.

Elle se présentait alors sous la forme d'une poussière brunâtre qui se dissolvait assez facilement dans l'eau en lui communiquant la propriété de devenir filante. Brulée sur la lame de platine elle repandait une forte odeur de corne brulée et laissait un dépôt insignifiant de cendres; examinée qualitativement elle indiquait la présence de traces de soufre.

La combustion a été pratiquée dans un tube en verre rempli de chromate de plomb; le dosage de l'azote a été fait par la méthode de Dumas en recueillant le gaz dans l'azotomètre de Schiff.

0,3224 gr. de substance bien séchée donnèrent 0,6230 gr. de  $\text{CO}^2$  et 0,2084 gr.  $\text{H}_2\text{O}$ ; d'où l'on déduit C, 52,7%; H 7,18%.

0,1665 gr. même substance donnèrent 14,8 cc. Az à la pression de 743 mm. Hg et à la température de 17°  
Az = 9,33%.

0,2284 gr. de la même substance donnèrent 0,4446 gr.  $\text{CO}^2$  et 0,1483 gr.  $\text{H}_2\text{O}$ ; C = 53,09%; H = 7,21%.

0,2350 gr. de la même substance donnèrent 19,2 cc. Az à la pression de 743,7 mm. et à la température de 18,5°  
Az = 9,15%.

0,3525 gr. de la même substance donnèrent 0,0331 gr.  $\text{BaSO}_4$  ce qui donne 1,32% de soufre.

Cette substance contient 0,62% de cendres.

Il résulte des détails que je viens de donner sur les propriétés générales de la substance de l'enveloppe mucilagineuse des œufs de grenouille, sur sa préparation et sur les données numériques fournies par son analyse que cette substance est de la mucine.

Je n'insisterai donc pas sur ses réactions pour ne pas répéter ce que les auteurs ont dit à propos de cette substance; qu'il me suffise de dire qu'elle ne diffère en rien sous ce rapport d'aucune des autres mucines connues.

Les chiffres que j'ai trouvé pour la mucine de l'œuf de grenouille concordent assez avec celles trouvées par Scherer<sup>1)</sup>,

<sup>1)</sup> Cité dans la Physiologische Chemie de Hoppe-Seyler, p. 95.

par Obolensky<sup>1)</sup>, et dernièrement par Landwehr<sup>2)</sup>; l'azote seulement montre des différences et se rapproche des valeurs données par Eichwald et Hilger:

	Scherer.	Obolensky.	Landwehr.	Giacosa.	Giacosa.	Eichwald.	Hilger.
C	52,17	52,2	53,09	52,7	53,09	48,9	48,8
H	7,01	7,2	7,6	7,1	7,21	6,8	6,9
N	12,64	11,5	13,8	9,33	9,15	8,5	8,8
S	—	—	1,1	1,32	—	—	—
Cendres	—	—	—	0,62	—	—	—

Il faut remarquer que toutes ces analyses ont trait à des mucines d'une provenience diverse. Celle de Scherer a été extraite d'une kyste entre l'œsophage et la trachée, celle d'Obolensky provient de la glande submaxillaire du veau, celle de Landwehr de la bile du bœuf, celle d'Eichwald des escargots de vigne et celle de Hilger de la peau des Olothuries. Ces deux dernières sont celles qui pourraient raisonnablement laisser soupçonner la présence de substances étrangères et surtout d'hydrates de carbone, comme l'a déjà fait remarquer Landwehr dans son mémoire cité plus haut.

La mucine des œufs de grenouille partage avec les mucines connues la propriété d'être insoluble même dans un excès d'acide acétique et de se dissoudre dans les acides minéraux. Quand elle se trouve à l'état primitif (comme enveloppe de l'œuf) elle se dissout aisément dans les alcalins. Une fois précipitée par l'acide acétique elle ne s'y redissout plus avec la même facilité. La forme et la rapidité de sa séparation de la solution alcaline au moyen de l'acide acétique dépendent beaucoup de la dilution de la solution: si celle-ci est très diluée et que la mucine y soit bien dissoute et non seulement suspendue, elle se précipite lentement en

<sup>1)</sup> Mediz. chem. Unters. herausgeg. v. F. Hoppe-Seyler, p. 590.

<sup>2)</sup> Untersuchungen über das Mucin der Galle und das der Submaxillardrüse, Zeitschr. f. Physiol. Chemie, Bd. V, S. 371.

petits flocons parfaitement blancs: si la solution est concentrée, la mucine se sépare en masses grisâtres qui s'attachent à la baguette de verre. Landwehr qui a confirmé l'observation ancienne de Berzelius que la mucine précipitée par l'alcool se transforme, après un séjour prolongé dans ce réactif, en albumine coagulée, admet qu'une transformation analogue (en albuminate alcalin ou albuminose de Wurtz) a lieu en traitant la mucine (de la bile) par l'eau de chaux. Il a dissout de la mucine dans de l'eau de chaux demi-saturée et mesura plusieurs portions de 100 cent. cub. chacune. La première à été précipitée immédiatement et fournit 0,169 gr. de mucine, la seconde après 20 heures ne donna plus que 0,123 gr. 27% de moins: la troisième, au troisième jour, ne donna aucun précipité par l'acide acétique.

Je n'ai pas pu observer le même fait pour ma mucine. Elle est beaucoup plus résistante à l'action d'eau de chaux, quoique je l'aie toujours employée saturée. Voici le résultat de mes déterminations, la première desquelles a l'avantage en même temps de faire connaître la quantité de mucine contenue dans 100 gr. d'œufs de grenouille frais.

100 gr. d'œufs de grenouille frais furent mis le 3 avril dans 250 cc. d'eau de chaux saturée: le 4 la solution étant complète on précipita par l'acide acétique 0,3647 gr. de mucine: le même jour on prépara d'autres portions de 100 gr. des mêmes œufs et on ajouta la même quantité d'eau de chaux:

Au bout de	5 jours	on trouva	0,3664 gr.	de mucine
«	20 «	«	0,2794	«
«	30 «	«	0,2390	«

Comme on voit la mucine disparaît bien réellement dans mes expériences, mais beaucoup moins rapidement que dans les expériences de Landwehr.

Cette résistance à l'action de l'eau de chaux est d'autant plus remarquable qu'elle se manifestait dans une saison qui, à Turin, est relativement chaude, de sorte qu'on ne peut ici trouver la même explication que propose Landwehr pour expliquer la discordance des résultats d'Eichwald et de Jernström à propos de la mucine du cordon ombélical.

La mucine fraîche entourant l'œuf de la grenouille se montre réfractaire à la putréfaction, comme le démontrent les observations que j'ai communiqué avant; ce résultat est très remarquable aussi. On sait en effet que la mucine (celle des escargots) est capable de putréfier. G. Wälchli<sup>1)</sup> élève de Nencki a préparé la mucine de l'*Helix pomatia* par la méthode connue; après l'avoir mélangée avec de l'eau et une petite quantité de pancréas de bœuf il la laissa à une température de 35° à 40°; au bout de neuf jours toute la masse était dissoute, et on put en isoler du skatol, de l'indol du phénol et des quantités notables d'ammoniaque et d'acide butyrique. Je ne puis douter de l'exactitude des résultats obtenus par Wälchli, ni qu'il n'ait employé de la vraie mucine: je crois plutôt que le désaccord dans nos résultats provient de l'état moléculaire de la substance employée: j'ai pu constater que dans la masse des œufs que j'avais simplement laissé exposés à l'air, à la température ordinaire, ou que j'avais soumis à l'action de petites quantités de pancréas, il existait de nombreuses colonies de micrococcus et de bactéries: seulement ces organismes étaient adhérents à la surface extérieure de la couche muqueuse et ne pouvaient la pénétrer. Le mucus naturel gonflé et imbibé d'eau opposerait-il une résistance mécanique à la pénétration des microbes et à leurs mouvements, résistance qui dans l'expérience de Wälchli ne serait pas opposée par la mucine en masses sèches qui se dissout peu à peu dans l'eau?

Il paraît que Hoppe-Seyler partage cette manière de voir, car il écrit à la page 275 de son *Traité de chimie physiologique*: «Das Mucin wird durch Fäulniss, wie es scheint, nicht angegriffen».

On sait que tous les auteurs qui se sont occupés de la mucine ont constaté qu'elle donne par l'ébullition avec l'acide sulphurique dilué une substance réduisant énergiquement les sels de cuivre: une substance de la même nature a été obtenue par Wälchli en soumettant la mucine à la

<sup>1)</sup> Journal für praktische Chemie, N. F. Bd. 17, S. 71—78.

putréfaction. La seule mucine de la bile selon Landwehr, peut être bouillie pendant plusieurs heures avec de l'acide sulphurique 1% sans donner lieu à la formation de la substance réductrice.

J'ai constaté à plusieurs reprises que la mucine des œufs de grenouille traitée par l'eau bouillante, soit telle quelle, soit après avoir été obtenue en flocons de la solution alcaline ne réduit point les sels cuivriques. Mais une ébullition de peu de minutes avec un peu d'acide sulphurique dilué suffit pour obtenir une forte réduction avec dépôt abondant d'oxyde cuivreux. La liqueur traitée par l'acide sulphurique étant neutralisée par la soude, il se précipite une substance amorphe grisâtre que je n'ai pas pu examiner et qui serait une syntonine selon les auteurs. La liqueur filtrée et évaporée jusqu'à consistance sirupeuse répandait une odeur sensible de caramel, en la séchant complètement il resta une masse brunâtre, que je dissous dans de l'alcool à chaud et que je filtrai: après avoir évaporé l'alcool j'obtins de nouveau un sirop incristallisable doué d'une odeur de caramel et d'un goût sucré très sensible, mais qui ne fermenta nullement une fois mis en contact avec de la bonne levure active.

Je me propose de revenir sur ce dédoublement de la mucine sous l'action de l'acide sulphurique. Je ne peux pas encore considérer cette question comme résolue, comme le voudrait M. Landwehr, et je partage l'opinion de M. Hammarsten qui écrit dans son mémoire sur la metalbumine et paralbumine, publié dans la «Zeitschrift für physiologische Chemie», vol. VI., à page 205: «ich muss also diese Frage noch als eine offene bezeichnen».

M. Landwehr croit que la substance réductrice ne soit pas un produit de dédoublement de la mucine, mais le résultat de l'action de l'acide sulphurique sur un glycogène qui accompagne la mucine même; mais les arguments qu'il invoque en faveur de son opinion sont loin d'être probants; du fait que la glande parotide, sans contenir de la mucine, traitée par l'acide sulphurique donne une substance réductrice on ne peut logiquement déduire que la mucine contienne un

glycogène: de même parce que en laissant plusieurs jours la mucine sous l'acide acétique dilué, on observe que le liquide a acquis un pouvoir réducteur, on ne peut pas en déduire que la mucine ne se soit pas modifiée. M. Landwehr même nous le dit: après avoir affirmé que «das betreffende Mucin hatte sich scheinbar gar nicht verändert,» il ajoute: «ich fand es aber schwefelreicher als das Mucin gleich nach der Ausfällung,» ce qui semble indiquer qu'elle s'était bien modifiée. La seule conclusion logique à tirer de cette dernière observation de M. Landwehr est qu'on modifie la mucine et l'on en obtient une substance réductrice, rien qu'en la laissant quelques jours sous l'acide acétique. Tout ceci n'a rien d'extraordinaire; n'a-t-il pas observé en effet que l'alcool transforme peu à peu la mucine en albumine coagulée, et que l'eau de chaux même diluée décompose cette même mucine en albuminose? Ni l'un ni l'autre sont des réactifs très puissants.

M. Landwehr plus tard<sup>1)</sup> a isolé un glycogène de la mucine de l'*Helix pomatia* et a constaté qu'avec l'acide sulfurique il donne du sucre de raisin: mais il est évident que la méthode de préparation du glycogène décompose en même temps la mucine, qui au lieu de fournir directement la substance réductrice, se dédouble en albumine et en un hydrate de carbone capable d'acquies la propriété réductrice par l'action des ferments ou des acides dilués.

Quel est en effet son procédé pour obtenir l'achrooglycogène comme il appelle ce nouveau hydrate de carbone? Il à recours à une solution de hydrate de potassium du 5 au 10%: c'est, comme on le voit, un réactif bien plus puissant que ceux qu'il avait reconnu comme suffisants pour transformer la mucine en d'autres substances.

Les expériences de M. Landwehr ont donc pour moi une signification différente de celle que cet auteur voudrait leur donner. Tant qu'on ne pourra séparer l'hydrate de carbone de la mucine sans la décomposer, je ne croirai pas

<sup>1)</sup> Untersuchungen über das Mucin von *Helix pomatia* und ein neues Kohlenhydrat (Achrooglycogen) der Weinbergschnecke. Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VI, S. 74.

résout la question dans le sens de M. Landwehr et je penserais toujours que la mucine sous l'action de l'eau à 100° ou des alcalis se décompose en donnant un glycogène (achrooglycogène) et sous celle des acides (organiques ou inorganiques) se décompose en donnant lieu à un hydrate de carbone doué du pouvoir réducteur. C'est aux expériences de M. Landwehr qu'on est redevable de connaître la première de ces deux manières de décompositions de la mucine.

Après en avoir isolé la mucine j'ai voulu rechercher dans la solution de l'enveloppe des œufs de grenouille d'autres substances et surtout des albuminoïdes. A cet effet j'ai précipité la chaux par l'oxalate d'ammonium, la liqueur filtrée et neutralisée fut concentrée au bain marie, et après refroidissement on y fit passer un courant de  $\text{CO}_2$  sans obtenir aucun dépôt de globulines. Même résultat négatif en immergeant dans le liquide un gros cristal de chlorure de sodium. Tous les réactifs qui servent à faire reconnaître l'albumine donnent le même résultat. Je n'affirme pas absolument qu'il n'existe pas traces d'autres albuminoïdes avec la mucine dans l'enveloppe de l'œuf de grenouille, mais je crois qu'elles sont minimales et ne peuvent être reconnues avec de petites quantités d'œufs.

La liqueur de laquelle on a précipité la mucine, et séparé le chaux ne renferme aucune substance réductrice. On peut donc admettre *que l'enveloppe de l'œuf de la grenouille est faite de mucine pure.*

Quel est le rôle que joue la couche de mucine qui entoure l'œuf? Ce rôle est multiple: nul doute d'abord qu'elle ne serve à fixer les œufs aux substances submergées en les empêchant de la sorte d'être entraînées par le courant: nul doute aussi que dans le cas où la masse des œufs subit des mouvements, elle ne serve à les protéger des chocs qui pourraient détruire l'embryon. Ce sont là des faits, qui ont été déjà observés par tous ceux qui se sont occupés de cet argument. Mais on ne se fait pas une idée exacte de l'in-

fluence protectrice de cette enveloppe si on la considère seulement sous le point de vue purement mécanique: la résistance de la mucine à la putréfaction permet à l'œuf de se développer même dans une eau pourrie, dans laquelle l'œuf seul périrait sûrement. Dans le cours de mes expériences j'eus l'occasion d'observer une action encore plus étonnante, due à cette mucine.

Ayant plongé plusieurs œufs de grenouille dans de l'acide acétique concentré cristallisable, je remarquai que l'enveloppe muqueuse se retraicissait et se réduisait à l'épaisseur d'une membrane mince qui entourait le centre noir de l'œuf. Ayant laissé ces œufs quelques jours dans l'acide acétique, je fus étonné au troisième ou quatrième jour de voir un petit têtard mort au fond du verre. Ayant alors examiné de près les œufs, je pus voir qu'ils s'étaient développés protégés par le mucus semi-coagulé et je remarquai les mouvements des petits têtards qui cherchaient à percer l'enveloppe. Un de ces têtards ayant réussi dans son entreprise, je le vis tomber comme foudroyé au même moment où il vint en contact avec l'acide.

Rusconi<sup>1)</sup> avait déjà démontré que dans la première phase du développement de l'œuf, la présence de l'enveloppe muqueuse n'est pas nécessaire. En effet le rôle de cette substance est complètement étranger aux évolutions qui se passent dans le vitellus de l'œuf. Mais plus tard la chose change: quand le têtard a quitté son enveloppe et celle-ci tombe en lambeaux au fond du récipient, elle a encore un rôle à remplir. Si l'on observe les jeunes têtards on verra qu'ils se réunissent autour de ces débris transparents et qu'ils en mangent avidement. C'est là même la première nourriture de ces jeunes animaux. On voit souvent les têtards

---

<sup>1)</sup> Rusconi, loc. cit. p. 8: Les deux sacs (qui entourent l'œuf) et la matière glaireuse ne paraissent avoir d'autre usage que de garantir le germe des petits choes. qui pourraient nuire à son développement, car si on le dépouille de ses enveloppes et si on le place dans un verre de montre, son évolution continue tout de même et n'en est pas retardée.

mordre aux enveloppes des œufs qui ne se sont pas développés et les dévorer à belle dent.

Roesel a observé très bien ce fait et le décrit à la page 7 de son ouvrage classique: «Apparebant tunc quoque nutriri eos<sup>1)</sup> em<sup>1)</sup> liquore illo viscido quo ambiebantur»; et plus loin: «enatabant interdum pernici motu liquorem illum versus quem deliquerant, eique tanquam laticinio suo, quo nutriebantur, crebrius adherescentes».

A la page 57 à propos de la *Rana esculenta* (qu'il appelle *Rana aquatica* par opposition alla *Rana terrestris* qui est la *Rana temporaria*) il affirme avoir vu les têtards (après avoir mangé *reliqua illa glutinosa materia que antea ova circumfuderat*) nager dans l'eau comme s'ils cherchaient un autre aliment. On voit donc que la mucine représente pour l'œuf un protecteur et pour l'embryon un aliment. C'est surtout ce dernier rôle qui est intéressant et plus étrange et que je tiens à signaler aux physiologistes, car on sait que la mucine n'est pas modifiée par le suc gastrique ni par le suc pancréatique<sup>2)</sup> et est considérée comme une des substances les plus réfractaires à la digestion.

On sait que l'œuf de la grenouille ne se revêt de son enveloppe muqueuse qu'en traversant l'oviducte: j'ai donc recherché dans l'oviducte cette même substance. Quoique mes études à ce propos ne soient pas encore terminés, je crois devoir donner ici les résultats auxquels je suis arrivé.

L'oviducte de la grenouille (je parle ici de la *Rana esculenta* sur laquelle j'ai fait mes observations) se présente sous la forme d'un cordon jaunâtre, qui se trouve de chaque côté de la colonne vertébrale, et qui à l'époque de la ponte des œufs forme de nombreuses circonvolutions qui sont maintenues réunies par une membrane connective très délicate. Le contenu de l'oviducte est une masse blanchâtre, qui se présente comme une pâte finement grenue: examinée au microscope on y voit disséminés dans une substance fondamentale amorphe ou finement ponctuée de nombreux

<sup>1)</sup> Vermiculos seu gyrinos.

<sup>2)</sup> Voyez Hoppe-Seyler: Physiologische Chemie, S. 207.

corpuscules fusiformes brillants. Si on laisse les oviductes quelques heures dans l'eau, ils l'absorbent, se gonflent énormément, deviennent transparents et en quelques endroits montrent des déchirures dans la paroi, qui a cédé à la pression intérieure. En diluant avec de l'eau et en malaxant cette masse volumineuse et comme visqueuse, on obtient une solution claire, filante, qui a toutes les propriétés d'une solution de mucine, et dans laquelle nagent les débris de la membrane qui formait l'enveloppe des oviductes.

Si au lieu de les traiter par une quantité plus grande d'eau on traite les oviductes gonflés par de l'eau de chaux, on observe que leur contenu s'y dissout peu à peu, et on peut de cette façon séparer les débris qui s'y trouvent mélangés.

L'acide acétique ajouté à la solution filtrée en fait précipiter en flocons une substance blanchâtre qui ne se redissout pas dans un excès du réactif. J'ai séparé cette mucine, je l'ai purifiée exactement comme j'ai fait pour la mucine de l'œuf: voici les résultats de la seule analyse que j'ai entreprise jusqu'à présent.

0,2146 gr. mucine donnèrent 0,4012 gr.  $\text{CO}^2$  et 0,1399 gr.

$\text{H}^2\text{O}$ . C = 50,98%. H = 7,24%.

0,2200 gr. même mucine donnèrent 14 cc. Az à la pression de 745 mm. Hg et à la température de 20°. Az = 6,679%.

On voit que la substance que j'obtins diffère assez par la composition de celle qui forme l'enveloppe de l'œuf de grenouille. Probablement elle n'était pas assez pure. Je signalerai encore ce fait, que la substance de l'oviducte délayée et bouillie dans l'eau ne réduit pas la liqueur de Fehling: mais la réduction a lieu après l'avoir traité à chaud avec l'acide sulfurique dilué.

L'oviducte frais contient 91,8% d'eau: si on lui fait perdre toute son eau en le séchant à 100° jusqu'à poids constant, immergé dans l'eau il s'y comporte comme un oviducte frais.

Laboratoire de physiologie de l'université de Turin, section chimique.