ANNALES SCIENTIFIQUES DE L'É.N.S.

E. DUCLAUX

Recherches sur la respiration et l'asphyxie de la graine de vers à soie

Annales scientifiques de l'É.N.S. 1^{re} série, tome 6 (1869), p. 85-109

http://www.numdam.org/item?id=ASENS_1869_1_6__85_0

© Gauthier-Villars (Éditions scientifiques et médicales Elsevier), 1869, tous droits réservés.

L'accès aux archives de la revue « Annales scientifiques de l'É.N.S. » (<http://www.elsevier.com/locate/ansens>) implique l'accord avec les conditions générales d'utilisation (<http://www.numdam.org/conditions>). Toute utilisation commerciale ou impression systématique est constitutive d'une infraction pénale. Toute copie ou impression de ce fichier doit contenir la présente mention de copyright.

NUMDAM

Article numérisé dans le cadre du programme
Numérisation de documents anciens mathématiques
<http://www.numdam.org/>

RECHERCHES
SUR
LA RESPIRATION ET L'ASPHYXIE
DE
LA GRAINE DE VERS A SOIE,

PAR M. E. DUCLAUX,

PROFESSEUR SUPPLÉANT DE CHIMIE A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE CLERMONT-FERRAND.

Je me suis proposé, dans ce travail, d'étudier quelques-unes des questions physiologiques qui se rattachent à l'industrie de la soie. Malgré son importance, cette industrie est restée jusqu'à ce jour à peu près exclusivement fondée sur l'empirisme et la routine, et l'absence de documents théoriques pouvant servir de base à des prévisions et à des raisonnements s'est surtout fait sentir au moment où l'épidémie, qui depuis vingt ans désole nos contrées séricicoles, a pris des proportions telles qu'il a fallu songer à la combattre sérieusement. La science s'est alors trouvée à peu près désarmée, et la pressante nécessité d'un remède l'ayant forcée depuis lors à s'occuper davantage de la pratique que de la théorie, il en est résulté que si elle possède aujourd'hui contre la maladie actuelle l'excellent moyen prophylactique sorti des remarquables travaux de M. Pasteur, elle se verrait obligée, contre une maladie nouvelle, à recommencer de nouvelles études, accompagnées des mêmes difficultés. Et ce n'est pas seulement pour l'industrie de la soie qu'il en est ainsi. La situation est à peu près la même pour toutes celles dont la matière première est un de ces êtres vivants,

animaux ou végétaux, que la progression toujours croissante de nos besoins nous force à produire en quantités de plus en plus considérables. De là l'utilité de multiplier dans les temps calmes les travaux théoriques, qui doivent devenir, pour ainsi dire, les travaux de la paix, et qui ne demandent heureusement pas pour être exécutés l'habileté consommée et le génie d'invention qui doivent y présider dans les temps de crise.

La science séricicole s'est pourtant enrichie dans ces dernières années d'un grand nombre de travaux, parmi lesquels je citerai surtout les remarquables études de statique chimique publiées par M. Peligot. Mais je ne connais pas de recherches suivies faites sur la graine de vers à soie, dont l'importance commerciale est devenue, depuis quelque temps, extrêmement grande, et dont la bonne ou mauvaise manipulation a sur le succès de l'éducation l'influence la plus incontestable. J'ai donc cru qu'il n'était pas inutile d'étudier la respiration de cette graine. Je l'ai fait en me plaçant le plus possible au point de vue théorique, mais en négligeant pourtant et remettant à plus tard les questions incidentes qui me paraissent avoir moins d'intérêt au point de vue pratique.

I. — *Respiration de la graine de vers à soie.*

La graine sur laquelle j'ai opéré avait été faite par moi-même l'année dernière, dans le Puy-de-Dôme, et provenait de vers qui jusqu'à la fin s'étaient montrés très-vigoureux et très-sains, et avaient donné des papillons dont aucun n'était corpusculeux. Des essais préliminaires ayant montré que la respiration de ces œufs, qui consiste comme à l'ordinaire en une absorption d'oxygène et une exhalation d'acide carbonique, était très-lente, je me suis contenté pour l'étudier de renfermer la graine dans des flacons bouchés dont j'analysais l'air au bout de quelque temps. C'était m'éloigner un peu des conditions physiologiques, mais c'était rendre aussi l'étude plus facile et plus rapide. Nous verrons du reste plus tard que l'asphyxie n'a pas sur les graines l'influence qu'elle aurait sur des êtres plus élevés en organisation.

Je me suis assuré, d'ailleurs, que pourvu qu'on ait la précaution de

ne pas laisser trop longtemps les graines séjourner dans un même volume d'air, leur respiration ne diffère pas beaucoup de la respiration normale. En abandonnant, en effet, pendant le même temps un même poids de graine dans des flacons de capacité différente, on constate que la quantité d'oxygène transformé est d'autant plus grande que le flacon est plus grand, ce qui prouve que dans les petits la graine sent dès les premiers moments l'effet de l'asphyxie, mais la différence n'est pas grande, ainsi que le montrent les tableaux suivants :

Graine âgée de 3 jours, 1 jour de respiration.

Volume du flacon.	Oxygène transformé.	Acide carbonique produit.
cc	cc	pour 100.
16,0	1,4	8,57
80,0	2,2	2,85
133,0	2,6	1,83

Graine âgée de 2 jours, 1 jour de respiration.

Volume du flacon.	Oxygène transformé.	Acide carbonique produit.
cc	cc	pour 100
16,0	2,7	16,33
133,0	3,9	2,58

Le premier tableau montre que tant qu'on ne dépasse pas 3 ou 4 pour 100 d'acide carbonique, la respiration reste à peu près normale, mais qu'à 8 pour 100 d'acide carbonique, elle perd un peu de son activité. Toutefois, ce ralentissement n'est pas aussi complet qu'on pourrait le croire, puisque dans le second tableau, où la graine du premier flacon a vécu dans un air renfermant à la fin 16 pour 100 d'acide carbonique, l'activité de sa respiration, mesurée par la quantité d'oxygène transformé, n'est pas devenue deux fois plus faible que dans l'autre flacon, où la quantité d'acide carbonique n'ayant pas dépassé 3 pour 100, la respiration était restée à peu près normale.

Les graines ont donc, en même temps, une assez grande sensibilité vis-à-vis de l'asphyxie, et une assez grande force de résistance contre ses effets. Nous verrons cette conclusion se corroborer dans la suite de ce travail. Pour le moment, on voit que l'on peut se contenter, pour

étudier la respiration de la graine, de la renfermer dans des flacons dont on étudie l'air au bout d'un temps plus ou moins long. C'est ce que j'ai fait en me servant de flacons de 16 centimètres cubes environ, où j'introduisais 1 gramme de graine.

Ce procédé opératoire m'obligeait, il est vrai, à négliger entièrement la question de l'absorption ou du dégagement d'azote pendant la respiration. Mais d'autres expériences, dont je citerai plus bas quelques-unes, m'ayant montré que ce dégagement d'azote, s'il existait, était très-faible, je l'ai supposé nul, et j'ai toujours admis implicitement que le volume primitif de ce gaz n'avait pas varié.

J'ai négligé aussi comme ne pouvant empêcher mes résultats d'être comparables entre eux sous le rapport de la quantité de graine mise en action, les pertes de poids que cette graine éprouve en vieillissant. Voici celles qu'a subies la mienne, pesée le lendemain de la ponte :

Age de la graine.	Perte pour 100.
2 jours	0,16
3 »	0,40
5 »	0,74
9 »	1,14
18 »	1,57
31 »	2,36
2 mois	3,10
5 $\frac{1}{2}$ »	4,40
7 »	4,50
9 $\frac{1}{2}$ » (mise à l'éclosion).....	6,10
3 jours après	8,00
Veille de l'éclosion	14,60

La perte reste, comme on le voit, à peu près stationnaire pendant longtemps, et ne devient guère sensible qu'au voisinage de l'éclosion, au moment où le ver se forme dans l'œuf, dont il n'occupe plus à la fin que la périphérie. Mais jusqu'alors la variation de poids est de peu d'importance et à peu près constante, je l'ai négligée, et ai toujours introduit dans mes flacons le même poids, savoir : 1 gramme de graine.

Une influence beaucoup plus importante à bien connaître était celle de la température sur l'activité de la respiration. J'ai cherché à la me-

surer à diverses époques, je l'ai toujours trouvée très-marquée. Je donnerai seulement deux expériences qui le démontrent :

Graine âgée de 22 jours, 4 jours de respiration.

	Température = 30°	Température = 15°
Acide carbonique.....	9,05	3,86
Oxygène.....	11,11	14,58
	<hr/> 20,16	<hr/> 18,44

Graine âgée de 7 mois, 1 mois de respiration.

	Température = 16°	Température = 3°,5
Acide carbonique.....	19,15	10,52
Oxygène.....	0,60	4,51
	<hr/> 19,75	<hr/> 15,03

L'action puissante de la température, mise en évidence par ces résultats, devait évidemment venir compliquer l'étude que je voulais faire des variations normales de l'activité respiratoire de la graine à diverses époques entre sa ponte et son éclosion. J'aurais pu séparer les deux effets, celui de l'âge et celui de la température, en maintenant cette dernière constante. J'ai préféré les laisser réunis, et étudier la graine conservée dans les conditions normales. Elle datait des premiers jours d'août. Je l'ai laissée pendant tout ce mois dans le local où elle avait été faite, à une température qui a été malheureusement toujours trop élevée, attendu qu'elle a varié entre 20 et 24 degrés. Puis la graine a été transportée dans un caveau sec et bien aéré, où la température s'est abaissée en hiver jusqu'à 4 degrés. Au printemps, elle a été conservée dans une cave fraîche jusqu'au moment d'être mise à l'éclosion. A diverses époques, j'introduisais 1 gramme de cette graine dans un flacon de 16 centimètres cubes, que j'abandonnais à lui-même et dont j'analysais l'air après un temps variable.

Voici le tableau qui rassemble les résultats obtenus :

AGE de la graine.	TEMPS de la respiration.	TEMPÉRATURE.	ACIDE CARBONIQUE produit.	OXYGÈNE restant.	SOMME.
	jours	°			
1 jour.	1	21	5,17	12,71	17,88
2 »	1	21	12,46	8,08	20,54
3 »	1	20,5	9,65	11,03	20,68
4 »	1	20	4,50	15,91	20,41
6 »	1	21	2,14	17,14	19,28
7 »	2	21	4,22	15,84	20,06
13 »	2	21	4,25	15,60	19,85
23 »	2	20	2,56	16,49	19,05
1 mois.	2	21	1,78	17,14	18,92
2 »	6	20	5,07	13,04	18,11
3 »	6	16	4,17	13,20	17,37
5 »	10	11	1,46	15,22	16,68
7 »	20	7	7,41	8,15	15,56
9 »	7	8	6,59	10,76	17,35
Veuille de l'éclosion.	1	28	17,70	0	17,70

Enfin, pour relier autant que possible la respiration de la graine à celle des vers qui en proviennent, j'ai introduit le lendemain de l'éclosion 240 milligrammes = 470 vers, dans un flacon de 26 centimètres cubes. Au bout de vingt-quatre heures ils étaient tous morts, l'air renfermant 18,82 pour 100 d'acide carbonique et pas d'oxygène.

Envisagés d'une manière générale, les nombres que renferme ce tableau montrent que la respiration ne se fait pas avec la même intensité à toutes les époques. Très-active au moment de la ponte, elle s'affaiblit peu à peu jusqu'en décembre ou janvier, où elle présente un minimum. Puis a lieu une espèce de réveil de la graine engourdie, et la respiration va en s'accélégrant jusqu'à l'éclosion. Remarquons pourtant qu'on ne saurait considérer la puissance de cette fonction comme proportionnelle, soit à la quantité d'oxygène consommé, soit à la quantité d'acide carbonique produit, et cela à cause du phénomène d'asphyxie qui commence presque dès les premiers moments, et suspend d'autant plus la respiration que l'air ambiant est déjà plus vicié. Nous verrons bientôt

comment il est possible de faire sortir de ce tableau, malgré cette circonstance, la marche réelle de l'activité respiratoire pendant toute la vie de la graine.

Mais nous pouvons déjà en tirer plusieurs renseignements utiles. Il montre d'abord que l'activité respiratoire de la graine, quoique subissant l'influence de la température, n'est pourtant pas uniquement commandée par elle. Ainsi sept mois après la ponte, c'est-à-dire au mois de mars, et malgré l'action d'une température de 7 degrés, la respiration a été plus active qu'en janvier, où pourtant la température était de 11 degrés. D'un autre côté, dans les deux premiers mois, et malgré l'action à peu près constante d'une température de 20 degrés, la respiration a été en diminuant graduellement d'intensité.

L'hibernation de la graine paraît donc être un phénomène normal, indépendant jusqu'à un certain point de l'abaissement de température. C'est, du reste, un fait important et que nous retrouverons tout à l'heure.

La respiration des trois jours qui suivent la ponte mérite encore de fixer l'attention. Elle est, comme on voit, très-active, et, en outre, le troisième jour, elle passe par un maximum. Or, corrélativement à sa marche, se développe le phénomène bien connu du changement de couleur de la graine, dont la teinte d'abord jaune clair passe au jaune rougeâtre, puis à la couleur café au lait, puis à la couleur lie de vin, qu'elle conserve jusqu'à l'éclosion. Ce changement a été surtout sensible sur ma graine du second au troisième jour, c'est-à-dire au moment où la respiration a été le plus active.

De plus, à partir du moment où le changement de couleur de la graine devient sensible à l'œil, et pendant qu'il dure, le volume de l'acide carbonique produit égale à peu près le volume d'oxygène disparu, tandis qu'à toutes les autres époques il en diffère de 2 à 5 pour 100. On pourrait considérer cet effet momentané comme dû à la superposition de deux phénomènes, la respiration de la graine se faisant comme à l'ordinaire, avec disparition apparente d'une portion de l'oxygène, et le changement de couleur de l'enveloppe, qui serait une véritable combustion de carbone seul, et dont l'action prédominante ferait disparaître la diminution d'oxygène due à la respiration. Cette conclusion serait naturelle si l'on trouvait pendant toute la vie de la graine un rapport à peu près constant entre le volume de l'acide car-

bonique produit et le volume de l'oxygène absorbé. C'est à quoi il serait naturel de s'attendre, la graine étant toujours en apparence semblable à elle-même, à l'abri des effets d'une alimentation variée, de l'état de digestion ou d'abstinence. Mais on voit qu'il n'en est pas ainsi, et que le rapport de ces deux volumes de gaz est variable aux diverses époques. Il n'est même pas constant à un moment donné, et les expériences sur l'action de la température rapportées plus haut montrent qu'il est toujours plus voisin de l'unité avec la chaleur qu'avec le froid. Nous verrons en outre tout à l'heure qu'il varie pour une même graine avec le degré de l'asphyxie auquel elle est soumise. Il est donc inutile de considérer dans la vie de la graine deux périodes différentes entre elles par la valeur de ce rapport, d'autant mieux que le tableau ci-dessus montre qu'elles passent insensiblement l'une à l'autre. On voit, en outre, si les autres animaux ressemblent pour la respiration à la graine de vers à soie, ce qui n'est pas improbable, combien il est vain de chercher à établir chez eux un rapport constant entre le volume de l'oxygène absorbé et le volume d'acide carbonique produit.

En résumé, la respiration de la graine présente deux périodes d'activité, séparées entre elles par une période d'hibernation normale et physiologique. Il était naturel de penser que la force de résistance aux agents extérieurs devait être très-différente aux différents âges, c'est ce que je me suis proposé de rechercher en commençant par l'étude de l'influence de l'asphyxie, et en passant ensuite à celle de la température.

II. — *Influence de l'asphyxie.*

Pour suivre autant que possible la progression des effets de l'asphyxie, j'enfermais un gramme de graine dans plusieurs flacons de capacité à peu près égale que je reprenais ensuite, un à un, à des intervalles différents, pour en analyser l'air : chaque lot de graine était ensuite soigneusement débarrassé du mercure avec lequel il avait été forcément en contact, et conservé pour être élevé à côté de graine normale qui n'avait subi aucun traitement.

J'ai commencé par étudier la graine au moment de la ponte, en l'en-

fermant vingt-quatre heures après dans des flacons de 16 centimètres cubes, dont le premier a été ouvert le lendemain, et les autres de jour en jour. Voici les résultats obtenus :

AOUT. — *Lendemain de la ponte.*

TEMPS de la respiration.	TEMPÉRATURE.	ACIDE CARBONIQUE produit.	OXYGÈNE restant.	SOMME.
Jours	°			
1	21	5,17	12,71	17,88
2	21	18,96	»	18,96
3	20	21,08	»	21,08
4	20	21,20	»	21,20
7	20	22,00	»	22,00

On voit qu'au bout de deux jours tout l'oxygène a déjà disparu, et la graine en absorbe les dernières portions avec une telle puissance, qu'on peut se servir d'œufs de vers à soie au lieu d'acide pyrogallique pour faire une analyse d'air. Il suffit, après mesure du volume d'air dans un tube gradué, d'y faire passer à travers le mercure une petite ampoule ouverte à l'une de ses extrémités légèrement effilée et remplie de graine bien tassée. L'oxygène de l'air se transforme peu à peu en acide carbonique. On l'absorbe si l'on veut au fur et à mesure avec quelques gouttes d'une dissolution de potasse, qui, grâce à l'ampoule, ne touche pas les graines. L'absorption terminée, on fait la lecture sur l'eau, à travers laquelle l'ampoule tombe entraînant avec elle les graines et la faible quantité d'azote qu'elle avait emportée dans l'air à analyser. Il y a une erreur qui tient à l'oxygène primitivement contenu aussi dans l'ampoule, mais elle est très-faible, et on trouve par ce procédé, en somme grossier comme manipulation, des nombres qui varient entre 20,3 et 20,7 d'oxygène. Mais ces expériences démontrent aussi que s'il se dégage de l'azote, c'est en proportions très-faibles, et c'est pour cela que j'ai tenu à en parler.

Le tableau ci-dessus montre, en outre, que si tout l'oxygène est déjà absorbé au bout de deux jours, la vie de la graine n'est pas pour cela

interrompue, et qu'elle continue à dégager de l'acide carbonique jusqu'à égaler et même dépasser le volume primitif de l'oxygène. Je reviendrai tout à l'heure sur ce fait. J'en conclus seulement maintenant que la graine a résisté à l'asphyxie au moins jusqu'au quatrième jour. Un autre phénomène sensible à l'œil conduit à la même conclusion. Les graines, qui, au moment où on les a mises dans le flacon, étaient encore jaunes, ont bientôt commencé à changer; mais, une fois tout l'oxygène absorbé, leur couleur est restée stationnaire jusqu'au moment où le flacon a été ouvert. Celles des trois premiers flacons ont alors continué à subir leurs transformations normales. Pour le quatrième, quelques-unes, au lieu de changer de teinte et de rester turgescentes, se sont aplaties et sont mortes. Pour le cinquième, toutes les graines ont péri. On doit en conclure qu'à ce moment de leur existence elles ne résistent pas à l'asphyxie plus de deux ou trois jours.

Elles résistent encore moins la veille de l'éclosion, et douze heures de séjour dans un air privé d'oxygène suffisent alors pour tuer le ver déjà formé dans l'œuf. L'organisme de ce ver a pourtant encore assez de puissance, comme nous l'avons vu, pour aller chercher dans l'air les dernières traces de gaz respirable.

Restait à savoir la force de résistance entre ces deux époques. J'ai pour cela soumis la graine à l'asphyxie à trois moments différents. D'abord en août, vingt jours après la ponte, c'est-à-dire au moment où l'activité respiratoire va en décroissant de jour en jour; puis en hiver, au 10 janvier, où cette activité est voisine du minimum; enfin au 27 avril, époque où elle recommence à augmenter. Voici les résultats trouvés: Pour le mois d'août, les expériences I à IV ont été faites dans des flacons de 13 centimètres cubes, les autres dans des flacons de 17 centimètres cubes: les expériences IV et V, faites le même jour, servant de transition. Pour janvier et avril, tous les flacons étaient de 16 centimètres cubes.

AOUT. — *Age de la graine, 20 jours.*

EXPÉ- RIENCES.	TEMPS de la respiration.	TEMPÉRATURE.	ACIDE CARBONIQUE produit.	OXYGÈNE restant.	SOMME.
I	jours 2	22°	4,30	14,40	18,70
II	4	23	7,00	9,40	16,40
III	6	23	11,40	4,10	15,50
IV	8	23	14,30	1,30	15,60
V	8	23	11,00	4,80	15,80
VI	10	22,5	13,20	1,70	14,90
VII	14	22	16,30	»	16,30
VIII	20	23	18,72	»	18,72

10 JANVIER. — *Age de la graine, 5 mois et demi.*

EXPÉ- RIENCES.	TEMPS de la respiration.	TEMPÉRATURE.	ACIDE CARBONIQUE produit.	OXYGÈNE restant.	SOMME.
I	jours 5	10°	0,00	18,30	18,30
II	10	11	1,46	15,22	16,68
III	15	9	3,00	14,23	17,23
IV	30	9	7,91	6,47	14,38
V	45	8,5	12,68	0,74	13,42
VI	50	10	13,79	»	13,79
VII	55	12	15,07	»	15,07
VIII	65	11	15,30	»	15,30

27 AVRIL. — *Age de la graine, 9 mois.*

EXPÉ- RIENCES.	TEMPS de la respiration.	TEMPÉRATURE.	ACIDE CARBONIQUE produit.	OXYGÈNE restant.	SOMME.
I	jours 7	8°	6,59	10,76	17,33
II	18	10	17,37	»	17,37

Le phénomène est encore le même qu'après la ponte. L'oxygène disparaît peu à peu, sans être remplacé par un égal volume d'acide carbonique, et la disproportion est même d'autant plus grande que l'asphyxie dure plus longtemps. Puis, une fois l'oxygène disparu, la vie ne cesse pas pour cela, et la graine dégage encore pendant longtemps de l'acide carbonique. Ce phénomène se présente même avec un tel caractère de constance et de régularité, qu'il mérite de fixer l'attention.

Il est évident que, au moins pour la graine de vers à soie, on n'a pas le droit de conclure que la portion de l'oxygène disparu que l'on ne retrouve pas dans l'acide carbonique formé est entrée dans des combinaisons non gazeuses. On voit qu'une partie au moins, sinon tout, s'unit d'une manière instable avec les tissus de la graine, et sert à sa respiration lorsque déjà tout celui qui existait à l'état libre a disparu. Maintenant, faut-il admettre pour la graine deux modes de respiration, suivant qu'il y a de l'oxygène libre ou qu'il n'y en a pas. N'est-il pas plus naturel de penser que, dans un cas comme dans l'autre, la graine respire non par l'oxygène libre, mais par celui qui est fixé sur ses tissus, qui s'y renouvelle constamment, et qu'elle ménage d'autant plus qu'elle en trouve moins autour d'elle pour le remplacer? Si elle n'en trouve plus, elle vit aux dépens de ce qui lui reste, et la mort survient si on ne lui permet pas de renouveler son approvisionnement (1).

Cette manière de concevoir le phénomène est d'accord avec ce que nous allons voir tout à l'heure de la dégradation insensible des effets produits sur ces divers lots de graine par l'asphyxie, et de l'absence complète de saut brusque correspondant au moment où tout l'oxygène a disparu. La respiration de la graine ne serait plus alors un phénomène purement chimique, une simple combustion de tissus, mais une fonction complexe, une résultante de trois phénomènes principaux (d'un côté, la fixation de l'oxygène sur les tissus; de l'autre, la formation, puis l'exhalation de l'acide carbonique), qui seraient, en vertu de leur nature

(1) En d'autres termes, tout se passe comme s'il y avait dans la graine une matière analogue au sang des animaux supérieurs. Ce qui confirme cette manière de voir, c'est qu'en broyant de la graine, on en tire un liquide visqueux qui absorbe rapidement l'oxygène. Dans une expérience, 4 centimètres cubes de ce liquide, laissés trois heures dans un flacon de 20 centimètres cubes, y avaient absorbé 0^{cc}, 4 d'oxygène et exhalé 0^{cc}, 2 d'acide carbonique.

différente, diversement influencés par les circonstances au milieu desquelles ils se produisent, et dont les plus importantes seraient l'état chimique des tissus, la composition de l'air ambiant, la température. De telle sorte, on pourrait avoir comme dans l'expérience I de janvier, rapportée ci-dessus, absorption d'oxygène sans exhalation d'une quantité *sensible* d'acide carbonique, soit production d'acide carbonique sans absorption d'oxygène, comme cela arrive toujours à la fin de l'asphyxie.

Instinctivement, on rapproche ce dernier fait du fait à peu près identique observé par W. Edwards sur divers animaux qui, plongés dans l'azote ou l'hydrogène pur, n'en donnent pas moins de l'acide carbonique. Si l'assimilation de la graine aux autres êtres était admise, les deux faits auraient la même explication. Cette assimilation ne paraît pas hasardée quand on songe que beaucoup de phénomènes observés sur les autres animaux existent aussi pour la graine. Ainsi on retrouve dans les tableaux précédents ce que MM. Allen et Pepys (*Philosophical Transactions*, 1803) ont observé pour l'homme, à savoir : que, dans les circonstances défavorables à la respiration, l'absorption d'oxygène est plus sensible. Dans son beau travail sur la respiration, M. Regnault a montré que chez les marmottes le rapport entre l'oxygène contenu dans l'acide carbonique et l'oxygène consommé dans la respiration diminuait pendant l'état d'hibernation. La graine est dans le même cas que le montre le tableau de la page 90.

Enfin, comme nouvelle ressemblance qui nous ramène directement à l'objet de nos études, M. Regnault a constaté que les marmottes résistent beaucoup mieux à l'asphyxie à l'état d'engourdissement qu'à l'état d'activité normale. Les tableaux ci-dessus montrent qu'il en est de même pour la graine qui peut vivre pendant 10 jours en août, pendant 20 jours en décembre, dans un air dont elle a au préalable absorbé tout l'oxygène. Nous verrons en effet tout à l'heure que la graine n'est pas morte dans ces conditions, et sa force de résistance contre l'asphyxie ne laisse pas que d'avoir quelque chose de surprenant quand on songe combien, au début de cette étude, nous l'avons trouvée sensible à cette influence. Mais ces deux propriétés, loin de se contredire, s'expliquent l'une l'autre. C'est parce que la graine suspend sa respiration, la modèle pour ainsi dire sur le degré de viciation de l'air ambiant, qu'elle peut résister.

Cette respiration modérée conserve pourtant toujours assez de puissance pour aller chercher les dernières traces d'oxygène dans l'air, et, comme l'expérience suivante le montre, elle est toujours prête à reprendre son activité première dès que les circonstances extérieures deviennent favorables.

Le 20 août, je pèse deux lots de 1 gramme de graine pondue le 28 juillet. L'un de ces lots est laissé à l'air, l'autre asphyxié pendant 6 jours dans un flacon de 16 centimètres cubes. Au bout de ce temps, on introduit rapidement les deux lots dans deux flacons égaux de 16 centimètres cubes, dont on analyse l'air au bout de 4 jours. Celui où avaient respiré les graines asphyxiées au préalable pendant 6 jours avait la composition suivite :

Acide carbonique.....	6,47
Oxygène.....	12,95
	<hr/> 19,42

Pour l'autre, on a trouvé :

Acide carbonique.....	6,03
Oxygène.....	13,12
	<hr/> 19,15

Une asphyxie de 6 jours n'avait donc nullement affaibli les graines, et leur activité respiratoire au sortir de cet état était au moins aussi grande, sinon plus, qu'à l'état normal.

Je dis sinon plus, parce qu'il est évident qu'il y a des moments où on peut réaliser ce fait paradoxal, que de la graine au sortir de l'asphyxie respire plus activement que si elle n'avait pas été asphyxiée. Il suffit de se rapporter aux résultats précédents pour s'en convaincre. Si, par exemple, on suspend un ou deux jours, au moyen de l'asphyxie, le changement de couleur des graines au second jour de leur existence, et qu'on compare leur respiration pendant qu'elles traversent ensuite cette période d'activité respiratoire énergique, à celle des graines qui l'ont déjà traversée, on trouve, et l'expérience vérifie, que l'avantage est du côté des graines asphyxiées. Le même fait peut se reproduire pendant tout le temps où l'activité respiratoire est en décroissance.

Ainsi, dans une expérience identique à celle que nous venons de rapporter, de la graine âgée de 12 jours, asphyxiée d'abord 8 jours, puis mise aussitôt et laissée pendant 6 jours dans un flacon de 16 centimètres cubes, y avait produit 12,9 pour 100 d'acide carbonique, pendant que la même graine, asphyxiée seulement pendant les 6 derniers jours, n'en avait produit, dans un flacon égal, que 7,93 pour 100.

A n'envisager que ces résultats, l'asphyxie de la graine serait d'une innocuité complète, à la condition de n'être pas poussée trop loin. Elle a, pour ainsi dire, ses règles normales, son mécanisme spécial, que nous connaissons bien maintenant, et la régularité de son action nous permet de tirer du tableau de la page 90 la marche réelle de l'activité respiratoire pendant la vie de la graine. Nous avons vu qu'il ne peut pas la donner directement, à cause du phénomène d'asphyxie qui commence dès les premiers moments, et dont les effets sont d'autant plus marqués que la viciation de l'air est plus grande. Mais nous avons dans l'étude faite de l'asphyxie, soit au mois de janvier, soit au mois d'août, une mesure de ces effets. Il est évident en effet que, si nous comparons en avril et en janvier, par exemple, les temps nécessaires, non pas à la production d'une certaine quantité d'acide carbonique (nous savons pourquoi), mais à l'absorption d'une certaine quantité d'oxygène, les activités respiratoires à ces deux époques seront en raison inverse de ces temps. En prenant celle du mois de janvier pour unité, on dresse le tableau suivant, qui résume assez fidèlement la respiration de mes graines pour les conditions de température où elles ont été placées :

AGE de la graine.	ACTIVITÉ respiratoire.	AGE de la graine.	ACTIVITÉ respiratoire.
1 jour.	13,8	22 jours.	3,8
2 »	26,0	1 mois.	3,2
3 »	19,0	2 »	2,3
4 »	8,9	5 $\frac{1}{2}$ »	1,0
6 »	7,0	7 »	1,4
7 »	4,5	9 »	2,9
13 »	4,7	Veille de l'éclosion.	48,0
		Lendemain de l'éclosion	300 ?

Ces résultats se traduisent graphiquement par la courbe ci-dessous, remarquable par la brusquerie avec laquelle elle se relève à ses deux extrémités.

III. — Éducation des graines asphyxiées.

Revenons maintenant aux conclusions pratiques que nous avons tirées tout à l'heure. La graine qui, au moment de la ponte et à la veille de l'éclosion, ne peut guère résister à plus de deux ou trois jours d'asphyxie, la supporte pendant 10 jours en août, pendant 20 jours en janvier. La différence doit même être plus sensible que je ne l'ai trouvé, car je n'ai certainement pas atteint en janvier et en août la limite de résistance atteinte au moment qui a suivi la ponte, et, au lieu de trouver comme alors quelques graines mortes et aplaties, je voyais que toutes celles de janvier et d'août étaient restées gonflées et sans aucun mal apparent. Mais n'avaient-elles pas été un peu atteintes, n'y avait-il pas de vice caché dans ces graines très-belles d'aspect? C'est ce que, seule, l'éducation des divers lots pouvait m'apprendre.

Il était évidemment inutile de les élever tous. Aussi en ai-je sacrifié

quelques-uns aussitôt après l'éclosion, et après avoir constaté la quantité de vers fournis par mille graines. Sur les autres, j'ai prélevé 300 vers que j'ai réduits à 100 après la deuxième mue, et que j'ai élevés, mais dans d'assez mauvaises conditions, car je n'ai eu à ma disposition pour les nourrir que des feuilles épaisses et velues provenant d'un mûrier noir; et j'ai remarqué, à diverses reprises, des vers qui, après l'ingestion de ces feuilles, devenaient tout pléthoriques, et recourbaient leur corps en arrière jusqu'à ce que la tête vint presque toucher l'éperon. Quelques-uns mouraient dans cette position en bavant un liquide noirâtre; les autres guérissaient, surtout si je les soumettais à la diète et si je leur donnais ensuite un repas de feuilles tendres de mûrier blanc (1).

Malgré cet inconvénient, le résultat de l'éducation a encore été bon, ainsi que le montre le tableau suivant, qui donne la quantité de vers aux diverses mues et de cocons fournis par 1000 graines asphyxiées en août, en janvier et en avril, et comparativement les nombres se rapportant à la graine normale :

(1) La vigueur de santé du ver est en effet très-remarquable, et je dois ajouter qu'on lui donne trop souvent l'occasion de l'utiliser. A côté de cela, il y a chez lui une sensibilité extrême vis-à-vis de certaines influences. M. Faivre a montré qu'il ne résistait pas à l'odeur de quelques essences. L'expérience suivante montre qu'il est tué avec rapidité par les plus faibles traces de vapeur de mercure. Le 24 mai, j'expose des vers âgés de 3 jours sur une feuille de carton reposant elle-même sur un bain de mercure, et je recouvre le tout d'une cloche à douille, ouverte par le haut et reposant sur trois petites cales de bois. Le lendemain beaucoup de vers sont éloignés de la feuille et immobiles. Je sers régulièrement les repas; trois jours après, tous les vers étaient morts. Une feuille d'or suspendue au-dessus du mercure, à 5 millimètres de la surface, n'avait nullement blanchi pendant le même temps.

ÉPOQUE de l'asphyxie.	EXPÉ- RIENCES.	TEMPS de l'asphyxie	VERS ÉCLOS sur 1000 graines.	NOMBRES DE VERS RESTANTS				COCONS pro- duits.
				après la 1 ^{re} MUE	après la 2 ^e MUE.	après la 3 ^e MUE.	après la 4 ^e MUE.	
Graine normale...			875	864	854	848	836	820
Août...	I	2 jours	864	838	780	780	775	770
	II	4	864	»	»	»	»	»
	III	6	833	»	»	»	»	»
	IV	8	666	666	636	630	625	607
	V	10	777	»	»	»	»	»
	VI	14	666	641	610	595	595	590
	VII	20	50	»	»	»	»	»
Janvier.	I	5	888	866	839	831	831	800
	II	10	888	»	»	»	»	»
	III	15	861	843	783	758	755	750
	IV	30	888	852	817	810	800	790
	V	45	750	750	703	703	702	670
	VI	50	722	»	»	»	»	»
	VII	55	500	490	488	473	473	409
	VIII	65	111	103	101	101	100	92
Avril...	I	7	200	188	181	179	179	153
	II	18	125	»	»	»	»	»

Tous les vers étaient du reste très-beaux, les cocons bien formés, et les papillons irréprochables. Ils étaient, de plus, parfaitement exempts de corpuscules.

On voit que la quantité de vers éclos et de cocons est d'autant plus faible que l'asphyxie a été plus longue; mais la décroissance est lente, régulière, et ne commence à être très-sensible que lorsque l'asphyxie a duré très-longtemps. De plus, l'effet de l'asphyxie paraît être seulement de tuer un certain nombre de graines, et les vers éclos des divers lots ne paraissent garder aucun souvenir du traitement auquel ils ont été soumis à l'état d'œufs. Si, en effet, ainsi qu'on le fait d'ordinaire, on cherche ce que deviennent dans l'éducation 100 vers comptés à la première mue, on trouve les nombres suivants :

ÉPOQUE de l'asphyxie.	EXPÉ- RIENCES.	NOMBRES DES VERS RESTANTS SUR 100 VERS comptés à la 1 ^{re} mue.			COCONS produits.
		après la 2 ^e MUE.	après la 3 ^e MUE.	après la 4 ^e MUE.	
Graine normale.....		98	97	96	93
Août.....	I	93	93	93	91
	IV	95	94	94	91
	VII	95	93	93	92
Janvier.....	I	97	96	96	93
	III	93	88	88	87
	IV	96	95	94	93
	V	94	94	93	90
	VII	100	96	96	84
	VIII	98	98	97	89
Avril.....	I	96	95	95	81

Les différences entre les divers lots sont très-faibles. L'effet de l'asphyxie paraît donc être à peu près uniquement de tuer les œufs, et cette expérience démontre que des graines peuvent être très-belles d'aspect, changer de couleur comme des graines normales au voisinage de l'éclosion, et n'éclore qu'à moitié, au quart ou même pas du tout. Ce sont là malheureusement les conditions dans lesquelles se trouvent tous les ans quelques-uns des lots de graine achetés par les éducateurs, surtout parmi celles qui, provenant d'un pays éloigné comme le Japon, ont été mal emballées, conservées dans un endroit chaud comme la cale d'un navire, et soumises au débarquement à un refroidissement rapide, destiné à empêcher leur éclosion.

Toutes ces conditions sont vicieuses ainsi que nous allons le voir.

D'abord, tout emballage défectueux, plus généralement tout moyen de conservation exposant la graine à l'asphyxie est mauvais en lui-même, ainsi que nous venons de nous en convaincre, même au mois de janvier, à plus forte raison aux approches de l'éclosion. Mais, entre ces deux époques, il est d'autant plus nuisible que la graine est plus vieille. Le tableau ci-dessus montre, en effet, qu'un même degré dans l'asphyxie

est d'autant plus funeste à la graine qu'elle le subit à une époque plus voisine de l'éclosion. Ainsi les graines d'août au bout de 4 jours, de janvier au bout de 30 jours, d'avril au bout de 7 jours avaient à peu près également vicié l'air qu'elles respiraient. Or, celle d'avril a donné beaucoup moins de vers et de cocons. Cette conséquence apparaîtra encore plus nette dans les expériences suivantes, qui ont porté sur trois échantillons de la même graine, asphyxiés à peu près de la même quantité, mais à trois époques différentes, à partir du mois de janvier :

ÉPOQUE de la mise en flacons.	TEMPS du séjour.	ACIDE CARBONIQUE produit.	VERS ÉCLOS sur 1000 graines.	COCONS produits.
10 janvier.	31 jours.	pour 100. 7,91	888	790
29 juin.	20 »	7,41	666	480
27 avril.	7 »	6,59	200	153

Il faut donc prendre d'autant plus de précautions pour la conservation des graines qu'elles sont plus voisines de leur éclosion, et un mois et demi avant ce moment, elles ne peuvent pas séjourner sans inconvénient dans un air qui, au mois de janvier, serait absolument sans influence sur le résultat de l'éducation.

De même, l'asphyxie, à quelque époque qu'elle se produise, est d'autant plus redoutable que la température est plus élevée. C'est ce que démontrent les résultats de l'éducation que j'ai faite des deux lots de graine de 7 mois, asphyxiés l'un à 16 degrés, et l'autre à 3°, 5, dont j'ai parlé page 89 :

Graine normale.....	1000	graines	ont donné	875	vers	et	800	cocons.
Graine asphyxiée à 3°, 5.	1000	»	»	222	»		185	»
Graine asphyxiée à 16°...	1000	»	»	0	»		0	»

Les effets ont été très-sensibles, parce que cette température de 16 degrés avait conduit les graines jusqu'à leur éclosion. Dans le flacon où elles étaient s'était dégagé une quantité considérable d'humidité, et on y a trouvé en outre deux vers éclos.

La conservation de la graine au froid et à l'air est donc une pratique des plus utiles en tout temps. Il ne semble même pas qu'elle puisse devenir nuisible, car il y a des exemples de graines laissées dehors tout l'hiver au froid et à la pluie, bien mieux exposées, comme dans l'intéressante expérience de M. Bonafous (1) sur le mont Cenis, à une température de — 25 degrés longuement continuée, et qui n'en ont pas moins éclos. Nous allons voir du reste, en étudiant l'action de la chaleur, combien le froid de l'hiver est utile à la bonne éclosion de la graine.

IV. — *De l'action de la chaleur.*

Je me suis borné à étudier les effets que l'on obtient en soumettant à diverses époques la graine à une élévation de température. C'est par ce moyen, on le sait, qu'on active l'éclosion en avril et mai, au moment des éducations. En employant une chaleur plus graduellement ménagée et plus longtemps soutenue, on peut même, dans les essais précoces de la graine, avoir des vers au mois de janvier. Mais en août, lorsque la graine est fraîchement pondue, l'action de ces mêmes moyens est impuissante à provoquer l'éclosion. J'ai cherché quelles relations pouvaient avoir ces effets divers avec les diverses périodes que je venais de reconnaître dans l'activité respiratoire des œufs de ver à soie.

Dans ce but, j'ai établi une étuve à température à peu près constante, oscillant entre 22 et 24 degrés, et j'y ai introduit à diverses époques 1 gramme de graine conservé jusque-là au froid, dans une cave dont la température a varié de 4 à 10 degrés. Le premier lot a été mis à l'étuve, en septembre, aussitôt que la température moyenne extérieure fut descendue au-dessous de 20 degrés; ce lot n'a donc pas eu d'hiver. Les autres l'ont suivi à des intervalles variables, jusqu'au dernier, qui n'a été chauffé qu'au moment des éducations. Pour chacun d'eux, on a noté : 1° le temps qui s'est écoulé entre la mise à l'étuve et le commencement de l'éclosion; 2° la température moyenne pendant cet intervalle; 3° le temps de l'éclosion; 4° la proportion de graines non écloses.

(1) *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*, t. VII, p. 100.

Annales scientifiques de l'École Normale supérieure. Tome VI.

Les nombres trouvés sont inscrits dans le tableau suivant :

ÉPOQUE de la mise à l'éclosion.	TEMPS après lequel a commencé l'éclosion.	TEMPÉRATURE moyenne pendant ce temps.	DURÉE de l'éclosion.	PROPORTION de graines non écloses.
1 ^{er} août	jours	23°	jours	pour 100.
»	»	23	»	100
15 novembre....	»	23	»	100
1 ^{er} décembre....	47	23	40	85
15 décembre....	30	24	40	60
1 ^{er} janvier.....	16	24	40	50
10 janvier.....	15	23	35	20
20 janvier.....	14	24	30	20
1 ^{er} février.....	12	25	26	20
12 février.....	11	24	18	12
20 février.....	10	24	14	10
8 mars.....	8	23	9	8
25 mars.....	8	23	7	8
10 avril.....	7	23	5	7
20 avril.....	7	24	4	4

Ce tableau montre d'abord que la graine du 1^{er} août, maintenue toute l'année à une température à peu près constante, n'écloît pas et périt; celle du mois de novembre est dans le même cas. Ce n'est que lorsque la graine a traversé librement l'époque de son sommeil hibernant que l'éclosion devient sensible: elle est loin, il est vrai, d'être tout d'abord complète, et à n'étudier que les nombres qui représentent la proportion des graines non écloses, il semble qu'on ne constate qu'une progression insensible dans les effets du traitement qu'elles ont subi. Il suffit de jeter un coup d'œil sur les graines elles-mêmes pour voir la différence profonde qui sépare celles d'août et du 15 novembre de toutes les autres. Les premières sont aplaties, ont conservé leur couleur normale; elles sont mortes depuis longtemps, et le microscope montre qu'il n'y a pas d'embryon formé. Dans les autres, au contraire, l'embryon est visible au travers de la coque, et donne à la graine l'aspect cendré des graines qui vont éclore. Elles allaient éclore, en effet, lorsque l'embryon s'est arrêté dans son évolution; mais cette évolution n'en est pas

moins très-avancée, et ce caractère établit une différence tranchée entre les graines qui ont été mises à l'étuve postérieurement au sommeil hiberna, et celles qui n'ont pas eu d'hiver. Chez toutes ces dernières, le travail de formation de l'embryon n'est même pas commencé; chez toutes les autres, il est presque terminé.

Il est naturel de conclure de là que non-seulement le sommeil hiberna est physiologique, mais qu'il est nécessaire pour séparer dans la vie de la graine deux périodes d'activité fonctionnelle très-différentes, dont la seconde ne peut commencer que si la première a parcouru son cours régulier et normal. La chaleur intervient pour empêcher cette hibernation; par contre, le froid la favorise, et c'est là probablement ce qui explique cette très-ancienne pratique des Chinois, qui consiste à exposer pendant l'hiver de la graine au froid, ou à la laver dans de l'eau glacée, pour obtenir ensuite au printemps une éclosion plus régulière.

On voit en effet dans le tableau que les temps de l'éclosion pour les différents lots se resserrent entre des limites de plus en plus restreintes, à mesure que l'on se rapproche davantage des conditions normales de l'éducation. Si même on avait voulu compter le temps qui s'écoule entre l'apparition des premiers vers et celle des derniers, la différence aurait été plus sensible qu'elle ne l'est dans ce tableau. Ainsi la graine mise à l'étuve le 1^{er} décembre, et qui a donné son premier ver le 4 janvier, en donnait encore le 1^{er} mai.

L'exemple de cette graine conservée pendant cinq mois à la température de 23 degrés, comparé à celui de la graine du 10 avril, qui, après avoir passé tout l'hiver au froid, a éclos entièrement au bout de huit jours d'étuve, prouve que l'éclosion d'une graine est loin de dépendre uniquement de la quantité totale de chaleur qu'elle reçoit depuis sa ponte, de quelque manière d'ailleurs qu'on évalue cette quantité. Un autre élément intervient avec une action prépondérante, c'est le travail physiologique dont la graine est le siège. Tant que ce travail n'a pas pris une certaine direction, la chaleur est sans effet: bien plus, elle est nuisible. Devient-elle utile, qu'elle n'est pas encore seule à entrer en jeu, et tout se passe comme si elle n'avait d'action sur la graine qu'à la condition d'avoir dépassé un certain minimum qui n'est pas zéro; au-dessous de ce minimum, l'effet produit, sans s'annuler, devient très-

faible. En d'autres termes, l'influence d'un degré de plus ou de moins dans la température est très-différente suivant que cette température est inférieure ou supérieure au minimum dont nous parlons.

Ce qui favorise cette manière de voir, c'est qu'en refroidissant à 4 ou 5 degrés une graine en pleine éclosion, on arrête brusquement et pendant très-longtemps le travail énergique dont elle est le siège. Ce travail se continue sourdement et finit par s'opérer; mais il faut longtemps. Veut-on lui redonner en quelques heures sa première activité, il n'y a qu'à porter de nouveau la graine à la température de 20 à 22 degrés. Deux jours suffisent alors pour terminer ce que deux mois, à la température de 4 à 5 degrés, n'auraient pas pu faire.

Cette action du froid est même souvent utilisée lorsqu'il s'agit de suspendre l'éclosion d'une graine trop avancée. L'effet est immédiat, c'est comme une horloge dont on arrête le balancier. Mais cette pratique ne compromet-elle pas la solidité de la graine, et est-elle sans influence sur le résultat de l'éducation? c'est ce que je me suis proposé de rechercher en suspendant l'éclosion d'une graine, soit pendant un ou deux mois, soit pendant un ou deux jours.

Dans une première expérience, j'ai exposé le 1^{er} mars au laboratoire, à 15 degrés environ, un gramme de graine. Le 6 avril, il y avait 120 vers éclos. La graine portée à la cave, à 4 degrés, l'éclosion s'est immédiatement arrêtée et n'a repris que le 10 mai. 1000 graines de ce lot ont fourni 600 vers éclos, réduits à 350 à la première mue, et qui n'ont donné que 250 cocons. La graine a donc beaucoup perdu à être exposée au froid, et arrêtée aussi longtemps dans son éclosion. Le quart des graines a péri. Les vers eux-mêmes ont été atteints, et la mortalité a surtout sévi entre leur naissance et leur première mue.

Mais l'éducation n'a pas échoué, et, avec ce rendement là, faite en grand, avec une quantité suffisante de graine, elle serait encore rémunératrice. Au point de vue pratique, l'effet a donc été peu marqué. Il l'est encore moins au point de vue pratique et théorique, si on se contente de suspendre par le froid l'éclosion pendant un ou deux jours.

De la graine a été partagée la veille de l'éclosion en deux lots, dont l'un a été laissé à la température de 25 degrés, et a éclos le lendemain, et l'autre, porté à la cave à 12 degrés, où il a été abandonné depuis deux jours, pendant lesquels il n'a pas donné un seul ver. Rapporté à

l'étuve, il a éclos comme à l'ordinaire, et les vers ont été élevés côte à côte avec ceux de l'autre lot. Voici les résultats fournis par l'éducation :

Graine normale...	1000	graines	ont	fourni	875	vers	éclos	et	820	cocons.
Graine refroidie...	1000	»	»	»	875	»	»	»	810	»

L'identité est aussi parfaite que possible, et on voit qu'il n'y a aucun inconvénient à retarder de quelques jours l'éclosion d'une graine.

Tels sont aussi brièvement résumés que possible les résultats fournis par cette étude. Je ne me dissimule pas qu'ils n'apprennent qu'une très-faible partie de ce qu'il faudrait savoir, et j'ai l'intention de continuer ce travail ; mais ils composent actuellement au point de vue théorique un tout assez complet, et fourniront peut-être des renseignements utiles à la pratique.

C'est pour cela que je les ai publiés.