



HAL
open science

La centrifugation et la cellule. La déconstruction du protoplasme entre 1880 et 1910

Daniele Ghesquier-Pourcin

► **To cite this version:**

Daniele Ghesquier-Pourcin. La centrifugation et la cellule. La déconstruction du protoplasme entre 1880 et 1910. *Revue d'Histoire des Sciences*, 2002, 55/3, pp.323-377. hal-00008275

HAL Id: hal-00008275

<https://hal.science/hal-00008275>

Submitted on 29 Aug 2005

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Danièle Ghesquier

INSERM.

REHSEIS. UMR 7596

Université de Paris 7. Centre Javelot

2 place Jussieu. 75251 Paris cedex 05.

Tel: 01 44 27 86 46 ; Fax: 01 44 27 86 47

La centrifugation et la cellule. La déconstruction du protoplasme entre 1880 et 1910.

Depuis son introduction dans le milieu scientifique vers 1880, la centrifugation a été utilisée dans pratiquement tous les domaines de la science. Mais si on suit sa trace dans ceux qui ont étudié la cellule et son contenu, on croise l'histoire de plusieurs spécialités biologiques : l'embryologie, la cytologie, la virologie et la biochimie, qui, en un peu plus de 60 ans, ont transformé, chacune leur tour, le concept de protoplasme cellulaire chimique en un concept morphologique. L'histoire de la centrifugation racontée est l'étude de ce changement de concept.

L'embryologie expérimentale est la première discipline à utiliser la centrifugeuse ; grâce à l'instrument, elle développe un modèle d'étude holistique qui permet de conserver la cellule-œuf vivante et montre que son protoplasme est un milieu hétérotrope qui contient diverses substances que la centrifugation rend visibles en modifiant leur emplacement naturel et en les ségrégant (1). L'hétérogénéité du protoplasme est également suggérée par les travaux récents des cytologistes (1880-1900), qui ont mis en évidence dans cette partie de la cellule, différents éléments structuraux : les mitochondries de Richard Altmann et de Carl Benda, l'appareil de Camillo Golgi et l'ergastoplasme de Charles Garnier (2). Ces éléments, connus aujourd'hui sous le nom d'organites cellulaires, matérialisent, alors, l'idée, exploitée dans les théories microméristes du 19^e siècle, de particules intracellulaires impliquées dans l'organisation vitale (3).

Rétrospectivement, il semble donc que les deux modèles de protoplasme, celui des embryologistes et celui des cytologistes, ont été comparés et que ce sont les substances de l'œuf qui ont permis l'identification des organites cellulaires. Pourtant, si l'on suit l'histoire de la centrifugation et de la cellule, l'on s'aperçoit que d'une part, la "découverte" de ces entités paraît liée aux travaux d'un chercheur belge, Albert Claude, qui, dans les années 1940, met au point, grâce à la centrifugation, un modèle d'étude réductionniste de la cellule, et le compare au modèle holistique des embryologistes (4), et que d'autre part, l'idée de particules cytoplasmiques dont l'activité coordonnée assure le métabolisme, n'est réellement acceptée qu'à la fin des années 1950 (5).

Le travail de Claude est donc une "re-découverte". Ce processus n'est pas rare en histoire des sciences (6) ; il suggère, toutefois, que l'objet révélé a rencontré un certain nombre d'obstacles liés à son contenu théorique (7).

Dans le cas présent, il signifie, qu'au début du siècle, le modèle de protoplasme "vivant" des embryologistes a échoué dans l'identification des substances de l'œuf aux structures des cytologistes. S'est-il agi d'un manque d'intérêt pour les substances des uns ou d'une suspicion pour les structures des autres, et que s'est-il passé pour que le modèle de Claude, qui offre les mêmes objets à l'analyse, les composants du protoplasme cellulaire ségrégués selon des principes différents, réussisse cette identification quelques décades plus tard ?

L'étude qui suit constitue la première partie de l'histoire de la centrifugation et de la cellule. Elle correspond à la découverte des substances de l'œuf par les embryologistes et à l'abandon de leur étude dans les années 1910. Elle cherche à comprendre pourquoi cet abandon coïncide avec la disparition, au niveau conceptuel, des structures protoplasmiques découvertes au cours de la même période et tente de cerner l'influence de divers facteurs, comme l'interprétation du mécanisme de la vie, ou le statut de la structure et de la matière, sur ces événements.

Les conditions d'apparition de la centrifugation dans la biologie allemande du 19^e siècle.

L'histoire de la centrifugation en biologie commence avec celle de l'embryologie expérimentale au début des années 1880. Elle est donc liée au développement spectaculaire de la biologie allemande au 19^e siècle (8), et à ses événements les plus notables, la naissance de l'expérimentalisme et l'énoncé de la théorie cellulaire en 1839. L'accueil fait à cette théorie, fit de l'Allemagne le pays-pionnier des études sur la cellule (9) qui se développèrent particulièrement dans deux disciplines, la cytologie et l'embryologie. "L'expérimentation", d'abord physiologique, fut instaurée par les "physicalistes" du groupe de Berlin, Hermann Von Helmholtz (1821-1894), Ernst Brücke (1819-1896), Emil DuBois-Reymond (1818-1896) et Carl Ludwig (1816-1895), qui publièrent, en 1847, un manifeste appelant à la réintroduction en biologie des méthodes physico-chimiques, pour faire de cette science une science expérimentale (10).

Les découvertes cytologiques

La cytologie utilisait cette approche physico-chimique (11). Elle se développa dès les années 1870, parallèlement à la création de nouveaux instruments (microtome), de techniques de préparation, de fixation et de coloration des tissus, notamment les colorations vitales, à l'utilisation de nouveaux organismes, grenouille et organismes marins, et au perfectionnement des microscopes dont le pouvoir de résolution atteignit 1/4 de μm vers 1880 (12).

Dans la cellule, on avait observé depuis longtemps le noyau et, depuis peu, ses transformations au moment de la division cellulaire, et dans le protoplasme, différentes granulations et vacuoles dont l'aspect et le nombre variaient selon le type de cellule. A partir de la fin des années 1880, il y eut une véritable vague de découvertes cytologiques

(13), correspondant à des micro-structures susceptibles d'être impliquées dans le fonctionnement cellulaire. Parmi ces micro-structures, il y avait les mitochondries, l'ergastoplasme et l'appareil de Golgi.

Les granules correspondant aux mitochondries, furent observés entre 1886 et 1896 par l'historien Richard Altmann (1852-1901) de Leipzig. Ils donnaient au protoplasme une apparence granuleuse et avaient été appelés "microsomes" par Johannes von Hanstein (14). Altmann les associa tout d'abord à la respiration cellulaire puis, après avoir observé leur auto-reproduction, leur attribua la plupart des fonctions vitales. C'était, pour lui, des organismes élémentaires qui avaient, autrefois, colonisé la cellule et il les appela "bioblastes" (15). Altmann reçut de nombreuses critiques (16), mais ses affirmations furent défendues en 1897 par l'historien Carl Benda qui rebaptisa les bioblastes, "mitochondries", d'après les formes différentes sous lesquelles ils pouvaient se trouver (17).

L'appareil de Golgi fut observé en 1898 par l'histo-pathologiste Camillo Golgi (1844-1926) dans les cellules nerveuses colorées par imprégnation d'argent (18). Cette structure avait déjà été observée plusieurs fois et on pensait qu'elle avait un rôle dans la division cellulaire (19).

L'ergastoplasme mis en évidence par Charles Garnier en 1899 (20) était un réseau de fibrilles qui donnait un aspect réticulaire au protoplasme (21). Garnier pensait que l'ergastoplasme était une substance chimique structurée qui avait les propriétés caractéristiques de la matière vivante, et que sa présence était liée aux phénomènes de sécrétion.

Le protoplasme cellulaire en 1900 et les premiers obstacles à sa construction

Toutes ces structures découvertes par les cytologistes aux alentours de 1900 étaient situées dans le protoplasme cellulaire et depuis 1868, Thomas Henry Huxley avait fait de cette partie de la cellule, la base physique de la vie. C'est à dire que le protoplasme n'était pas seulement une partie de la cellule mais une substance elle-même, azotée et semi-liquide, assurant, grâce à son organisation, toutes les réactions vitales (22). On chercha donc à comprendre cette organisation en imaginant tout d'abord qu'elle résidait dans sa structuration qui, au début des années 1880, était celle d'une molécule géante, qui devait être instable (présence d'oxygène, noyau instable, valences libres) comme les "biogènes" de Max Verworn (1903)(23), pour répondre aux besoins de la "vie" (24). L'arrangement de la substance (granulaire, fibrillaire, réticulaire, etc), qui était visible au microscope, était peut-être aussi impliqué dans son fonctionnement ? (25). Enfin, on avait pensé que l'organisation de la substance nécessitait des structures intermédiaires susceptibles de lui servir d'organes (26). Pour cela, ces structures hypothétiques devaient être capables, à la fois, d'assurer les réactions vitales et de se reproduire en transmettant les caractères héréditaires. Une multitude de théories spéculatives résulta de cette idée, mais une seule d'entre-elles prit en compte l'une des

structures récemment découverte, celle d'Altmann-Benda, ce qui rendit la théorie des "bioblastes" moins hypothétique que les autres (27).

Les autres structures découvertes, Golgi et ergastoplasme, n'apparurent dans aucune théorie car, dès leur "découverte", les obstacles se dressèrent contre leur rôle dans la vie cellulaire (28). On avait observé que, parmi les structures cytoplasmiques, seules les mitochondries étaient capables de se multiplier. Eduard Küpfer les avaient donc rangées dans les "énergides" (partie vivante), bien que la matière vivante, germinale, soit supposée transparente, incolore et sans structure (29), d'après la distinction que Robert Remak avait faite, en 1852 (reprise par Lionel Beale en 1861), entre la partie nutritive de l'œuf et sa partie homogène formative ou protoplasme (30). Les autres structures "formées" ne prenaient pas part à la vie cellulaire.

La naissance de l'embryologie expérimentale

L'expérimentalisme, après avoir été codifié (31), s'étendit à d'autres sciences. La première science qui devint expérimentale, après la physiologie, fut l'embryologie. L'embryologie est l'étude des embryons et de la morphogénèse individuelle. A la fin du 19^e siècle, elle tentait de comprendre comment l'organisme se façonne peu à peu à partir d'une structure d'apparence très simple pour acquérir une structure définitive extrêmement complexe. Le travail des embryologistes classiques de la fin du 19^e siècle était généralement centré sur trois types d'activité : le développement de structures spécifiques à partir d'ébauches très simples, comme l'avait observé Caspar Friedrich Wolff (32), le sort des différents feuillettes, dont Christian Pander et Karl Von Baer avaient démontré qu'ils donnaient naissance aux organes, et la reconstruction de phylogénies, selon la loi biogénétique de Ernst Haeckel (33). Les embryologistes utilisaient l'observation comme méthode de base et décrivaient les événements tels qu'ils intervenaient dans l'embryon qui se développait normalement (34).

La jeune génération (née après 1860) reprocha à ses aînés de négliger les recherches sur la différenciation et le développement en étudiant l'embryon dans un but uniquement phylogénétique, en fonction de fins évolutionnistes, ce qui orientait l'intérêt vers la structure et faisait délaisser l'étude de la fonction (35).

Au début des années 1880, le physiologiste Eduard Pflüger, tenta de modifier le développement de l'œuf par l'expérimentation dans le but de comprendre les lois auxquelles obéissait ce processus (36). La nouveauté de l'approche qu'il utilisait suscita l'enthousiasme (37) et un morphologiste, Wilhelm Roux (1850-1924), prit position pour l'expérimentation (38) en fondant, en 1888, l'*Entwicklungsmechanik* qui devint plus tard l'embryologie expérimentale. Selon Roux, l'un des avantages de l'expérimentation était d'offrir la possibilité, par rapport aux techniques de la cytologie traditionnelle qui tuaient les cellules, de pouvoir travailler sur du matériel "vivant", ce qui était primordial pour l'étude du développement (39).

La plus ancienne question posée par le développement était celle des caractéristiques générales de son mécanisme : le développement était-il un processus épigénétique, c'est à dire susceptible d'être modifié en fonction de certaines influences, ou était-il un processus prédéterminé qui se déroule selon un schéma immuable ? Cette question pouvait être posée de plusieurs façons. Par exemple, quelle était la composition de l'œuf pendant le développement précoce ? Cette composition était-elle homogène, comme le pensaient Haeckel et Carl Gegenbaur ? L'œuf n'était alors, au départ et jusqu'au stade gastrula, qu'un bloc de matière indifférenciée, capable de s'adapter pour donner n'importe quelle partie de l'embryon, ce qui correspondait à un processus épigénétique. Si, au contraire, comme le soutenait Wilhelm His, l'œuf était, dès le départ, une mosaïque de parties différenciées dont chacune se développait d'une façon autonome, le développement était alors un processus prédéterminé (40). Ce raisonnement sur la composition de l'œuf entraînait une autre question : si l'œuf était au départ indifférencié, quelles étaient les causes qui déterminaient un type de développement plutôt qu'un autre ? Certains voyaient ces processus sous la dépendance de mécanismes internes à l'organisme tandis que d'autres pensaient à des facteurs externes à l'individu lui-même (41). Un moyen simple d'établir la causalité de ces facteurs était d'observer dans les premiers stades du développement, comment s'effectuent les plans de segmentation par rapport à des témoins qui n'ont pas été soumis à l'expérimentation, car ces plans de segmentation, qui donnent deux puis quatre blastomères, semblent toujours se former selon des critères immuables (42). Les modifications obtenues pouvaient être observées, soit à l'œil nu d'après les deux zones de couleur différente qui constituent le protoplasme de l'œuf, soit sur les coupes obtenues après fixation et coloration de l'œuf en division. Et, dans les stades de développement plus tardifs, les différences pouvaient être observées plus facilement au niveau de l'aspect de l'embryon qui pouvait être réduit de moitié ou dorsal ou ventral ou seulement réduit à des morceaux correspondant à certaines parties du corps (43).

L'influence de la centrifugation sur le développement (1880-1902)

La centrifugation des origines à 1900

Bien que la centrifugeuse existât déjà depuis longtemps, les laboratoires ne l'utilisèrent qu'à la fin du 19^e siècle, comme nous l'avons dit plus haut. Mais elle ne devint un instrument scientifique qu'au milieu des années 1900, quand on établit la relation entre l'effet obtenu et certains paramètres de centrifugation.

Le principe de la centrifugation est l'éloignement d'un mobile qui tourne autour d'un centre, selon le vieil exemple de la fronde. Hugues Clément raconte que la première application de ce principe fut mise au point par un ouvrier nommé Pentzoldt, employé dans une manufacture de pianos, qui construisit, en s'inspirant du panier à salade, un

treillis destiné à recevoir le linge à essorer et lui imprima un mouvement de rotation. Son patron, Seyrig, améliora l'idée en construisant uneessoreuse qui était un tambour de cuivre, rapidement entraîné autour d'un axe vertical, grâce à une combinaison de manivelles et de poulies. Caron perfectionna l'appareil, en substituant aux poulies, un jeu d'engrenages (44).

A partir de 1850, l'invention subit de nombreuses modifications (axe horizontal ou vertical) pour son utilisation dans l'industrie de la fonderie tout d'abord (45), puis dans l'industrie chimique (46) textile et alimentaire (47). Dans les années 1880, Gustaf De Laval, un ingénieur Suédois, et Charles Parsons, inventèrent la turbine à vapeur qui permet de très grandes vitesses de rotation (30000 tours par min), et avec Nielsen, apparut la marche en continu (48). Ces appareils industriels étaient construits sur le principe de l'essoreuse car leur but était toujours de séparer solides et liquides. Ils étaient constitués d'un bol perforé, équilibré, monté sur billes et mis en mouvement dans une enceinte de fonte, actionné soit à bras, soit par un moteur quelconque (49).

Les laboratoires scientifiques utilisèrent aussi les centrifugeuses à partir des années 1880, initialement dans le but de remplacer la filtration et de recueillir un précipité en le concentrant. Il n'y avait donc plus de bol perforé. Il existait deux types de centrifugeuses de laboratoire : des toupies à grand axe dont le plateau était formé d'une boîte creuse contenant des tubes à essai inclinés à 15 ou 20°. Une corde brusquement tirée donnait la rotation voulue. Mais le précipité se formait mal. Le second type était constitué d'un axe portant une armature en forme de croix grecque. A chacun des quatre bras était suspendu un récipient articulé de manière à pouvoir passer de la position verticale (arrêt) à la position horizontale (marche). Des roues dentées transmettaient au système le mouvement imprimé à une manivelle (50).

Les performances des appareils progressèrent rapidement avec la naissance des moteurs électriques. En 1891, la vitesse des moteurs électriques pouvait atteindre 600 à 800 rpm (révolutions par minute)(51) mais elle progressa rapidement à 1000 rpm en 1892 (52), à 3000 rpm en 1893 (53) et même à 10000 rpm (8500g), avec le bras spécial hématocrite horizontal en 1896 (54). Arsène D'Arsonval proposa même une vitesse de 42000 rpm en 1895, nécessaire pour analyser et dissocier les liquides organiques dans ses recherches sur la durée des oscillations électriques (55).

Si le milieu médical utilisait des centrifugeuses équipées de ces moteurs depuis 1891 (56) pour des préparations obtenues à partir des urines, du sang ou d'autres liquides biologiques, pour précipiter le bacille tuberculeux par exemple (57), peu de laboratoires de recherche expérimentale, comme ceux d'embryologie, en furent équipés avant 1900. Quelques exceptions parmi lesquelles la station zoologique de Naples qui disposait, dès 1895, d'une centrifugeuse à eau Runne (Rohrbach-Heidelberg) (58). Les expérimentations nécessitaient des vitesses faibles (200 révolutions par minute ou moins) et les laboratoires avaient souvent des appareils de centrifugation primaires et artisanaux, comme par exemple une roue sur laquelle on fixe les boîtes contenant les œufs, ces œufs étant collés avec de la gelée sur une lame de verre (59). Thomas Hunt Morgan, en 1902, utilisa la grande roue d'une machine ;

il plaça ses œufs de grenouille dans des flacons de verre remplis d'eau, eux-mêmes mis dans des tubes cylindriques en bois qui étaient des tubes ordinaires pour le courrier. Ces tubes étaient fermés aux deux extrémités et fixés avec du fil de fer le long du rayon de la roue (60).

La gravité comme facteur externe de développement

Le premier facteur de l'environnement qu'étudièrent les expérimentalistes fut l'action de la gravité car l'embryon y est soumis dès la fécondation. Ce facteur peut être modifié et amplifié en utilisant la centrifugation et c'est dans ce but que se fera la première utilisation de cette technique.

Dans ces expérimentations, le système expérimental était le développement de l'œuf en embryon (61). En modifiant ce qu'on considérait être un paramètre du système, et un seul, le champ gravitationnel, on créait des conditions d'étude *contrôlées*. Ces conditions étaient des conditions "anormales" de développement. Si elles provoquaient un développement "anormal" de l'embryon, on pouvait en déduire que ce facteur intervenait dans le développement "normal". Ce raisonnement, nouveau pour l'époque, fut violemment critiqué par une partie des embryologistes qui soutenaient que ces conditions d'anormalité n'existaient pas dans la nature et que les résultats ne pouvaient pas être utilisés pour la compréhension d'un développement normal (62) ; l'argument des expérimentalistes était que les renseignements donnés par ce type d'expérimentation ne pouvaient pas être obtenus à partir d'organismes se développant normalement et qu'ils étaient une indication des mécanismes mis en jeu pour retrouver un développement normal malgré des conditions défavorables *"il semble aujourd'hui évident que si l'on empêche l'embryon de suivre sa voie normale habituelle en modifiant les conditions (de son environnement), il peut souvent atteindre son but d'une façon indirecte, mais, il est aussi possible qu'il puisse le faire en suivant les mêmes voies que l'embryon normal, dans la mesure où les conditions modifiées le permettent"* (63).

On savait qu'après la fécondation, l'œuf a une polarité bien définie, son axe est vertical, le pôle animal se trouve à l'extrémité supérieure et le pôle végétatif, constitué principalement de vitellus, se trouve à l'extrémité inférieure. Cette polarité, qui n'existe pas avant la fécondation, pouvait être le résultat de ce processus et était une indication de l'hétérogénéité du protoplasme de l'œuf. L'idée des embryologistes était que ces pôles sont disposés ainsi à cause de la gravité, car le vitellus est le matériau le plus lourd de l'œuf. Si on inverse l'action de la gravité, et qu'on dispose la partie inférieure de l'œuf en haut et la partie supérieure en bas, modifie-t-on la polarité de l'œuf, et cette modification influence-t-elle son développement ? La centrifugeuse n'est pas nécessaire à ce genre d'expérimentation, puisqu'il existe une gravité naturelle, mais son utilisation permet d'accélérer le phénomène dans le temps et d'observer dans un temps court, un phénomène qui aurait mis plusieurs jours, voire plus, à se manifester.

Le débat sur l'influence des facteurs externes dans le développement, et particulièrement celui sur l'influence de la gravité, fut un de ceux qui furent âprement discutés à la station de Naples car la plupart des embryologistes allemands qui y furent impliqués, travaillaient régulièrement à Naples. Ce furent Eduard Pflüger (1829-1910), Gustav Born (1851-1900), Wilhelm Roux et Oscar Hertwig. Le débat commença au début des années 1880. Mais c'est un Américain, Thomas Hunt Morgan, qui séjourna à la station de Naples pour la première fois en 1890, qui le conclut en 1902.

La station zoologique de Naples

La station zoologique de Naples fut fondée par Anton Dohrn en 1872, car celui-ci avait eu l'intuition du développement de la zoologie marine (64). Elle fut ouverte aux naturalistes en 1874, à un moment où l'activité scientifique en Europe et particulièrement en Allemagne était florissante comme jamais auparavant et avait une certaine aura dans les milieux dirigeants. Les universités offraient un enseignement excellent, mais il y avait trois choses qu'elles ne pouvaient offrir : un endroit où on pouvait travailler en toute liberté, sans avoir à rendre de comptes, un matériel marin diversifié et des possibilités d'échange informel entre scientifiques. Ces trois éléments, apportés par la station de Naples, furent déterminants dans la progression de la recherche biologique (65). La station n'assurait pas de formation, elle était réservée à la recherche. Les rencontres entre les leaders de la nouvelle approche méthodologique et intellectuelle et l'échange d'idées avec des chercheurs venant de tous les pays du monde y créèrent un niveau de recherche très élevé (66). *"C'était une sorte de congrès permanent dans une atmosphère de liberté complète"* (67). La station devint très vite un centre international de recherches en biologie marine et un modèle pour toutes les autres écoles similaires qui s'ouvrirent ensuite, notamment le *Marine Biological Laboratory* de Woods Hole (MBL). Roux, Hans Driesch, Curt Herbst, Wilhelm His, Carl Vogt, Oscar et Richard Hertwig, Theodor Boveri, Jacques Loeb et Otto Warburg y travaillèrent ainsi que la plupart des autres morphologistes et embryologistes allemands. Ils y furent des visiteurs réguliers et y firent leurs principales découvertes (68). Parmi les visiteurs américains, il y eut Edmund B. Wilson, Charles Otis Whitman et Emily Nunn en 1882-1883. Dans les années 1890 et 1900, il y eut aussi Morgan, William Morton Wheeler et Nettie Maria Stevens. Cette présence et ces échanges permanents entre les leaders et les plus jeunes ne furent pas sans conséquence sur les idées et sur les orientations ; le meilleur exemple en fut Wilson dont Boveri demeura la référence. Il lui dédia son livre *The Cell in Development and Inheritance* ; son approche cellulaire du développement et l'idée du rôle du noyau témoignent de cette influence. Même après les années 1890, quand le MBL fut créé, les Américains continuèrent à aller à Naples. Ils y allaient pour apprendre les théories et les méthodes, pour échanger des idées et pour expérimenter sur des organismes marins qui n'existaient pas au MBL (69). Whitman dira plus tard que Naples était une entreprise gigantesque et que c'était le caractère international de

la station, combiné à ses avantages naturels qui en faisaient la Mecque de la biologie et le lieu d'une activité prolifique (70).

A Naples, la faune et la flore sont extrêmement riches et offrent des espèces qui n'existent nulle part ailleurs (71). Parmi tous les organismes marins disponibles, l'œuf d'oursin fut particulièrement important pour l'étude des processus physiologiques et biochimiques. Il contient plus de matière vivante que de vitellus et les étapes du développement sont très rapides (72). Driesch, en 1891, expérimenta sur cet œuf que les Hertwigs avaient utilisé à Villefranche en 1876. Herbst et lui travaillèrent sur ses blastomères, entamant la longue controverse sur le développement mosaïque contre le développement régulation. Boveri étudia sur lui les interactions cytoplasme-noyau et les hybrides mérogoniques. Warburg découvrit sur cet œuf que les changements dans la respiration étaient dûs à la fécondation (73).

Dans la station, l'intérêt se cristallisa surtout sur la physiologie du développement et sur l'organisation de l'œuf car elle fut un des principaux centres de critique contre l'embryologie haeckelienne phylogénétique. Et, bien que le fondateur de la station, Dohrn, soit un fervent admirateur des théories de Haeckel, toutes les opinions avaient la possibilité de s'exprimer librement (74). Naples se dota rapidement de ses propres publications car Dohrn cherchait à faire connaître la station à travers le monde (75).

Les centrifugations des expérimentalistes allemands

Les premières expériences effectuées pour savoir si la gravité influençait le développement de l'embryon furent faites sur l'œuf de grenouille et utilisèrent tout d'abord la gravité naturelle. Elles démontraient qu'après modification de la position de l'embryon dans le champ gravitationnel, le premier plan de segmentation se trouvait à un endroit différent de celui du témoin. Ceci semblait indiquer que la gravité déterminait la direction des plans de segmentation et par suite, l'orientation interne de l'embryon ; ce qui signifiait que les *facteurs externes* pouvaient influencer directement le développement à travers leur action sur le cytoplasme de l'œuf (76). Mais la modification de la position de l'embryon par rapport à la gravité apportait d'autres changements dans le protoplasme de l'œuf, comme l'excentricité du noyau par exemple ; lorsque celui-ci entra en division, la position modifiée du fuseau provoquait la modification du plan de segmentation. C'était donc un *facteur interne*, la division nucléaire, qui était impliqué (77). L'utilisation de la centrifugeuse, à très faible vitesse, en 1884, n'avait pas départagé les opposants, car différentes conditions de centrifugation n'avaient apporté aucune perturbation du développement. La conclusion avait été que la gravité, comme les autres facteurs externes, n'affecte pas le développement de l'œuf et que celui-ci s'auto-différencie sous l'influence de causes mécaniques internes dirigées par le noyau, selon un schéma rigide (78). "*L'effet de la gravité sur le développement normal de l'œuf de grenouille n'est ni formatif, ni nécessaire*" (79).

Mais que ce soit l'excentricité du noyau ou l'emplacement du premier plan de segmentation, les modifications obtenues par l'action de la gravité, suggéraient que celle-ci n'intervenait pas directement, mais que c'était les changements qu'elle apportait dans l'organisation de l'œuf qui provoquaient ces altérations. La centrifugation fut alors utilisée, non pour remplacer la gravité, mais pour l'accentuer en augmentant le champ centrifuge, afin de rendre les changements apportés plus visibles. Ceux-ci furent étudiés dans différentes conditions de centrifugation et différentes conditions de développement. Les changements de l'organisation de l'œuf qui furent révélés alors furent les mêmes que ceux observés auparavant ; ils semblaient liés au déplacement du vitellus, partie la plus lourde de l'œuf, qui se traduisait par une modification de la position du noyau. La centrifugation à "forte vitesse" n'avait pas donné plus de renseignements sur l'influence des facteurs externes dans le développement de l'œuf, excepté la sensibilité plus importante de celui-ci quand les expérimentations sont faites juste après la fécondation, car beaucoup des œufs centrifugés à ce stade de développement étaient morts (80). Mais aucune information supplémentaire n'avait été donnée sur le mécanisme du développement. Il fallait pour cela expliquer la disparité des résultats, dire pourquoi, alors que les œufs semblaient être dans les mêmes conditions, certains d'entre-eux mouraient et d'autres se développaient normalement. C'est Morgan qui apporta une réponse en 1902.

Thomas Hunt Morgan

Thomas Hunt Morgan naquit dans le Kentucky, en 1866, dans une famille dont le nom était célèbre. Il avait déjà commencé à s'intéresser aux organismes marins quand il entreprit des études à Johns Hopkins. Il centra son intérêt sur la morphologie que lui enseignait William Keith Brooks (81). En 1890, Morgan obtint son diplôme et, encore à Johns Hopkins, fit une première visite à la station de Naples où il fut enthousiasmé, comme d'autres Américains avant lui (Whitman, Wilson) par les nombreuses possibilités qu'offrait la station pour l'étude des organismes marins, et par la méthode expérimentale utilisée pour la recherche en embryologie, alors qu'il n'avait été formé dans cette discipline que dans la méthode descriptive et comparative (82). Il resta dix mois à Naples, et y fit de nombreux séjours jusqu'en 1902 (83). Entre 1895 et 1902, alors à Bryn Mawr College, il se consacra à l'embryologie expérimentale reprenant les problèmes sur lesquels il avait commencé à expérimenter à Naples (84). Son premier intérêt fut pour les facteurs qui influencent le développement embryonnaire normal. Il était passionné par la controverse du début des années 1890 qui existait entre Driesch, avec qui il avait collaboré à Naples, et Roux, le fondateur de l'*Entwicklungsmechanik*, sur l'implication des facteurs internes (héréditaires) ou externes (environnement) dans la différenciation des cellules embryonnaires (85). C'est dans ce cadre qu'il utilisa la centrifugation, en 1902, pour essayer de comprendre les résultats contradictoires des expérimentalistes allemands. Il travailla sur l'œuf de grenouille, matériel de base des expérimentalistes allemands. Il s'aperçut rapidement que deux facteurs conditionnaient les résultats : le stade de développement de l'œuf et la distance des œufs à l'axe de rotation pendant la centrifugation, ce dernier facteur influençant directement la force de gravité totale imposée à

l'œuf. Plus les œufs étaient centrifugés tôt après la fécondation et plus ils étaient éloignés de l'axe de centrifugation, plus leur taux de mortalité était élevé et plus on obtenait d'anomalies. En revanche, quand ils étaient centrifugés au stade 128 cellules, près de l'axe de rotation, le développement était inchangé et les embryons étaient normaux. Les résultats contradictoires des expérimentalistes allemands pouvaient donc s'expliquer par des conditions d'expérimentation très variables et non contrôlées (86).

L'effet immédiat de la force centrifuge était de transporter plus de vitellus, matériel supposé plus lourd que le protoplasme, dans l'hémisphère clair, et le matériel léger dans l'hémisphère sombre. Comme le noyau ne pénétrait pas dans l'hémisphère clair, soit à cause de sa densité trop faible, soit à cause de son impossibilité à pénétrer les parties denses de l'œuf, son absence pouvait expliquer en partie un développement anormal. Mais un second effet, plus important, de la force centrifuge était la lésion directe du protoplasme de l'hémisphère inférieur de l'œuf. *"On peut se demander quelle est la spécificité de la force centrifuge ? A-t-elle un effet direct sur l'œuf en développement, ou seulement un effet destructif sur certaines parties ?"*(87). L'action de la force centrifuge, répondit Morgan, est seulement spécifique dans le sens qu'elle rend certaines parties de l'œuf incapables de développement par les lésions qu'elle provoque sur ces parties. Mais ces lésions auraient pu être obtenues par l'action d'autres facteurs que la force centrifuge. La grande variété d'anomalies observées après centrifugation était due à la lésion de différentes parties de l'œuf. Il conclut en disant que bien que l'œuf puisse être totipotent, ce qui signifie que toutes ses parties ont le pouvoir de produire n'importe quelle partie de l'embryon, (ce qui pourrait suggérer que le protoplasme est homogène), l'existence de matériaux différents pouvant avoir un "devenir" différent faisait du protoplasme un milieu hétérotrope en structure mais aussi en organisation (88).

Ces résultats étaient semblables à ceux de Roux, obtenus à partir d'un système expérimental différent, celui des deux premiers blastomères de l'œuf fécondé dont l'un était tué (89). L'embryon qui se formait à partir du blastomère survivant ne développait que certaines parties de son corps et Roux avait supposé que ces parties correspondaient au "potentiel" de ce blastomère. Les expérimentalistes avaient obtenu de cette façon des demi-embryons correspondant à la partie antérieure ou à la partie postérieure de l'embryon et aussi des embryons latéraux, dorsaux ou ventraux, qui n'avaient développé qu'un côté de leur corps, ou des fragments d'embryon encore plus petits quand ils utilisaient un autre système expérimental, celui de fragments mérogoniques fécondés (90). Ces résultats, comme ceux de la centrifugation des œufs semblaient correspondre à ce qu'on avait appelé la théorie de la mosaïque de Roux ; ils suggéraient une division qualitative du matériel de l'œuf dans les différentes cellules qui n'étaient alors capables de développer que le "potentiel" qu'elles avaient reçu au départ. Mais Morgan en centrifugeant ses œufs de grenouille avait également observé des embryons entiers, mais de taille réduite, comme Driesch quand il avait tué un des deux premiers blastomères d'œuf d'oursin (91). Ce qui indiquait une totipotence des cellules ou une régulation capable de répondre aux besoins de l'organisme entier et de créer n'importe quelle partie de celui-ci, chaque cellule étant capable, au moins dans certains stades, de régénérer le

matériel manquant. Driesch avait conclu, à partir de ses résultats, que la théorie de His (92), qui invoquait l'existence de régions germinales de l'œuf, formatrices d'organes, était inexacte.

Ces trois systèmes expérimentaux, celui des blastomères, celui des fragments mérogoniques et celui de la centrifugation des œufs donnaient donc des résultats similaires qui ne permettaient pas de départager entre les différentes théories de la différenciation qui existaient : celle de la mosaïque de matériaux protoplasmiques de l'œuf, distribués différemment entre les différentes cellules, qui donnaient lieu à la formation de parties spécifiques (His et Roux) et celle de l'isotropie de l'œuf et d'un développement "régulation" où aucun mécanisme n'était prédéterminé et où toute cellule devait "s'adapter" et pouvait devenir n'importe quelle partie de l'embryon. Il fallait pour donner une réponse, un autre système expérimental non destructif, plus discriminatif que les précédents qui ne permettaient pas de définir plus précisément ces matériaux importants de l'œuf et qui autorise l'étude du tout en même temps que ses parties ; ce modèle aurait été idéal, si en outre, il était possible de le modifier en changeant la répartition de ses différents matériaux, et d'étudier les effets de ces modifications sur le développement par rapport au modèle de départ. Ce fut un physiologiste de Woods Hole qui mit au point ce nouveau modèle expérimental.

La centrifugation des substances de l'œuf (1902-1911)

La nouvelle station de biologie marine de Woods Hole fut le cadre principal de cette recherche. L'amélioration des milieux et des techniques de centrifugation, entre 1902 et 1911, faisant de la centrifugation une technique scientifique quantitative, permit d'apporter une conclusion à ce débat.

Les centrifugeuses et la centrifugation entre 1902 et 1911

Il y eut quelques améliorations des centrifugeuses pendant cette période, tout d'abord dans la vitesse des machines de laboratoires (médicaux) qui pouvaient atteindre 25000 rpm quand elles étaient actionnées à l'électricité (93). On se préoccupa de conserver au froid les liquides biologiques qu'on voulait préserver de l'altération (94). En 1905, Henry E. Wetherhill inventa une centrifugeuse portable pour les cliniciens, dont le dispositif ingénieux permettait aux précipités de ne pas se remélanger après centrifugation (95). On imagina aussi des appareils qui centrifugeaient en continu pour séparer les liquides des solides. Ils étaient auto-nettoyants, avaient une grande capacité (200 gallons par heure) et pouvaient atteindre une vitesse de 32000 rpm (96).

Dans les laboratoires de recherche, l'amélioration fut très sensible par rapport à la vague de centrifugation précédente des embryologistes. L'usage des centrifugeuses s'était généralisé et les méthodes et les milieux de centrifugation étaient devenus "scientifiques". Dans les articles, où on exposait succinctement les méthodes, on précisait la vitesse et le temps de centrifugation ainsi que souvent la distance du tube par rapport à l'axe de la

centrifugeuse, ce qui suggère que les utilisateurs voyaient une relation entre ces paramètres et l'effet obtenu sur l'objet centrifugé. Certains auteurs allaient même jusqu'à calculer le nombre de g, c'est à dire la force centrifuge totale appliquée, calculée par rapport à la gravité naturelle. Cette force centrifuge était devenue beaucoup plus importante que dans les expérimentations précédentes où elle atteignait tout au plus 200 révolutions par minute (voir au dessus) ; elle pouvait atteindre 7500 rpm et on utilisait pour cela le bras spécial hématocrite qui avait été mis au point pour les recherches sur les éléments figurés du sang, et la durée de centrifugation pouvait aller jusqu'à plusieurs heures, signes certains d'un changement dans les milieux de centrifugation si on voulait conserver vivants les organismes centrifugés (97). Il n'est pas étonnant que ce soit une entreprise allemande, la firme Runne de Heidelberg, qui ait semblé fabriquer les centrifugeuses à eau et à électricité pour la plupart des laboratoires européens tout au moins, puisque Mary Hogue, étudiante de Boveri, la cita en 1910 (98) ainsi que Warburg en 1913 (99) et que nous avons vu que la station de Naples en était équipée dès 1895 (100). Les expérimentalistes américains, bien qu'ils aient centrifugé d'une façon intensive, ne citèrent pas les références de leur matériel, excepté Morgan qui cita en 1910 une centrifugeuse Bausch et Lomb à main (101). Edwin G. Conklin en 1931 et Frank R. Lillie en 1944, dirent que les centrifugeuses utilisées dans les expériences étaient des centrifugeuses à eau et n'avaient pas une grande puissance ; néanmoins, elles produisaient une bonne séparation des substances de l'œuf. Woods Hole ne fut équipé d'une centrifugeuse électrique qu'en 1927. Pour les expériences concernant les axes de l'œuf, les organismes étaient centrifugés dans des tubes très étroits dans lesquels ils ne pouvaient pas se retourner; ce qui rendait possible l'observation des axes de l'œuf avant et après centrifugation et la détermination de l'influence de la dislocation des substances sur les plans de segmentation (102). C'est Elias P. Lyon, un physiologiste ayant séjourné à Naples et habitué de Woods Hole, qui fut l'instigateur de ces centrifugations et qui améliora les milieux de centrifugation au laboratoire marin. Car il s'était aperçu, dans ses études de géotropisme, que les différents organismes s'équilibraient dans le tube de centrifugation en fonction de leur densité, les plus lourds se trouvant au fond du tube (103). Il avait mis au point un milieu de centrifugation qui permettait de déterminer leur densité en les conservant vivants. Ce milieu était constitué de gomme arabique neutre additionnée d'eau de mer en quantité variable pour obtenir différentes densités mesurées au pycnomètre ; il n'était pas nocif pour les organismes marins. En centrifugeant, même à forte vitesse, dans un milieu ayant la même densité que les organismes centrifugés, on ne risquait pas d'écrasement de ceux-ci, et on pouvait observer l'effet réel de l'augmentation de la gravité sur l'intérieur de l'œuf (104). Tous les expérimentalistes américains reprirent les techniques de Lyon qui furent à l'origine de l'étude des substances du protoplasme de l'œuf.

Woods Hole et l'embryologie américaine

Le *Marine Biological Laboratory* de Woods Hole ouvrit ses portes en 1888 et son premier directeur fut Charles Otis Whitman. Ce n'était pas le premier laboratoire de biologie marine en Amérique. Un biologiste suisse, Louis

Agassiz avait ouvert à Penikese, en 1848, une école d'été d'histoire naturelle qui avait eu beaucoup de succès car, au 19^e siècle, les Américains étaient très attirés par la biologie. Il y avait eu aussi le laboratoire d'Annisquam destiné à la promotion de l'éducation des femmes. Ce fut son séjour à Penikese qui décida Whitman à devenir biologiste. En 1875, il partit travailler avec Rudolph Leuckart à l'université de Leipzig et soutint son PhD sur l'embryologie de la Clepsine. Il fut ensuite pendant deux ans professeur à l'université de Tokyo. Avant de rentrer en Amérique, il fit un arrêt à Naples en 1881-82, où il fut le premier visiteur américain, et resta ensuite à Leipzig quelques mois. Il obtint un poste d'assistant à Harvard où il resta jusqu'en 1886, puis dirigea le laboratoire d'Allis Lake à Milwaukee, avant de devenir le directeur sans salaire du MBL. Mais il semblerait qu'il ait supporté ce petit désagrément car il avait l'ambition de construire la recherche américaine et que la direction du MBL était la parfaite opportunité pour atteindre son objectif. En 1892, il dirigea le programme de biologie à la nouvelle université de Chicago (105).

La première étape de la fondation du MBL fut une décision de l'association pour l'éducation des femmes de Boston qui envoya une circulaire en 1886 aux biologistes du pays. Le site de Woods Hole au sud-ouest du cap Cod fut choisi et un terrain acheté à proximité des pêcheries créées dans les années 1870 pour protéger le poisson et étudier sa culture. Le MBL n'avait pas de vocation de recherche au départ. L'association pour l'éducation des femmes de Boston voulait une école d'été permanente mais les scientifiques du bureau, liés à Harvard et à Johns Hopkins, voulaient un directeur qui ait l'expérience de la recherche marine et désire combiner recherche et éducation. Mais rapidement, au milieu des années 1890, l'enseignement devint une préoccupation secondaire (106).

Le matériel marin de Woods Hole, comme celui de Naples, offrait des avantages exceptionnels pour les recherches sur les problèmes fondamentaux car l'eau de mer est un milieu idéal ; sa densité est à peu près la même que celle du protoplasme ; les œufs et les larves existent en très grande quantité. Ils peuvent être cultivés *in vitro* et permettent les expériences de physiologie et d'embryologie car ils sont faciles à manipuler vivants. Au MBL, on n'avait pas à se préoccuper de la localisation du matériel qui était présélectionné et souvent précollecté comme à Naples (107).

Whitman joua un rôle majeur dans la recherche américaine des années 1890. Enthousiasmé par sa visite à Naples, il reproduisit une ambiance similaire au MBL. Il commença de regrouper une communauté de chercheurs qui avaient des buts communs, qui travaillaient chacun sur un organisme différent et qui ensuite comparaient les résultats (108). La morphologie et la physiologie faisaient partie des programmes dès le départ, car Whitman ne voulait pas séparer l'étude de la forme de celle de la fonction. L'embryologie fut ajoutée au programme au début des années 1890. La physiologie fut dirigée en 1894 par Jacques Loeb qui enseignait alors à l'université de Chicago (109). Woods Hole eut un énorme succès auprès des biologistes américains qui, peu nombreux et isolés dans leurs collèges, manquaient de possibilités d'échanges. Les séries de conférences ou *Biological Lectures*, organisées chaque vendredi soir en été, leur apprenaient les controverses existantes (110). Dans les premières

années, les discussions concernaient les questions d'organisation précoce, mais toutes les questions pouvaient

être englobées dans le débat plus général sur la préformation et l'épigénèse. Les débats étaient les mêmes qu'à Naples (111). La plupart des biologistes américains qui devinrent célèbres, dans la période 1892-1910, étaient passés par Woods Hole (112).

Elias Potter Lyon et la centrifugation des substances de l'œuf (1902-1911)

Elias Potter Lyon était un physiologiste de l'université de St Louis qui travaillait sur les mouvements compensatoires des poissons en 1900-1901. Il étudia ensuite les tropismes, géotropisme et rhéotropisme, des poissons, les effets de l'anoxie sur les œufs d'oursins fertilisés, et l'effet du CO₂ pendant la segmentation. À partir de 1905, il observa les changements de densité et les effets de la centrifugation sur le développement des œufs d'infusoires. Il se consacra ensuite à la physiologie de la circulation en passant par la catalase des œufs d'échinodermes. Ce qui est un parcours pour le moins diversifié. C'était un grand admirateur de Jacques Loeb. Il semble avoir effectué son premier séjour à Woods Hole au cours de l'été 1899.

C'est donc en 1905 qu'il mit au point les milieux de centrifugation de densités différentes pour déterminer la densité des paramécies en les centrifugeant (113). C'est une autre utilisation scientifique de la force de gravité, celle qui détermine que l'objet centrifugé est d'autant plus repoussé de l'axe de centrifugation, que sa densité (ou poids spécifique) est plus grande que celle du milieu dans lequel il est en suspension : *"Si les infusoires passent à travers la solution, leur densité est plus grande; si elles restent au sommet, leur densité est plus faible que celle de la solution"* (114). Cette observation entraîna une autre, celle de la présence et de l'équilibration différentielle de diverses substances dans la cellule : *"Ceci doit impliquer des pressions ou des tensions à l'intérieur, qui peuvent seulement intervenir dans un système de substances de densités différentes"* (115). Lyon le démontra sur la paramécie en la centrifugeant à forte vitesse pendant plusieurs minutes dans l'adaptateur pour hématocrite. Après observation au microscope on pouvait voir que les granules sombres qui étaient distribués dans tout le cytoplasme étaient ensuite agrégés à l'extrémité antérieure. Il y avait donc bien des différences de densité dans le cytoplasme de la paramécie. La centrifugation rendait aussi visibles d'autres substances de l'œuf qui n'étaient pas discernables avant centrifugation. Lyon fit ensuite l'expérience sur plusieurs sortes d'œufs d'animaux ; dans l'œuf d'*Arbacia*, on pouvait observer quatre substances ; le noyau semblait être plus léger que le cytoplasme dans toutes les expériences (Fig. 1). Lyon pensa alors à l'intérêt de cette découverte pour ceux qui, comme Edwin G. Conklin, défendaient l'idée que les substances de l'œuf sont formatrices d'organes (116).

Les biologistes de Woods Hole et le débat sur les substances de l'œuf

Le débat sur les substances de l'œuf, commencé en Europe, se termina en Amérique. Son épilogue impliqua principalement le physiologiste Lyon et quatre des embryologistes les plus connus de Woods Hole : Lillie, Conklin, Wilson et Morgan. Sur ces cinq hommes, les trois derniers avaient fait leurs études à Johns Hopkins, seule université américaine qui avait un programme de biologie et était orientée vers la recherche et ils se retrouvaient tous les étés à Woods Hole. Ils avaient eu les mêmes instructeurs de biologie, H. Newell Martin et Brooks, qui enseignaient respectivement la physiologie et la morphologie car Huxley, qui était un des conseillers

de l'université considérait, comme Whitman, que les problèmes de structure et de fonction étaient inséparables en biologie. Brooks, comme Whitman, avait été un étudiant de Louis et d'Alexandre Agassiz ; il enseignait à ses élèves comment découvrir les relations phylogénétiques entre les organismes à travers les études détaillées (embryologie, cytologie, anatomie comparative) des stades embryonnaires précoces et tardifs de différents groupes d'organismes marins car Brooks était un haeckelien (117). Dans le débat sur les substances de l'œuf, Conklin et Wilson, eurent dès le départ deux conceptions différentes du même mécanisme, l'un le considérant comme l'expression du rôle primordial du cytoplasme dans la différenciation et l'autre comme celle du noyau.

Edwin Grant Conklin (1863-1952) naquit dans l'Ohio. Son père était médecin de campagne. Conklin fut diplômé de Hopkins en 1891 et enseigna la biologie à l'université Wesleyan dans l'Ohio, où il y avait peu de possibilités de recherche, ce qui était courant dans les universités américaines de l'époque. Mais il étudiait les lignages cellulaires tous les étés à Woods Hole. En 1894, il devint professeur et directeur du laboratoire de zoologie à Northwestern university où un groupe clérical attaqua son enseignement sur l'évolution, ce qui motiva son départ. Il fut ensuite professeur à l'université de Pennsylvanie en 1896, où il commença réellement ses recherches. En 1908 il devint le directeur du programme de biologie à Princeton. Au MBL il travailla d'abord avec Wilson puis il y retourna comme instructeur en 1892 et suivit tous les ans les sessions. Il n'alla à Naples qu'en 1910 (118).

Edmund Beecher Wilson (1856-1939) commença ses études scientifiques à l'université de Yale et soutint son PhD à Johns Hopkins comme Morgan et Conklin. Il commença à travailler sur les animaux marins en 1877 à la commission des pêches, puis continua ses travaux à la station zoologique de Chesapeake qui était dirigée par Brooks. En 1882-1883, il se rendit à Cambridge, puis il travailla dans le laboratoire de Rudolph Leukart à Leipzig et à la station zoologique de Naples. A son retour aux USA, il eut des postes successifs à Williams College, à l'institut de technologie du Massachussetts, à Bryn Mawr, et après 1891, à l'université Columbia où il resta. Là, son travail en cytologie lui gagna une solide réputation internationale et il devint un des leaders américain de la biologie. La première édition de son ouvrage, *The Cell in Development and Inheritance* fut publiée en 1896. Wilson assista à la première session du MBL en 1889 ; il y alla ensuite chaque été. En 1890, il fut élu membre du bureau et par la suite joua toujours un rôle actif dans les affaires du MBL (119).

En 1902, quand Morgan écrivit ses conclusions sur l'effet de la gravité sur le développement de l'œuf, il confirma que ce dernier n'était pas fait de protoplasme homogène, mais de différentes sortes de matériaux protoplasmiques. Morgan avait émis l'hypothèse que les embryons incomplets obtenus après action de la force centrifuge étaient dûs à la lésion des parties de l'œuf qui généraient les parties manquantes (120). Ceci sous-entendait que certaines substances de l'œuf pouvaient être directement impliquées dans la formation des organes de l'embryon ce qui était cohérent avec les remaniements importants, caractéristiques de chaque espèce, observés dans le cytoplasme de l'œuf avant la première segmentation. La structure acquise à la suite de ces transformations semblait capitale pour la segmentation. Cette idée était aussi compatible avec les résultats de Theodor Boveri en 1901 (121) qui avait

montré, sur l'œuf de *Strongylocentrotus*, que les différents organes de l'embryon se formaient à partir de zones différentes de l'œuf. Cette hypothèse reprenait celle de His (122) de régions différenciées formatrices d'organes situées dans le cytoplasme cellulaire où chaque point du disque germinal correspondait à un organe formé ultérieurement (123) et relançait sous une nouvelle forme la vieille question de la prédétermination.

C'est aussi en 1902 que Conklin commença à défendre l'importance du cytoplasme, alors que de plus en plus d'embryologistes étaient favorables à un rôle primordial du noyau dans le développement. Il croyait en l'existence de parties cellulaires différenciées formées directement par le cytoplasme à un stade précoce car, pour lui, c'était la structure initiale du cytoplasme qui déterminait les divisions nucléaires et non l'inverse, et il pensait que l'hérédité nucléaire n'était qu'une partie du processus de différenciation (124). En 1905, il publia ses travaux sur les œufs d'ascidies. Il reconnut dans le protoplasme d'un œuf non segmenté d'une espèce d'ascidie, le matériel des futurs muscles de la queue de la larve et il montra que les différents blastomères sont composés de matériaux ooplasmiques différents (125) : *"Des travaux expérimentaux récents sur certains de ces animaux... prouvent qu'avant même que la segmentation commence, des substances différentes peuvent être présentes ; elles sont destinées à constituer des parties spécifiques de l'embryon au fur et à mesure du développement"* (126). Conklin a montré chez certains œufs de mollusques et d'ascidies, où les substances sont particulièrement visibles et bien localisées, que le développement suit un schéma mosaïque strict, basé sur la localisation de ces substances et que chacune d'entre-elles donne naissance seulement à des organes ou des tissus définis. Si une certaine substance de l'œuf manque, la partie correspondante de l'embryon sera manquante (127). Il rejetait la théorie de Weismann-Roux qui prétend que c'est la segmentation qui crée la mosaïque car la présence de celle-ci avant la segmentation est plutôt compatible avec la théorie de His. Conklin rejetait aussi l'interprétation de Driesch car le protoplasme n'est jamais une masse de matériel indifférencié totipotent. Mais la présence de ces substances dans l'œuf avant la segmentation était-elle l'indice d'une prédétermination ou d'un développement épigénétique ? Conklin ne pouvait le dire car cela dépendait de la nature de ces substances et des mécanismes mis en jeu dans leur transformation.

Wilson avait la même opinion que Conklin sur les substances de l'œuf : *"avant même que l'œuf ait commencé de se diviser en cellules, les parties du futur embryon sont déjà définitivement prélocalisées et prédéterminées dans ses différentes régions protoplasmiques"* (128), mais il avait une autre idée de leur place dans le développement. Il expliquait l'obtention d'embryons nains ou de demi-embryons par une différence de répartition des matériaux de l'œuf au moment des premières divisions cellulaires, en fonction de la façon dont s'effectuent les premières segmentations chez les différentes espèces (Fig.2) : *"La segmentation-mosaïque doit être comprise comme une vraie mosaïque de différents matériaux qui ont d'une façon ou d'une autre une relation causale avec le développement de parties spécifiques"*(129). Et il imaginait le mode d'action des substances en relation avec les dernières découvertes de la physiologie, car les hormones produites par des organes tels que la thyroïde ou les glandes sexuelles étaient connues pour produire des effets morphologiques très spécifiques sur le corps et les

ferments solubles ou enzymes jouaient aussi un rôle très important. Mais le fait que ces substances formatives se regroupent, comme on l'avait observé, au moment où l'œuf commence à se diviser suggérait, qu'au fur et à mesure que le développement se poursuit, de nouveaux matériaux sont progressivement formés et distribués, ce qui en fait des moyens immédiats mais pas la cause primaire de la différenciation. Wilson exposait ensuite sa théorie de formation des matériaux protoplasmiques à partir des lois de Gregor Mendel et de la distribution des caractères héréditaires sur les chromosomes : les matériaux protoplasmiques seraient formés l'un après l'autre au moyen de substances comme les enzymes qui seraient l'expression des chromosomes. Le germe consisterait donc en deux éléments, l'un étant le protoplasme dont le développement serait essentiellement épigénétique et l'autre le noyau qui serait un appareil préformé qui, bien que n'étant pas une miniature de l'adulte, contiendrait en quantité infinitésimale, l'héritage de la race (130)

Les substances de l'œuf ne sont pas formatrices d'organes

Après la découverte de Lyon, chacun à Woods Hole se mit à centrifuger pour observer et modifier la répartition des substances dans les œufs de diverses espèces. Outre Lyon, Morgan, Conklin et Wilson, un autre des biologistes influents de Woods Hole, Lillie, participa à ce débat qui dura quelques années avant d'être "résolu".

Frank Rattray Lillie (1870-1947) entra à l'université de Toronto dans le but de devenir pasteur, mais perdit ses illusions vis à vis de la religion et surtout des hommes d'église. Il arriva à Woods Hole pour la quatrième session, en pleines recherches sur les lignages cellulaires. Whitman lui suggéra de travailler sur les lamellibranches pour son doctorat. En 1892, il suivit Whitman à la nouvelle université de Chicago et soutint son doctorat brillamment en 1894. De 1894 à 1899, il fut instructeur de zoologie à l'université du Michigan, puis de 1899 à 1900, professeur de biologie à Vassar College, puis il retourna à Chicago comme professeur assistant d'embryologie. Il devint professeur associé en 1902, professeur en 1906, chef du département de zoologie en 1910, doyen de la division de sciences biologiques en 1931 et professeur émérite en 1935. Il alla à Woods Hole, chaque été, pendant 55 ans. En 1900 il fut nommé directeur assistant, puis directeur en 1910. Il le resta jusqu'en 1926. En 1915, il fut élu à l'Académie des sciences et membre de la société américaine de zoologie. En 1935, il fut président de l'Académie des sciences et directeur du National Research Council (131).

Les embryologistes de Woods Hole expérimentèrent sur un grand nombre d'espèces, car ils étaient conscients du fait que les résultats à partir d'une espèce ne sont pas applicables à d'autres espèces et qu'on ne peut donc pas en tirer des conclusions générales. Ils centrifugèrent des œufs de *Chaetopterus* et de *Nereis* (132), des œufs d'*Arbacia*, d'*Asterias* et d'araignées (133), des œufs de *Cynthia*, de *Crepidula* et de Pulmonates d'eau douce (134), des œufs de grenouille et de *Cumingia*, des œufs de poissons, et d'autres encore (135) afin de comparer les résultats relatifs à

un mécanisme qui, s'il existait, devait être général. *"Je n'ai pas besoin de vous vanter la merveilleuse sensibilité de la force centrifuge, avec laquelle nous pouvons modifier à volonté le contenu de l'œuf sans le léser. La méthode ouvre une ère nouvelle dans la cytologie expérimentale"* (136).

La centrifugation donnait une stratification des substances de l'œuf ; trois strates chez la plupart des espèces : un petit chapeau gris, une bande claire et un hémisphère jaune (137). Chez *Arbacia* quatre zones distinctes étaient présentes - un chapeau blanchâtre léger de matière huileuse, - une zone intermédiaire parfaitement claire de protoplasme, - une bande ou un segment de vitellus et - une base pigmentée rouge. Le noyau était toujours situé juste en dessous du chapeau gras (138). Le matériel le plus léger, la calotte grise, était faite de substance résiduelle de la vésicule germinale et de nombreux granules qui sont noircis par l'acide osmique et solubles dans le xylol, ce qui suggérait qu'ils soient des globules de graisse. La bande claire intermédiaire contenait la majorité des granules basophiles ; l'hémisphère distal contenait les grosses sphères de vitellus qui étaient acidophiles (139)(Fig. 3).

Pour étudier l'influence de ces substances sur la différenciation de l'embryon, les embryologistes modifièrent leur distribution normale par la centrifugation et suivirent ensuite leur répartition dans les différentes cellules-filles jusqu'à la formation de la cellule du mésoblaste par exemple, comparativement aux cellules non centrifugées. Certains, comme Lillie, utilisèrent des colorants intra-vitaux (140), ou comme Morgan et Lyon la couleur du pigment existant normalement dans l'œuf d'oursin (141), pour suivre la distribution des substances et pour identifier les nouvelles substances formées, sur cellule "vivante" et sur coupes de tissus. *"Le problème est de suivre ces substances dans le développement, de noter l'apparition des autres substances... et d'essayer de découvrir leurs rôles respectifs dans la formation d'un embryon"* (142). Ils choisirent deux étapes du développement qui paraissent caractéristiques, l'emplacement de l'axe de l'œuf ou polarité et la bilatéralité de l'embryon et recherchèrent leurs modifications en fonction de la nouvelle distribution des substances (143). Si ces étapes étaient modifiées, on pouvait raisonnablement conclure que les substances étaient impliquées dans ces processus. Si le développement qui intervenait ensuite était anormal, on pouvait en déduire que les substances étaient formatives et essayer de relier chaque substance manquante avec la partie manquante. Le raisonnement était le même qu'avec le modèle des blastomères, mais l'avantage du modèle expérimental des œufs centrifugés était qu'il ne lésait pas l'œuf, ce qui signifiait qu'il maintenait son organisation, qu'il le conservait entier, ce qui signifiait que ses parties pouvaient réagir avec le tout, et qu'il modifiait sa topographie, ce qui permettait de discriminer entre les substances.

Chez beaucoup d'animaux, c'est le point de sortie des globules polaires qui détermine l'axe principal de l'ovule qui coïncide avec l'axe principal de l'œuf fertilisé et de la gastrula et décide de sa polarité ; c'est cet axe de l'œuf, qui directement ou indirectement, devient l'axe principal de l'animal adulte ; la polarité détermine la distribution normale des granules dans l'œuf, soit l'agrégation de la substance jaune dans l'hémisphère végétatif et de la

substance grise dans l'hémisphère animal (144). Les processus de développement apparaissent en référence à ces pôles ; ainsi les granules variés de l'œuf se réarrangent eux-mêmes d'une façon polarisée, les corps polaires ont une relation déterminée à la polarité, le clivage intervient et les organes variés apparaissent dans des relations topographiques définies à la polarité. Était-il possible, en modifiant la position des substances ooplasmiques, de déplacer l'axe de l'œuf et sa polarité, et le développement qui intervient ensuite est-il normal ou anormal ?

La bilatéralité est aussi un facteur important des premières étapes du développement. Elle apparaît à des moments différents dans le développement des différents animaux (145), mais celle de l'œuf coïncide aussi avec celle de l'embryon. Chez la grenouille, elle est modifiée par la lésion d'une partie de l'œuf effectuée dans certaines conditions de temps après la fécondation (146). Chez les ascidies, certains résultats montrent qu'une des causes de leur bilatéralité est la localisation bilatérale de certaines substances de l'œuf. Si on change cet arrangement, la bilatéralité de l'embryon est détruite (147). *"Le déroulement de tout le développement est déterminé... en référence à l'axe bilatéral... Si la bilatéralité est le résultat d'une sorte d'équilibre des inclusions protoplasmiques (noyau et granules), il est évident que les variations dans la position des granules et du noyau, produites par la force centrifuge, doivent provoquer un changement de direction de la bilatéralité"* (148).

Mais ni la polarité, ni la bilatéralité ne furent modifiées après le déplacement des différentes substances de l'œuf par centrifugation (149). Comme la substance fondamentale n'était pas déplacée par la force centrifuge, alors que tous les granules l'étaient, Lillie pensa que ces deux étapes cruciales étaient sous la dépendance de l'organisation de la substance fondamentale (150), qui réapparut là comme "la substance de vie" des protoplasmistes, le vrai protoplasme cellulaire, celui qui donne naissance à tous les autres éléments formés ou métaplasmiques. Les embryons qui se formèrent furent parfaitement normaux, bien que leur développement se soit fait en absence de certaines de ces substances, et la localisation des organes qui se constituèrent n'avait aucune relation avec les substances présentes. Ce qui indiquait que la disposition et même la présence des différentes substances n'avait aucune influence sur la polarité de l'œuf, sur la bilatéralité et sur le développement précoce. Dans la plupart des espèces, les plans de segmentation, bien que gênés quelquefois par l'accumulation des matériaux à cet endroit, se firent au même emplacement que dans les œufs non centrifugés. Dans d'autres espèces, deux plans de segmentation furent interchangeés, mais ce changement n'eut aucune influence sur le développement (151). *"En d'autres mots, le développement est indépendant de ces matériaux grossiers qui sont séparés par la force centrifuge"* (152).

Un point de divergence semblait exister chez les ascidies, où lorsque la position normale des substances était modifiée par la force centrifuge, les organes et tissus qu'elles formaient habituellement continuaient à se développer, au moins dans quelques cas (153). Mais le débat s'arrêta en 1910 avec des études systématiques menées sur différentes espèces. La conclusion fut que les substances visibles de l'œuf ne sont pas formatrices d'organes (154). La potentialité de former des organes aurait pu être dévolue à la substance fondamentale claire

dont avait parlé Lillie, mais la polarité et la bilatéralité auraient du être toujours modifiées quand la substance

claire était déplacée, et ce n'était pas le cas (155).

Mais si ces substances, qui existent dans tous les œufs, n'avaient aucun rôle dans le développement, quelle était la signification de leur présence ? Le sentiment général était que *"leur rôle dans le développement est secondaire. Derrière elles se tient une organisation qui dirige les séries d'événements qui caractérisent le développement. Les matériaux visibles de l'œuf suivent mais ne dirigent pas le développement"* (156). Toutefois, que penser de certains cas où une distribution anormale du matériel granulaire de l'œuf semblait être corrélée avec une forte mortalité des œufs centrifugés et une tendance à l'anormalité des œufs survivants ? Ils pouvaient être expliqués par une nutrition déficiente en cas de granules nutritifs ségrévés, et par un échec du noyau ségrévé à atteindre sa localisation adéquate au bon moment (157). Le rôle de ces substances était pour l'instant impossible à déterminer car pour tester leur implication, les embryologistes n'avaient utilisé que des facteurs de localisation, polarité et bilatéralité, et ils en avaient conscience : *"Les rôles respectifs du noyau et des granules ne peuvent pas être déterminés par ces expériences ; mais leur importance dans la physiologie du développement est en dehors du débat"*(158).

Le protoplasme des embryologistes et le concept de protoplasme en 1910

En 1910, quand les embryologistes s'étaient rendu compte que les substances du protoplasme n'étaient pas concernées par le développement, le contenu du concept de protoplasme était profondément différent de ce qu'il était dix ans auparavant, quand les cytologistes y avaient observé les éléments structuraux décrits précédemment. Le nouveau concept de protoplasme était né vers 1901 et avait été refaçonné par plusieurs disciplines qui n'étaient pas toutes des disciplines biologiques car outre la biochimie, la chimie-physique et la chimie colloïdale avaient participé à son élaboration.

C'est en 1901 que le protoplasme cellulaire avait subi des remaniements importants. Franz Hofmeister avait énoncé la théorie enzymatique de la vie. Le protoplasme cellulaire était devenu un sac d'enzymes. C'était la conséquence de la découverte, entre 1894 et 1898, d'enzymes intracellulaires, d'enzymes effectuant des réactions de synthèse et d'enzymes pouvant à la fois synthétiser et dégrader, ce qui correspondait aux besoins de la cellule vivante (159). Les procédés de destruction mécanique de la membrane, utilisés pour libérer les constituants cellulaires, qui étaient déjà utilisés par les chimistes (160) et les bactériologistes (161), avaient permis de découvrir d'autres enzymes intracellulaires. En 1901, on en connaissait dix, et Hofmeister et les partisans de la théorie enzymatique pensaient que toutes les réactions cellulaires étaient dues à des enzymes (162). Ce fut la naissance d'une nouvelle science, la biochimie, qui expliquait la vie par l'action des enzymes intracellulaires.

La fonction des enzymes impliquait-elle une structure ou les enzymes étaient-ils, comme dans la théorie protoplasmique capables d'utiliser la structure de la substance ? Tout d'abord, Hofmeister pensa que c'était la structure organisée du protoplasme qui produisait une compartimentalisation et une coordination des activités des enzymes intracellulaires. Ce fut l'idée qui fut reprise par Frederick Gowland Hopkins dans les premières années du siècle ; mais ce dernier pensa rapidement que les enzymes agissaient dans la cellule comme ils agissaient *in vitro*, c'est à dire sans nécessité de structures, *"Je propose que ces réactions qui sont catalysées par les enzymes colloïdaux, n'interviennent pas dans un milieu strictement homogène, mais qu'elles s'effectuent dans les fluides aqueux de la cellule exactement dans les mêmes conditions de solution que celles qui sont présentes sous l'influence des enzymes in vitro"* (163) et la structure de l'enzyme et celle du substrat, complémentaires, comme la clef et sa serrure, apportaient une spécificité suffisante (164). La structure disparut donc quelques temps chez les partisans de la théorie enzymatique mais l'association avec la physico-chimie des colloïdes lui redonna une importance limitée.

C'est Thomas Graham qui, en 1861 avait été l'instigateur de la théorie colloïdale (165). Il avait reconnu deux états de la matière liquide, divergeant par la vitesse de diffusion de leurs composants : les cristalloïdes et les colloïdes. Il suggéra que ces derniers soient faits de micelles ou agrégats de molécules liées par des forces de cohésion. Ils représentaient l'état dynamique de la matière, comparativement aux cristalloïdes qui étaient son état statique. Ils

étaient les constituants de toute matière vivante. *"Les colloïdes possèdent L'ÉNERGIE et sont probablement la source principale de la force qui apparaît dans le phénomène de vie"* (166). Jusqu'au début du 20^e siècle, les colloïdes attirèrent peu l'attention, puis un nombre croissant de physico-chimistes et de biologistes, frappés par les similarités entre le comportement *in vitro* des systèmes colloïdaux et celui des constituants protoplasmiques *in vivo*, se mit à étudier cet état physique particulier (167) et, en 1901, Georg Bredig, un élève de Wilhelm Ostwald, relia le phénomène de catalyse à l'état colloïdal du catalyseur, qu'il soit organique comme un enzyme ou inorganique comme le platine, ce qui donnait des préoccupations communes à la chimie colloïdale et à la biochimie (168). Beaucoup de biochimistes furent alors attirés par la science colloïdale car elle offrait la perspective d'un programme de recherche réductionniste qui semblait unifier la physique, la chimie et la biologie (169). Le phénomène de catalyse colloïdale fut expliqué par les forces de surface dues au pouvoir d'adsorption extrêmement puissant des colloïdes. *"Les processus d'adsorption doivent jouer un grand rôle dans la catalyse et doivent être la conséquence directe des augmentations de concentration créées par les surfaces. Un mélange chimique comme le protoplasme doit offrir des conditions très favorables pour la mise en jeu et pour l'accélération des réactions chimiques"*(170). Ce pouvoir d'adsorption dépendait de la taille de la surface adsorbante et permettait aux colloïdes de concentrer les corps avec lesquels ils étaient en contact. (171). Dans ce système, les seules structures actives étaient les murs colloïdaux semi-perméables qui se formaient spontanément dans un mélange de deux colloïdes (172). Ils devinrent un lieu d'échange contrôlé pour la multitude d'enzymes que contenait le protoplasme. Celui-ci était devenu un système polyphasique (173). Cette théorie colloïdo-enzymatique du protoplasme, bien qu'elle n'ait pas fait l'unanimité, notamment en Angleterre où il y avait de nombreux partisans de la théorie protoplasmique (174), fut acceptée progressivement par une majorité, car elle rassemblait des chimistes des colloïdes, des physico-chimistes et des biochimistes.

Le protoplasme qu'avaient découvert les embryologistes, au cours de leurs expériences de centrifugation, était compatible avec cette nouvelle théorie car les diverses substances de l'œuf pouvaient être considérées comme un système de phases protoplasmiques différentes et même, éventuellement, comme des enzymes différents. Mais ce qui était remarquable dans ce nouveau concept de protoplasme, était l'absence complète de référence aux structures découvertes par les cytologistes ; où étaient les mitochondries d'Altmann-Benda, où se trouvaient le réticulum de Garnier et l'appareil de Golgi ? Pourquoi ces structures, observées dix ans auparavant, avaient-elles disparu ? Était-ce leur existence qui était mise en doute ou leur peu d'importance dans les mécanismes vitaux qui expliquait leur absence du nouveau concept de protoplasme ? Les embryologistes, qui disposaient d'un modèle d'étude du protoplasme, avaient-ils eu la curiosité de comparer leur modèle à celui des cytologistes et de chercher si leurs substances correspondaient à l'une ou l'autre de leurs structures, eux qui étaient tous un peu cytologistes et qui utilisaient les mêmes techniques permettant de "voir" à l'intérieur de la cellule ?

Des embryologistes de Woods Hole ayant travaillé sur les substances de l'œuf, seul Lillie chercha à savoir ce qui se cachait derrière ces substances, et compara ses résultats avec ceux de la littérature (175). Les résultats de la littérature étaient principalement ceux de Wilson qui avait déjà publié plusieurs ouvrages et articles de référence sur la structure protoplasmique en 1910 (176).

Lillie observa deux sortes de granulations dont la densité était différente puisque, dit-il, elles étaient séparées par la centrifugation : des sphérules et des microsomes qui, selon lui, étaient responsables de la production des sphérules (177). Il identifia les microsomes avec les pangènes de Hugo De Vries et cita également Altmann, auteur de la théorie particulière la plus crédible, puisque ses granules (les bioblastes-mitochondries) étaient visibles : "*Il n'y a aucun doute que la composition morphologique fondamentale du protoplasme de l'œuf de Chætopterus correspond à la théorie granulaire et non aux théories fibrillaire, réticulaire ou alvéolaire*"(178). Lillie avait, toutefois, un avis différent sur l'existence du réticulum : "*A mon avis, le réticulum est un artefact...*", dit-il (179). Il se référait à cet article paru en 1899, dans lequel un physico-chimiste anglais, William Bate Hardy, avait étudié l'action de divers fixateurs utilisés par les cytologistes sur différents mélanges colloïdaux. Il avait montré que cette action était une coagulation et une réorganisation des structures, identique à ce qu'on pouvait observer sur le tissu mort après action de ces produits sur le tissu vivant. Cet article avait remis en question toutes les structures, particulièrement l'ergastoplasme de Garnier, observées dans les cellules par les cytologistes, en en faisant des artefacts (180). Dans deux de ses publications, Wilson relativisait les résultats de Hardy. Il connaissait les travaux similaires d'autres cytologistes qui avaient étudié l'effet des fixateurs et des colorants avant que Hardy ne le fasse, et qui avaient obtenu des conclusions semblables. Mais, dit Wilson, si les fixateurs et les colorants ont bien cette conséquence sur les tissus, les structures granulaires, fibrillaires et réticulaires sont néanmoins visibles dans certaines conditions et dans certaines cellules qui n'ont pas été soumises à l'action de ces produits. Ces formations existent bien dans la cellule vivante (181). Wilson pensait que les différences de propriétés physiques et chimiques des granules étaient compatibles avec leur rôle dans une théorie particulière, et il envisageait cette possibilité ; mais ce qui l'intéressait dans ces structures n'était pas leur "forme" mais leur "organisation", propriété indissociable de leur fonction (182). Wilson semblait indiquer ainsi que, pour lui, la fonction était indépendante de la forme et qu'une structure était équivalente à une autre structure, dans la mesure où elles avaient la même organisation. La troisième structure importante (rétrospectivement) découverte par les cytologistes ou appareil de Golgi, ne fut mentionnée ni par Wilson ni par Lillie (183).

Il semble donc, qu'en 1910, le problème de l'existence des structures découvertes par les cytologistes à la fin du siècle précédent ne soit pas primordial et qu'il engendre une sorte d'indifférence même chez ceux qui, comme Wilson, croient à la réalité de ces structures et à leur implication dans les mécanismes vitaux. C'est aussi la signification de la conclusion de Lillie: cette recherche "*ne fait pas partie du débat*" (184). La question qui se pose alors est celle de l'origine de cette indifférence. Il semble que la réponse se trouve, comme le laissent deviner les

écrits de Wilson et le contenu du concept de protoplasme des années 1910, dans le rôle secondaire qu'ont les structures au niveau théorique ; leur importance très relative n'incite pas à poursuivre leur identification.

Conclusions

L'histoire racontée est celle des débuts de la centrifugation en biologie. Elle retrace les circonstances de l'introduction de cette technique dans le programme expérimental des embryologistes et l'utilisation qu'ils en ont faite dans l'étude du protoplasme cellulaire, "terre inconnue" dont le contenu commença à s'éclaircir. Mais c'est aussi l'histoire d'un échec qui va se répercuter sur d'autres objets, condamnant ces derniers à disparaître pendant quarante ans. L'histoire suggère aussi que les embryologistes ne sont pas les seuls responsables de cette disparition et que les théories de l'enzymo-colloïdologie sont également impliquées par le peu d'importance qu'elles laissent aux structures spécifiques. Car la disparition des "organites cellulaires" du niveau conceptuel, est le résultat d'une rupture dans les pratiques qui intervient au moment d'un changement conceptuel qui rend la prolongation de ces pratiques sans objet.

Les embryologistes commencent à étudier les substances de l'œuf, dans l'espoir de développer ce que Ludwik Fleck appelle une "proto-idée" (185). Il s'agit ici de la proto-idée de His (186) qui voit le protoplasme de l'œuf comme une mosaïque de parties dont chacune est susceptible d'induire la formation d'un organe spécifique. Cette idée est une proto-idée car elle est entièrement théorique au moment où les expérimentalistes américains commencent à la tester. Elle gagne un point d'ancrage concret dans la découverte inattendue de Lyon de la présence de plusieurs substances dans l'œuf. Ce qui va lui permettre de se développer. Car les embryologistes sont préoccupés par la cause immédiate de la formation des organes de l'embryon et *"sans une fonction dans une ère préoccupée par les "causes", ce fait n'aurait jamais attiré l'attention, ni stimulé l'effort de recherche nécessaire"* (187). On savait que le contenu de l'œuf n'était pas homogène, à cause des deux pôles reconnaissables à l'œil nu, l'un clair et l'autre sombre et de certaines zones qui sont pigmentées, tandis que les autres ne le sont pas ; et non seulement, la centrifugeuse les fractionne en couches horizontales bien définies : *"Que fait un fractionnement par centrifugation ? il transforme la matière – il sépare les molécules – et il produit une inscription, disons, un modèle de bandes dans le tube de centrifugation"* (188), mais on peut en dénombrer un nombre plus grand que lorsqu'on observe un œuf à l'œil nu ou au microscope car certaines sont alors mélangées avec d'autres et non discernables.

Et ce que la centrifugation propose alors aux embryologistes est ce que Hans-Jörg Rheinberger appelle un nouvel espace de représentation : *"Il fut le résultat de deux méthodologies complémentaires.... Ce fut la comparaison par superposition de ces deux modes de représentation qui produisit des résultats stables et reproductibles"* (189). La première de ces méthodologies est un effet recherché sur le développement, modification de l'axe de l'embryon ou de la bilatéralité, etc ; cet effet va conditionner l'existence de l'espace de représentation. La seconde calibre le

système ; c'est la topologie du cytoplasme, modifiée par la centrifugation et contrôlable par la cytologie. Ce nouvel espace de représentation était susceptible de générer de multiples orientations, comme par exemple la biochimie de ces substances révélées par la centrifugation et la corrélation aux structures des cytologistes, dans un modèle réductionniste ; c'était un espace *"pour la production, la caractérisation, l'isolement, et la purification des constituants cellulaires"* (190). C'est d'ailleurs ce que proposait Lyon dans son article de 1907 : *"La première chose intéressante à noter est la différence de densité de certaines substances de l'œuf, ce qui donne un moyen pratique de les séparer... Il n'est pas impossible que ces méthodes soient étendues à la séparation quantitative des substances de l'œuf et à la recherche de leurs caractères chimiques. L'influence de ces expériences sur les théories de la structure protoplasmique est également importante"* (191).

Les conseils de Lyon n'étaient pas tombés complètement dans le vide. Un chimiste, Jesse F. McClendon avait analysé les substances de l'œuf de grenouille, séparées après centrifugation de centaines d'œufs pour obtenir du matériel en quantité suffisante, et déterminé les différents lipides constituants (192). Mais un contenu en lipides n'était pas une fonction, il ne donnait aucune indication sur le développement embryonnaire ni sur le métabolisme cellulaire. Il ne pouvait délimiter un espace de représentation.

Lyon s'est donc trompé d'époque ; cette histoire n'existera que beaucoup plus tard mais elle ne sera pas le développement de l'idée de His qui restera à l'état de proto-idée; elle sera l'histoire d'un succès dans près de quarante ans, quand un espace de représentation similaire sera recréé à partir d'un modèle réductionniste de protoplasme et donnera la possibilité de superposer les différentes "fractions" ou "structures" obtenues par centrifugation à une activité métabolique (193). Car le problème de l'espace de représentation des embryologistes des années 1900, fut que l'un de ses composants ne remplit pas son rôle et conduisit à un échec à la fois de cette représentation et de l'histoire qu'elle aurait pu commencer à écrire. L'espace de représentation disparut spontanément. D'autres tentatives de re-création de cet espace seront entreprises beaucoup plus tard en diversifiant ce que les embryologistes du début du siècle appellent "substances", en substances proprement dites et en structures. Car ce que les embryologistes prennent pour des substances dans les années 1900, sont des structures (mitochondries, granules de vitellus et de sécrétion, granules de pigment, etc) ; à la vitesse qu'ils utilisent ce sont des composés particuliers qui s'équilibrent. La centrifugation deviendra même une méthode pour définir si un constituant est soluble ou particulaire comme dans le cas des virus filtrables (194). Le développement de la proto-idée de His, sera repris par Conklin, 20 ans plus tard. Il montrera, comme Jules Duesberg, que la substance qui correspond aux mitochondries est nécessaire au développement (195), mais confirmera qu'elle n'a aucun rôle dans la formation des organes et que son implication se situe probablement au niveau du métabolisme général. Les travaux de Joseph Needham à la fin des années 1920, effectués sur des embryons se trouvant à un stade où la différenciation chimique a déjà commencé, démontreront que certaines *substances* protoplasmiques donnent bien

naissance à des parties différenciées, mais les *substances-structures* visibles de l'œuf ne seront pas impliquées ; la mosaïque de His n'était pas faite des constituants initiaux de l'œuf (196).

Bien que cet espace de représentation n'ait pas donné les réponses qu'attendaient les embryologistes, il paraît étonnant qu'il ait été abandonné à la fin des années 1900, alors qu'il promettait de donner une foule de renseignements sur cette partie de la cellule, le protoplasme, si primordiale jusqu'à cette date, puisque c'était elle qui détenait l'explication de la vie. Est-il possible de comprendre pourquoi les embryologistes l'ont abandonné ?

Tout d'abord, cet espace de représentation ouvert par la centrifugation de l'œuf est celui des embryologistes et il n'intéresse ceux-ci que dans la mesure où les substances de l'œuf sont impliquées dans sa différenciation. Ce qui ne se vérifie pas. Toute leur stratégie est orientée vers les causes de la différenciation et ils ne sont pas prêts à s'intéresser à ces substances en tant que telles et à déplacer leur problème de recherche vers leur étude, comme le fera Claude dans les années 1940 (197). Ensuite, et cet argument est lié au premier, les embryologistes qui travaillent sur le protoplasme de l'œuf sont pour la plupart des holistes et bien qu'ils acceptent les modèles réductionnistes, leur système expérimental est l'œuf entier qu'ils considèrent comme un tout dont chacune des parties interagit avec les autres parties et c'est cette interaction qui, selon eux, est primordiale pour le développement et la différenciation. Conklin écrivait encore en 1940 : *"Mais il n'a pas été démontré que les parties visibles de la cellule, quelles qu'elles soient, encore moins les parties ultramicroscopiques, puissent montrer ces propriétés de la vie, quand elles sont complètement isolées des autres parties. En fait, la cellule entière est toujours l'ultime unité de vie capable de montrer toutes les propriétés de la vie"* (198). L'étude des substances de l'œuf isolées ne fait pas partie de leur programme expérimental.

Une autre raison, la plus importante probablement, de l'abandon de cet espace de représentation par les embryologistes est la scission qui interviendra entre-eux en 1911 (199) et qui détruira leur collectif et leur style de pensée; car les embryologistes de Woods Hole dont nous avons parlé font tous partie du cercle ésotérique du collectif de pensée de Woods Hole (200). Et leur style de pensée inclut une vision du cytoplasme comme organe central de l'hérédité et du développement, vision qui était celle de Morgan mais dont Wilson avait commencé à douter (voir au dessus). Morgan et tous les partisans d'un rôle déterminant du noyau dans les processus d'hérédité et de développement quittent l'embryologie pour la génétique, créant un fossé entre les deux disciplines (201). Wilson délaissera aussi la cytologie du cytoplasme pour s'intéresser plus particulièrement à celle du noyau (202). Le noyau cellulaire sera désormais le principal centre d'intérêt. Les embryologistes épigénistes de Woods Hole qui restent partisans d'un rôle prépondérant du cytoplasme, se dirigeront vers d'autres objets comme l'influence des hormones sur le développement (203).

Si le modèle développé par les embryologistes fut abandonné pour l'étude du développement de l'embryon, les avantages qu'il présentait : modèle holistique de cellule "vivante", possibilité de distinguer un élément par la centrifugation sans le séparer des autres éléments et sans léser le milieu, furent perçus par un certain nombre de

biologistes qui l'utilisèrent pour confirmer la réalité de la mitochondrie. La raison principale de cet intérêt pour la mitochondrie est due à l'implication de celle-ci dans le mécanisme de l'hérédité (204) et plus particulièrement dans celui de l'hérédité cytoplasmique susceptible d'expliquer l'acquisition de caractères nouveaux, idée que les épigénistes, adeptes d'un rôle fondamental du cytoplasme dans le mécanisme de l'hérédité vont soutenir dans les décades suivantes (205). L'aspect granulaire donné au protoplasme par les mitochondries, qui était celui de la plus commune des structures de base protoplasmiques, et la coloration spécifique de ces granules avec des colorants vitaux comme le vert Janus, qui permettent de les observer dans les cellules vivantes, c'est à dire non fixées (206), furent des raisons supplémentaires d'intérêt. Mais ce modèle, qui aurait pu permettre l'identification des autres composants cellulaires, ne sera utilisé que pour celle de la mitochondrie qui sera la seule structure à émerger des substances de l'œuf.

Mais cette rupture dans les pratiques des embryologistes n'est pas la seule cause de la disparition des structures protoplasmiques, du niveau conceptuel, en 1910. L'autre motif, peut-être plus important, est ce nouveau concept de protoplasme qui donne un rôle accessoire aux structures dans les mécanismes vitaux, ce qui explique l'indifférence des cytologistes vis à vis des structures. En 1910, les mécanismes vitaux sont expliqués par les forces de surface créées par le phénomène d'adsorption colloïdale. Ils se traduisent essentiellement par des transferts des énergies de surface et des transformations de celles-ci en différentes formes d'énergie. Le concept de réaction vitale semble entièrement dominé par cette notion d'énergie. Comment ce concept d'énergie s'est-il donc formé et quelle relation a-t-il entretenu avec l'idée de matière, dont sont faites les structures ? Comment enfin s'est-il inséré dans les théories dominantes ?

Le concept d'énergie est né avec la thermodynamique, au 19^e siècle. C'est un Ecossais, Macquorn Rankine, qui en fit une théorie en 1855 en publiant *L'Energétique* (207). L'énergétique, appelée aussi énergétisme, est une doctrine nouvelle qui établit un lien entre tous les phénomènes, statiques ou dynamiques, physiques ou moraux, matériels ou spirituels (208). "*Le monde où nous vivons est entièrement soumis à leurs influences (des différentes formes d'énergie). Toutes nos actions, toutes nos opérations psychiques, reposent sur des variations ou des transformations d'énergie*" (209). Ernest Solvay a même appliqué la science de l'énergie aux phénomènes sociaux (210). La conception mécaniste du monde faisait des phénomènes naturels des mouvements de la matière, mais, dit Wilhelm Ostwald, les phénomènes mécaniques sont seulement un cas particulier des transformations générales de l'énergie (211). Mais si tout est énergie que devient l'autre aspect d'un corps, celui de la matière ? Ostwald, Emile Nyssens, Julius Robert Mayer, Stéphane Leduc et tous les énergétistes pensent que la notion de matière est devenue une notion superflue (212). Elle s'est formée avant que celle d'énergie soit connue, ce qui explique qu'on ait attribué à la matière des composants qui appartiennent essentiellement à l'énergie. Si l'on rend à l'énergie ceux qui lui reviennent, la notion de matière se dissout. L'usage du mot matière a cessé de convenir au langage scientifique (213). *Tout ce qu'on appelle matière est de l'énergie, car la matière se présente comme un complexus*

d'énergie de pesanteur, d'énergie de forme et de volume, d'énergie chimique" (214). "La force est la propriété essentielle de l'être ; la matière que nous voyons et que nous touchons est quelque chose de secondaire" (215).

Si ces idées, formulées dans les années 1908-1910, ont pu influencer les concepts biologiques, il est naturel que les structures qui sont faites de matière, n'aient qu'un rôle accessoire dans le concept de protoplasme de cette période. Mais avant d'affirmer cette influence, il convient d'examiner quelles ont été les relations entre l'énergétisme et la biologie. Les énergétistes sont des physico-chimistes et cette science, fondée par les "ionistes" Jacobus Henricus Van't Hoff, Svante Arrhenius et Wilhelm Ostwald, s'est beaucoup développée à la fin du 19^e siècle (216). Parmi ses trois fondateurs, qui reçurent chacun un prix Nobel, Ostwald fut le propagandiste le plus actif ; il publia un journal international, dont le bureau éditorial était composé de membres de tous les pays d'Europe, qui fut la vitrine de tout ce qui se faisait en physico-chimie jusqu'à la guerre de 1914. Auteur d'un nombre impressionnant de manuels, qui furent pour la plupart traduits, il eut un grand nombre d'étudiants, venant de tous les pays du monde, notamment d'Amérique, qui devinrent eux-mêmes célèbres (217). Son influence fut donc très importante sur le développement de la physico-chimie (218), mais il est difficile de mesurer celle qu'il eut sur la diffusion de l'énergétisme, doctrine qu'il commença à soutenir au début des années 1890 et qui fut très controversée (219). Certains arguments, comme la traduction immédiate, en France, de ses ouvrages sur l'énergie de la décade 1900-1910 et l'adhésion de biologistes comme Jacques Loeb à la doctrine (220) sont en faveur de cette influence. Et il existe un dernier argument, primordial, qu'on met à jour par l'analyse du contenu "énergétique" des concepts de la nouvelle théorie colloïdo-enzymatique. Quand Graham écrivit ses articles sur les colloïdes en 1861 (voir au dessus), il fit de ceux-ci les constituants de toute matière vivante et des possesseurs de l'énergie, qualité qui explique le dynamisme de la matière vivante (voir au dessus) ; c'est lui qui écrivit "énergie" en lettres majuscules. Cette mise en valeur est étonnante mais explicable par la naissance et le développement de l'énergétique dans les îles britanniques en 1855 (221) (voir au dessus). En 1901, la matière vivante est constituée d'enzymes qui sont des colloïdes, ce qui explique leur rôle catalyseur. C'est du laboratoire de Ostwald que sera jeté ce pont entre la théorie colloïdale et la théorie enzymatique, incorporant l'énergétisme à la biochimie (voir au dessus). Ostwald avait d'ailleurs adhéré à la théorie enzymatique dès sa formulation et ce fut son fils, Wolfgang Ostwald, qui se fit l'ardent propagandiste de la théorie colloïdale. Si on examine la théorie enzymatique telle qu'elle était énoncée vers les années 1910, on peut s'assurer très vite que la notion d'énergie y est omniprésente, au niveau des forces d'adsorption qui entrent en jeu dans les phénomènes enzymatiques : *"On peut se demander quelles sont les forces qui créent ces changements de concentration dans les surfaces. C'est toute une série de différentes formes d'énergie" car "l'adsorption prend place, là où il y a sur une surface une différence dans le potentiel d'énergie qui peut être diminuée à travers un changement dans la concentration des matériaux dispersés entourant cette surface."* (222), et par la relation entre l'énergie et le dynamisme que Graham avait été le premier à exposer. Car Hopkins, qui était le personnage de la nouvelle biochimie, explique le dynamisme des réactions chimiques

cellulaires par celui des colloïdes : *"Ces complexes colloïdaux créent un milieu spécial qui assure un agencement particulier et un laboratoire organisé pour les évènements chimiques dynamiques qui interviennent à l'intérieur de la cellule"* (223). La vie cellulaire est liée à cet état particulier : *"Sa vie est l'expression d'un équilibre dynamique particulier qui s'obtient dans un système polyphasique"* (224). Hopkins a intégré également la notion d'énergie de surface créée par Ostwald : *"L'état colloïdal de la matière aussi bien que les propriétés de surface déterminent la plupart des caractéristiques de ces réactions"* (225). Et quelle était la place des structures découvertes par les cytologistes dans la "biochimie dynamique" de Hopkins ? Celui-ci ne niait pas leur existence et considérait que les constituants "métaplasmiques", ou granulations diverses de la cellule (qui n'étaient pas nommées) avaient leur place dans l'équilibre du système tout entier (226), mais cette place n'était due qu'à leur surface qui augmentait le transfert d'énergie. Leurs formes, qui n'étaient dues qu'à la "matière" dont elles étaient constituées, ne leur donnait aucun rôle spécifique dans la théorie de la vie des années 1910. Ces faits semblent bien indiquer que la doctrine de l'énergétisme, bien qu'ayant été rejetée par les physiciens, se retrouva dans la chimie du vivant et que le concept d'énergie de Wilhelm Ostwald appliqué à un support "matériel" adéquat, celui des colloïdes du protoplasme, par son fils, Wolfgang, fit plus de tort aux structures spécifiques découvertes par les cytologistes à la fin du 19^e siècle, que la rupture dans les pratiques des embryologistes.

Bien qu'il ait été un peu marginal par rapport à certaines des convictions de l'époque, personne n'a mieux résumé cet état d'esprit que D'Arcy Wentworth Thompson dans son livre *"Growth and Form"* de 1917. Après avoir remis les structures à leur juste place, celle de la "matière", il énonce sa conception du dynamisme : *"Les immenses progrès de l'observation microscopique ont multiplié notre connaissance de la cellule et de sa structure intracellulaire. Et à la multitude de structures visibles, il a souvent été plus facile d'attribuer des vertus, que de décrire des fonctions ou des modes d'action compréhensibles... Otto Bütschli a parlé d'échec des méthodes morphologiques et de besoin de méthodes physiques si nous voulons pénétrer plus profondément dans la nature essentielle de la cellule. Et des hommes comme Loeb, Whitman, Driesch et Roux pensaient la même chose... Ce qui signifie que sauf ce qui est en relation avec les recherches dynamiques, l'étude de la structure cellulaire a seulement une faible valeur en soi. Qu'une cellule donnée contienne une structure ou une substance visible ne donne aucune explication sur les activités de la cellule, et dans les hypothèses et les théories qui attribuent des propriétés spécifiques aux micelles, aux idioplasmes, aux ides ou à d'autres constituants particuliers du protoplasme ou de la cellule, nous sommes capables de tomber dans l'erreur d'attribuer à la matière ce qui est dû à l'énergie et est manifesté dans la force ; ou plus exactement d'attribuer aux particules matérielles prises individuellement ce qui est dû à l'énergie de leur colocalisation... La matière en elle-même n'a aucun pouvoir pour faire, pour fabriquer, pour devenir ; c'est dans l'énergie que toutes ces potentialités résident, l'énergie associée d'une façon invisible avec le système matériel, et dans l'interaction avec les énergies de l'univers environnant"* (227).

REMERCIEMENTS

Nous souhaitons remercier Jean-Paul Gaudillière et Ilana Löwy pour les précieux conseils qu'ils nous ont prodigués concernant la préparation de cet article et Jean Gayon pour la critique attentive et efficace de la version finale. Nous remercions aussi Christiane Groeben pour les inestimables renseignements qu'elle nous a fournis sur la station de Naples, Jean-Louis Fischer et Claude Debru pour leurs observations concernant les versions antérieures de ce texte et Serge Guérout pour sa grande connaissance des ouvrages de la bibliothèque de Jussieu dont il nous a fait bénéficier.