

Claude Debru (CNRS - Université Louis Pasteur de Strasbourg)

La biophysique en France : Victor Henri et René Wurmser

Parmi les grandes disciplines biologiques, la biophysique a été brillamment mais fort peu représentée en France dans les années 1900-1930. Cette science définie par l'application des méthodes et des concepts de la physique à l'élucidation de questions biologiques peut être distinguée de l'enseignement de physique médicale qui existait dans les Facultés de Médecine. Le terme même de biophysique est à peu près contemporain de celui de biochimie, et ces dénominations sont héritées du dix-neuvième siècle. Mais il n'est peut-être plus aussi facile, à l'époque qui nous occupe, d'établir une distinction tranchée entre biophysique et biochimie, dans la mesure où les travaux que nous aurons à décrire concernent avant tout l'interaction entre matière et rayonnement. Cette interaction représente la problématique majeure de la physique des années 1900-1920. Cependant, s'il est admis que le rayonnement concerne la physique, l'interaction entre matière et rayonnement a pour intérêt essentiel de nous ouvrir les portes de la structure de la matière, domaine qui, à l'époque, voit s'établir une interdisciplinarité forte entre la physique et la chimie, et une nouvelle version de la chimie structurale. La distinction n'est donc pas toujours si claire, et les travaux que nous aurons à examiner relèvent tout autant de la photochimie que de la biophysique. C'est en réalité l'établissement d'un véritable continuum scientifique dans le domaine biophysicochimique que l'on observe alors.

Les recherches et préoccupations biophysiques ont été indéniablement représentées en France à l'époque qui nous intéresse. Un élève de Claude Bernard, le physiologiste Albert Dastre, publie en 1901 son ouvrage, *Physique Biologique. Osmose. Tonométrie. Cryoscopie* (1). Des physiologistes comme André Mayer ou Emile Terroine se sont intéressés aux questions de biophysique. Victor Henri, élève de Dastre, a animé autour de 1910 un cours libre à la Sorbonne ; il collabora avec les physiologistes et initia René Wurmser, dont il fut à la fois le maître et l'ami, à la recherche biophysique et photochimique (2). Ce chercheur hors du commun a apporté à la physicochimie biologique et à l'étude des structures moléculaires des contributions fondamentales, mais ne fit, après la Première Guerre Mondiale, pratiquement pas carrière en France. Dans notre pays, les recherches n'ont été que peu représentées, et ne furent guère institutionnalisées. Le Collège de France créa en 1931 une Chaire de Biophysique pour Jacques Duclaux, le fils du pastorien Emile Duclaux, qui consacrait ses travaux aux colloïdes. Il n'y eut aucune chaire de biophysique à l'Université avant celle qui fut finalement créée, après une occasion manquée avant la deuxième guerre, pour René Wurmser après la deuxième guerre. René Wurmser a été le promoteur du développement de la biophysique en France et a marqué de nombreux élèves de son influence qui est encore perceptible (Jacques Tonnelat, Jeannine Yon, pour ne citer que quelques noms). On peut distinguer quatre étapes dans la très longue carrière de René Wurmser : le très jeune chercheur, d'avant la Première Guerre Mondiale, le chercheur confirmé, le chef de service à l'Institut de Biologie Physicochimique après sa fondation, où il anime un groupe de renommée internationale, puis, après la Deuxième

Guerre, le titulaire de la Chaire de Biophysique à la Sorbonne, dont le rayonnement pédagogique et institutionnel s'étend, enfin l'Administrateur de l'Institut de Biologie Physicochimique entre 1958 et 1963, le membre et président de divers comités d'organisation de la recherche, en particulier à la DGRST, où il joua un rôle aussi discret que décisif en faveur de la biologie moléculaire. A ce propos, un hommage particulier doit être rendu à René Wurmser. Assez rares en effet sont les hommes dont l'action fut uniformément bénéfique. Jacques Duclaux, Victor Henri, René Wurmser : à ces noms, on peut ajouter ceux de quelques chercheurs appartenant aux Universités, qui se tournèrent quelque peu vers les problèmes de physicochimie biologique entre les deux guerres mondiales. Ainsi Fred Vlès, à Strasbourg, s'attacha à des travaux de spectroscopie de certains pigments. Le bilan est clair : quelques individualités remarquables, qui furent des pionniers, et qui atteindront à une grande notoriété, un ou deux groupes de chercheurs, aucune implantation universitaire.

VICTORE HENRI ET LA PHYSICOCHIMIE BIOLOGIQUE

Mon but dans ce travail n'est pas de m'interroger sur les causes, toujours multiples, ni même d'effectuer les comparaisons internationales qui seraient si désirables pour porter un jugement fondé sur la situation scientifique française, mais de restituer aussi fidèlement que possible les travaux de biophysique qui ont été effectués, parfois en collaboration, par Victor Henri et René Wurmser, et de tenter de les situer, autant que faire se peut, dans le contexte de la recherche internationale. J'essaierai donc de suivre leurs activités conjointes dès avant la Première Guerre Mondiale. Victor Henri (1872-1940) est l'un des fondateurs de la physico-chimie biologique en France. D'origine russe, et aristocratique, on lui doit, dans sa thèse de 1903, d'avoir jeté les fondements de la cinétique enzymatique dix années avant la théorie de Michaelis-Menten. Ce résultat remarquable était obtenu à la suite d'un itinéraire original de recherches qui avait conduit Victor Henri à travailler avec des hommes aussi éminents qu'Alfred Binet, Théodule Ribot, Albert Dastre à Paris, Wilhelm Wundt à Leipzig, Georg Elias Müller à Göttingen et Wilhelm Ostwald à Leipzig, dans des domaines aussi divers que la psychologie expérimentale, la psychophysique, la psychophysiologie, la physiologie expérimentale et la chimie physique. Cet enchaînement de travaux va de la perception des relations spatiales dans le toucher à la fatigue intellectuelle et à la catalyse enzymatique. La transition de la physiologie à la chimie physique doit sans doute à l'influence de Dastre, moins ambigu sur ce point que son maître Claude Bernard. Après son travail sur les lois générales de l'action des diastases (3), Victor Henri enseigne la chimie physique à la Sorbonne, publie son cours en 1907 (4), travaille sur les spectres d'absorption des molécules organiques, l'action chimique et biologique des rayonnements, la photochimie. Il commence à écrire un Traité de Photochimie avec René Wurmser. Plusieurs travaux de Photochimie, cosignés par les deux chercheurs, sont d'ailleurs publiés en 1912 et 1913, et leur collaboration se poursuivra après la Grande Guerre (5). En 1913, dans leur travail sur l'absorption ultraviolette et l'action photochimique, Victor Henri et René Wurmser montrent que les molécules passent sous l'action de la lumière par un état activé qui est préalable à la réaction elle-même. "La lumière, écrivent-ils, met les molécules dans un état tel qu'elles réagissent ensuite d'elles-mêmes" (6). Cette notion d'état activé sous l'influence de la lumière sera aussi importante pour la photosynthèse, bien qu'elle y soit appliquée différemment, qu'elle ne représente encore qu'un aspect très partiel des processus qui y sont à l'oeuvre et qu'elle résume mal leur complexité.

Victor Henri publie, en 1919, des *Études de Photochimie* après avoir passé plusieurs années à Moscou. Cet ouvrage est fort instructif, non seulement pour son contenu scientifique, mais aussi par l'éclairage jeté, dans la Préface, sur l'activité du groupe de Victor Henri. Celui-ci déclare qu'il a commencé ses expériences de photochimie en 1907, qu'il a orienté dans cette direction tous ses collaborateurs, amis et élèves et qu'il a tracé un plan très vaste de recherches sur les propriétés physiques, les actions chimiques et biologiques des rayonnements depuis l'infrarouge jusqu'à l'extrême ultraviolet et aux rayons X. "Nous faisons, écrit Victor Henri, des projets de recherches nouvelles sur les synthèses organiques par l'emploi combiné des composés organomagnésiens et des rayons ultraviolets; nous nous préparions à entreprendre l'étude de l'assimilation chlorophyllienne, in vitro, sous l'influence des différentes radiations; mon ami et préparateur Adonis avait déjà commencé à faire les montages pour ces recherches; un traité général de photochimie avait été entrepris par mon ami René Wurmser et moi, dont plus de la moitié avait été rédigée, quand brusquement la guerre a arrêté tout ce travail. La Photochimie fut oubliée" (7). Il y eut des morts, dont Dastre et Adonis, des blessés. Henri partit en 1915, envoyé en Russie par le gouvernement français pour aider les Russes dans des questions industrielles touchant à leur Défense nationale. Parmi ses collaborateurs, amis, élèves, Henri mentionne Chauchard, Fauré-Frémiet, Landau, Wurmser ; il rappelle les réunions scientifiques amicales le samedi chez Langevin et le mercredi chez lui. Henri était très connu alors pour ses travaux de spectroscopie ultraviolette. Lorsqu'Einstein ou Nernst venaient à Paris, Victor Henri les recevait. Sa personnalité avait un grand rayonnement.

Les recherche nouvelles sur les synthèses organiques par l'emploi combiné des composés organomagnésiens et des rayons ultraviolets, l'étude in vitro de l'assimilation chlorophyllienne sous l'influence des différentes radiations sont des problématiques directement liées. Il s'agit d'étudier comment l'apport d'énergie fourni par les rayonnements se traduit par la synthèse de composés plus complexes, comme dans la photosynthèse. La photosynthèse sera le sujet de René Wurmser. Lorsque Victor Henri rentre à Paris en 1919 pour recommencer à travailler dans le laboratoire de Dastre, Dastre n'est plus. Il pouvait espérer lui succéder. Les méandres de la politique universitaire et certaines influences en décidèrent autrement. Louis Lapique fut choisi, et l'on sait quelles conséquences très néfastes cela eut pour la neurophysiologie en France pendant trente ans. Mais Henri, perdu pour la France, eut mieux. On lui offrit en 1920 une chaire de Chimie Physique à l'Université de Zurich, où il eut pour collègues des personnalités du calibre de Hermann Weyl, Erwin Schrödinger, et Peter Debye. C'est à Zurich qu'il fit la découverte importante en Physique Moléculaire de la prédissociation des molécules, en étudiant la largeur des bandes d'absorption des molécules gazeuses. Henri publie en 1925 une monographie sur la structure des molécules (8). En 1927, il publie avec René Wurmser un article important sur le mécanisme élémentaire des actions photochimiques. Dans cet article, Henri et Wurmser contestent l'application directe de la loi d'équivalence photochimique d'Einstein (selon laquelle le nombre de molécules réagissant à la lumière est égal au nombre de quanta absorbés) aux réactions photochimiques mesurées expérimentalement, car ces phénomènes comprennent en réalité plusieurs réactions élémentaires successives (9). Bien des considérations développées dans ce travail, en particulier sur le rendement quantique et les facteurs qui l'affectent, sont d'une utilité directe pour l'étude de la photosynthèse. Parmi les travaux cités, on trouve particulièrement ceux du physicien berlinois Émile Warburg, le père du biochimiste Otto Warburg avec qui René Wurmser et bien d'autres entretiennent alors des discussions sur les mécanismes de la photosynthèse. L'un des enjeux de ces discussions réside précisément dans les

conditions d'utilisation de la loi d'équivalence photochimique. Victor Henri est nommé en 1931 à Liège, où il retrouve Peter Debye, poursuit ses travaux de spectroscopie sur les molécules polyatomiques, s'intéresse à l'activation thermique, applique la spectroscopie ultraviolette à la recherche du neurotransmetteur sympathique poursuivie par son collègue liégeois le pharmacologue Zénon Bacq. Appelé en France en 1939 pour servir la recherche militaire au CNRS, Henri meurt à La Rochelle en Juin 1940. Ses amis et élèves, René Wurmser, Jules Duchesne à Liège, Léon Brillouin ont apporté des témoignages sur un homme et un chercheur d'exception.

RENE WURMSER ET LA PHOTOSYNTHESE

De la photochimie à la photosynthèse, le chemin était tout tracé. En 1919, René Wurmser fut nommé Préparateur de Physiologie Générale à la Faculté des Sciences de l'Université de Strasbourg, dont le gouvernement français voulait faire, à l'instar de l'Université allemande précédente, une Université exemplaire - mais ces bonnes intentions ne durèrent pas très longtemps. Wurmser, qui resta deux ans à Strasbourg, y assista le physiologiste Emile Terroine. En même temps, il travaillait à sa thèse, à Paris, dans le laboratoire de Jean Perrin pour la partie *in vitro*, et au laboratoire de biologie marine de Roscoff pour la partie *in vivo*. Ce travail donna lieu à la publication de trois notes en 1920, dont l'une cosignée avec Germaine Duclaux, l'épouse de Jacques Duclaux, puis de la thèse, *Recherches sur l'assimilation chlorophyllienne*, en 1921 (10). Le travail, dira-t-il plus tard, a été effectué "dans une grande solitude". Henri, à qui il rend hommage, n'était plus là. C'est à Victor Henri que René Wurmser attribue la paternité de la méthode d'analyse physique qu'il a suivie dans sa thèse. "Les méthodes que j'ai adoptées ici, écrit-il, sont inspirées directement des recherches que nous avons entreprises ensemble, avant la Guerre" (11). En 1921, René Wurmser quitte Strasbourg pour devenir le préparateur du physiologiste André Mayer au Collège de France, avant d'obtenir une Direction d'Études à l'École Pratique des Hautes Études. D'autres contributions suivirent (12). C'est ainsi que René Wurmser fut amené, en 1924, à proposer l'hypothèse que la réaction photochimique primaire de la photosynthèse est une photolyse de l'eau (13). Ces contributions ont été reprises en 1930 dans son ouvrage, *Oxydations et Réductions* (14). Une note récente (15) constitue une mise au point sur ses travaux de jeunesse, qui ont été par la suite passés sous silence par des chercheurs comme Robert Hill en 1939 et Van Niel en 1941 qui ont abouti aux mêmes conclusions que lui.

Au tournant du siècle, le problème de l'assimilation chlorophyllienne change de position. "Ce n'est que dans ces toutes dernières années, écrit René Wurmser en 1921, qu'on paraît avoir cessé de le considérer comme une question de chimie et de physique pures. Des chimistes comme Willstätter et Stoll, des physiologistes comme Blackman et ses collaborateurs ont mis en relief le rôle actif du protoplasme. L'acte essentiel de la photosynthèse s'est trouvé ramené au nombre des réactions que la matière vivante sait accomplir chaque fois que d'autres réactions lui fournissent de l'énergie libre. En cherchant à déterminer les corps sur lesquels agit la lumière au cours de la réduction du gaz carbonique, j'ai été conduit à une conclusion analogue, mais par une voie bien différente et qui permet de saisir le rôle de la chlorophylle et du rayonnement" (16). Cette voie, c'est la voie biophysique, plutôt que la voie biochimique ou la voie physiologique. Voie physique d'abord, par l'étude des actions des rayonnements sur la matière. Voie biophysique ensuite, parce que cette étude se place dans le contexte de la structuration particulière et de la compartimentation de la cellule vivante. Mais avant de restituer la démarche de René Wurmser, il convient de dresser rapidement un état de la

question au moment où il l'aborde. Deux remarquables monographies consacrées à la Photosynthèse, celle de Walter Stiles (1925) et celle de H. A. Spoehr (1926), donnent une analyse extrêmement détaillée des nombreux travaux effectués à l'époque et des diverses hypothèses en cours (17). Ces travaux témoignent de l'extrême complexité d'un problème qui n'a pu être résolu que par étapes (les étapes mêmes de la photosynthèse) et qui n'a été complètement éclairci qu'il y a une dizaine d'années, lorsque la structure du centre réactionnel photosynthétique a été enfin élucidée par la cristallographie aux rayons X. Les années qui nous occupent voient une prolifération d'hypothèses, ce qui était mauvais signe pour les théories en cours.

La réduction-polymérisation du gaz carbonique en sucre a longtemps été représentée par l'équation $6 \text{ CO}_2 + 6 \text{ H}_2\text{O} = \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{ O}_2$, en raison du fait, observé par Boussingault en 1864, que les échanges gazeux entre gaz carbonique absorbé et oxygène dégagé ont lieu approximativement volume à volume. On a donc utilisé une unique réaction, tout en étant conscient du fait qu'il s'agissait d'un bilan et que ce bilan, d'ailleurs approximatif, pouvait comporter des étapes intermédiaires. Les travaux menés par F. F. Blackman entre 1895 et 1923 ont établi qu'en réalité il y a au moins deux étapes dans l'assimilation chlorophyllienne, une réaction dépendante de la lumière, une réaction obscure. Ainsi, Stiles remarque en 1925 que le terme de photosynthèse a le défaut de présupposer une synthèse qui se produit à la lumière, ce qui lui paraît douteux (18).

Blackman a étudié la photosynthèse d'une manière physiologique, en faisant varier les facteurs physiques et chimiques qui interviennent, en étudiant l'interaction de ces facteurs et en recherchant les facteurs limitants, définis comme ceux qui, étant les plus lents, limitent la vitesse du processus (19). Il fut l'auteur de méthodes ingénieuses pour mesurer les échanges gazeux et pour déterminer les voies d'entrée du gaz carbonique. Les conditions essentielles de l'assimilation chlorophyllienne sont le gaz carbonique, la lumière, la chlorophylle, l'eau, la température, mais aussi un "facteur protoplasmique", puisque le fait d'exposer le gaz carbonique à la lumière en présence de chlorophylle et d'eau à une température adéquate n'a jamais permis d'observer la photosynthèse. Ainsi, les principales étapes du processus photosynthétique pouvaient être représentées de la manière suivante : diffusion, réaction photochimique, réactions obscures ou chimiques. Chacune de ces étapes correspond à l'action de plusieurs facteurs, dont il est possible de montrer l'implication par la méthode des facteurs limitants (20). Par exemple, le facteur de température pourrait influencer les réactions chimiques obscures, selon la loi de Van't Hoff, plus fortement qu'il ne le ferait pour la réaction photochimique (21). De fait, le coefficient de température de la photosynthèse n'est pas celui d'une action photochimique mais d'une réaction chimique. L'approche de physiologie expérimentale adoptée par Blackman mettait donc en évidence les différents facteurs, leur rôle et leur succession.

Une autre approche fut adoptée par le chimiste Richard Willstätter, qui s'est interrogé sur le rôle de la chlorophylle et des autres pigments et a d'abord conçu une méthode d'estimation quantitative du contenu de ces pigments dans les organes de l'assimilation chlorophyllienne. Willstätter a isolé, purifié et déterminé chimiquement les divers pigments impliqués (les deux chlorophylles, les caroténoïdes, à quoi s'ajoutent les phycobilines étudiées par d'autres chercheurs). Ces travaux de Richard Willstätter ont représenté une étape importante dans l'histoire de la biochimie. Ils débutèrent dans les années 1905 et se poursuivirent avec son collaborateur Stoll à partir de 1910 tout au long de la guerre pour aboutir à un important mémoire publié en 1918 (22). Mais à côté des pigments, Willstätter reconnut le rôle du protoplasme cellulaire. En 1888, Theodor Engelmann avait exprimé l'idée que le stroma cellulaire incolore est

la partie active dans l'assimilation, et que la chlorophylle ne joue que le rôle d'un sensibilisateur (23). Willstätter et Stoll ont étudié la relation entre l'activité photosynthétique et le contenu en chlorophylle, et ont abouti à la conclusion que toutes choses égales d'ailleurs il n'y a pas de proportionnalité entre les deux. En étudiant l'influence de l'intensité lumineuse et de la température sur l'assimilation, ils conclurent que le facteur protoplasmique est un enzyme (la température agit sur l'activité enzymatique, la lumière sur l'activité du pigment). Willstätter et Stoll considèrent donc la photosynthèse comme l'enchaînement d'une réaction photochimique et d'une action enzymatique à l'obscurité.

Cependant, ces chimistes sont allés plus loin dans l'explication des mécanismes de la photosynthèse, ce en quoi ils se sont fourvoyés, car ils ont cru à partir d'expériences in vitro qu'en présence de gaz carbonique et d'eau, donc d'acide carbonique, la chlorophylle se décompose lentement et réversiblement en carbonate de magnésium et en une partie organique, la phéophytine. Cette réaction lente se ferait par l'intermédiaire d'un composé d'addition du type bicarbonate. La réaction photochimique s'effectuerait sur le bicarbonate. Il s'agirait d'une isomérisation produisant un composé plus riche en énergie, de type peroxyde, lequel serait décomposé enzymatiquement en formaldéhyde et chlorophylle régénérée. Le formaldéhyde serait ensuite polymérisé en sucre. La raison principale qui militait en faveur d'un mécanisme de ce genre aux yeux de Willstätter et Stoll était que le coefficient de l'assimilation chlorophyllienne, le rapport O_2/CO_2 était dans ce cas de l'unité (24). Ce n'était pas la première fois que le formaldéhyde, composé toxique, était envisagé comme intermédiaire de l'assimilation chlorophyllienne. Adolf von Baeyer l'avait envisagé en 1870 (25). Baeyer pensait que la chlorophylle, comme l'hémoglobine, était capable de lier le gaz carbonique, qui serait alors réduit en oxyde de carbone sous l'action de la lumière. Le monoxyde serait ensuite réduit en formaldéhyde COH_2 , point de départ de la synthèse du sucre. L'hypothèse du formaldéhyde était une hypothèse typique de chimiste organicien, recherchant l'enchaînement de réactions les plus aisées et vraisemblables pour aboutir à un but déterminé. Il en va de même du mécanisme imaginé par Willstätter et Stoll. Aux yeux de Walter Stiles, la plus grande partie de la théorie de Willstätter et Stoll sur les détails des étapes de la photosynthèse repose sur une base expérimentale ténue (26).

Un autre mécanisme pour la photosynthèse a été proposé par Otto Warburg entre 1919 et 1923, à la suite d'un travail commencé en 1914. La loi d'équivalence photochimique avait été énoncée par Einstein en 1912, et vérifiée par Emile Warburg dans le cas des acides bromhydrique (HBr) et iodhydrique (HI). Otto Warburg était donc lui aussi chez lui en matière de photochimie. De la photochimie à la photosynthèse, il n'y avait qu'un pas. Warburg utilisa des suspensions d'algues vertes unicellulaires, les Chlorelles, introduisit une nouvelle méthode manométrique pour mesurer le dégagement d'oxygène, en améliorant la technique de Haldane et Barcroft, effectua des expériences d'éclairement intermittent, tamponna sa suspension pour mieux contrôler les faibles concentrations de gaz carbonique, et utilisa des inhibiteurs (narcotiques) pour étudier les différentes étapes de la photosynthèse. Warburg était un technicien hors pair, mais en matière de photosynthèse il était parti d'une hypothèse erronée, car il voulait vérifier la loi d'équivalence photochimique d'Einstein pour le processus d'ensemble de la photosynthèse. Il cherchait à identifier, lui aussi, l'"action photochimique primaire" de la photosynthèse. A la suite d'expériences qui faisaient varier les concentrations de gaz carbonique et les intensités lumineuses, Warburg fut conduit à l'hypothèse selon laquelle l'action primaire du rayonnement ne consiste ni à dégager de l'oxygène, ni à former un corps capable de libérer de l'oxygène, mais à former un "produit photochimique primaire" dont la vitesse de production est

proportionnelle à l'énergie absorbée. Ce produit serait capable de réagir ensuite avec un "accepteur" dérivé de l'acide carbonique et produit dans la cellule par une série de réactions chimiques qui sont sous la dépendance de la température et peuvent être inhibées par le cyanure. Ce schème fondamental proposé par Warburg en 1920 (27), selon lequel l'action primaire du rayonnement consiste dans la formation d'un corps susceptible de réagir ensuite avec le gaz carbonique, est compatible avec le schème proposé par Wurmser en 1921.

Telles sont, exposées d'une manière très simplifiée, les hypothèses en cours lorsque Wurmser effectuait ses recherches en vue de sa thèse. Le problème que René Wurmser cherchait à y aborder, et qu'il ne résolut que plus tard, était de déterminer la nature de la réaction photochimique qui a lieu dans la photosynthèse. A ses yeux, la chimie ne pouvait guère permettre d'avancer, car les corps formés dans la réaction photochimique sont présents en quantité minime ou ont une durée de vie éphémère. "Puisque, du côté matière, le problème paraît insoluble, on doit chercher à l'étudier du côté rayonnement, écrivait-il.

Plus exactement, on peut se demander si l'interaction du rayonnement et de la matière n'obéit pas à des lois telles que la connaissance des radiations actives nous renseigne sur les substances réagissantes" (28). Ce point de vue était très exactement celui de Victor Henri, et avait gouverné le programme systématique de recherches photochimiques conçu en 1907. La fréquence des radiations actives devait renseigner sur la nature de la réaction. En 1913, Victor Henri et René Wurmser ont baptisé "susceptibilité photochimique" la sensibilité caractéristique de chaque corps aux différentes longueurs d'onde, le rapport entre l'action photochimique et l'énergie absorbée. De ce paramètre dépend la vitesse de la réaction considérée, et celui-ci représente la contribution de la fréquence active. D'où la nécessité d'établir la fonction reliant susceptibilité et fréquence. D'où aussi la nécessité d'établir les spectres d'absorption dans les mélanges réagissant, car les "sensibilisateurs optiques", comme la chlorophylle, et les substances réagissantes peuvent absorber l'énergie lumineuse à différentes longueurs d'onde.

Cette méthodologie étant établie, un certain nombre de conclusions pouvaient être tirées de considérations touchant la seule chlorophylle, sa stabilité, son oxydation, et surtout son environnement cellulaire colloïdal qui la protège. Aux yeux de Wurmser, la photosynthèse consiste dans la séparation physique de réactions photochimiques et de réactions obscures et le couplage énergétique de ces réactions obscures qui sont des réactions d'oxydoréduction. La réaction photochimique ne peut pas porter sur la chlorophylle elle-même, qui est protégée de la photo- oxydation par son environnement colloïdal. La chlorophylle sensibiliserait plutôt une réaction photochimique enrichissant le contenu en énergie d'une substance hypothétique. Ce produit diffuserait dans le stroma et cèderait son énergie, alors utilisée pour la réduction du gaz carbonique. Ce schème fondamental restera celui adopté par Wurmser pour comprendre la photosynthèse.

Pour mieux pénétrer ces mécanismes, il convenait d'étudier le comportement de la chlorophylle vis-à-vis de lumières de différentes longueurs d'onde, ainsi que la manière dont ces différentes longueurs d'onde affectent la photosynthèse dans son ensemble, à travers deux paramètres, la vitesse de la réaction et l'énergie absorbée. L'énergie absorbée était déduite des spectres d'absorption, la vitesse était mesurée par une réaction colorimétrique qui permettait de suivre l'utilisation du gaz carbonique. La vitesse était reliée à la susceptibilité photochimique, variable en fonction de la longueur d'onde. La finesse de René Wurmser a consisté à se demander si, dans le cas de l'assimilation chlorophyllienne, les deux paramètres de la vitesse de la réaction et de l'énergie absorbée étaient reliés ou indépendants, alors que l'on savait qu'ils sont

généralement reliés, puisque "les régions de grande susceptibilité photochimique sont des régions de grande absorption", et que "les fréquences chimiquement actives correspondent à des bandes d'absorption" (29). La constante d'absorption est différente selon la fréquence absorbée. En outre, "toutes les recherches expérimentales ont confirmé, sinon la validité quantitative de la loi d'absorption photochimique, au moins un accroissement de la susceptibilité photochimique chaque fois que la constante d'absorption du système augmente" (30). Or il y a des systèmes à plusieurs bandes d'absorption, comme la chlorophylle, mais qui n'ont qu'un maximum de susceptibilité photochimique correspondant à un maximum d'absorption. Dans ce cas, le maximum unique de susceptibilité sert à déterminer le groupement chimique sensible à la lumière. Que se passe-t-il maintenant si, dans le système de l'assimilation chlorophyllienne, nous obtenons un maximum de susceptibilité photochimique dans une région d'absorption minimale? Dans ce cas, conclut Wurmser, "la vitesse de la réaction ne dépend pas seulement de l'absorption de la chlorophylle, mais d'un autre facteur" (31).

Ce phénomène a été observé par Wurmser au cours d'expérimentations sur une algue verte très mince, à deux couches de cellules, sur laquelle il a procédé aux différentes mesures de vitesse, d'énergie incidente, et de spectres d'absorption. En comparant la vitesse et l'énergie absorbée pour les radiations actives, le rouge, le vert et le violet, c'est-à-dire en déterminant le rendement de l'assimilation chlorophyllienne, il obtint le résultat surprenant que le rendement était le plus élevé dans la région où l'absorption était la plus faible, à savoir le vert, alors qu'il savait que la chlorophylle absorbe dans le rouge et le violet. Les mesures spectrophotométriques lui permirent donc d'affirmer que la photosynthèse ne dépend pas ou pas seulement d'une réaction photochimique intéressant le pigment. Le processus d'ensemble pouvait être représenté comme l'enchaînement de trois réactions, une réaction photochimique sensibilisée par la chlorophylle et productrice d'une substance riche en énergie, une libération de cette énergie dans le protoplasme, une utilisation de cette énergie pour la réduction du gaz carbonique. La première réaction suivrait la loi d'absorption photochimique, les autres réactions, obscures, dépendraient pour leur vitesse de la masse protoplasmique active. La vitesse serait inversement proportionnelle à la constante d'absorption pour les réactions obscures dans la masse protoplasmique. Le rendement paraissait le plus fort dans les régions du spectre les moins absorbées (32).

Ayant ainsi distingué, par un raisonnement portant sur des données d'ensemble spectrophotométriques, action photochimique et réaction chimique obscure, Wurmser considéra d'abord la première. Il montra par un raisonnement de même type que la chlorophylle, dans l'action photochimique, agit seulement à la manière d'un sensibilisateur optique. Un photosensibilisateur est une substance qui absorbe l'énergie lumineuse sans réagir elle-même chimiquement ni réémettre une lumière, et qui transfère une partie de l'énergie reçue à une autre molécule qui deviendra alors capable de réagir ou d'émettre une lumière. Ainsi, on peut accroître le domaine de sensibilité spectrale d'une plaque photographique par l'addition d'un colorant, lequel absorbe et transmet l'énergie reçue (33). Le fait que la chlorophylle agisse plutôt comme un sensibilisateur que comme un catalyseur découlait selon Wurmser d'une comparaison des rendements dans les régions rouge et violette du spectre. Ces rendements étaient très différents (étant deux fois et demi plus élevés dans le violet que dans le rouge), alors que la seule réaction photochimique qui intéresse directement la chlorophylle, à savoir sa photo-oxydation, était également active à énergie égale dans le rouge et le violet, le rendement étant à peu près le même (34). "Nous devons donc conclure, écrivait René Wurmser, que le corps A directement sensible à la lumière n'est pas le seul pigment, et nous sommes amené à examiner si la chlorophylle n'intervient pas dans

l'assimilation simplement à la manière d'un sensibilisateur" (35). Dans ce cas, le corps A sensible à l'action photochimique devrait posséder un maximum d'absorption dans le violet. La susceptibilité photochimique de la réaction sensibilisée par la chlorophylle augmente vers les faibles longueurs d'onde, la contribution apportée par la chlorophylle à la réaction s'ajoutant à ce phénomène de base par un facteur proportionnel à la constante d'absorption de la chlorophylle pour la longueur d'onde considérée. La différence observée pour le rouge et le violet dans le cas de l'assimilation chlorophyllienne proviendrait donc principalement du facteur dépendant de la réaction sensibilisée et devrait donc fournir un indice quant à l'identité de la substance réagissante. Mais Wurmser ne put guère aller plus loin dans la détermination de cette substance, au moment de sa thèse.

Les conclusions principales de sa thèse portaient donc sur la séparation de la réaction sensibilisée par la chlorophylle et de la réduction du gaz carbonique. La chlorophylle sensibilise la formation photochimique d'un composé riche en énergie qui cède dans le protoplasme cellulaire l'énergie qu'il contient pour la réduction du gaz carbonique. Wurmser s'écartait donc très fortement des conceptions ordinaires de la photosynthèse, qui reposaient sur l'action de la lumière sur le système chlorophylle-gaz carbonique. Wurmser rejetait l'hypothèse de Willstätter et Stoll d'une union chimique entre la chlorophylle et l'acide carbonique, ainsi que les théories faisant intervenir une synthèse photochimique de formaldéhyde, qui serait déplacée par la chlorophylle de l'ultraviolet vers des longueurs d'onde plus grandes. Mais les arguments spectrophotométriques ne lui permettaient guère d'aller plus loin.

En 1922-1923, Warburg et Negelein publièrent eux aussi les résultats d'études sur le rendement de la photosynthèse. Le rendement, rapport de l'énergie utilisée sur l'énergie absorbée, changeait avec l'intensité du rayonnement absorbé. Warburg et Negelein recherchèrent l'intensité pour laquelle le rendement est maximum, en opérant sur une région étroite du spectre. Les valeurs trouvées étaient exceptionnellement élevées (70 pour cent), des calculs ultérieurs l'abaissèrent quelque peu. En outre, le rendement décroît avec la longueur d'onde. Warburg et Negelein cherchèrent à interpréter ces résultats à l'aide de la loi d'équivalence photochimique d'Einstein, et à établir une proportionnalité simple entre le nombre de quanta absorbés et le nombre de molécules de CO₂ transformées. Cette tentative d'appliquer la loi d'Einstein à un phénomène global était erronée dans son principe. Ils trouvèrent quatre quanta dans le rouge, cinq dans le bleu. Dans le rouge, sur la base de quatre quanta, le rendement était de soixante cinq pour cent (36). Dans un article publié en 1926, Victor Henri souligna que les résultats de Warburg montraient en réalité que les mesures du processus global de la photosynthèse par la libération d'oxygène étaient inappropriées pour établir le rendement quantique de la réaction photochimique et ne pouvaient s'interpréter simplement dans les termes de la loi d'Einstein (37). Warburg, qui était particulièrement obstiné, répondit que les molécules de gaz carbonique adsorbées sur la surface du chloroplaste étaient réduites une par une par la chlorophylle activée par la lumière, et transformées en glucose avec libération d'oxygène. Cette libération était donc un témoin fidèle du processus photochimique primaire et des quanta absorbés (38).

La question du rendement énergétique de la photosynthèse était évidemment cruciale pour les théories en présence. Elle fit l'objet d'un travail effectué en 1924, dans lequel René Wurmser chercha corrélativement à avancer dans la détermination du substrat de la réaction photochimique. Wurmser discuta le procédé de Warburg pour la détermination de l'énergie absorbée (39), mais ses propres mesures donnèrent également des rendements extrêmement élevés. Que signifiaient ces rendements élevés? Quelle était la substance formée au cours de la réaction photochimique? Une indication

pouvait être tirée du système oxydoréducteur fonctionnant à l'obscurité, lequel, pour avoir un fort rendement, devait fonctionner au voisinage de l'équilibre. "Cette conséquence, écrit Wurmser en 1924, limite heureusement les hypothèses possibles sur la nature du corps formé dans la réaction photochimique I. On peut penser que cette réaction porte sur l'eau, comme l'a fait Thunberg, mais de la manière suivante : La réaction photochimique sensibilisée par la chlorophylle serait : $2 \text{H}_2\text{O} = 2\text{H}_2 + \text{O}_2$ " (40). "D'après les données thermochimiques, écrit Wurmser en 1930, l'eau seule, parmi les corps présents, paraît susceptible de fournir des réactions compatibles avec les résultats obtenus" (41). La réaction photochimique primaire de la photosynthèse serait donc une photolyse de l'eau. La réaction inverse d'oxydation aurait lieu dans le stroma cellulaire, où elle serait couplée à la réduction du gaz carbonique libératrice d'oxygène. Tel est l'argument fondamental de René Wurmser, et il s'agit d'un argument de nature thermodynamique.

Notons dans ce contexte que René Wurmser mentionne le travail de Thunberg (42). Ni Wurmser ni Thunberg n'étaient les premiers à avoir invoqué une décomposition de l'eau sous l'action de la lumière. On trouve cette hypothèse dans une thèse de sciences soutenue à Lyon en 1908 par un botaniste, Kimpflin, *Essai sur l'assimilation photochlorophyllienne du carbone* (43), et l'idée est en réalité antérieure. Mais le schéma de Wurmser est différent de celui de Thunberg, car ce dernier fait appel à la formation d'eau oxygénée qui sert à réduire des sels d'acide carbonique en formaldéhyde (la théorie du formaldéhyde est rejetée par Wurmser). Baeyer, initiateur de la théorie du formaldéhyde, faisait aussi appel dans une deuxième étape du processus photosynthétique à une molécule d'hydrogène issue d'une photolyse de l'eau (44), mais selon un schéma là encore différent, l'action primaire de la lumière étant une décomposition du CO_2 en CO . Selon Wurmser, la réaction photochimique primaire de la photosynthèse est une photolyse de l'eau, qui donne lieu à dégagement d'oxygène et à formation d'hydrogène, et sur ce point l'avenir devait montrer qu'il avait dans l'ensemble raison. Son hypothèse avait sur les autres l'avantage de la simplicité. Simplicité à la fois du mécanisme envisagé et simplicité vis-à-vis de l'interprétation des résultats. Les deux ne vont pas toujours de pair, car, si l'on suit Tonnelat, il peut arriver un moment "où l'on simplifie l'interprétation des résultats en admettant un processus plus complexe que le processus initialement envisagé" (45). Ici, ce n'est pas le cas, et c'est certainement ce qui rend l'hypothèse de Wurmser si élégante et suggestive.

Tel est donc l'essentiel des recherches que René Wurmser a consacrées à la photosynthèse à son retour de la Première Guerre Mondiale. L'hypothèse d'une séparation de la réaction photochimique et du système oxydoréducteur, la conjecture selon laquelle la réaction photochimique était une photolyse de l'eau se sont avérées justifiées. Cette dernière conjecture reposait sur un raisonnement hardi et sur des données expérimentales erronées, car le rendement de la photosynthèse tel qu'il était établi à l'époque était anormalement élevé et reposait sur des méthodes approximatives. Cependant, pour l'essentiel, René Wurmser a vu juste, même si la photolyse de l'eau n'est pas la seule réaction photochimique catalysée par les pigments de la photosynthèse, ni même la première. Son hypothèse a été confirmée plus tard par l'utilisation d'oxygène lourd (46). Sa contribution de 1921 a été discutée par Stiles et par Spoehr dans leurs monographies. En 1926, René Wurmser discuta avec Warburg et Willstätter au cours d'un congrès international. Jamais Warburg n'admit publiquement qu'il n'y a pas d'action de la lumière sur le gaz carbonique. Les travaux ultérieurs de Robert Hill et de Van Niel ont ignoré la conjecture de Wurmser concernant la photolyse de l'eau.

En conclusion de son travail, René Wurmser remerciait la Fondation Rockefeller et la Fondation Edmond de Rothschild (47) : le processus qui allait aboutir à la fondation de l'Institut de Biologie Physicochimique, à laquelle René Wurmser devait participer, était en cours. Dans cette fondation, sur laquelle nous nous réservons de revenir, l'évolution des sciences rencontrait des raisons très fortes qui tenaient à la restauration de la puissance scientifique, technique, économique de la France.

Comme tout domaine scientifique, l'étude de la photosynthèse a pris à chaque époque le visage multiforme des approches diverses, des outils scientifiques et méthodologiques utilisés. Aujourd'hui, elle a pris celui de la biologie moléculaire, ce qui a donné lieu à des découvertes remarquables sur l'organisation, la structure et l'activité du centre réactionnel photosynthétique. La photosynthèse a été l'un des problèmes de biophysicochimie les plus difficiles à résoudre. Cela permet d'apprécier à leur juste mesure les efforts considérables et les résultats obtenus à une époque où les techniques étaient fort grossières et imprécises par rapport aux merveilleux outils de la science contemporaine, et où les différentes orientations de pensée étaient d'autant mieux perceptibles.

Remerciements

Je remercie Monsieur René Wurmser de ses remarques critiques. Je remercie également le Professeur Edouard Seidler, Directeur de l'Institut d'Histoire de la Médecine à l'Université de Fribourg en Brisgau pour m'avoir permis de présenter une version du présent travail lors de la Südwestdeutsche Regionalkonferenz zur Wissenschaftsgeschichte en Novembre 1992.

Notes

- (1) Albert Dastre, *Physique Biologique. Osmose. Tonométrie. Cryoscopie*. Paris, Masson, 1901.
- (2) Cf notre article "Victor Henri", *Dictionary of Scientific Biography Supplement II*, New-York, Scribners 1991, vol 1 p 410-413 ; aussi le chapitre "René Wurmser", *Hommes de Science, 28 portraits. Entretiens et photographies de Marian Schmidt*. Paris, Hermann, 1990, p 244-250.
- (3) Victor Henri, *Lois générales de l'action des diastases*. Paris, Hermann, 1903.
- (4) Victor Henri, *Cours de Chimie Physique*. Paris, Hermann, 1907.
- (5) Victor Henri et René Wurmser, "Étude de la loi d'absorption photochimique pour les réactions produites par les rayons ultraviolets", *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, vol 155 1912 p 503; "Loi d'absorption photochimique élémentaire", *ibid*, vol 156 1913 p 230; "Action des rayons ultraviolets sur l'eau oxygénée", *ibid*, vol 157 1913 p 126; "Absorption des rayons ultraviolets et action photochimique", *Journal de Physique théorique et appliquée*, 5^e série vol 3 Avril 1913 p 305-323; "Le mécanisme élémentaire des actions photochimiques", *Le Journal de Physique et le Radium*, 6^e série vol 8 Juillet 1927 p 289-310.
- (6) Victor Henri et René Wurmser, "Absorption des rayons ultraviolets et action photochimique", *Journal de Physique théorique et appliquée*, 5^e série vol 3 Avril 1913 p 305.
- (7) Victor Henri, *Études de Photochimie*. Paris, Gauthier-Villars, 1919, Préface.
- (8) Victor Henri, *Structure des Molécules*. Paris, Hermann, 1925.
- (9) Victor Henri et René Wurmser, "Le mécanisme élémentaire des actions photochimiques", *Le Journal de Physique et le Radium*, 6^e série vol 8 Juillet 1927 p 292.
- (10) René Wurmser, "L'action de la lumière sur la chlorophylle colloïdale en présence de stabilisateurs", *Comptes Rendus de la Société de Biologie*, vol 83 1920 p 437-438; "Action sur la chlorophylle des radiations de différentes longueurs d'onde", *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences* vol 170 1920 p 1610; "L'action des radiations de différentes longueurs d'onde sur l'assimilation chlorophyllienne", *ibid* vol 171 1920 p 820; R. Wurmser et Mme J. Duclaux, "Sur la photosynthèse chez les algues floridées", *ibid* vol 171 1920 p 1232; "Recherches sur l'assimilation chlorophyllienne", *Archives de Physique Biologique* vol 1 n^o 3 Juillet 1921 p 33-141.
- (11) *ibid*, p 37.
- (12) René Wurmser, "Sur le rendement énergétique de l'assimilation chlorophyllienne", *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, vol 177 1923 p 644-646; "Sur l'activité des diverses radiations dans la photosynthèse", *ibid*

- vol 181 1925 p 374-376; "La loi de l'équivalent photochimique dans la photosynthèse chlorophyllienne", *Le Journal de Physique et le Radium*, 6^e série vol 7 1926 p 33-44.
- (13) René Wurmser, "Le rendement énergétique dans la Photosynthèse chlorophyllienne", *Annales de Physiologie et de Physicochimie biologique*, vol 1 1925 p 47-63.
- (14) René Wurmser, *Oxydations et Réductions*, Paris, Presses universitaires de France, 1930.
- (15) René Wurmser, "Letter to the editor", *Photosynthesis Research*, vol 13 1987 p 91-93.
- (16) René Wurmser, "Recherches sur l'assimilation chlorophyllienne", *Archives de Physique biologique* vol 1 1921 p 36.
- (17) Walter Stiles, *Photosynthesis. The assimilation of carbon by green plants*. London, Longmans, Green and Co, 1925. H. A. Spoehr, *Photosynthesis*. New-York, The Chemical Catalog Company, 1926.
- (18) Walter Stiles, op. cit. 1925 p 4. (19) *ibid*, p 78. (20) *ibid*, p 85. (21) *ibid*, p 100.
- (22) Richard Willstätter et Arthur Stoll, *Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure*. Berlin, Springer, 1918.
- (23) Walter Stiles, op. cit. 1925 p 136. (24) *ibid*, p 183. (25) *ibid*, p 194. (26) *ibid*, p 183.
- (27) Otto Warburg, "Über die Geschwindigkeit der photochemischen Kohlensäurezersetzung in lebenden Zellen II", *Biochemische Zeitschrift* vol 103 1920 p 188-217.
- (28) René Wurmser, "Recherches sur l'assimilation chlorophyllienne", *Archives de Physique biologique* vol 1 1921 p 36. (29) *ibid*, p 40. (30) *ibid*, p 91. (31) *ibid*, p 91. (32) *ibid*, p 112-113.
- (33) Jacques Tonnelat, *Biophysique. I. Énergétique. Cinétique. Isotopes*, Paris, Masson, 1968 p 210.
- (34) René Wurmser, "Recherches sur l'assimilation chlorophyllienne", *Archives de Physique biologique* vol 1 1921 p 84. (35) *ibid*, p 113.
- (36) Otto Warburg et Erwin Negelein, "Über den Einfluss der Wellenlänge auf den Energieumsatz bei der Kohlensäureassimilation", *Zeitschrift für physikalische Chemie* vol 106 1923 p 210-212.
- (37) Victor Henri, "Die spezifische photochemische Wirkung bei der Kohlensäureassimilation nach den Versuchen von Wurmser", *Die Naturwissenschaften* vol 14 1926 p 165-167.
- (38) Otto Warburg, "Erwiderung auf vorstehenden Aufsatz", *ibid* p p 167-168.
- (39) René Wurmser, "Le Rendement énergétique de la Photosynthèse chlorophyllienne", *Annales de Physiologie et de Physicochimie biologique* vol 1 1925 p 55. (40) *ibid*, p 61.
- (41) René Wurmser, *Oxydations et Réductions*, Paris, Presses Universitaires de France, 1930, p 48.
- (42) T. Thunberg, "Über einen neuen Weg von der Kohlensäure zum Formaldehyd. Ein Beitrag zur Theorie der Kohlensäureassimilation", *Zeitschrift für physikalische Chemie* vol 106 1923 p 305-323.
- (43) Walter Stiles, *Photosynthesis. The assimilation of carbon by green plants*. London, Longmans, Green and Co, 1925, p 195.
- (44) René Wurmser, *Oxydations et Réductions*, Paris, Presses Universitaires de France, 1930, p 60.
- (45) Jacques Tonnelat, *Biophysique I*, Paris, Masson, 1968, p 230. (46) *ibid*, p 228.
- (47) René Wurmser, "Le Rendement énergétique de la Photosynthèse chlorophyllienne", *Annales de Physiologie et de Physicochimie biologique* vol 1 1925 p 62.