

## Les horloges biologiques. Organisation du métabolisme chez les végétaux supérieurs et adaptation au climat

Orlando Queiroz

To cite this article: Orlando Queiroz (1979) Les horloges biologiques. Organisation du métabolisme chez les végétaux supérieurs et adaptation au climat, Bulletin de la Société Botanique de France. Actualités Botaniques, 126:1, 5-19, DOI: [10.1080/01811789.1979.10826368](https://doi.org/10.1080/01811789.1979.10826368)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/01811789.1979.10826368>



Published online: 10 Jul 2014.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 747



View related articles [↗](#)



Citing articles: 1 View citing articles [↗](#)

---

## **Les horloges biologiques. Organisation du métabolisme chez les végétaux supérieurs et adaptation au climat**

par Orlando QUEIROZ

*Laboratoire du Phytotron, C.N.R.S., 91190 Gif-sur-Yvette.*

*Résumé.* — Les caractéristiques des rythmes endogènes, en particulier des rythmes circadiens, sont définies et considérées relativement à leur rôle physiologique. Le problème de l'organisation circadienne du métabolisme et les théories actuelles sur les relations entre la plante et les périodismes climatiques (journaliers, saisonniers) sont discutés. Le cas du métabolisme acide du *Kalanchoe* illustre un modèle d'entraînement d'un système enzymatique par la photopériode.

*Summary.* — The characteristics of endogenous rhythms, particularly circadian rhythms, are considered in relation to their physiological roles. Emphasis is given to the problem of the circadian organization of the metabolism and to the current theories on the relationships between the plant and daily and seasonal external periodicities. A model for the entrainment of an enzymic pathway by photoperiod is discussed in the case of the acid metabolism of *Kalanchoe*.

\* \* \*

### I. INTRODUCTION

Les rythmes biologiques ne sont pas des phénomènes particuliers propres à tel ou tel système ; au contraire, ils constituent une propriété ubiquiste chez les eucaryotes, intervenant à tous les niveaux de l'organisation physiologique, du fonctionnement métabolique aux réponses morphogénétiques.

La Botanique a toujours joué un rôle important en chronobiologie. C'est de MAIRAN qui, en 1729, nota que les mouvements journaliers des feuilles du *Mimosa* se poursuivent en obscurité prolongée ; il y vit la preuve que ces mouvements dépendent d'un mécanisme autre que la simple réponse à l'alternance jour/nuit. Au XIX<sup>e</sup> siècle, de CANDOLLE, SACHS, PFEFFER et DARWIN s'intéressèrent à ce phénomène, les deux derniers lui ayant consacré des ouvrages remarquables. Les progrès cependant ont été lents tant que ces rythmes furent considérés comme étant la manifestation d'une sorte de mémoire des cycles jour/nuit précédents et tant que, malgré les efforts de DARWIN, aucune « utilité » physiologique ne fut trouvée pour les justifier. Il fallut attendre le début du XX<sup>e</sup> siècle pour que soit établie l'indépendance de ces rythmes endogènes relativement aux cycles de lumière et obscurité précédemment reçus par l'organisme. Mais ce ne fut que vers 1936 que BÜNNING, étudiant alors les mouvements des feuilles du Haricot, eut l'intuition que ces rythmes endogènes pourraient être la manifestation d'une capacité intrinsèque

de la plante à mesurer le temps et, plus tard, introduisit cette hypothèse dans l'étude du photopériodisme. C'est là le point de départ de l'extension et de la diversification des recherches modernes, qui couvrent des domaines s'élargissant continuellement, en physiologie végétale et animale et en médecine. L'approfondissement de la notion d'« horloge interne » et de ses relations avec les périodismes climatiques introduit actuellement une nouvelle dimension dans l'étude des mécanismes de l'adaptation.

## II. QUELQUES DÉFINITIONS CHRONOBIOLOGIQUES

### A. Rythmes exogènes et rythmes endogènes

— Les RYTHMES EXOGÈNES sont des oscillations créées par l'action de signaux externes périodiques agissant sur des systèmes dépourvus de rythmicité propre (par exemple, l'effet produit sur des pigments par des signaux lumineux périodiques). Donc, *a*) les rythmes exogènes ne se manifestent pas en l'absence des signaux provenant de l'environnement, *b*) la période de ces rythmes correspond à celle des signaux externes, *quelle qu'elle soit*.

— Les RYTHMES ENDOGÈNES constituent une classe de rythmes biologiques qui répondent aux caractéristiques suivantes :

1) *Persistance de la rythmicité* (au moins pendant quelques cycles) en l'absence de tout stimulus externe (organisme en conditions constantes de lumière ou obscurité, température, environnement social) ; le rythme est alors dit « en libre cours ».

2) *La période du rythme* est, en libre cours, constante et spécifique de ce rythme. La sélection naturelle paraît avoir privilégié trois groupes de rythmes : les rythmes circannuels (période proche de 1 an), les rythmes circadiens (période proche de 24 heures) et les rythmes à fréquence élevée (périodes de l'ordre de la seconde ou de l'ordre de quelques dizaines de minutes). Dans tous les cas, la période est indépendante (ou très peu dépendante) de la température. Cette dernière caractéristique est une des plus remarquables des rythmes endogènes : un  $Q_{10} \simeq 1$  est évidemment surprenant en particulier dans le cas de réactions enzymatiques ; on peut montrer que cela est théoriquement possible lorsqu'une séquence de réactions enzymatiques comprend une régulation par feedback et répond à certaines spécifications de la fourniture en substrat ; ce modèle, mis au point par PAVLIDIS et KAUZMANN (1969) a pu être appliqué aux rythmes rapides de la glycolyse de la levure (PYE, 1969). Il reste néanmoins que, quel qu'en soit le mécanisme (probablement différent selon les cas), la stabilité de la période du rythme endogène, conservée à différentes températures et en présence d'effecteurs chimiques très divers, montre que cette période bénéficie d'un degré très élevé d'homéostasie. Il se peut que cette caractéristique constitue un facteur adaptatif important.

3) *La phase du rythme* (valeur de la variable oscillatoire au temps *t*) est susceptible d'être modifiée par des signaux externes (lumière, obscurité, température, substances chimiques). Cette réponse présente une forme mathé-

matique précise (« courbe de réponse de phase ») : un même signal peut produire soit une avance, soit un retard de la phase du rythme selon le moment du cycle où il est appliqué (fig. 1). En d'autres termes, l'effet du signal sur la phase du rythme dépend de la phase elle-même.

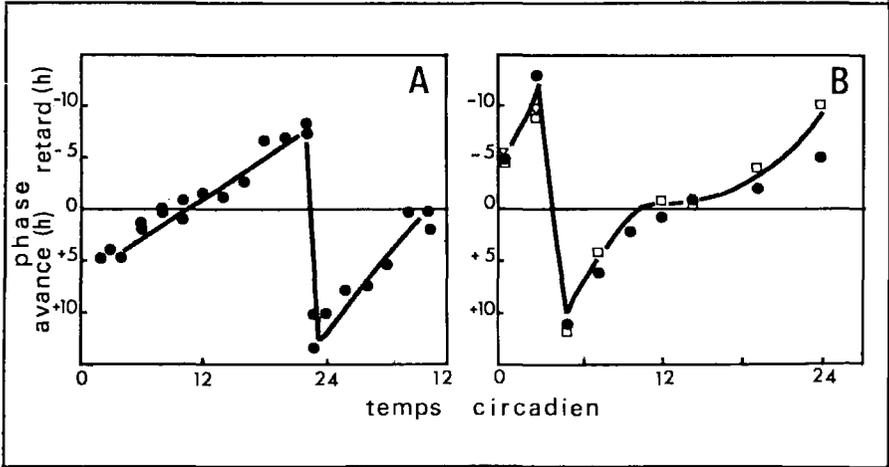


Fig. 1. — Exemples de « courbes de réponse de phase ». Ces courbes montrent l'avance ou le retard qu'une impulsion lumineuse unique imprime à un rythme endogène, oscillant en libre cours à l'obscurité, selon le moment du cycle où cette impulsion a lieu. A : rythme de production du  $\text{CO}_2$  dans le *Kalanchoe blossfeldiana* (d'après WILKINS et HARRIS, 1976) ; B : rythme d'induction de la floraison du *Chenopodium rubrum* (d'après KING et CUMMING, 1972).

4) *L'entraînement par un rythme externe* de température, lumière/obscurité, etc., est une conséquence directe de la sensibilité de la phase du rythme endogène aux signaux externes. Mais contrairement aux rythmes exogènes, les rythmes endogènes ne peuvent être entraînés que pour une gamme bien définie de périodes du rythme externe : en dehors de cette gamme, le rythme endogène conserve sa période propre malgré le signal externe. *Il s'agit d'une propriété fondamentale pour le rôle physiologique et homéostasique des rythmes endogènes*, pour les raisons suivantes :

a — L'entraînement ramène la période propre  $\tau$  du rythme endogène à la valeur  $T$  de la période du rythme externe (appelé alors « synchroniseur » ou « Zeitgeber ») : les figures 2 A et B montrent comment un signal lumineux de courte durée, appliqué toutes les 24 heures, peut agir sur la phase d'un rythme circadien de période  $\tau$  pour le ramener à une période de 24 heures. En raison de sa précision et de sa répétabilité, la photopériode est le Zeitgeber naturel le plus important dans le cas des rythmes endogènes circadiens ; on peut montrer que l'entraînement par la photopériode se fait par l'action instantanée, et de signe contraire, des signaux « début de jour » et « fin de jour » sur la phase du rythme endogène : il est en effet possible de remplacer une photopériode de  $n$  heures de lumière par 2 éclaircissements brefs appliqués à  $n$  heures d'intervalle

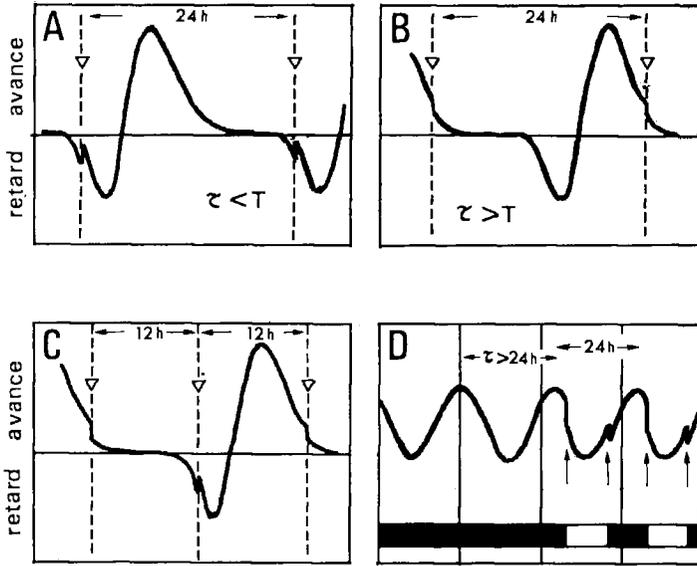


Fig. 2, A, B, C. — Modèle d'entraînement par des signaux périodiques d'un rythme circadien, oscillant à l'obscurité, d'après PITTENDRIGH et DAAN, 1976. Le rythme de période  $\tau$  se stabilise en relation au Zeitgeber de période  $T = 24$  heures lorsque le signal lumineux agit sur une phase de l'horloge caractérisée par une réponse de phase  $\Delta\Phi = |\tau - T|$ . Pour un rythme ayant la courbe de réponse de phase montrée ici, si  $\tau < T$  (fig. A) ou si  $\tau > T$  (fig. B), l'entraînement par un seul signal périodique se fait en imprimant au rythme, respectivement, un retard ou une avance journaliers bien définis (avec un décalage correspondant de la courbe de réponse de phase), tels que les positions du maximum et du minimum du rythme vont rester fixes par rapport au signal. La figure C, correspondant à l'entraînement par 2 signaux (« photopériode squelettique »), montre l'effet d'entraînement que l'on peut attribuer aux signaux début de jour et début de nuit : l'horloge finit par s'équilibrer en une relation de phase avec le Zeitgeber telle que les effets correcteurs des 2 signaux aboutissent à un entraînement très stable. La figure D montre la transposition de cet effet sur un rythme passant de l'obscurité continue à des conditions photopériodiques (pour simplifier, les cycles de réajustement ne sont pas montrés). Des résultats obtenus avec des rythmes enzymatiques semblent confirmer ce schéma (PIERRE, non publié).

(« photopériode squelettique ») ; en d'autres termes, si ces 2 signaux sont appliqués aux heures correspondant au début et à la fin du jour, les rythmes endogènes vont se placer par rapport à ces signaux comme ils se seraient placés par rapport à la photopériode complète (du moins dans certaines limites). Les figures 2 C et D montrent comment pourrait alors se faire l'entraînement par une photopériode squelettique et la transposition de cet effet dans le cas d'une photopériode complète : après un délai de transition plus ou moins long selon les cas, le rythme endogène paraît s'équilibrer en une position par rapport au rythme externe telle que les effets conjugués des deux signaux « début de jour » et « fin de jour » aboutissent à un entraînement stable (PITTENDRIGH et DAAN, 1976) ; des tracés qui pourraient correspondre à ces effets d'entraînement ont été récemment obtenus pour les rythmes d'enzymes

de la glycolyse chez le *Kalanchoe blossfeldiana* (travaux de J.-N. PIERRE, non publiés).

*b* — Le maximum et le minimum d'un rythme endogène ainsi entraîné auront donc lieu à des moments fixes par rapport aux cycles externes ; mais ces relations de phase dépendront du rythme endogène considéré : il en résulte que lorsque plusieurs rythmes métaboliques sont entraînés par le même Zeitgeber leurs maximums (et leurs minimums) s'ordonnent dans le temps, établissant un véritable *programme* métabolique, qui persiste tant que persistent les conditions externes auxquelles il correspond. Lorsque le Zeitgeber est modifié, le mécanisme d'entraînement tendra à maintenir les relations de phase entre les rythmes et le Zeitgeber si la modification de ce dernier reste dans certaines limites ; au delà il y a rupture de l'entraînement, avec le saut de phase correspondant à la partie abrupte de la courbe de réponse de phase (par ex., passage brusque d'avance à retard de phase) et une nouvelle relation d'entraînement va être établie avec le Zeitgeber modifié : un nouveau programme métabolique peut ainsi être établi.

## B. Nécessité de la notion d'horloge biologique

L'existence d'un mécanisme endogène de mesure du temps est mise en évidence par l'utilisation de « photopériodes squelettiques », car tout se passe alors comme si l'organisme « lisait » un des signaux comme signifiant début de jour et l'autre comme signifiant fin de jour, ainsi que l'ont montré de nombreuses expériences avec différents organismes, tant animaux que végétaux. Par exemple, dans une expérience classique de HILLMAN (1964) sur l'induction de la floraison du *Lemna perpusilla*, les plantes élevées en lumière continue sont ensuite soumises soit à un traitement de photopériode squelettique composée de deux signaux de 15 minutes définissant deux tranches horaires de 13 puis de 10 h 30 d'obscurité par cycle de 24 heures, soit à un traitement dans lequel les 10 h 30 d'obscurité précèdent les 13 heures : dans le premier cas il y a induction (le *Lemna* requérant au moins 13 heures d'obscurité pour être induit à fleurir), mais pas dans le second cas, comme si les 13 heures d'obscurité données *après* la première interruption par la lumière n'étaient plus perçues par la plante comme signifiant « nuit ». Le développement de cette expérience, où une période d'obscurité de durée variable jusqu'à 52 heures a été donnée avant les deux traitements indiqués ci-dessus, a clairement montré la présence d'un mécanisme endogène rythmique donnant à l'organisme un moyen de mesurer des intervalles entre signaux successifs, de réagir différemment à un même intervalle placé différemment dans une succession de signaux ou de réagir de manière identique à des durées multiples d'une durée de base.

La diversité des organismes montrant un comportement similaire, pour différentes fonctions physiologiques, montre l'ubiquité de ces mécanismes oscillatoires endogènes, aptes à jouer le rôle d'une véritable horloge interne.

## C. Rythmes circadiens et mesure de la saison

### 1. HORLOGE ET AIGUILLES DE L'HORLOGE

*a* — La distinction entre l'oscillateur endogène qui « mesure » le temps

(horloge) et les rythmes physiologiques qu'il commande (aiguilles de l'horloge) a pu être établie dans de nombreux cas par différents types d'expériences. Par exemple, après élimination d'un inhibiteur spécifique, le rythme bloqué par cet inhibiteur repart en accord de phase avec le rythme de témoins non traités (cas des rythmes de photosynthèse et de luminescence chez le *Gonyaulax* après inhibition par le DCMU et la puromycine, respectivement) : donc pendant l'arrêt du rythme, un oscillateur capable d'en contrôler la phase a poursuivi sa course sans être affecté par l'inhibiteur (HASTINGS, 1960).

*b* — L'horloge interne commande plusieurs rythmes, métaboliques ou morphogénétiques, assurant ainsi le déroulement d'un programme physiologique complexe coordonné dans le temps. On peut le montrer par la similitude des courbes de réponse de phase de ces rythmes. Cela n'implique évidemment pas que ces rythmes soient synchronisés : par exemple chez *Euglena* différents rythmes métaboliques et enzymatiques ont leurs maximums placés à différents moments du cycle de 24 heures (EDMUNDS, 1974), mais leurs propriétés montrent que ces rythmes dépendent de la même horloge.

*c* — En résumé, la séparation entre l'horloge et les rythmes qu'elle commande, et le fait qu'une même horloge peut contrôler plusieurs fonctions physiologiques, font que la sélection naturelle et les mécanismes d'adaptation peuvent réajuster l'horaire d'une fonction physiologique sans modifier ceux d'autres fonctions liées au même programme et sans que la cohérence de l'ensemble s'en trouve diminuée.

## 2. COUPLAGE AVEC LA PHOTOPÉRIODE ET MESURE DE LA SAISON

Plusieurs modèles ont été élaborés pour expliquer l'action de la photopériode dans l'induction de mécanismes physiologiques saisonniers. Les trois principaux, dont chacun a donné lieu à diverses variantes, sont brièvement présentés ici.

*a* — *Modèle du sablier*. Ce modèle, le plus ancien, considère une horloge dépourvue de rythmicité. L'hypothèse d'un rôle prédominant de la durée de l'obscurité est ressortie de nombreuses expériences combinant différentes durées de jour et de nuit : d'après cette hypothèse, le passage jour/nuit déclenche le changement de concentration d'un effecteur X, qui devra atteindre un seuil permettant le démarrage des mécanismes conduisant à l'induction ; certaines étapes, au moins, de ce processus requérant l'obscurité, il y aura induction si la nuit est assez longue pour permettre leur déroulement. Une des variantes de cette hypothèse plaçait à la base du processus la cinétique de transformation du phytochrome à l'obscurité. Une des difficultés que rencontre ce modèle est son incapacité à expliquer les faibles effets de la température sur la durée critique de la nuit. Il semble actuellement qu'un processus du type sablier puisse intervenir, soit seul, soit combiné à un processus rythmique, dans différents mécanismes tant biochimiques, comme le contrôle de la division cellulaire du myxomycète *Physarum polycephalum*, que morphogénétiques, comme la floraison de *Pharbitis* (voir BRULFERT, ce colloque).

*b* — *Modèle de BÜNNING (dit de « coïncidence externe »)*. Ce modèle, élaboré il y a une quarantaine d'années, a été le premier à utiliser la notion de rythme endogène. L'hypothèse de base était la présence dans l'organisme d'un rythme endogène faisant alterner une phase sensible à la lumière et une phase peu ou pas sensible à la lumière, la période totale étant circadienne en conditions constantes. Le changement saisonnier de la photopériode induirait donc des modifications physiologiques saisonnières par la modification du degré de coïncidence entre l'alternance jour/nuit et la phase de sensibilité à la lumière. Cette hypothèse a été à la base de pratiquement toutes les interprétations et discussions jusque vers les années 60. Actuellement on considère qu'elle peut expliquer des processus où un rythme endogène de sensibilité à des interruptions de la nuit a été montré, tant pour la floraison (*Glycine*, *Chenopodium*, *Lemna*, voir BRULFERT, ce colloque) que pour des rythmes enzymatiques (cas de la PEP carboxylase dans le *Kalanchoe*, voir III, B).

*c* — *Modèle dit de « coïncidence interne »*. Développé indépendamment dès 1960 par TYSHCHENKO et par PITTENDRIGH (voir PITTENDRIGH, 1972), ce dernier en ayant fortement approfondi le mécanisme et ses conséquences (PITTENDRIGH et DAAN, 1976), ce modèle paraît apte à expliquer un certain nombre de résultats dont les modèles précédents ne peuvent rendre compte. En effet il a été montré chez l'homme, chez des mammifères et des plantes (travaux de TAKIMOTO et HAMNER, 1964, sur la floraison du *Pharbitis nil*, de PAPENFUSS et SALISBURY, 1967, sur la floraison de *Xanthium strumarium*) que des oscillateurs endogènes différents pouvaient exister dans le même organisme, contrôlant le même rythme terminal (floraison, par exemple), mais étant entraînés par des signaux différents, certains par le signal début de jour, d'autres par le signal fin de jour. Il en résulte que l'intervalle entre ces signaux (c'est-à-dire la photopériode) établit entre ces oscillateurs une relation de phase bien définie, donc un changement de cet intervalle modifiera les relations entre les systèmes métaboliques liés à ces oscillateurs. *Différents programmes métaboliques saisonniers, et parlant des phénomènes d'induction, résulteraient donc de l'entraînement de rythmes différents par les signaux début de jour et début de nuit.*

Une conséquence importante de ce modèle est que les signaux photopériodiques devraient pouvoir être remplacés par des signaux, physiques ou chimiques, capables d'agir sur la phase des rythmes, pourvu qu'une relation de phase similaire soit obtenue. Cela a été vérifié pour le remplacement de la photopériode par une action de signaux de température sur la diapause de *Nasonia*, et il est possible que l'induction de la floraison par un traitement thermique adéquat relève de ce mécanisme.

### 3. COMPOSITION DE L'HORLOGE INTERNE

*a* — *Un mécanisme universel pour la composition de l'horloge*, comme pour son mode de relation avec le milieu externe, est certainement exclu en raison de la diversité des fonctions rythmiques et de leur nécessaire coordination ; il en résulte que le choix simplificateur des données, nécessaire à l'élaboration de tout modèle, et l'évaluation de la portée du modèle ainsi construit, posent des problèmes conceptuels et techniques très difficiles (QUEIROZ, 1974).

b — *L'hypothèse d'une relation causale entre rythmes à fréquence élevée et rythmes circadiens* a fait l'objet de très nombreux travaux ; la raison en a été un modèle fort remarquable, basé sur un mécanisme de rétroactivation de la phosphofructokinase par l'ADP, proposé par PYLE (1969) pour expliquer les rythmes de période courte (de l'ordre de quelques minutes) observés dans le fonctionnement de la glycolyse de la levure. Il a été proposé par différents auteurs, sur la base d'approches théoriques diverses (voir le résumé de la situation par JEREBZOFF, ce colloque), qu'un système de ce type puisse être à l'origine des rythmes circadiens ; mais cette hypothèse bute contre l'obstacle de la forte réduction de fréquence nécessaire, la validité physiologique des modèles proposés pour résoudre cette difficulté n'ayant pas pu être établie de manière satisfaisante.

Il nous semble plus raisonnable de considérer que deux classes de rythmes endogènes interviennent dans l'organisation physiologique avec des fonctions différentes, leurs structures causales étant donc différentes et leurs périodes étant d'un ordre de grandeur adapté à leurs fonctions : les rythmes à période courte optimiseraient le fonctionnement enzymatique à tout moment du cycle selon le flux métabolique de la voie, les rythmes circadiens coordonneraient les différentes voies dans leurs relations avec les périodismes du climat, optimisant les différences du fonctionnement enzymatique entre deux moments différents du cycle.

c — *Le rôle des membranes dans l'horloge* est actuellement au centre de nombreux travaux. Les deux modèles les plus élaborés, celui de SWEENEY (1974) et celui de NJUS, SULZMANN et HASTINGS (1974) font appel à un système de transport d'un effecteur X, déclenché par le seuil inférieur du gradient transmembranaire de X ; le gradient s'accroît alors jusqu'à un seuil supérieur, qui rétroinhibe le transport actif ; une baisse du gradient par diffusion ou utilisation de X termine le cycle. Le second de ces modèles suppose que X serait un ion ( $K^+$ , par exemple) ; la présence de photorécepteurs (le phytochrome, par exemple) dans la membrane, dont la réponse à des signaux lumineux contrôlerait l'ouverture de « portes » de transport de X, expliquerait les changements de phase du rythme de concentration ionique sous l'effet de ces signaux. Les phénomènes d'entraînement, ainsi que les courbes de réponse de phase, peuvent être assez bien expliqués par ce modèle, qui par contre rend moins bien compte de la faible action de la température sur la période, ainsi que du caractère circadien de celle-ci en libre cours.

De nombreux résultats expérimentaux soutiennent indirectement ou directement l'hypothèse d'un rôle des membranes dans l'horloge : par exemple, l'allongement de la période du rythme du mouvement des pétales du *Kalanchoe* par application de  $Li^+$ , observé par ENGELMANN *et al.* (1974) ; les résultats de GALSTON et SATTER (1976), reliant l'action du phytochrome, le flux d'ions  $K^+$  et des variations de potentiel de membrane dans le pulvinus de *Samanea* aux rythmes des folioles de cette plante.

d — *Les composantes génétiques et biochimiques de l'horloge* ne sont pratiquement pas connues. Des mutants de *Neurospora* et de *Drosophila* ont pu être obtenus montrant des modifications de propriétés de l'horloge, mais il peut s'agir d'un effet indirect : en fait aucun auteur n'a pu établir la participation du matériel génique dans la composition même de l'horloge, malgré

le modèle, particulièrement complexe, proposé par EHRET et TRUCCO (1967) ; son rôle serait indirect, celui de fournir l'information nécessaire à la synthèse de substances qui, elles, seraient des composantes de l'horloge. Ni la réplication ni la transcription ne semblent intervenir dans le mécanisme de l'horloge elle-même et les rythmes de synthèse d'ADN et d'ARN observés ne semblent être que des « aiguilles de l'horloge ». Par contre, l'utilisation d'inhibiteurs semble montrer que la synthèse de protéines pourrait être une des composantes de l'horloge, au niveau du fonctionnement des ribosomes 80 S (modification de la période des rythmes d'*Euglena* et d'*Acetabularia* sous l'effet de la cycloheximide, montré par FELDMAN, 1967, et par KARAKASHIAN et SCHWEIGER, 1975, respectivement). Il reste cependant possible que, là aussi, l'effet soit indirect. Des rythmes circadiens de capacité enzymatique ont été montrés dans de nombreux organismes pour un nombre très élevé d'enzymes, et dans le cas de la PEP carboxylase du *Kalanchoe blossfeldiana* un changement de composition isozymique a été observé après un changement de photopériode (voir III, B).

### III. CHRONOBIOLOGIE DE SYSTÈMES MÉTABOLIQUES COMPLEXES DANS LES PLANTES SUPÉRIEURES

Il y a essentiellement deux modes d'approche dans l'étude d'un système rythmique : l'étude en libre cours et l'étude sous entraînement. Complémentaires, les deux méthodes fournissent des informations d'un ordre quelque peu différent, et ont des contraintes expérimentales fort différentes (QUEIROZ, 1974 ; HILLMAN, 1976). L'étude en libre cours, nécessaire pour connaître la période endogène des rythmes, implique, dans le cas où un enregistrement automatique des rythmes n'est pas possible, un nombre très élevé d'analyses et contient des germes de désynchronisation ; de plus, l'étude en libre cours rend difficile l'identification, dans une liste de rythmes, de ceux qui sont fonctionnellement liés. L'étude sous entraînement ne permet pas de distinguer des périodes endogènes différentes (sauf par des méthodes complexes), mais stabilise le système et permet de définir les interactions entre ses composantes, ainsi que les relations adaptatives avec le milieu externe.

#### A. Exemple d'étude d'un système en libre cours (*Chenopodium*)

L'étude intensive de rythmes métaboliques et enzymatiques dans les germinations de *Chenopodium rubrum* a conduit WAGNER et ses collaborateurs à proposer un modèle combinant l'action du phytochrome, des changements de conformation membranaire et des variations de charge énergétique pour rendre compte de l'action de la lumière sur les rythmes circadiens (voir par exemple, WAGNER, 1976). Le schéma expérimental est fort compliqué. Des

germinations de *Chénopode* sont cultivées en lumière continue, mais avec alternance d'intensité lumineuse et de température (pour initier et synchroniser les rythmes endogènes), ensuite portées en lumière d'intensité constante et à température constante, pendant des durées variables, puis finalement en obscurité continue (un traitement de quelques minutes par de la lumière rouge clair ou rouge sombre peut précéder l'obscurité) ; les rythmes sont étudiés pendant le séjour final à l'obscurité. Un nombre élevé de rythmes a ainsi été étudié, montrant des périodes soit entre 24 heures et 30 heures, soit entre 12 heures et 15 heures ; dans quelques cas des pics secondaires ont été observés

TABLEAU I. — Phénomènes rythmiques chez le *Chenopodium rubrum* (WAGNER, 1976).

phénomène	période en heures	
	pic principal	pic secondaire
floraison	30	
bétacyanine (accumulation)	24--30	15
bétacyanine (turnover)	24--30	
charge énergétique	21--24	
rapport NADPH/NADP	21--24	
respiration (obscurité)	21--24	
chlorophylle (accumulation)	15	
photosynthèse nette	15	
pyridine nucléotides (pools)	12--15	6
glycéraldéhyde-3-P déshydrogénase (NADH; NADPH)	15	6
malate déshydrogénase	12--15	6
glutamate déshydrogénase	12--15	6
glucose-6-P déshydrogénase	12--15	4--6
adénylate kinase	30	15

(tableau I). Les auteurs accordent un rôle privilégié au *rythme circadien de charge énergétique*, calculé à partir des rythmes de concentration en ATP, ADP et AMP, et à un *rythme circadien du rapport NADPH/NADP*, représentant l'état d'oxydo-réduction de la cellule. Un effet de l'état du phytochrome, selon le programme d'éclairage, est observé sur la phase du rythme de certaines enzymes, pas sur d'autres, et dépendrait de la phase d'un rythme endogène de sensibilité, établie lors du passage à l'obscurité.

Le modèle proposé est basé sur l'hypothèse suivant laquelle le rythme de charge énergétique jouerait un rôle essentiel dans le processus endogène de mesure du temps ; l'action combinée du rythme endogène de sensibilité à la lumière et du rythme de charge énergétique modifierait rythmiquement la conformation des membranes auxquelles le phytochrome serait lié.

Les points prêtant à discussion dans ce modèle découlent de sa grande complexité, faisant intervenir un trop grand nombre d'hypothèses, et du fait qu'il n'y a pas de raison apparente pour considérer le rythme de charge énergétique comme une composante fondamentale de l'horloge et non seulement comme un des nombreux rythmes qu'elle commande ; de plus, les auteurs mesurent en fait des variations de *capacité* enzymatique (c'est-à-dire, de

concentration des enzymes dans les tissus) mais les considèrent comme représentant des variations d'*activité* enzymatique (puisqu'ils les rapprochent des variations d'effecteurs nucléotidiques) sans avoir démontré que cette démarche est justifiée. Malgré ces difficultés, l'ensemble des données sur le métabolisme du Chénopode constitue un apport important dans la connaissance de la rythmicité endogène.

### B. Exemple d'étude d'un système entraîné (CAM) (1)

Décelé d'abord par de SAUSSURE, le comportement physiologiquement « bizarre » des Crassulacées, montrant une fixation nocturne et une production diurne de CO<sub>2</sub>, ainsi que l'oscillation concomitante d'acidité due aux variations de teneur en malate, s'est avéré plus récemment un des plus remarquables systèmes d'adaptation des mécanismes de fixation du CO<sub>2</sub>. L'enzyme de fixation primaire du CO<sub>2</sub> est la même (PEP carboxylase) que dans les plantes à photosynthèse dite « en C<sub>4</sub> » ; mais alors que dans celles-ci les réactions enzymatiques suivantes sont soumises à une compartimentation tissulaire, c'est une *compartimentation dans le temps* qui est à la base de la valeur adaptative du même système de réactions dans les plantes de type CAM (fig. 3 A) : fixé pendant la nuit, lorsque les conditions de température et d'humidité permettent l'ouverture des stomates, le CO<sub>2</sub> est stocké sous forme de malate, probablement dans la vacuole, jusqu'au jour suivant ; le malate sera alors décarboxylé par l'enzyme malique, fournissant ainsi à la photosynthèse du CO<sub>2</sub> à forte concentration dans les tissus, même si les conditions externes de sécheresse et forte température imposent la fermeture des stomates.

Deux caractéristiques sont à souligner dans ce système métabolique :

1) *cette forme d'adaptation à la sécheresse se trouve être sous le contrôle du photopériodisme* (elle peut se manifester sous l'effet d'une photopériode adéquate même lorsque les plantes ne sont pas soumises à sécheresse) ;

2) *les réactions composant la voie CAM présentent les propriétés des rythmes endogènes circadiens*. Les données actuellement disponibles sur le *Kalanchoe blossfeldiana* obtenues au Phytotron de Gif-sur-Yvette (voir QUEIROZ, 1978, pour un résumé de l'ensemble des résultats), montrent que la rythmicité s'étend aux enzymes de la glycolyse, à l'activité du cycle des acides tricarboxyliques et à la synthèse d'acides aminés (fig. 3 B), comme l'ont montré J.-N. PIERRE (non publié) et MOREL (1976).

*La photopériode intervient selon les mécanismes suivants :*

a — Le CAM se développe davantage en conditions photopériodiques qui induisent aussi la floraison (par exemple, jours courts pour le *K. blossfeldiana*, succession d'un nombre adéquat de jours longs et de jours courts pour le *K. daigremontiana*) ; on sait que la floraison est commandée dans ces plantes par une horloge circadienne ; il est possible que la même horloge contrôle la floraison et le CAM (BRULFERT *et al.*, 1973).

(1) CAM : sigle internationalement accepté pour « métabolisme acide des Crassulacées » ; ce système métabolique est en fait présent dans des plantes appartenant à au moins une douzaine d'autres familles, adaptées à l'aridité ou à la salinité.

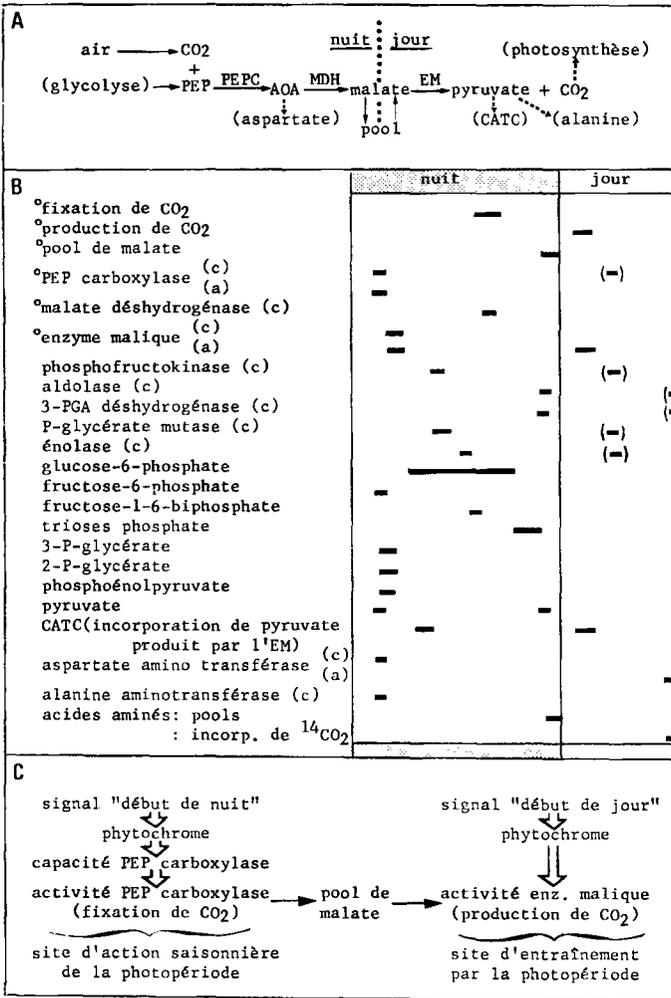


Fig. 3 A. — Voie enzymatique CAM, caractéristique d'un type d'adaptation à la sécheresse chez des plantes de régions désertiques ou du bord de mer. La compartimentation temporelle (rythme jour/nuit) est indiquée, ainsi que les voies latérales. PEPC : phosphoénolpyruvate carboxylase ; MDH : malate déshydrogénase ; EM : enzyme malique ; AOA : oxaloacétate ; CATC : cycle des acides tricarboxyliques.

B. — Distribution horaire du maximum des rythmes de la voie CAM et voies associées, dans les feuilles jeunes de *Kalanchoe blossfeldiana*, après environ 30 jours courts de 9 heures. (°) : persistance du rythme en conditions constantes vérifiée ; (a) : rythmes d'activité enzymatique, mesurée par incorporation de substrats marqués, permettant une évaluation des variations d'activité nette *in vivo* ; (c) : rythmes de capacité enzymatique, mesurée par l'activité totale maximum obtenue dans les extraits, permettant une évaluation des variations de la potentialité du tissu à effectuer la réaction considérée. La PEP carboxylase et les enzymes de la glycolyse montrent un pic principal (trait noir) et un pic secondaire (trait noir entre parenthèses) qui semblent résulter de la présence de 2 rythmes circadiens pour chaque enzyme : les 2 pics répondent différemment au changement de photopériode (la phase et l'augmentation progressive

*b* — Dans le cas le plus étudié (*K. blossfeldiana*) on constate que : 1) les jours courts induisent l'augmentation exponentielle de la capacité de la PEP carboxylase et des enzymes de la glycolyse (MOREL et QUEIROZ, 1974 ; QUEIROZ et MOREL, 1974 ; PIERRE, non publié) ; 2) les rythmes de capacité de la PEP carboxylase et des enzymes de la glycolyse présentent 2 pics par 24 heures lorsque le fonctionnement CAM est faible (jours longs), mais l'acquisition d'un fonctionnement CAM fort, après changement de la photopériode en jours courts, s'accompagne pour toutes ces enzymes, d'un grand développement du seul pic « nocturne », transformant l'allure générale du rythme de capacité en un rythme de 24 heures de période (fig. 3 B). Ce résultat remarquable non seulement suggère une compartimentation des deux rythmes observés en jours longs, les jours courts n'agissant que sur les enzymes d'un des compartiments (rythmes à maximum pendant la nuit), mais montre en outre que le changement de photopériode a eu une action coordonnée sur un nombre élevé de sites de synthèse d'enzymes ; dans le cas de la PEP carboxylase il a déjà été montré que cette action se traduit par une modification de la composition en isozymes (des recherches similaires sont en cours sur les enzymes de la glycolyse).

*c* — Le signal « début de jour » entraîne la phase du rythme d'activité de l'enzyme malique, produisant le pic de décarboxylation typique du CAM (fig. 3 C ; MOREL et QUEIROZ, 1978) ; cela est vrai quelle que soit la photopériode.

*d* — Le signal « début de nuit » contrôle le niveau de la capacité de la PEP carboxylase (et partant son activité) (fig. 3 C) selon que sa position par rapport au signal début de jour détermine un jour long ou un jour court ; il a été montré (BRULFERT, non publié) que le niveau de la capacité de la PEP carboxylase dépend d'un rythme endogène de sensibilité à la lumière (du type prévu dans l'hypothèse de « coïncidence externe », voir II C 2).

EN CONCLUSION, le signal « début de jour » assurerait l'entraînement du système CAM par la photopériode ; la position relative dans le cycle du signal « début de nuit » commanderait la variation saisonnière du CAM (fig. 3 C), les deux signaux agissant sur deux rythmes différents. Une certaine analogie avec un système du type « coïncidence interne » (voir II C 2) paraît donc se dégager des résultats si on considère la voie CAM dans son ensemble.

Dans ce système adaptatif, la photopériode agirait donc comme un Zeitgeber précis et fiable, permettant la préparation saisonnière du niveau enzymatique nécessaire à la réponse à la sécheresse (même si, artificiellement, celle-ci ne se produit pas). La propriété des rythmes endogènes, montrée dans les courbes de réponse de phase (fig. 1), de répondre par un brusque changement du signe du déphasage à un faible changement d'heure du signal externe, fait que même de faibles variations de la photopériode pourraient suffire pour

du niveau et de l'amplitude des pics nocturnes est en bonne corrélation avec les variations du CAM en fonction du nombre de jours courts) et des isozymes de la PEP carboxylase ont pu être séparés. Les rythmes synchrones d'acides aminés concernent : Asn, Asp, Ala, Arg, GABA, Gln, Glu, Gly, Ser.

C. — Relations entre CAM et photopériode : le rôle fonctionnel différent des 2 signaux qui définissent la photopériode est indiqué ; selon leur intervalle la capacité PEPC est faible (jours longs) ou forte (jours courts), avec changement de composition isozymique (voir texte).

induire une modification du programme enzymatique et donc pour remplir le rôle indiqué.

## BIBLIOGRAPHIE

- BRULFERT (J.), GUERRIER (D.) et QUEIROZ (O.), 1973. — Photoperiodism and enzyme activity : balance between inhibition and induction of the Grassulacean Acid Metabolism. *Plant Physiol.*, *51*, 220-222.
- EDMUNDS (L. N., Jr.), 1974. — Temporal differentiation in *Euglena* : circadian phenomena in non-dividing populations and in synchronously dividing cells. In : Les cycles cellulaires et leur blocage chez plusieurs protistes. *Coll. int. n° 240, CNRS, Paris*, 53-67.
- EHRET (C. F.) et TRUCCO (E.), 1967. — Molecular models for the circadian clock. I. The chronon concept. *J. theorel. Biol.*, *15*, 240-262.
- ENGELMANN (W.), MAURER (A.), MUHLBACH (M.) et JOHNSSON (A.), 1974. — Action of Lithium ions and heavy water in slowing circadian rhythms of petal movement in *Kalanchoe*. *J. interdiscipl. Cycle Res.*, *5*, 199-205.
- FELDMAN (J. F.), 1967. — Lengthening the period of a biological clock in *Euglena* by cycloheximide, an inhibitor of protein synthesis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, *57*, 1080-1087.
- GALSTON (A. W.) et SATTER (R. L.), 1976. — Light, clocks and ion flux : an analysis of leaf movements. In : Light and Plant Development, H. SMITH ed., *Butterworths*, Londres, 159-184.
- HASTINGS (J. W.), 1960. — Biochemical aspects of rhythms : phase shifting by chemicals. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, *25*, 131-143.
- HILLMAN (W. S.), 1964. — Endogenous circadian rhythms and the response of *Lemna perpusilla* to skeleton photoperiods. *Amer. Nat.*, *98*, 323-328.
- HILLMAN (W. S.), 1976. — Biological rhythms and physiological timing. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, *27*, 159-179.
- KARAKASHIAN (M. W.) et SCHWEIGER (H. G.), 1975. — 80S protein synthesis provides a component of the *Acetabularia* circadian clock. *J. Cell. Biol.*, *67*, 200a.
- KING (R. W.) et CUMMING (B. G.), 1972. — Rhythms as photoperiodic timers in the control of flowering in *Chenopodium rubrum* L. *Planta*, *103*, 281-301.
- NJUS (D.), SULZMAN (F. M.) et HASTINGS (J. W.), 1974. — Membrane model for the circadian clock. *Nature*, *248*, 116-120.
- MOREL (C.), 1976. — Rythmes circadiens : interactions entre voies métaboliques. In : Etudes de Biologie végétale. *Hommage au Prof. P. Chouard*, R. JACQUES ed., Paris, 457-466.
- MOREL (C.) et QUEIROZ (O.), 1974. — Physiological significance of endogenous enzymic rhythms in the PEP carboxylase pathway of CO<sub>2</sub> fixation in CAM plants. *J. interdiscipl. Cycle Res.*, *5*, 202-206.
- MOREL (C.) et QUEIROZ (O.), 1978. — Dawn signal as a rhythmical timer for the seasonal adaptive variation of CAM : a model. *Plant, Cell and Environment*, *1*, 141-149.
- PAPENFUSS (H. D.) et SALISBURY (F. B.), 1967. — Properties of clock resetting in flowering of *Xanthium*. *Plant Physiol.*, *42*, 1562-1568.
- PAVLIDIS (T.) et KACZMANN (W.), 1969. — Toward a quantitative biochemical model for circadian oscillators. *Arch. Biochem. Biophys.*, *132*, 338-348.
- PITTENDRIGH (C. S.), 1972. — Circadian surfaces and the diversity of possible roles of circadian organization in photoperiodic induction. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, *69*, 2734-2737.
- PITTENDRIGH (C. S.) et DAAN (S.), 1976. — A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. IV. Entrainment : Pacemaker as clock. *J. comp. Physiol.*, *106* 291-331.
- PYE (E. K.), 1969. — Biochemical mechanisms underlying the metabolic oscillations in yeast. *Can. J. Bot.*, *47*, 271-285.
- QUEIROZ (O.), 1974. — Circadian rhythms and metabolic patterns. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, *25*, 115-134.
- QUEIROZ (O.), 1979. — CAM : rhythms of enzyme capacity and activity as adaptive mechanisms. In : Photosynthesis, II, M. GIBBS et E. LATZKO eds., *Encycl. Plant. Physiol. (New Series)*. Springer-Verlag, Berlin (sous presse).

- QUEIROZ (O.) et MOREL (C.), 1974. — Photoperiodism and enzyme activity. Towards a model for the control of circadian metabolic rhythms in the Crassulacean Acid Metabolism. *Plant Physiol.*, 53, 596-602.
- SWEENEY (B. M.), 1974. — A physiological model for circadian rhythms derived from the *Acetabularia* rhythm paradoxes. *Int. J. Chronobiol.*, 2, 25-33.
- TAKIMOTO (A.) et HAMNER (K. C.), 1964. — Effect of temperature and preconditioning on photoperiodic response in *Pharbitis nil*. *Plant. Physiol.*, 39, 1024-1030.
- WAGNER (E.), 1976. — Kinetics in metabolic control of time measurement in photoperiodism. *J. interdiscipl. Cycle Res.*, 7, 313-332.
- WILKINS (M. B.) et HARRIS (P. J. C.), 1976. — Phytochrome and phase setting of endogenous rhythms. In : Light and plant development, H. SMITH ed., *Butterworths*, Londres, 399-417.