



HAL
open science

Bases théoriques et approches expérimentales de la modélisation des effets de la contrainte hydrique sur les échanges gazeux foliaires du manguier et du litchi

Gaëlle Damour

► **To cite this version:**

Gaëlle Damour. Bases théoriques et approches expérimentales de la modélisation des effets de la contrainte hydrique sur les échanges gazeux foliaires du manguier et du litchi. Sciences de la Terre. Université de la Réunion, 2008. Français. NNT : . tel-00473059

HAL Id: tel-00473059

<https://theses.hal.science/tel-00473059>

Submitted on 14 Apr 2010

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.

UNIVERSITE DE LA REUNION

Faculté des Sciences et Technologies

Ecole Doctorale interdisciplinaire EDI n°0445

Avec la participation de

CIRAD-PERSYST

UR Production Fruitière Intégrée

Bassin Plat, Saint Pierre

Discipline : Biologie végétale

Theses pour l'obtention du grade de docteur

**Bases théoriques et approches
expérimentales
de la modélisation des effets
de la contrainte
hydrique sur les échanges
gazeux foliaires du
manguier et du litchi**

Par Gaëlle DAMOUR

Laurent URBAN Directeur de recherches, INRA Corse Directeur de thèse

Hervé COCHARD Directeur de recherches, INRA Clermont-Ferrand Directeur
de thèse

Jury

Pascale BESSE Professeur, Université de la Réunion Président du jury

Huguette SALLANON Professeur, Université d'Avignon Rapporteur

Laurent URBAN Directeur de recherches, INRA Corse Directeur de thèse

Hervé COCHARD Directeur de recherches, INRA Clermont-Ferrand Directeur de thèse

Erwin DREYER Directeur de recherches, INRA Nancy Rapporteur

Soutenue le 6 mars 2008

A mon père...

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Laurent Urban, à l'origine de cette thèse, et qui a su tout au long de ces trois années m'apporter, au-delà des aspects scientifiques, son optimisme, son enthousiasme et ses encouragements. Merci à Hervé Cochard, co-encadrant pour les aspects hydrauliques de ce travail, qui malgré l'éloignement a pu apporter les éléments nécessaires à ce travail. Merci à tous les deux d'avoir répondu à mes questions incessantes... Je remercie ensuite Erwin Dreyer et Huguette Sallanon d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse, et Pascale Besse pour sa participation au jury. Je remercie également la région Réunion et le CIRAD d'avoir mis à ma disposition les moyens financiers et matériels et qui m'ont permis d'effectuer ce travail. Merci plus particulièrement à Philippe Cao Van, pour son accueil au sein de la station de Bassin Plat, et d'en avoir assumé tous les aspects administratifs. Merci ensuite à l'exploitation du Lycée agricole de Saint Paul d'avoir laissé à la disposition du CIRAD la parcelle de litchis qui a en partie servi aux expérimentations de ce travail.

Mes très sincères remerciements vont ensuite à Frédéric Normand, pour ses nombreux conseils, sa bonne humeur et son soutien. Merci de ta disponibilité, et de l'ambiance agréable et amicale que tu as su créer dans notre bureau. Merci enfin d'avoir été toujours présent, des coups durs jusqu'à la relecture méticuleuse d'une partie de ce manuscrit.

Je tiens ensuite à remercier tous ceux qui ont participé au déroulement expérimental de cette thèse. Merci à Marc Vandame et au labo de biochimie de Clermont pour les analyses faites avec sérieux et diligence. Merci à Elise et Loïc, dont les stages ont contribué à ce travail. Merci à Christian et Jean Patrice pour avoir participé aux mesures de terrain, et à Clauderic de m'avoir accompagnée durant mes mesures matinales, entre 4 et 5 h du matin... Merci à Gilles et à M. Payet d'avoir porté, transporté, placé, déplacé et replacé les pots de manguiers, aux grés des intempéries, ainsi que pour tous les petits coups de mains qu'ils ont pu me donner. Merci enfin au personnel de Bassin Plat dont la majorité, à un moment ou à un autre, a pu me rendre service.

Merci encore à tous ceux dont la bonne humeur et la gentillesse m'ont permis, au cours de ces journées de travail, de supporter tous les impondérables. Merci à Thierry à l'humour

inépuisable, à Rose-Mye et Marie pour leurs bons conseils, à Mathieu pour son invariable bonne humeur, ...

Merci à tous mes compagnons de galère : Pascal, Nath, Sèv, Lan, Erwann et Aurélie... et à ceux qui ont galéré avant nous : Hélène et PF en particulier. Merci à mes amis : Delphine, Delphine et Delphine (!), Ludo, Marianne, Karine & Geoffrey, Fred, Sophie, Amélie & Thomas, Gwen, Nico, Pierre, Rachel, Claire, Paul... avec qui j'ai pu partager autant de bons moments. Merci aussi aux métropolitains, qui malgré les 10000 km qui nous séparent, sont toujours restés présents.

Merci enfin à mes frères, ma mère et toute ma famille.

Enfin et surtout, merci à Johann... merci de m'avoir épaulée, encouragée et rassurée tout au long de ces trois années. Merci pour tes attentions journalières et pour tout ce que nous avons partagé. Merci de la lecture rébarbative de mon "charabia"... Et merci tout particulièrement d'avoir remarquablement assumé ces dernières semaines...

... quelques derniers remerciements... :

Merci aux pompiers d'avoir éteint l'incendie de l'étuve de Clermont Ferrand, bien qu'un peu trop tard pour sauver mes échantillons...

Merci aux réparateurs de la Licor, lourdement sollicités pour répondre aux fuites de graisse, chutes et autres invasions de fourmis, ...

Merci aux constructeurs des loupes binoculaires d'avoir sauvé la vie de Loïc, stagiaire tous risques qui a poussé la chambre à pression jusqu'à ses limites...

Et merci, finalement, au sort... de m'avoir permis de terminer cette rédaction sans un dernier aléa...

Remarques préliminaires

Cette thèse est entièrement en format PDF.

Des liens dynamiques et des signets vous facilitent la navigation : par exemple lorsque vous ouvrez le « corps de la thèse » une table des matières apparaît les éléments soulignés sont des hyperliens qui vous conduisent directement là où vous le souhaitez. Pour revenir à la table des matières il suffit d'ouvrir la fenêtre « signets » et cliquer sur ce dernier.

Sommaire

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS	1
INTRODUCTION.....	5
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	9
SECTION I : FONCTIONNEMENT DES STOMATES ET PHOTOSYNTHESE	9
A- Fonctionnement des stomates et réponse aux facteurs environnementaux	9
A-1 Mécanismes moléculaires de la fermeture des stomates.....	11
A-1-1 Ouverture et fermeture des stomates en réponse à la lumière	11
A-1-2 Rôle de la zéaxanthine	12
A-1-3 Rôle de l'ABA et du peroxyde d'hydrogène	12
A-1-4 Rôle du CO ₂	14
A-1-5 Rôle de l'ascorbate.....	15
A-1-6 Rôle de l'éthylène et des cytokinines	15
A-2 La réponse des stomates aux facteurs environnementaux	17
A-2-1 Différence de vitesse de mise en place des stress environnementaux.....	17
A-2-2 Réponse des stomates aux facteurs environnementaux	17
A-2-3 Caractéristique de la réponse des stomates : une fermeture hétérogène	19
A-3 La réponse des stomates au stress hydrique passe par une réponse à des facteurs physiologiques	21
A-3-1 Concentration intercellulaire en CO ₂	21
A-3-2 Contrôle hydrique des stomates : transpiration et potentiel hydrique	21
A-3-3 Contrôle hydraulique des stomates.....	23
A-3-4 Contrôle hormonal des stomates	28
A-3-5 Contrôle hydraulique vs. contrôle hormonal ?	29
A-4 Stratégies adoptées par les plantes face à un stress hydrique	30
A-4-1 Maintenir le potentiel hydrique foliaire constant.....	31
A-4-2 Limiter le taux d'embolie : maintenir le potentiel hydrique du xylème voisin du potentiel de cavitation	31
A-4-3 Stratégie de conservation vs. stratégie de production	33
B- Photosynthèse et stress hydrique	37
B-1 Processus de la photosynthèse et capacité photosynthétique	37
B-1-1 Processus de la photosynthèse : rappels	37
B-1-2 Définition de la capacité photosynthétique et estimation	39
B-1-3 Espèces actives de l'oxygène et mécanismes antioxydants.....	41
B-2 Le stress hydrique impose différentes limitations à la photosynthèse	43
B-2-1 Limitations stomatiques, non-stomatiques, diffusives et métaboliques	45
B-2-2 Importance relative des limitations à la photosynthèse.....	45
B-3 Les limitations diffusives non-stomatiques : une diminution de la conductance mésophyllienne .	47
B-3-1 Définition de la conductance mésophyllienne	47
B-3-2 Conductance mésophyllienne et stress hydrique	47
B-4 Les limitations métaboliques et les réponses de la plante	49
B-4-1 Réponse de la photosynthèse au stress hydrique.....	49
B-4-2 Systèmes évacuateurs d'énergie lumineuse en excès.....	55
B-4-3 Systèmes consommateurs d'électrons.....	55
B-4-4 Systèmes protecteurs	56
B-4-5 Atteinte des photosystèmes et du transport d'électrons.....	57
B-4-6 Atteinte de la synthèse d'ATP et de la régénération du RuBP.....	58
B-4-7 Atteinte de la Rubisco	59
B-4-8 Atteinte de la respiration mitochondriale	60

B-4-9 Inhibition de la photosynthèse par diminution de l'activité puit	60
B-4-10 Réallocation d'azote	61
C- Relation entre les stomates et la photosynthèse	63
C-1 Comportement optimal des stomates : théorie de l'optimisation	63
C-1-1 Formulation originale	63
C-1-2 Validation expérimentale	64
C-1-3 Optimisation simultanée des efficacités photosynthétiques de l'eau et de l'azote	65
C-1-4 Stress hydrique et théorie de l'optimisation	66
C-1-5 Extension de la théorie de l'optimisation à l'efficacité photosynthétique intrinsèque de l'eau	67
C-2 Comportement du rapport g_s/A_{net}	68
C-2-1 Relation entre l'efficacité photosynthétique de l'eau (A_{net}/E), g_s/A_{net} et C_i	68
C-2-2 Conditions hydriques non-limitantes	68
C-2-3 Conditions hydriques limitantes	69
C-3 Eléments d'interprétations de la relation entre g_s et A_{net}	71
C-3-1 Mécanismes pouvant expliquer la coordination entre g_s et A_{net} en conditions hydrique non-limitantes	73
C-3-2 Effet du stress hydrique sur quelques processus et molécules impliqués dans la régulation de g_s et A_{net}	77
D- Conclusions	81
SECTION II : MODELISATION DE LA CONDUCTANCE STOMATIQUE	83
A- Modèles sans stress hydrique	83
A-1 Réponse des stomates aux facteurs environnementaux seuls (relation g_s -E)	83
A-1-1 Modèles généraux, intégrant les effets de l'ensemble des facteurs environnementaux	83
A-1-2 Réponse spécifique des stomates à l'humidité de l'air, à la transpiration et au potentiel hydrique foliaire	84
A-2 Réponse des stomates aux facteurs physiologiques (relation g_s - A_{net})	87
A-2-1 Conductance stomatique estimée par un sous-modèle d'assimilation de CO_2	88
A-2-2 Conductance stomatique estimée par un sous-modèle exprimant la capacité photosynthétique de la feuille	90
B- Modèles intégrant l'effet du stress hydrique	92
B-1 Modèles empiriques dépendant de facteurs climatiques	92
B-1-1 Modèles multiplicatifs	92
B-1-2 Autres voies de modélisation	93
B-2 Modèles intégrant l'assimilation nette de CO_2 : modification des modèles de Ball, Woodrow et Berry et de Leuning	94
B-2-1 Structure des modèles	94
B-2-2 Caractéristiques et qualité d'ajustement de quelques modèles	95
B-3 Lien entre potentiel hydrique foliaire et réponse à l'ABA - Voies de modélisation	98
B-4 Modèles hydrauliques	99
B-4-1 Modèles simples basés sur la conductance hydraulique totale du trajet de l'eau du sol aux feuilles	99
B-4-2 Modèles où la conductivité hydraulique dépend de l'architecture hydraulique de la plante ...	100
B-4-3 Modèles utilisant le potentiel de cavitation Ψ_{cav}	101
B-5 Modèles hydromécanistes	102
PROBLEMATIQUE	109
MATERIEL ET METHODES	113
A- Résultats méthodologiques préliminaires	113

A-1	Mesure du potentiel hydrique foliaire chez le manguier	113
A-2	Variations journalières des concentrations en sucres : à quel moment de la journée estimer les paramètres de la capacité photosynthétique ?.....	116
A-3	Détermination du point de compensation en CO ₂ en l'absence de respiration mitochondriale (Γ^*) et de la respiration mitochondriale sur manguier.....	117
B-	Caractérisation hydraulique et hydrique du manguier et du litchi	121
B-1	Mesure de la conductivité hydraulique du xylème et estimation du taux d'embolie	121
	<i>B-1-1 Collecte et préparation des échantillons</i>	<i>121</i>
	<i>B-1-2 Mesure de la conductivité initiale et à saturation</i>	<i>121</i>
	<i>B-1-3 Calcul du taux d'embolie.....</i>	<i>122</i>
B-2	Matériel végétal.....	122
B-3	Estimation de la vulnérabilité à la cavitation	122
	<i>B-3-1 Déshydratation à la pailasse.....</i>	<i>122</i>
	<i>B-3-2 Centrifugation</i>	<i>123</i>
	<i>B-3-3 Correction des données obtenues par déshydratation à la pailasse</i>	<i>123</i>
	<i>B-3-4 Ajustement d'une courbe de référence</i>	<i>124</i>
B-4	Comportement hydrique du manguier et du litchi lors d'un stress hydrique	124
	<i>B-4-1 Cinétique de déshydratation de rameaux coupés</i>	<i>124</i>
	<i>B-4-2 Modèle hydraulique de transpiration sur manguier.....</i>	<i>125</i>
	<i>B-4-3 Relation entre le potentiel hydrique foliaire, la conductance stomatique et le potentiel de base.....</i>	<i>128</i>
B-5	Eléments d'interprétation	128
	<i>B-5-1 Estimation de la longueur des vaisseaux</i>	<i>128</i>
	<i>B-5-2 Estimation du diamètre des vaisseaux et de l'épaisseur des parois</i>	<i>129</i>
	<i>B-5-3 Effet de l'écorçage des échantillons de manguier sur la conductivité hydraulique mesurée.....</i>	<i>129</i>
C-	Effet du stress hydrique sur la capacité photosynthétique et la relation entre g_s et A_{net} chez le litchi et le manguier	131
C-1	Le litchi	131
	<i>C-1-1 Matériel végétal et dispositif expérimental.....</i>	<i>131</i>
	<i>C-1-2 Mesures des échanges gazeux et de la respiration de nuit.....</i>	<i>132</i>
	<i>C-1-3 Mesures de fluorescence</i>	<i>132</i>
	<i>C-1-4 Prélèvement des feuilles et mesures biochimiques</i>	<i>133</i>
	<i>C-1-5 Analyses statistiques</i>	<i>134</i>
C-2	Le manguier.....	134
	<i>C-2-1 Matériel végétal et dispositif expérimental.....</i>	<i>134</i>
	<i>C-2-2 Mesures des échanges gazeux et de la respiration de nuit.....</i>	<i>135</i>
	<i>C-2-3 Mesures de fluorescence</i>	<i>135</i>
	<i>C-2-4 Mesure de la conductance mésophyllienne.....</i>	<i>136</i>
	<i>C-2-5 Prélèvement des feuilles et mesures biochimiques</i>	<i>138</i>
	<i>C-2-6 Analyses statistiques</i>	<i>139</i>
RESULTATS.....	141
A-	Caractérisation hydraulique et hydrique du manguier et du litchi	141
A-1	Estimation de la longueur des vaisseaux.....	141
A-2	Estimation du diamètre des vaisseaux et de l'épaisseur des parois.....	142
A-3	Effet de l'écorçage des échantillons de manguier sur la conductivité hydraulique mesurée	144
A-4	Estimation de la vulnérabilité.....	145
	<i>A-4-1 Estimation de l'embolie native</i>	<i>145</i>
	<i>A-4-2 Vulnérabilité du manguier</i>	<i>145</i>
	<i>A-4-3 Vulnérabilité du litchi</i>	<i>147</i>
A-5	Comportement hydrique du manguier et du litchi lors d'un stress hydrique.....	149
	<i>A-5-1 Cinétique de déshydratation de rameaux coupés</i>	<i>149</i>
	<i>A-5-2 Relation entre le potentiel hydrique foliaire, le potentiel de base, et la conductance stomatique.....</i>	<i>149</i>

A-5-3	Modèle hydraulique de transpiration sur manguier.....	153
B-	Effet du stress hydrique sur la capacité photosynthétique et la relation entre g_s et A_{net} chez le litchi et le manguier	155
B-1	Le litchi	155
B-1-1	Variations des concentrations en azote et en sucres au cours du stress hydrique	155
B-1-2	Effet d'une sécheresse sur le long terme sur la photosynthèse et la conductance stomatique	157
B-1-3	Effet d'une sécheresse sur le long terme sur les paramètres de fluorescence.....	159
B-2	Le manguier.....	161
B-2-1	Evolution du potentiel de base au cours de l'expérimentation	161
B-2-2	Effet d'une sécheresse sur le long terme sur les concentrations en azote total, chlorophylle et sucres	163
B-2-3	Effet d'une sécheresse sur le long terme sur la pente de la relation entre g_s et A_{net} et sur C_i	167
B-2-4	Effet d'une sécheresse sur le long terme sur les paramètres de la fluorescence	171
B-2-5	Effet d'une sécheresse sur le long terme sur la respiration mitochondriale et la conductance mésophyllienne.....	172
	DISCUSSION	173
A-	Caractérisation hydraulique et hydrique du manguier et du litchi et comportement en conditions de stress hydrique.....	173
A-1	Construction des courbes de vulnérabilité	173
A-1-1	Courbe de vulnérabilité du manguier	173
A-1-2	Courbe de vulnérabilité du litchi.....	175
A-2	Vulnérabilité à la cavitation	176
A-2-1	Différences de vulnérabilité à la cavitation entre les rameaux d'ombre et les rameaux de lumière, chez le manguier	176
A-2-2	Vulnérabilité à la cavitation du manguier et du litchi	177
A-3	Comportement hydrique du manguier et du litchi face à un stress hydrique.....	179
A-3-1	Le manguier	179
A-3-2	Le litchi	183
A-4	Simulation de la transpiration en conditions de stress hydrique	184
A-5	Conclusions	185
B-	Effet du stress hydrique sur la capacité photosynthétique et la relation entre g_s et A_{net} chez le litchi et le manguier	187
B-1	Effet du stress hydrique sur la teneur foliaire en azote.....	187
B-2	Effet du stress hydrique sur la capacité photosynthétique	188
B-2-1	Validité des estimations du flux électronique en condition de lumière saturante J_{max}	188
B-2-2	Diminution de J_{max} au cours du stress hydrique et modification de la relation entre J_{max} et la concentration foliaire en azote	189
B-2-3	Effet du stress hydrique sur la respiration de nuit et la conductance mésophyllienne.....	190
B-3	Causes possibles de la diminution de la capacité photosynthétique.....	191
B-3-1	Accumulation de sucres et diminution de l'activité puit.....	191
B-3-2	Photoprotection et dégradations de la machinerie photosynthétique	192
B-3-3	Réallocation éventuelle de l'azote	194
B-4	Modification de la relation entre g_s et A_{net} et variations de la concentration intercellulaire en CO_2 au cours d'un stress hydrique	194
B-4-1	Variations de la pente de la relation g_s - A_{net} et de C_i	195
B-4-2	Hypothèses à la base de la relation entre g_s et A_{net} et implication pour sa modélisation	196
B-5	Conclusions	197
	CONCLUSION.....	201
1-	Bilan des connaissances acquises	201

1-1 Résultats en rapport avec la compréhension du déterminisme de l'ouverture des stomates et des modifications de la photosynthèse lors d'un stress hydrique	201
1-2 Simulation de la conductance stomatique, couplée à la photosynthèse, lors d'un stress hydrique	203
2- Perspectives de recherches	205
2-1 Par rapport à l'enjeu d'acquisition de connaissances scientifiques	205
2-2 Par rapport à l'enjeu de simulation de la conductance stomatique couplée à la photosynthèse .	206

Liste des abréviations

LISTE DES ABREVIATIONS

- ABA** : acide abscissique
A_L : surface foliaire
A_{max} : assimilation maximale, assimilation à saturation en lumière et CO₂
A_{net} : assimilation nette en CO₂
A_{net}/E : efficacité photosynthétique de l'eau
A_{net}/g_s : efficacité photosynthétique intrinsèque de l'eau
A_{net}/N : efficacité photosynthétique de l'azote
ATP : adénosine triphosphate
b : diamètre du lumen des vaisseaux du xylème
BWB : (modèle) modèle de Ball, Woodrow et Berry (1987)
C_a : concentration en CO₂ de l'air ambiant
C_c : concentration en CO₂ au niveau des sites de carboxylation
C_i : concentration en CO₂ dans la cavité sous-stomatique
C_s : concentration en CO₂ à la surface de la feuille
d : coefficient de diffusion des ions entre les cellules de garde et les cellules de l'épiderme
DCMU : 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-diméthyluré
DOY : jour calendaire ("day of year")
E : transpiration
E_a : énergie d'activation
E_{crit} : transpiration critique pour laquelle le potentiel foliaire est égal au potentiel de cavitation
E_{max} : transpiration maximale
ETP : évapotranspiration potentielle
F₀ : rendement de fluorescence minimal d'une feuille adaptée à l'obscurité
F₀' : rendement de fluorescence minimal d'une feuille adaptée à la lumière
F_m : rendement de fluorescence maximal d'une feuille adaptée à l'obscurité
F_m' : rendement de fluorescence maximal d'une feuille adaptée à la lumière
F_v : fluorescence variable
F_v/F_m : efficacité quantique maximale des PSII
F_v'/F_m' : efficacité de capture de l'énergie d'excitation des centres réactionnels PSII ouverts
g* : conductance stomatique optimale
g_b : conductance de la couche limite
g_{bwb} : pente de la courbe g_s-A_{net} relative au modèle de BWB
g_L : pente de la courbe g_s-A_{net} relative au modèle de Leuning
g_m : conductance mésophyllienne
g_s : conductance stomatique
g_{s,c} : conductance stomatique au CO₂

g_{smax} : conductance stomatique maximale (à la vapeur d'eau)
 $g_{s,w}$: conductance stomatique à la vapeur d'eau
 h_r : humidité relative
 J : flux électronique
 J_{ABA} : flux d'ABA dans la plante
 J_C : flux électronique vers la carboxylation
 J_{max} : flux électronique en condition de lumière saturante
 J_O : flux électronique vers la photorespiration
 J_w : flux d'eau à travers la plante
 k : conductance hydraulique entre une cellule moyenne de la feuille et les cellules de garde
 K : conductance hydraulique du xylème
 K_{fol} : conductance hydraulique de la feuille
 K_i : conductivité initiale
 K_{max} : conductance hydraulique maximale du xylème
 K_{sat} : conductivité à saturation
 $K_{té, tot}$: conductivité hydraulique du xylème totale sur le trajet sol-feuille
 K_{tot} : conductance hydraulique du xylème totale sur le trajet sol-feuille
 $K_{tot,spé}$: conductance hydraulique totale du xylème spécifique de feuille
 M_a : masse surfacique
 MS : matière sèche
 MS_s : matière sèche structurale
 N_a : concentration surfacique en azote
 N_m : concentration massique en azote
 NPQ : quenching non-photochimique
 O : pression partielle en oxygène dans l'espace intercellulaire
 P : précipitations
 PAL : phénylalanine ammonia lyase
 P_e : pression de turgescence des cellules de l'épiderme
 PEG : polyéthylène glycol
 P_g : pression de turgescence des cellules de garde
 P_i : phosphate inorganique
 P_{latex} : pression hydrostatique du latex
 $P_{sève}$: pression hydrostatique de la sève
 PLC : pourcentage de perte de conductivité hydraulique ("pourcentage of loss of conductivity")
 PLC_0 : taux d'embolie native
 PSI : photosystème I
 $PSII$: photosystème II
 p_w : pression partielle en vapeur d'eau de l'air
 $p_{ws(T)}$: pression partielle en vapeur d'eau de l'air à saturation, à la température T
 Q : intensité lumineuse
 R : constante des gaz parfaits ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$)
 R_d : respiration mitochondriale

- R_n : respiration de nuit, estimation de R_d
- ROS** : espèces actives de l'oxygène ("reactive oxygen species")
- R_p : résistance au passage de l'eau dans la plante
- R_{sp} : résistance au passage de l'eau dans le sol et à l'interface sol-racines
- RuBP** : Ribulose-1,5-bisphosphate
- SF** : surface foliaire
- SPS** : sucrose phosphate synthase
- t : épaisseur des parois entre deux vaisseaux du xylème
- T** : paramètre relié à la concentration en ATP des cellules du mésophylle
- T_f : température à la surface de la feuille
- TPU** : taux de régénération de phosphates lors de l'utilisation des trioses-phosphates
- V_c : taux de carboxylation
- V_{cmax} : taux de carboxylation maximal
- Vpd** : déficit de saturation en vapeur d'eau de l'air
- W_c : taux de carboxylation limité par la quantité, l'état d'activation et les propriétés cinétiques de la Rubisco
- W_j : taux de carboxylation limité par le taux de régénération du RuBP dans le cycle de Calvin
- W_p : taux de carboxylation limité par le taux de libération de phosphates lors de l'utilisation des trioses-phosphates
- α : efficacité de conversion de l'énergie lumineuse
- $\Delta\pi$: différence de potentiel osmotique entre les cellules de garde et les cellules de l'épiderme
- $\Delta\Psi$: différence de potentiel hydrique entre les cellules de garde et les cellules de l'épiderme
- $\delta E/\delta A_{net}$: coût marginal en eau du gain de carbone
- $\delta E/\delta N$: coût marginal en eau du gain d'azote
- $\delta\theta$: déficit en eau du sol
- Φ_{e-} : efficacité quantique maximale du flux d'électrons total
- Φ_{CO_2} : efficacité de fixation du CO_2
- Φ_{PSII} : efficacité quantique du transport d'électrons par les PSII
- π_e : potentiel osmotique des cellules de l'épiderme
- π_g : potentiel osmotique des cellules de garde
- π_{in} : estimation de la quantité d'ions entrant dans les cellules de garde
- π_{latex} : potentiel osmotique du latex
- π_{out} : estimation de la quantité d'ions sortant des cellules de garde
- $\pi_{sève}$: potentiel osmotique de la sève
- Ψ : potentiel hydrique
- Ψ_{base} : potentiel de base
- Ψ_{cav} : potentiel de cavitation
- Ψ_e : potentiel hydrique des cellules de l'épiderme
- Ψ_{fol} : potentiel hydrique foliaire
- Ψ_g : potentiel hydrique des cellules de garde
- Ψ_{latex} : potentiel hydrique du latex
- Ψ_{min} : potentiel hydrique foliaire minimal

Ψ_r : potentiel hydrique racinaire

$\Psi_{\text{sève}}$: potentiel hydrique de la sève

Ψ_{sol} : potentiel hydrique du sol

Ψ_{xyl} : potentiel hydrique du xylème

Ψ_{50} : potentiel hydrique pour lequel on observe 50 % d'embolie

Ψ_{100} : potentiel hydrique pour lequel on observe 100 % d'embolie

Γ : point de compensation en CO_2

Γ^* : point de compensation en CO_2 en l'absence de respiration mitochondriale

τ : facteur de spécificité de la Rubisco

θ : absorbance

θ_{cc} : teneur en eau à la capacité au champs

θ_f : teneur en eau au point de flétrissement permanent

θ_{sol} : teneur en eau du sol

Introduction

INTRODUCTION

Les stomates sont le lieu des principaux échanges gazeux entre la plante et son environnement. Le CO₂, qui entre dans la plante au travers des stomates, permet l'ensemble du métabolisme carboné. Mais les stomates sont aussi le siège des principales pertes en eau par transpiration, moteur du flux d'eau dans la plante.

Les stomates ont ainsi eu un rôle évolutif décisif par leur faculté à réguler les échanges gazeux en réponse aux variations de facteurs environnementaux (intensité lumineuse, température, concentration en CO₂, humidité de l'air et état hydrique du sol).

La régulation des stomates tendrait alors à maximiser l'assimilation de carbone, tout en minimisant les pertes en eau, deux fonctions à la base du fonctionnement général de la plante. **Comprendre et modéliser la régulation des stomates représente ainsi un enjeu majeur.**

Etudier la maximisation du gain de carbone revient à étudier la relation entre l'ouverture des stomates (la conductance stomatique, g_s) et l'assimilation nette (A_{net}). Etudier la minimisation des pertes d'eau revient à étudier la relation entre g_s et la transpiration (E). Cependant, ces trois variables sont en interaction, rendant l'analyse plus complexe. g_s influence A_{net} et E en régulant l'entrée de CO₂ et la sortie de H₂O. En retour, les stomates répondent à A_{net} et à E .

Pour cela, l'efficacité photosynthétique de l'eau (A_{net}/E) est parfois étudiée. Le rapport A_{net}/E permet de rendre compte à la fois du gain de carbone et des pertes en eau et autorise une vision globale et intégratrice du fonctionnement des stomates. Le rapport A_{net}/E représente ainsi une caractéristique fonctionnelle clé de la végétation. A l'échelle de l'individu, A_{net}/E décrit le potentiel de croissance de la plante et ses capacités de survie dans des zones où l'apport en eau est limité. A une échelle plus large, ce rapport détermine le lien entre l'hydrologie du bassin et la productivité primaire nette de l'écosystème.

Lors d'un déficit hydrique du sol, la fermeture des stomates permet de préserver l'état hydrique de la plante et le stock d'eau du sol. Cependant, la fermeture complète des stomates empêcherait tout apport de CO₂ et rendrait le métabolisme de la plante impossible. Le fonctionnement des stomates résulte alors de la balance entre (i) le besoin de préserver l'état hydrique de la plante, et (ii) la nécessité de maintenir un métabolisme minimal.

Lors d'un déficit hydrique du sol, la conductance stomatique, l'assimilation nette et la transpiration diminuent. Alors que la relation entre g_s et E correspond à une réponse hydraulique des stomates aux facteurs environnementaux, la relation entre g_s et A_{net} est beaucoup plus complexe. Un déficit hydrique du sol a en effet un triple effet sur la relation entre g_s et A_{net} :

- (i) un **effet direct sur g_s** (g_s diminue) ;
- (ii) un **effet direct sur A_{net}** (A_{net} diminue : on parle de limitation non-stomatique à la photosynthèse) ;
- (iii) un **effet indirect sur A_{net}** *via* la diminution d'apport en CO₂ résultant de la fermeture des stomates (on parle alors de limitation stomatique à la photosynthèse).

S'intéresser aux effets d'un déficit hydrique sur la régulation des stomates, nécessite donc de s'intéresser aussi aux effets d'un déficit hydrique sur la photosynthèse.

Le travail de thèse présenté ici s'inscrit ainsi dans une thématique générale de modélisation du fonctionnement des stomates et de la photosynthèse. Plus précisément, il répond sur le long terme à (i) un enjeu local au sein de programmes de recherche qui visent à améliorer la production du manguier et du litchi à la Réunion, (ii) un enjeu plus purement fondamental dont l'objectif est de mieux comprendre et de mieux simuler le fonctionnement des stomates lorsque l'apport en eau est limitant.

Au niveau local (i), le manguier (*Mangifera indica*) et le litchi (*Litchi chinensis*) font partie des trois productions fruitières les plus importantes de la Réunion, avec respectivement 220 et 760 hectares plantés (Chambre d'Agriculture, communication personnelle). Le marché local est actuellement demandeur de produits de qualité et le potentiel à l'export est important, surtout pour le litchi qui est le second fruit exporté de la Réunion après l'ananas. Cependant, ces deux espèces sont alternantes, et les périodes de production sont étroites, ce qui pénalise les débouchés potentiels.

L'amélioration de la production de mangue et de litchi réunionnais requiert alors une meilleure maîtrise de la floraison, et ainsi de l'entrée en production.

Malheureusement, les connaissances actuelles sur le déterminisme de la floraison sont incomplètes. Le rôle non exclusif de l'accumulation de sucres dans les rameaux, de l'âge des feuilles, ou celui des basses températures et du stress provenant d'un déficit hydrique du sol ont été proposés (Chackos et Ananthanarayanan, 1982 ; Chacko, 1991 ; Chaikiattiyos *et al.*, 1994 ; Davenport et Nunez-Elisea, 1997 ; Davenport et Stern, 2005). Dans la pratique, de nombreux producteurs procèdent à une privation en eau pour déclencher la floraison.

Mieux maîtriser la floraison, mais aussi améliorer la production et la qualité des fruits s'avèrent alors être des enjeux importants de la production fruitière réunionnaise. Au centre de cette démarche, la simulation de l'acquisition et de la répartition de carbone sont des éléments clés.

L'acquisition de carbone est très généralement simulée par des modèles biochimiques de la photosynthèse, en particulier celui de Farquhar *et al.* (1980b). Ces modèles mécanistes utilisent comme paramètre d'entrée la concentration intercellulaire en CO₂. Cette dernière ne pouvant pas être mesurée, ils doivent être couplés à des modèles de conductance stomatique, qui reposent généralement sur une relation linéaire entre la conductance stomatique et l'assimilation nette (Ball *et al.*, 1987 ; Leuning, 1995). Les modèles couplés photosynthèse / conductance stomatique ainsi obtenus utilisent alors la concentration atmosphérique en CO₂, qui elle est directement mesurable.

Les travaux conduits au CIRAD de la Réunion ont permis d'adapter de tels modèles au manguier (Urban *et al.*, 2003).

Cependant, ni le modèle de photosynthèse de Farquhar *et al.* (1980b), ni les modèles de conductance stomatique classiques, ne sont fonctionnels en conditions hydriques limitantes (en situation de "**stress hydrique**"). Ils sont ainsi inadaptés lorsque la disponibilité en eau est limitante (ce qui est presque toujours le cas), ou lors de la période de privation en eau imposée par certains producteurs afin de déclencher la floraison.

Modéliser la conductance stomatique et ainsi l'assimilation de carbone lorsque les conditions hydriques sont limitantes contribuerait alors à la construction de modèles de floraison, de production, et d'élaboration de la qualité, fonctionnels tout au long de l'année et quelles que soient les pratiques culturales.

Par ailleurs, simuler la conductance stomatique permet de simuler les pertes en eau. Les modèles de conductance stomatique peuvent ainsi permettre non seulement de connaître les besoins précis en eau de la plante, mais aussi de savoir quel degré de restriction hydrique peut être accepté.

Ainsi, à un niveau plus directement pratique, l'utilisation d'un modèle de transpiration dérivé d'un modèle de conductance stomatique pourrait permettre une gestion plus efficace et plus économe des apports en eau.

A un niveau plus général (ii) et dans une optique d'étude des changements climatiques, beaucoup de travaux s'attachent à prédire les conséquences des modifications du climat sur les communautés végétales (IPCC, 2001). L'évolution des communautés naturelles, ainsi que celle de la production des espèces cultivées en sont les questions centrales.

Parmi les nombreuses conséquences des changements climatiques, l'apparition d'importants épisodes de sécheresse dans de nombreuses régions du monde est à attendre. Le phénomène devrait s'amplifier dans les régions déjà touchées et pourrait apparaître ailleurs.

Dans cette démarche de modélisation des effets des changements climatiques, les modèles de conductance stomatique utilisés doivent être adaptés aux conditions de sécheresse afin de simuler correctement les pertes en eau.

La photosynthèse est ici aussi généralement simulée par le modèle de Farquhar *et al.* (1980b) (Knorr, 2000 ; Morales *et al.*, 2005). Ce modèle ne permettant pas de simuler correctement la photosynthèse lorsque l'alimentation hydrique est limitante, son adaptation aux conditions de stress hydrique apparaît comme un enjeu majeur.

Simuler l'acquisition de carbone et la transpiration, au cours d'une sécheresse, à l'aide de modèles de photosynthèse et de conductance stomatique fonctionnels dans ces conditions se révèle ainsi être d'une importance fondamentale.

Une bonne connaissance des effets sur les stomates des facteurs environnementaux et liés au fonctionnement physiologique de la plante paraît indispensable pour atteindre les objectifs annoncés. Malheureusement, bien qu'ayant fait l'objet de nombreux travaux, le déterminisme de l'ouverture des stomates, très complexe, n'est encore qu'imparfaitement connu. La réponse des stomates aux facteurs climatiques a été assez bien caractérisée. Cependant, le rôle de facteurs physiologiques, reliés au fonctionnement hydrique, hydraulique, ou hormonal de la plante, pose encore un certain nombre de questions. Tous les aspects de l'interaction entre le fonctionnement des stomates et la photosynthèse ne sont pas encore compris.

Les conditions hydriques limitantes peuvent modifier les variations de tous ces facteurs, ou leurs relations, rendant la compréhension des mécanismes conduisant à la fermeture des stomates encore plus complexe. En particulier, la photosynthèse peut être atteinte par le stress hydrique, de manière réversible ou irréversible.

Les effets d'un stress hydrique dépendent de la combinaison de son intensité et de sa durée. Les effets d'un stress imposé sur le long terme, similaire aux conditions naturelles au champ (plusieurs mois), ont été peu étudiés (Pankovic *et al.*, 1999). C'est cependant ce pas de temps qui est pertinent dans la compréhension des mécanismes qui sont à la base des modifications de la photosynthèse lors d'un stress hydrique en conditions naturelles.

Il est donc nécessaire d'acquérir une meilleure connaissance des effets d'un stress hydrique imposé sur le long terme et ainsi similaire à des conditions réelles en champ, sur la conductance stomatique et sur la photosynthèse.

Cette connaissance est un préalable à une modélisation réaliste de la conductance stomatique, qui intégrerait l'ensemble des facteurs environnementaux et physiologiques auxquels les stomates répondent.

Trois enjeux généraux de ce travail de thèse peuvent maintenant être plus précisément distingués :

1. D'un point de vue cognitif, il s'agirait de mieux comprendre le déterminisme de la conductance stomatique chez deux modèles d'arbres fruitiers tropicaux. Ces connaissances, ainsi que celle des effets d'un stress hydrique imposé sur le long terme sur la photosynthèse pourraient être tout particulièrement importantes dans une optique d'étude des changements climatiques.
2. Par rapport aux recherches qui ont été engagées par le CIRAD à la Réunion, l'objectif a été de contribuer à la construction de modèle de floraison, de production, et d'élaboration de la qualité, fonctionnels tout au long de l'année et quelles que soient les pratiques culturales.
3. Plus pratiquement, l'élaboration d'un modèle de conductance stomatique, fonctionnel en conditions hydriques limitantes, pourrait permettre une gestion plus efficace et plus économe des apports en eau.

Nous présenterons tout d'abord une **large synthèse bibliographique** présentant l'état des connaissances actuelles au sujet du fonctionnement des stomates et de la photosynthèse, en particulier en conditions de stress hydrique. Puis, nous dégagerons les principales questions qui se posent alors, ainsi que la problématique et les **objectifs du travail expérimental**.

Expérimentalement, le comportement des stomates en conditions hydriques limitantes sera dans un premier temps abordé, en mettant l'accent sur le déterminisme hydraulique. Puis l'effet d'un stress hydrique imposé sur le long terme sur la photosynthèse sera étudié, ainsi que celui sur la relation entre la conductance stomatique et la photosynthèse. L'enjeu de modélisation restera le fil conducteur de ce travail

Les résultats acquis au sein de ce travail ont fait l'objet d'une publication acceptée et d'une seconde en préparation :

Damour G., Vandame M., Urban L. (2008) Long-term drought modifies the fundamental relationships between light exposure, leaf nitrogen content and photosynthetic capacity in leaves of lychee tree (*Lychee chinensis*). *Journal of Plant Physiology*. doi:10.1016/j.physletb.2003.10.071

Synthèse bibliographique

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

SECTION I :

FONCTIONNEMENT DES STOMATES ET PHOTOSYNTHESE

Les stomates sont le lieu des principaux échanges gazeux entre la plante et son environnement. Leur degré d'ouverture détermine les quantités de CO₂ et d'H₂O pouvant être échangées. Il est décrit par la conductance stomatique (g_s), notée $g_{s,w}$ lorsqu'elle s'applique à la vapeur d'eau, et notée $g_{s,c}$ lorsqu'elle s'applique au CO₂ (exprimées respectivement en mol H₂O m⁻² s⁻¹ et μmol CO₂ m⁻² s⁻¹). Du fait de la différence de diffusion de ces deux gaz, $g_{s,w} = 1.6 g_{s,c}$.

Dans la suite de cette synthèse, $g_{s,w}$ et $g_{s,c}$ ne seront différenciés que dans les équations. Dans le texte, sauf mention contraire, il sera toujours fait référence à g_s .

Nous avons vu en introduction que les stomates contrôlent les pertes en eau et l'assimilation de carbone et qu'en particulier, g_s et l'assimilation nette de CO₂ (A_{net}), étaient en interaction.

Lors d'un déficit hydrique du sol, la relation entre g_s et A_{net} se compose de trois volets :

- (i) un effet direct sur g_s qui entraîne sa diminution ;
- (ii) un effet direct sur A_{net} qui entraîne sa diminution ;
- (iii) un effet indirect sur A_{net} *via* la diminution d'apport en CO₂ résultant de la fermeture des stomates.

L'étude des variations du rapport g_s/A_{net} en réponse aux facteurs environnementaux peut alors se révéler utile, en complément de l'étude des effets sur g_s et A_{net} pris séparément.

Le plan de cette première section reprendra plus en détail ces trois effets. Nous étudierons donc tout d'abord la réponse des stomates aux facteurs environnementaux, plus spécialement à un déficit hydrique du sol (i). Ensuite, nous nous intéresserons à la réponse de la photosynthèse à un déficit hydrique du sol (ii et iii), avant de nous pencher sur l'effet de la sécheresse sur la relation entre ces deux variables (rapport g_s/A_{net}).

A- FONCTIONNEMENT DES STOMATES ET REPOSE AUX FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX

Les stomates, insérés dans l'épiderme des feuilles principalement, sont constitués de deux cellules, dites cellules de garde. Ces cellules sont non-jointives et ménagent une ouverture par laquelle les gaz peuvent circuler. La taille de cette ouverture est déterminée par les variations

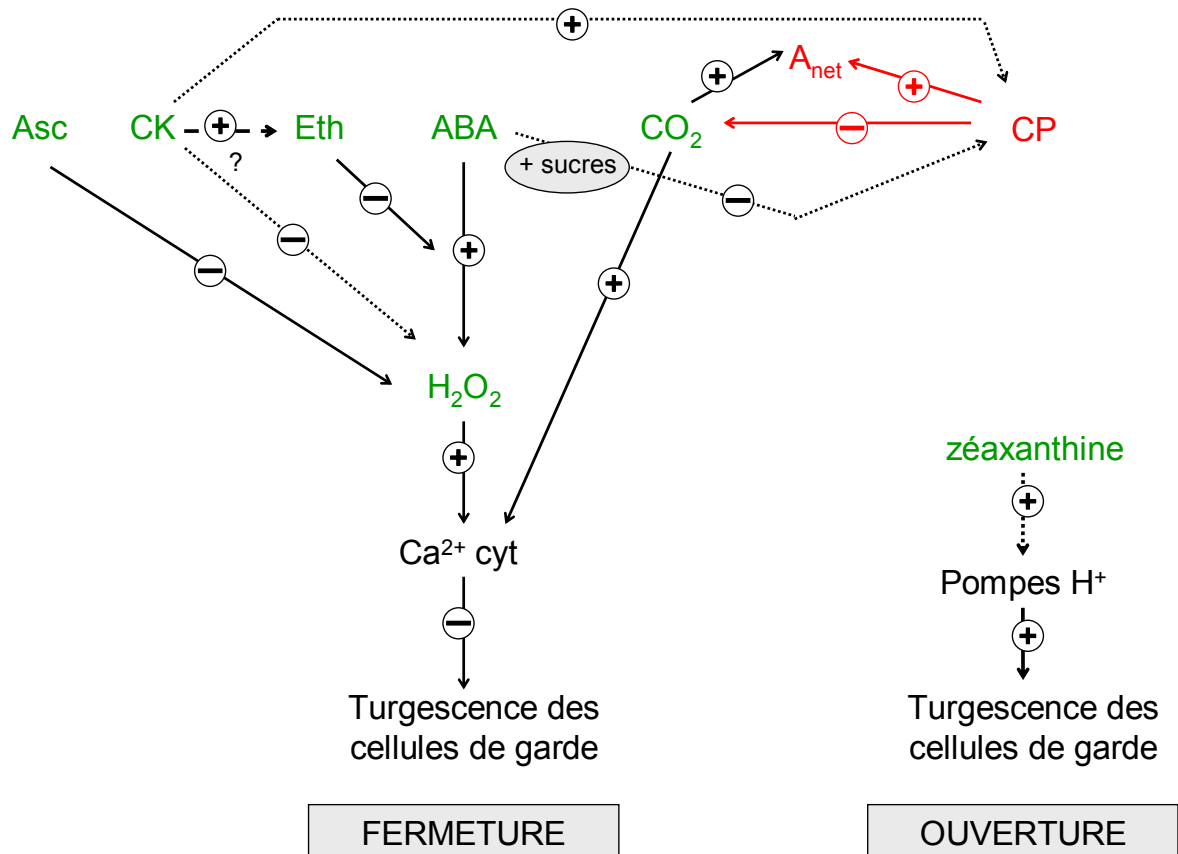


Figure 1 : Effet de quelques molécules impliquées dans les mouvements des stomates (fermeture et ouverture) et la régulation de la capacité photosynthétique (CP).

Les flèches indiquent qu'un élément influence sur l'autre : \oplus indique une relation positive, \ominus indique une relation négative. Certains mécanismes sont encore peu connus à l'heure actuelle, ils sont représentés en pointillés.

ABA : acide abscissique ; Asc : acide ascorbique ; Ca^{2+} cyt : concentration en Ca^{2+} dans le cytosol ; CK : cytokinines ; Eth : éthylène ; H_2O_2 : peroxyde d'hydrogène.

de turgescence des cellules de garde (et de l'épiderme, voir section II, B-5). Les mécanismes moléculaires à l'origine de l'ouverture et de la fermeture des stomates ne sont encore que partiellement connus.

Les mouvements des stomates sont déterminés par un certain nombre de facteurs environnementaux ou internes à la plante (transpiration, concentration en hormones, concentration intercellulaire en CO_2 C_i , conductance hydraulique du xylème). Ces facteurs internes seront appelés par la suite "facteurs physiologiques". Ils peuvent à leur tour varier en fonction des facteurs environnementaux.

Nous présenterons tout d'abord les mécanismes moléculaires à l'origine des mouvements des cellules de garde. Nous étudierons ensuite la réponse des stomates aux facteurs environnementaux, dont un déficit hydrique du sol. Nous examinerons alors leur réponse à certains facteurs physiologiques. Enfin, nous envisagerons les différentes stratégies qui ont été proposées afin d'expliquer la réponse des stomates à un déficit hydrique du sol.

A-1 Mécanismes moléculaires de la fermeture des stomates

Les cellules de garde répondent à la lumière par des modifications osmotiques. Les mécanismes à la base des mouvements des stomates en réponse à la lumière sont maintenant assez bien décrits. Cependant, un certain nombre de molécules peuvent les modifier. Leur rôle, ainsi que les mécanismes de réponse auxquelles ils participent, sont encore peu connus.

Tout d'abord, nous étudierons les mécanismes de base responsables des mouvements des stomates en réponse aux variations d'intensité lumineuse. Ensuite, nous nous intéresserons à l'effet de quelques molécules particulières : zéaxanthine, acide abscissique (ABA), peroxyde d'hydrogène, CO_2 , éthylène et acide ascorbique. Les effets de ces molécules sont schématisés à la figure 1.

Les concentrations de ces molécules peuvent être modifiées lorsque l'apport en eau est limitant. Ces modifications et leur lien avec les variations de g_s et A_{net} sont abordées au paragraphe C-3-2.

A-1-1 Ouverture et fermeture des stomates en réponse à la lumière

L'ouverture et la fermeture des stomates sont dépendantes de la turgescence des cellules de garde. Lorsque la pression de turgescence de ces cellules est forte, les stomates sont ouverts ; lorsqu'elle est faible, les stomates sont fermés. Ainsi, les mouvements des cellules de garde sont liés à des ajustements osmotiques.

Les stomates se ferment en réponse à la lumière, dans la gamme de longueurs d'ondes du visible (400 – 900 nm). Cependant, la réponse à la lumière bleue est plus importante que celle à la lumière rouge (Taiz et Zeiger, 2002). Cela suggère la coexistence d'au moins deux photorécepteurs.

En réponse à la lumière rouge, il a été montré que l'ouverture des stomates était due à (i) la synthèse de saccharose dans les cellules de garde, et (ii) à son importation depuis l'apoplaste (Vavasseur et Raghavendra, 2005). Cette réponse est inhibée par le DCMU - un inhibiteur du flux électronique - suggérant qu'elle est dépendante du transport d'électron dans les membranes des thylakoïdes et ainsi du taux de photosynthèse (Vavasseur et Raghavendra, 2005). Shimazaki *et al.* (2007) ont alors suggéré que l'ouverture des stomates en réponse à la

lumière rouge résultait en partie de la diminution de concentration en CO₂ dans le mésophylle (voir A-1-4), du à une photosynthèse accrue.

La réponse des stomates à la lumière bleue repose sur l'activation de pompes à proton membranaires qui expulsent des protons hors des cellules de garde (Schroeder *et al.*, 2001). Un gradient électrochimique s'installe entre l'apoplaste et le cytoplasme. Il permet aux ions K⁺ d'entrer dans le cytoplasme des cellules de garde grâce à des canaux spécifiques ("inward-rectifying channels"). De plus, dans les cellules de garde, de l'amidon est hydrolysé en sucres solubles et des ions malate sont synthétisés. Un transport couplé H⁺/Cl⁻ entrant se met également en place.

Tous ces mécanismes contribuent à diminuer le potentiel osmotique de la cellule de garde et ainsi à ouvrir les stomates.

Les principaux *osmotica* participant à l'ouverture des stomates sont donc les ions K⁺ et les sucres solubles (provenant de l'hydrolyse d'amidon, synthétisés dans les chloroplastes ou importés de l'apoplaste). De nombreux auteurs ont observé que les deux mécanismes coexistaient en conditions de croissance normale, mais à des moments différents de la journée (Taiz et Zeiger, 2002 ; Zeiger *et al.*, 2002 ; Roelfsema et Hedrich, 2005). En début de matinée, un influx de potassium dans le cytoplasme des cellules de garde est responsable de l'ouverture des stomates. En fin de matinée et début d'après-midi, une augmentation de concentration en sucres solubles dans le cytoplasme prend le relais et maintient la turgescence des cellules de garde. Ces résultats correspondent à une réponse à la lumière bleue en début de matinée puis à la lumière rouge en fin de matinée et dans l'après midi. Ceci est en accord avec l'évolution du spectre de la lumière incidente au cours de la journée.

En situations de croissance normale, les stomates se ferment dans la seconde partie de l'après midi. La baisse d'activation des pompes à proton membranaires entraîne une dépolarisation de la membrane qui activerait des canaux à K⁺ ("outward-rectifying channels") expulsant ces ions hors de la cellule (Vavasseur et Raghavendra, 2005). La diminution de concentration en sucres solubles participerait aussi à la baisse de turgescence des cellules de garde.

A-1-2 Rôle de la zéaxanthine

La zéaxanthine, pigment contenu dans les membranes des thylakoïdes, est produite grâce à la violaxanthine de-epoxidase, par conversion de violaxanthine en antheraxanthine puis en zéaxanthine. Son rôle en tant que **récepteur aux longueurs d'ondes bleues** dans les chloroplastes des cellules de garde a été suggéré (Zeiger *et al.*, 2002). La zéaxanthine permettrait alors l'activation d'une sérine/thréonine protéine kinase qui **rend actives les pompes à proton transmembranaires** par phosphorylation (Hamilton *et al.*, 2000 ; Taiz et Zeiger, 2002). Un gradient électrochimique peut alors s'installer, entraînant l'entrée d'ions dans les cellules de garde **et l'ouverture des stomates**.

Plus récemment, d'autres photorécepteurs à la lumière bleue, les phototropines *phot 1* et *phot 2*, ont été découverts (Shimazaki *et al.*, 2007). Le rôle de la zéaxanthine, sans être totalement remis en doute serait alors à préciser.

A-1-3 Rôle de l'ABA et du peroxyde d'hydrogène

L'acide abscissique (ABA) est une phytohormone qui provoque la fermeture des stomates, en particulier en conditions hydriques limitantes. De ce fait, elle est ainsi souvent qualifiée

d'antitranspirante. Son rôle dans la fermeture des stomates n'est plus à remettre en doute. Il a été montré que l'information sur le statut hydrique de la plante est portée par la concentration en ABA apoplastique (Zhang et Outlaw, 2001). Quelques études tendent maintenant à localiser les récepteurs à l'ABA sur la face externe du plasmalemme des cellules de garde.

Il est aussi largement admis que l'action de l'ABA passe principalement par une augmentation de la concentration en Ca^{2+} du cytoplasme, due à l'activation de canaux à Ca^{2+} non-sélectifs. Des ions Ca^{2+} seraient aussi relâchés par la vacuole des cellules de garde. Ce mécanisme a néanmoins été moins étudié.

C'est cette forte concentration en Ca^{2+} qui est à l'origine d'une **cascade d'activations et d'inhibitions** (voir figure 2 et Schroeder *et al.*, 2001) conduisant à la fermeture des stomates.

L'augmentation de la concentration cytoplasmique en Ca^{2+} entraîne l'inhibition des pompes à proton et des canaux à K^+ entrant, limitant ainsi l'apport en solutés osmotiquement actifs dans la cellule. En parallèle, deux types de canaux à anions sont activés et expulsent les anions (en particulier Cl^- et malate²⁻) hors de la cellule : des canaux S, avec une activité continue, et des canaux R, à activité rapide mais plus périodique. Cette sortie massive d'anions entraîne une dépolarisation de la membrane cellulaire qui contribue à l'activation de canaux pH-dépendant expulsant les K^+ hors de la cellule ("outward-rectifying channels"). L'augmentation de concentration en ABA se traduit aussi par un accroissement du pH du cytosol, qui est nécessaire à l'activation de ces canaux expulsant les K^+ (Schroeder *et al.*, 2001). Parallèlement, la dépolarisation de la membrane renforce l'inactivation des canaux à K^+ entrant. La pression de turgescence des cellules de garde diminue alors.

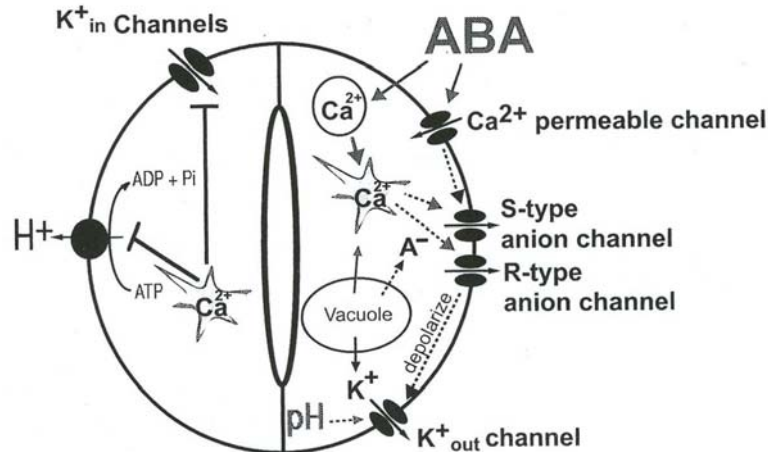


Figure 2 : Mécanismes d'action de l'acide abscissique (ABA) sur les cellules de garde (Schroeder *et al.*, 2001). La partie gauche représente les mécanismes concourant à limiter l'ouverture des stomates. La partie droite représente les mécanismes permettant leur fermeture. Voir texte, section I, A-1-3.

A^- : anions.

Cependant, les médiateurs chimiques qui entraînent l'activation des canaux à Ca^{2+} en réponse à l'ABA n'ont été mis en évidence que depuis peu.

Un large consensus s'est maintenant établi autour du rôle de **messager du peroxyde d'hydrogène** (H_2O_2) dans la transduction du signal véhiculé par l'ABA (Pei *et al.*, 2000). Les mécanismes conduisant à la synthèse d' H_2O_2 en réponse à l'ABA sont encore peu connus. Kwak *et al.* (2006) proposent néanmoins, à partir d'une vaste synthèse bibliographique, un schéma de réponse d' H_2O_2 à une élévation de concentration en ABA. L'ABA activerait une protéine kinase (OST 1 chez *Arabidopsis* et AAPK chez *Vicia*), entraînant l'activation d'une NADPH oxydase impliquée dans la synthèse d' H_2O_2 . Nombre d'auteurs s'accordent alors à dire que **H_2O_2 permettrait une augmentation de sensibilité des canaux Ca^{2+} au gradient de potentiel électrique de la membrane** (canaux voltage-dépendants), **en diminuant le potentiel-seuil d'activation** (Pei *et al.*, 2000). Les récepteurs sur lesquels se fixeraient H_2O_2 seraient les récepteurs à éthylène ETR1 (Desikan *et al.*, 2005).

Cependant, l'abaissement du potentiel-seuil d'activation des canaux Ca^{2+} est nécessaire mais pas suffisant. Deux autres facteurs contribuent à l'activation des canaux Ca^{2+} :

- (i) une **hyperpolarisation de la membrane** (Hamilton *et al.*, 2000),
- (ii) l'**hydrolyse d'ATP** (Kohler et Blatt, 2002).

La (de)-phosphorylation de protéines semble aussi avoir un rôle important, mais il n'est pas encore précisément établi (Kohler et Blatt, 2002). Il est aussi admis qu'une forte concentration en Ca^{2+} dans l'apoplaste proche des cellules de garde a tendance à favoriser l'entrée des ions Ca^{2+} , peut-être grâce à la présence de capteurs membranaires (Hamilton *et al.*, 2000 ; Roelfsema et Hedrich, 2005).

Il a aussi été rapporté que H_2O_2 inhibait les canaux à K^+ sortant (Kwak *et al.*, 2006) et freinerait ainsi la fermeture des stomates. Dans ce cas, H_2O_2 aurait un double effet, antagoniste, sur l'ouverture des stomates, en participant non seulement à l'inactivation des canaux K^+ entrant mais aussi à celle des canaux K^+ sortant

A-1-4 Rôle du CO_2

Une augmentation de la concentration en CO_2 dans les espaces intercellulaires conduit à la fermeture des stomates. La réponse des cellules de garde à une augmentation du CO_2 partage certains points communs avec la réponse à l'ABA. En particulier, l'augmentation du CO_2 entraîne une augmentation du Ca^{2+} du cytoplasme et vraisemblablement la cascade d'événements qui s'ensuit (Schroeder *et al.*, 2001 ; Vavasseur et Raghavendra, 2005). Cependant, au contraire de l'ABA, une augmentation en CO_2 n'entraîne pas une augmentation de pH du cytosol et l'activation des canaux pH-dépendants expulsant les K^+ hors de la cellule (Schroeder *et al.*, 2001 ; Vavasseur et Raghavendra, 2005).

Il semble de plus que les récepteurs et les voies de transduction en amont de l'augmentation de Ca^{2+} diffèrent entre les mécanismes de réponse à l'ABA et au CO_2 (Schroeder *et al.*, 2001).

Plusieurs mécanismes de signalisation ont été proposés : l'augmentation de CO_2 pourrait induire (i) une augmentation de la concentration en malate dans les parois des cellules, et/ou (ii) une diminution de la concentration en zéaxanthine dans les chloroplastes (Schroeder *et al.*, 2001).

Très peu d'études moléculaires sur la réponse des cellules de garde au CO_2 ont été entreprises, au contraire de celle à l'ABA (Vavasseur et Raghavendra, 2005). A ce jour, la réponse des cellules de garde au CO_2 ne peut donc pas être décrite plus en détail.

A-1-5 Rôle de l'ascorbate

Le rôle de l'ascorbate semble encore plus délicat à traiter. En effet, selon la situation, il peut favoriser ou limiter l'ouverture des stomates.

L'ascorbate favorise la conversion de violaxanthine en zéaxanthine (Kranter *et al.*, 2002) et participerait ainsi à l'activation des pompes à proton et à l'ouverture des stomates. Son rôle antioxydant lui confère la propriété d'éliminer les H₂O₂ surnuméraires, lui permettant de contribuer à limiter la fermeture des stomates (Chen et Gallie, 2004). En ce sens, on peut dire que le signal ABA/H₂O₂ dirigé vers les stomates est dépendant de l'état redox de l'acide ascorbique (Kwak *et al.*, 2006).

Cependant, certains auteurs montrent aussi que l'ascorbate est nécessaire aux mécanismes d'action de l'ABA impliqués dans la fermeture des stomates (Maggio *et al.*, 2002), sans que son rôle ne soit précisé.

A-1-6 Rôle de l'éthylène et des cytokinines

Nous avons vu que H₂O₂, impliqué dans la signalisation de l'ABA, se fixait sur les récepteurs à éthylène au niveau des cellules de garde. Ainsi l'éthylène a un **effet inhibiteur sur l'action de l'ABA** (Tanaka *et al.*, 2005).

Les cytokinines sont connues pour induire l'ouverture des stomates (Pospisilova *et al.*, 2000). Plusieurs mécanismes d'action ont été proposés. Pour certains auteurs, les cytokinines augmenteraient la synthèse d'éthylène, et inhiberaient ainsi l'action de l'ABA (Tanaka *et al.*, 2006). Pour d'autres, l'ouverture des stomates due aux cytokinines serait associée à une diminution de concentration en H₂O₂. Les cytokinines pourraient alors avoir un rôle de piégeage d'H₂O₂ (Song *et al.*, 2006).

- **L'ouverture et la fermeture des stomates résultent de mouvements osmotiques.**
- **En réponse à la lumière, K⁺ et les sucres solubles sont les principaux *osmotica* responsables de l'augmentation de turgescence des cellules de garde et de l'ouverture des stomates.**
- **L'action de l'ABA repose sur une augmentation de la concentration du cytosol en Ca²⁺. Cette augmentation de concentration entraîne une cascade d'activations et d'inactivations, qui repose principalement sur l'inhibition des pompes à proton sortant et des canaux à K⁺ entrant.**
- **H₂O₂ aurait un rôle clé de second messenger dans la réponse à l'ABA.**
- **La réponse des cellules de garde au CO₂ passe, tout comme celle à l'ABA, par une augmentation de la concentration du cytosol en Ca²⁺.**
- **L'ascorbate a un double rôle : il piège l'H₂O₂ et limite ainsi la fermeture des stomates, mais il serait également nécessaire à l'action de l'ABA.**
- **L'éthylène a un effet inhibiteur sur l'action de l'ABA.**
- **Les cytokinines induisent l'ouverture des stomates, *via* la synthèse d'éthylène ou le piégeage d'H₂O₂.**

Tableau 1 : Délai de mise en place des stress relatifs aux principaux facteurs environnementaux, pour des plantes au champ ou en pot. CT : court terme, LT : long terme

	Lumière	Température	Stress hydrique	
			Humidité de l'air	Etat hydrique du sol
au champ	CT (min)	CT (min)	CT (min)	LT (plusieurs mois)
en pot (théorique)	CT (min)	CT (min)	CT (min)	CT (jour)

A-2 La réponse des stomates aux facteurs environnementaux

A-2-1 Différence de vitesse de mise en place des stress environnementaux

La plupart des facteurs climatiques (intensité lumineuse, température et humidité de l'air) change très rapidement, à un pas de temps de l'ordre de la minute. Ces changements sont aussitôt perçus par les stomates (voir tableau 1). Au contraire, un déficit hydrique du sol est plus lent à se mettre en place. Les stomates y répondent donc sur un pas de temps plus long. Compte tenu de cette différence de délais de réponse, nous étudierons séparément les effets des variations des facteurs climatiques et ceux d'un déficit hydrique du sol.

Par ailleurs, le stress hydrique provenant du sol doit être distingué du stress hydrique atmosphérique (Saliendra *et al.*, 1995). Comme nous venons de le voir, la vitesse de mise en place de ces deux types de stress hydrique est différente. Les mécanismes de réponse des stomates diffèrent eux aussi. Nous choisirons de désigner par "stress hydrique", le stress provoqué par un déficit hydrique du sol.

Parmi les stress hydriques, il convient aussi de séparer :

- un stress hydrique imposé sur le court terme, de l'ordre de la semaine, qui peut apparaître dans le cas de plantes en pot ;
- un stress hydrique imposé sur le long terme, sur plusieurs mois, qui correspond à des situations réelles en champs (voir tableau 1).

La majorité des études réalisées par le passé s'intéressent à l'effet d'un stress sur le court terme (Pankovic *et al.*, 1999).

A-2-2 Réponse des stomates aux facteurs environnementaux

L'intensité lumineuse (Q) est le facteur prépondérant du contrôle des stomates. Une augmentation de Q stimule, jusqu'à un palier, l'ouverture des stomates. La courbe de réponse de g_s à Q est ainsi asymptotique.

De même, les stomates s'ouvrent en réponse à une augmentation de l'humidité de l'air. L'effet de variations d'humidité de l'air sur g_s a été très largement étudié, principalement parce qu'il répond de façon intuitive à la première fonction des stomates : minimiser les pertes d'eau. De nombreux auteurs ont décrit la réponse apparente des stomates au déficit de saturation en vapeur d'eau de l'air (V_{pd}). Dans les gammes classiques de V_{pd} (c'est-à-dire hors valeurs extrêmes), g_s décroît de façon exponentielle lorsque V_{pd} augmente (Monteith, 1995). On l'approxime couramment par une réponse linéaire (Aphalo et Jarvis, 1991 ; Monteith, 1995).

Au contraire, les stomates se ferment en réponse à une augmentation de la concentration en CO_2 de l'air (C_a). Un faible taux de CO_2 stimule l'ouverture des stomates.

Des comportements différents des stomates en réponse à la température à la surface de la feuille (T_f) ont été observées (Jones, 1992b). Pour certains auteurs, la relation entre g_s et T_f est croissante, tandis que pour d'autres, elle est hyperbolique avec un optimum dépendant de l'espèce étudiée (Jarvis, 1976).

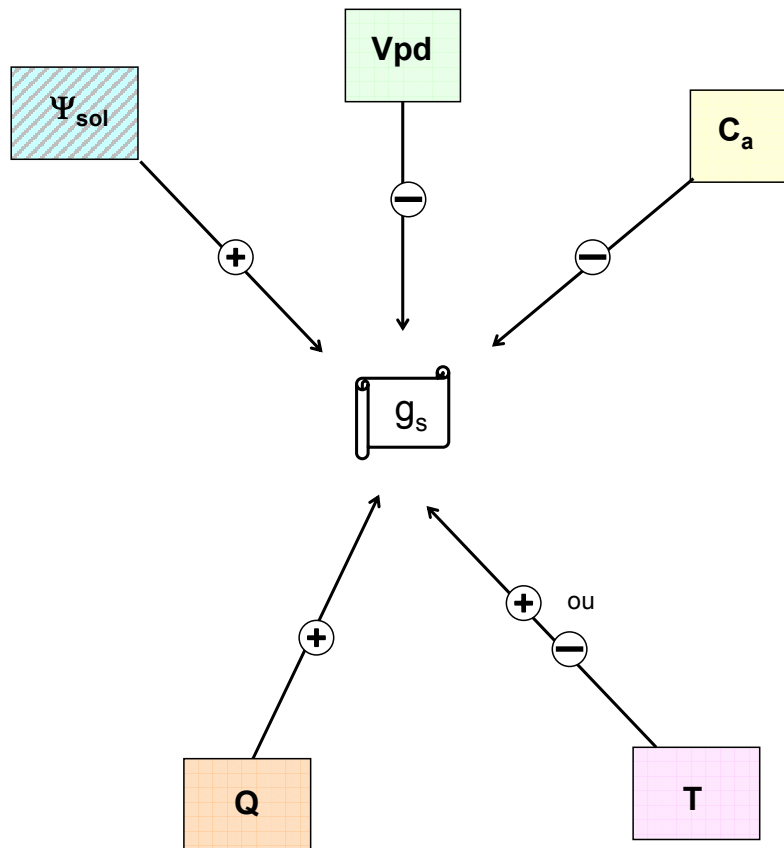


Figure 3 : Principaux facteurs environnementaux modifiant la conductance stomatique (g_s). Les flèches indiquent qu'un élément influe sur l'autre : \oplus indique une relation positive, \ominus indique une relation négative.

Les figures 4 et 12 complètent ce schéma.

C_a : concentration en CO_2 de l'air ; Q : intensité lumineuse ; T : température ; Vpd : déficit de saturation en vapeur d'eau de l'air ; Ψ_{sol} : potentiel hydrique du sol.

L'état hydrique du sol a un effet important sur les stomates et provoque leur fermeture lorsque la disponibilité en eau diminue.

La figure 3 représente les relations entre l'ouverture des stomates et ces facteurs environnementaux. Elle sera complétée au cours de cette synthèse bibliographique.

La réponse des stomates aux facteurs environnementaux est souvent une réponse indirecte *via* d'autres facteurs physiologiques (C_i , transpiration, potentiel hydrique, etc...). En particulier, la réponse des stomates à l'humidité de l'air est liée à la transpiration. Par analogie à la loi de Fick, on peut écrire une relation entre la conductance stomatique à la vapeur d'eau, la transpiration (E) et les pressions partielles en vapeur d'eau instantanée et à saturation à la température T (p_w et $p_{ws(T)}$ respectivement) :

$$E = g_{s,w} (p_{ws(T)} - p_w) \quad \text{éq. 1}$$

Par définition :

$$Vpd = p_{ws(T)} - p_w \quad \text{éq. 2}$$

En combinant les équations 1 et 2, on obtient l'équation couramment utilisée :

$$E = g_{s,w} \cdot Vpd \quad \text{éq. 3}$$

Ainsi, E, g_s et Vpd sont en interaction étroite. Empiriquement, on observe un certain nombre de corrélations :

- d'une part, entre Vpd et E : Vpd correspond à la demande évaporative et est ainsi le moteur de E ;
 - d'autre part, entre Vpd et g_s ;
 - enfin, entre g_s et E : les stomates répondent à la transpiration et, en retour, modulent ce flux.
- Par ailleurs, le flux transpiratoire est directement lié au gradient de potentiel hydrique et à la conductance hydraulique du xylème.

La réponse des stomates à certains de ces facteurs physiologiques sera étudiée au paragraphe A-3.

A-2-3 Caractéristique de la réponse des stomates : une fermeture hétérogène

Depuis les travaux de Terashima (en particulier Terashima, 1992), il est acquis que tous les stomates d'une feuille ne s'ouvrent et ne se ferment pas en même temps, ni avec la même intensité. La feuille est alors considérée comme un ensemble de groupements de stomates, ces groupements, ou "patches", étant en général délimités par les veines foliaires. Le comportement des stomates au niveau d'un même "patch" est uniforme, mais différent du "patch" voisin (Terashima, 1992 ; Mott et Buckley, 2000). Cette distribution en "patches" peut varier très rapidement, tout au moins chez certaines espèces (Mott, 1995). Cette hétérogénéité de fermeture des stomates peut résulter de l'effet de différents *stimuli* (y compris lumineux) et n'est pas liée à une différence de sensibilité à l'acide abscissique (ABA) entre "patches" (Mott et Buckley, 2000).

L'hétérogénéité de fermeture des stomates peut entraîner une hétérogénéité d'assimilation de CO_2 au sein de la feuille. L'hétérogénéité d'apport en CO_2 pourrait être compensée par les transferts latéraux de CO_2 . Cependant, Morison *et al.* (2005) ont montré que la diffusion

latérale au sein d'une feuille était faible et n'était plus efficace au-delà de 0.3 mm. Chez les espèces hétérobariques, des gaines périfasciculaires renforcées délimitent des compartiments au sein de la feuille et empêchent les transferts diffusifs latéraux. Dans ce cas il ne peut plus y avoir transfert compensatoire des compartiments où l'apport en CO₂ est fort vers ceux où l'apport est faible. Des hétérogénéités d'assimilation de CO₂ sont ainsi fréquemment observées chez les espèces présentant un degré d'hétérobaricité élevé (Terashima, 1992 ; Lawson et Morison, 2006). En conditions de stress hydrique, il est couramment admis que l'hétérogénéité d'assimilation de CO₂ est due à l'hétérogénéité d'ouverture des stomates (Meyer et Genty, 1999).

L'hétérogénéité d'ouverture des stomates a pour conséquence une réduction apparente de A_{net} pour une valeur donnée de C_i (Buckley *et al.*, 1997), ou une surestimation de C_i (Terashima, 1992 ; Grassi et Magnani, 2005). Les conséquences de ce biais et les manières de s'en affranchir seront présentées au paragraphe B-1-2.

Cependant, Buckley *et al.* (1997) ont montré, dans une étude théorique, que l'importance du biais introduit dépendait de la distribution et du degré d'ouverture des stomates. En effet, en modélisant de nombreuses distributions d'ouverture, les auteurs ont montré que beaucoup n'avaient aucun effet sur la mesure de A_{net} pour un C_i donné, tandis que d'autres avaient un effet très fort. C'est le cas : (i) des distributions bimodales, (ii) des distributions asymétriques avec une pente plus forte dans les fortes conductances, (iii) des distributions restreintes à de faibles gammes d'ouverture, et (iv) des distributions explorant une large gamme d'ouverture.

Lors d'un stress hydrique imposé progressivement, il semblerait que l'hétérogénéité d'ouverture des stomates soit négligeable (Gimenez *et al.*, 1992 ; Gunasekera et Berkowitz, 1992a). De nombreux auteurs font ainsi l'hypothèse qu'elle est inexistante dans leur dispositif expérimental (Gunasekera et Berkowitz, 1992b ; Martin et Ruiz-Torres, 1992 ; Escalona *et al.*, 1999 ; Grassi et Magnani, 2005).

De manière générale, un certain nombre de preuves expérimentales montre que l'importance de l'hétérogénéité d'ouverture des stomates est moins forte que ce que l'on a longtemps cru (Lawlor et Cornic, 2002).

- **Le terme "stress hydrique" correspond au stress provoqué par un déficit hydrique du sol.**
- **Les stomates répondent à Q, T_f, V_{pd}, C_a et à l'état hydrique du sol.**
- **L'ouverture des stomates peut être hétérogène au sein d'une feuille, mais ce phénomène est négligeable lorsque la mise en place du stress hydrique est lente.**

A-3 La réponse des stomates au stress hydrique passe par une réponse à des facteurs physiologiques

La réponse des stomates aux facteurs environnementaux est souvent indirecte et passe par une réponse à des facteurs physiologiques. En particulier, le stress hydrique influence C_i , E , le potentiel hydrique foliaire (Ψ_{fol}), la conductivité hydraulique du xylème et la concentration en ABA de la sève. La réponse des stomates à ces facteurs est présentée ci-dessous et schématisée à la figure 4.

A-3-1 Concentration intercellulaire en CO_2

Wong *et al.* (1978) sont parmi les premiers à s'être intéressés à l'effet de C_i sur l'ouverture des stomates. En se basant sur des données recueillies sur *Eucalyptus pauciflora*, ils ont étudié l'importance relative des réponses de g_s aux variations de C_i et de Q dans la gamme 250 - 2000 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. L'hypothèse de base est que g_s et A_{net} sont uniquement fonction de C_i et de Q . En retour, les variations de g_s et A_{net} tendraient à maintenir C_i constant. Les auteurs ont montré que les stomates répondaient effectivement à C_i . En revanche, en considérant que Q n'intervient pas dans la réponse, les variations de C_i ne sont réduites que de 17 % lorsque C_a ou A_{net} varient. Une réponse des stomates à Q et C_i est par contre suffisante pour contrebalancer les variations de A_{net} et ainsi maintenir C_i constant. Dans cette gamme d'intensité lumineuse, la réponse des stomates à Q l'emporte sur la réponse à C_i .

Par la suite, d'autres résultats expérimentaux ont confirmé que les stomates répondaient à C_i (Mott, 1988).

Le CO_2 étant consommé pour la photosynthèse, la réponse des stomates à C_i est fortement liée à la photosynthèse. Nous verrons comment, en conditions de stress hydrique, A_{net} et C_i varient (paragraphe C-2-3). De plus, récemment, certains auteurs ont considéré que le CO_2 pouvait directement être un messager véhiculant le signal de fermeture des stomates (voir paragraphe A-1-4).

A-3-2 Contrôle hydrique des stomates : transpiration et potentiel hydrique

Les stomates ayant pour fonction de contrôler la transpiration, les physiologistes ont cherché à établir un lien direct entre g_s et E .

Mott et Parkhurst (1991) ont démontré que les stomates ne répondaient pas directement à l'humidité de l'air, mais au **flux transpiratoire**. La difficulté d'une telle étude est que la demande évaporative (liée à la pression de vapeur d'eau à la surface des feuilles) et l'humidité de l'air sont toutes deux dépendantes de la température. Ces deux facteurs ont été découplés en utilisant un mélange hélium:oxygène (helox), mélange dans lequel la diffusion de la vapeur d'eau est supérieure à ce qu'elle est dans l'air. Les auteurs ont ainsi pu faire varier la pression de vapeur d'eau à la surface de la feuille indépendamment de la température, et ainsi découpler humidité de l'air et transpiration.

Cependant, la transpiration et le statut hydrique de la feuille sont fortement liés. L'hypothèse a alors été émise que les stomates répondaient à un **changement d'état hydrique de la**

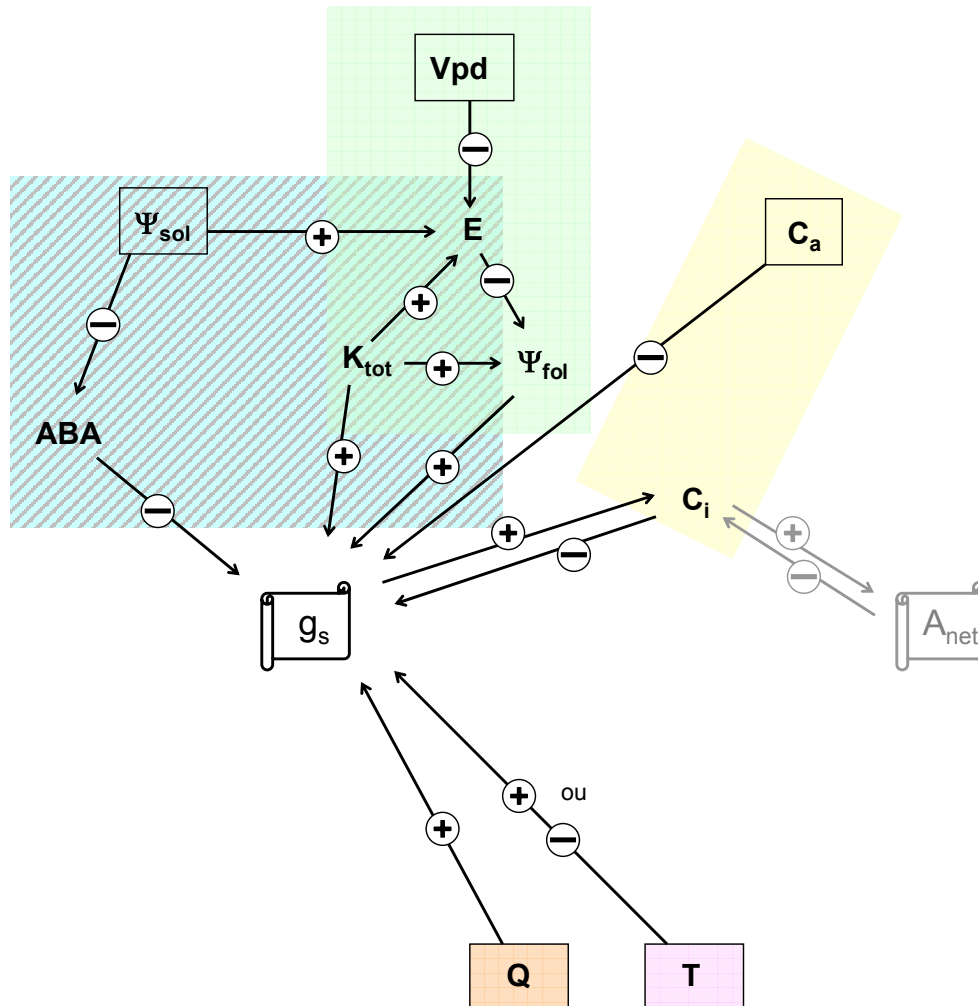


Figure 4 : Relation entre la conductance stomatique (g_s) et les principaux facteurs physiologiques qui la modifie. La plupart de ces facteurs sont fortement dépendantes des facteurs environnementaux (ici encadrés) présentés au paragraphe A-2-2, section I et à la figure 3.

Les flèches indiquent qu'un élément influence sur l'autre : \oplus indique une relation positive, \ominus indique une relation négative.

ABA : acide abscissique ; A_{net} : assimilation nette de CO_2 ; C_a : concentration en CO_2 de l'air ; C_i : concentration intercellulaire en CO_2 ; E : transpiration ; K_{tot} : conductance hydraulique du xylème totale sur le trajet sol-feuille ; Q : intensité lumineuse ; T : température ; V_{pd} : déficit de saturation en vapeur d'eau de l'air ; Ψ_{fol} : potentiel hydrique foliaire ; Ψ_{sol} : potentiel hydrique du sol.

feuille, en conséquence de variations du flux transpiratoire. Historiquement, une réponse des stomates à la teneur en eau relative a été envisagée en premier. De nombreuses études ont ensuite lié g_s à Ψ_{fol} . Plus récemment, Comstock et Menuccini (1998) ont utilisé des expériences de pressurisation du sol pour démontrer que les stomates répondaient à l'humidité de l'air *via* Ψ_{fol} , sans qu'aucun signal racinaire (ABA, en particulier) ne soit émis. Nous approfondirons au paragraphe A-4 la relation entre g_s et Ψ_{fol} en terme de stratégie des plantes face à un stress hydrique.

Plus précisément, les stomates s'ouvrant et se fermant selon les variations de pression de turgescence des cellules de garde, il a été intuitivement suggéré que ce soit le **statut hydrique des cellules de garde** qui soit la cause des mouvements des stomates. Mécaniquement, l'eau perdue par les stomates est principalement évaporée par les cellules de garde ou la face mésophyllienne des cellules épidermiques. En supposant que la résistance au passage de l'eau du xylème aux cellules de l'épiderme soit grande, le statut hydrique de ces dernières ne peut pas être rapidement rétabli. Les potentiels hydriques du xylème et des cellules du mésophylle sont alors indépendants à très court terme du potentiel hydrique des cellules de l'épiderme. L'évaporation dans la chambre sous-stomatique diminue ainsi le potentiel hydrique des cellules de l'épiderme et des cellules de garde. Leur turgescence et l'ouverture des stomates sont modifiées. Les stomates répondraient donc à ces variations à très court terme de potentiel hydrique des cellules de garde et de cellules de l'épiderme proches (Mott et Parkhurst, 1991).

Il convient de souligner qu'en toute rigueur les stomates doivent répondre à la transpiration foliaire totale, incluant les transpirations stomatique et cuticulaire. Cependant, les valeurs de transpiration cuticulaire sont, pour la plupart des espèces, très faibles et négligeables dans les conditions rencontrées en champs. Néanmoins, lors d'un stress hydrique très poussé, la transpiration cuticulaire peut devenir prépondérante.

L'étude du déterminisme de l'ouverture des stomates se complexifie lorsqu'on considère que la transpiration et Ψ_{fol} sont étroitement liés à la conductance hydraulique du xylème. Celle-ci peut fortement varier lors d'un déficit hydrique du sol. Les effets de ces variations sont exposés au paragraphe suivant.

A-3-3 Contrôle hydraulique des stomates

A-3-3-1 Embolie et vulnérabilité à la cavitation

De très fortes tensions dans le xylème peuvent conduire à la formation de bulles d'air (**embolie gazeuse**) qui bloquent la circulation de sève dans les vaisseaux. C'est le phénomène de **cavitation**. Des observations microscopiques ont permis de confirmer la présence de ces bulles d'air (Sperry, 1986).

La cavitation correspond plus précisément au changement d'état de l'air dissous sous l'effet d'une valeur basse de potentiel hydrique.

Deux mécanismes de formation ont été proposés (Tyree et Zimmermann, 2002) :

- une nucléation homogène, au sein même de la phase liquide, qui correspond à la vaporisation soudaine de la colonne d'eau du xylème sous tension. C'est le mécanisme le plus étudié dans les sciences physiques ;
- une nucléation hétérogène, qui correspond à la formation d'une bulle d'air à l'interface entre

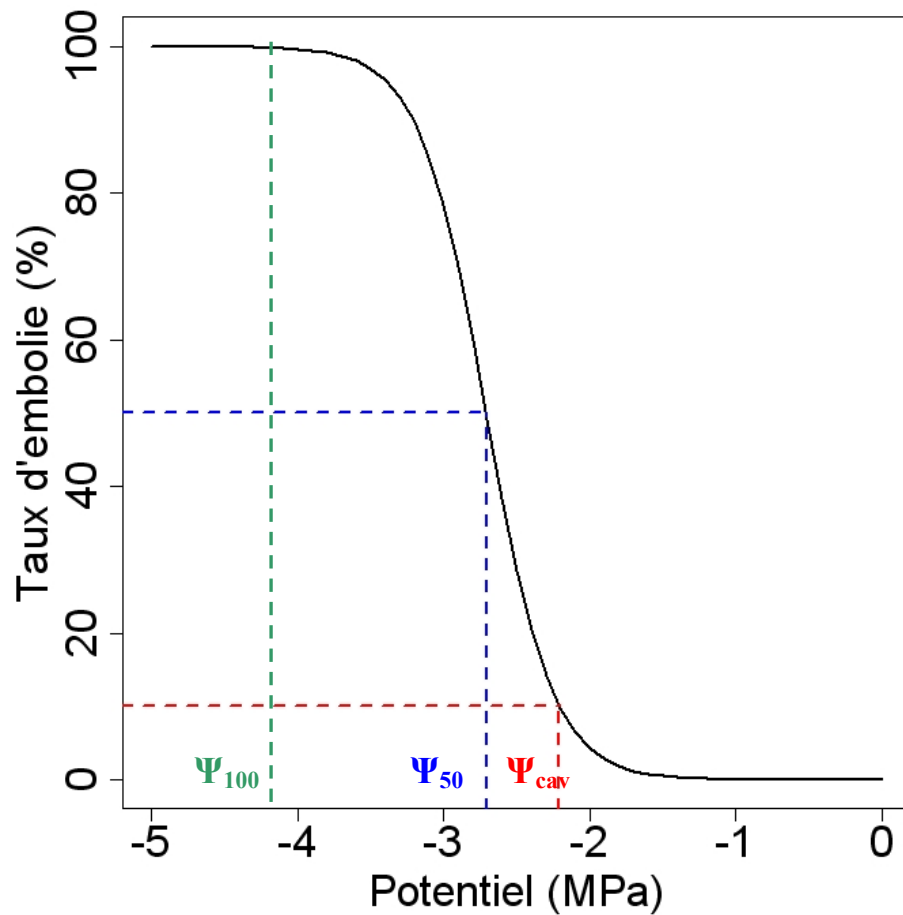


Figure 5 : Courbe de vulnérabilité type qui décrit l'évolution du taux d'embolie en fonction du potentiel hydrique. Le potentiel de cavitation (Ψ_{cav}) et les potentiels pour lesquels on observe 50 et 100 % d'embolie (respectivement Ψ_{50} et Ψ_{100}) caractérisent l'allure de la courbe. Ψ_{cav} est généralement estimé par le potentiel hydrique pour lequel on observe 10 % d'embolie.

la phase liquide et une autre phase (gazeuse ou solide). On distingue également deux types principaux de nucléation hétérogène : (i) la nucléation par la présence de microscopiques bulles d'air dans des fissures hydrophobes de la paroi des conduits, et (ii) la nucléation par l'entrée d'une bulle d'air à travers un pore de la paroi primaire des ponctuations - hypothèse du "germe d'air" (Tyree et Zimmermann, 2002). Dans ce dernier mécanisme, la bulle d'air est créée après rupture d'un ménisque air-eau au niveau d'un pore des ponctuations. L'hypothèse du "germe d'air" a été confirmée par de nombreux résultats expérimentaux (Sperry et Tyree, 1988), puis validée par une intéressante expérience de pressurisation (Cochard, 1992a).

La quantité de bulles d'air présente dans les vaisseaux d'un organe est estimée par son **taux d'embolie**. Trois méthodes permettent de le quantifier :

- (i) la méthode hydraulique qui consiste à mesurer la conductance hydraulique d'un segment de xylème et de la comparer à sa conductance après complète resaturation ;
- (ii) la méthode acoustique qui repose sur le comptage des émissions ultrasoniques d'un segment de végétal ;
- (iii) la méthode cryogénique pour laquelle des échantillons sont rapidement figés dans l'azote liquide, puis observés au microscope.

La **vulnérabilité** d'un vaisseau correspond à sa faculté à caviter. Il a été montré qu'elle n'était pas corrélée au diamètre du vaisseau (Tyree et Sperry, 1989), mais que c'était la taille des pores des ponctuations qui la déterminait (Tyree et Zimmermann, 2002).

En représentant l'évolution du taux d'embolie en fonction du potentiel hydrique du xylème (Ψ_{xyl}), il est possible de déterminer la sensibilité des vaisseaux à la cavitation. La courbe tracée est alors appelée **courbe de vulnérabilité**. Elle est généralement d'allure logistique et a trois paramètres clés (figure 5) :

- Ψ_{cav} , le potentiel de cavitation, à partir duquel l'embolie se développe très rapidement (fréquemment considéré comme étant le potentiel hydrique pour lequel on observe 10 % d'embolie) ;
- Ψ_{50} , le potentiel hydrique pour lequel on observe 50 % d'embolie ;
- Ψ_{100} , le potentiel hydrique pour lequel on observe 100 % d'embolie, tout le tissu conducteur est alors embolisé.

Une forte demande évaporative ou un déficit hydrique du sol entraînent une diminution de Ψ_{xyl} et augmentent les risques de cavitation. La fermeture des stomates, en limitant la transpiration, maintient Ψ_{xyl} plus élevé et réduit ainsi les risques de cavitation. Ainsi, l'hypothèse selon laquelle la fermeture des stomates permettrait d'éviter ou de limiter l'étendue de l'embolie a été émise (Tyree et Sperry, 1989). Cette hypothèse a été développée par la suite pour conduire à la notion de transpiration critique, qui correspond à la transpiration maximale, permettant, pour un potentiel hydrique donné, de préserver la continuité hydraulique entre le sol et les feuilles (Sperry *et al.*, 2002).

A-3-3-2 Architecture hydraulique de la feuille : potentiels hydriques foliaire et xylémien

Nous avons vu au paragraphe A-2-2 que les stomates répondaient aux variations du potentiel hydrique foliaire ou à celui des cellules de garde. Par ailleurs, la cavitation des vaisseaux est déterminée par le potentiel hydrique du xylème.

Il convient donc de clarifier la différence entre ces deux potentiels.

Ψ_{fol} correspond au potentiel hydrique global de la feuille, incluant les cellules du mésophylle. Ψ_{xyl} correspond uniquement au potentiel hydrique du compartiment vasculaire, mesuré au niveau du pétiole.

La différence entre ces deux potentiels repose ainsi sur le trajet emprunté par l'eau au sein de la feuille. En quittant le pétiole, l'eau circule dans les veines majeures, puis dans leurs différentes ramifications, jusqu'aux très nombreuses veines mineures.

Le passage de l'eau du xylème dans le mésophylle, *via* les cellules de la gaine périfasciculaire, puis du mésophylle, peut alors s'opérer par trois voies distinctes : (i) apoplastique, par les parois cellulaires, (ii) transcellulaire, en traversant les membranes par des aquaporines, (iii) symplastique, au travers de plasmodesmes.

L'importance de chacune de ces voies n'est pas encore établie (Sack et Holbrook, 2006).

C'est la résistance au trajet de l'eau dans la feuille, et son inverse la conductance, qui détermine la différence entre Ψ_{xyl} et Ψ_{fol} . La relation entre Ψ_{xyl} et Ψ_{fol} peut alors s'exprimer par analogie à la loi de Fick :

$$E = K_{\text{fol}} (\Psi_{\text{xyl}} - \Psi_{\text{fol}}) \quad \text{éq. 4}$$

où K_{fol} est la conductance hydraulique de la feuille.

K_{fol} est très variable entre espèces, en particulier entre espèces de milieux agroécologiques différents (Sack et Holbrook, 2006). Pour les arbres tropicaux, K_{fol} est en moyenne égal à $13 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} (\text{s MPa})^{-1}$. Des variations de K_{fol} en fonction de la température, de la lumière, ou résultant d'un stress hydrique ont également été mises en évidence.

A l'échelle de l'arbre entier, la résistance foliaire est d'une importance majeure et représente en moyenne 30 % de la résistance totale.

Plusieurs études ont cherché à déterminer au sein de la feuille les zones de plus forte résistance (et ainsi de plus faible conductance). Certains résultats ont montré que le trajet du pétiole aux veines mineures opposait le plus de résistance au trajet de l'eau, jusqu'à 80 % de la résistance foliaire totale (Zwieniecki *et al.*, 2002). Cependant, de nombreux autres ont montré que c'était le trajet dans les compartiments extra vasculaires qui opposaient les plus fortes résistances (en particulier Cochard *et al.*, 2004).

Ces derniers résultats suggèrent ainsi un rôle important des aquaporines dans les variations de conductance foliaire observées. La mise en évidence chez les plantes de ces protéines membranaires est assez récente. Les variations d'expression des gènes qui les codent, en réponse aux facteurs environnementaux dont le stress hydrique, sont encore peu connues (Johansson *et al.*, 2000). Il n'en sera plus question dans la suite de ce document. Il est à noter néanmoins que les aquaporines joueraient un rôle clé dans de nombreux processus physiologiques, comme la diffusion du CO_2 dans le mésophylle, et pourraient même être impliquées dans les mouvements des stomates (Tyerman *et al.*, 1999).

Quoiqu'il en soit, la plupart des études menées sur le contrôle hydraulique des stomates se sont attachées à la conductance hydraulique totale du trajet sol-feuille, sans différencier K_{fol} et la conductance du trajet dans le xylème non-foliaire.

Par la suite, la conductance hydraulique de la feuille sera dénommée K_{fol} . La conductance (ou la conductivité, voir annexe 2) du trajet de l'eau du sol aux feuilles sera appelée K_{tot} (ou $K_{\text{té, tot}}$). Si aucune indication particulière n'est donnée, il s'agira de la conductance hydraulique du xylème de façon générale, notée K .

A-3-3-3 Conductivité hydraulique du xylème, embolie et conductance stomatique

De nombreuses études concourent à montrer que la diminution de g_s coïncide avec une diminution des potentiels hydriques, une diminution de $K_{t\acute{e}, tot}$ et l'apparition d'embolie.

Meinzer et Grantz (1990) ont observé une très bonne corrélation positive entre g_s et K_{tot} rapportée à la surface foliaire (conductance spécifique de feuilles). Les auteurs montrent que cette corrélation est indépendante de l'âge de la plante ou de la feuille, des conditions de croissance ou de la saison. Ce résultat est confirmé à l'échelle de l'arbre (Nardini et Salleo, 2000) tout comme à l'échelle de la feuille (Nardini *et al.*, 2005).

D'un point de vue théorique, la relation entre g_s et K_{tot} peut être linéaire ou curvilinéaire selon le degré de contrôle de Ψ_{fol} par les stomates, c'est-à-dire selon que la plante adopte un comportement isohydrique ou anisohydrique (voir figure 1 chez Hubbard *et al.*, 2001). Ces différences de comportement seront vues au paragraphe A-4.

D'autres résultats lient fortement g_s et l'augmentation du taux d'embolie, et ce, pour des espèces de milieux agroécologiques variés : *Rhapis excelsa* (Sperry, 1986), *Quercus petraea* (Cochard *et al.*, 1996a), *Populus sp.* (Cochard *et al.*, 1996b), *Fagus sylvatica* (Lemoine *et al.*, 2002), onze espèces ligneuses (Salleo *et al.*, 2000), et même pour des espèces herbacées comme *Zea Mays* (Cochard, 2002b). Chez *Hevea brasiliensis*, Sangsing *et al.* (2004) ont établi une relation quasi linéaire entre le potentiel hydrique provoquant une perte de 10 % de conductivité hydraulique et celui entraînant une diminution de l'ouverture stomatique de 10 %. Même pour des sécheresses prolongées, **l'étendue de l'embolie semble limitée par la fermeture des stomates.**

Cette hypothèse est illustrée par les travaux de Cochard *et al.* (1996b) réalisés sur un clone de *Populus* insensible à l'ABA et de ce fait incapable de réguler ses stomates (voir A-3-4). Les pétioles des feuilles immatures, qui ont gardé la capacité de réguler les stomates, ont un taux d'embolie faible. Au contraire, les pétioles des feuilles matures, incapables de réguler leurs stomates, ont un taux d'embolie très fort.

Les stomates **répondraient ainsi à un potentiel hydrique critique**, induisant la cavitation, et non au potentiel hydrique en tant que tel (Saliendra *et al.*, 1995 ; Salleo *et al.*, 2000).

A l'échelle interspécifique, les relations entre le potentiel hydrique, le taux d'embolie et la conductance stomatique se retrouvent. En effet, dans une étude basée sur 14 espèces tempérées vivant dans un même milieu écologique, Maherali *et al.* (2006) montrent que Ψ_{50} est fortement et positivement corrélé à g_s .

A-3-3-4 Existence de signaux hydrauliques

Certains auteurs ont émis l'hypothèse qu'un signal hydraulique précoce permettrait de réguler l'ouverture des stomates en réponse à une augmentation du rapport entre la demande évaporative et la disponibilité en eau du sol (Saliendra *et al.*, 1995 ; Cochard *et al.*, 1996a ; Nardini et Salleo, 2000 ; Salleo *et al.*, 2000 ; Christmann *et al.*, 2007). Saliendra *et al.* (1995) montrent que les stomates répondent sur le très court terme, de l'ordre de la minute, aux variations de K_{tot} spécifique de feuille.

Une diminution de K pourrait entraîner des variations très localisées de potentiel hydrique au sein de la feuille (Saliendra *et al.*, 1995). En particulier, la cavitation de veines foliaires (Salleo *et al.*, 2000) pourrait être un signal de fermeture des stomates. Cependant, l'idée que

la cavitation puisse être un signal de fermeture des stomates reste encore hypothétique, puisqu'elle implique que l'embolie puisse se résorber. Or, à l'heure actuelle, aucun résultat expérimental ne vient étayer cette hypothèse.

Cochard *et al.* (2002) ont montré que les stomates répondaient de la même façon aux variations de pression hydrostatique du xylème des pétioles, quelle que soit la cause de cette variation : modifications du potentiel hydrique ou de la résistance du sol, de la résistance des racines ou de celle du tronc. Ce résultat confirme l'hypothèse précédente selon laquelle **la réponse des stomates est une réponse locale à la variation de paramètres hydrauliques dans la feuille**, avec pour lieu de perception les cellules foliaires (Saliendra *et al.*, 1995).

Lors d'une sécheresse durable, le maintien d'un certain taux d'embolie dans la plante pourrait alors agir comme un signal durable de régulation stomatique, tout en réduisant l'extraction d'eau du sol (Alder *et al.*, 1996).

Malgré tous ces résultats, il n'est actuellement pas possible de savoir si les stomates répondent directement à une variation rapide de K (par l'intermédiaire d'une variation localisée du potentiel hydrique) ou si ce phénomène n'est que parallèle au signal de fermeture des stomates. En effet, les méthodes et appareils de mesures courants, tant la chambre à pression pour les mesures de potentiel hydrique que le poromètre pour les mesures de conductance stomatique, moyennent les grandeurs mesurées. Ils masquent ainsi les mécanismes fins de dépendance entre le potentiel hydrique et la conductance stomatique (Saliendra *et al.*, 1995 ; Hubbard *et al.*, 2001).

A-3-4 Contrôle hormonal des stomates

L'acide abscissique provoque la fermeture des stomates, en particulier en conditions de stress hydrique (voir A-1-4). Cependant, les mécanismes d'action et la localisation des récepteurs ne sont actuellement que partiellement connus. Zhang et Outlaw (2001) ont montré que la concentration en ABA apoplastique porte l'information du statut hydrique de la plante.

Il est maintenant couramment admis qu'en présence d'un déficit hydrique du sol, de l'ABA est synthétisé au niveau des racines et que sa concentration dans le xylème s'accroît (Tardieu et Davies, 1993 ; Tardieu *et al.*, 1996 ; Zhang et Outlaw, 2001 ; Gutschick et Simonneau, 2002).

Par ailleurs, en conditions de stress hydrique, le pH de la sève augmente. Les travaux de Wilkinson sur tomate (en particulier Wilkinson *et al.*, 1998) ont montré que cette augmentation de pH pouvait réduire la transpiration foliaire, vraisemblablement du fait d'une moindre séquestration d'ABA dans les cellules du mésophylle. En effet, l'ABA xylémien est piégé dans les compartiments intracellulaires alcalins. Ce piégeage est d'autant plus important que la différence de pH entre le xylème et les compartiments intracellulaires est grande. Lorsque le pH du xylème et de l'apoplaste augmente, le gradient de pH entre l'apoplaste et les cellules du mésophylle diminue et le piégeage de l'ABA dans ces dernières est atténué. Une plus grande quantité d'ABA peut alors être véhiculée jusqu'aux cellules de garde et provoque la fermeture des stomates.

D'autres travaux ont également montré qu'en plus d'une synthèse racinaire, il existait une redistribution d'ABA au niveau foliaire (Zhang et Outlaw, 2001). Les compartiments foliaires contribuent donc à l'augmentation d'ABA dans l'apoplaste près des cellules de garde. Cependant, les signaux déclencheurs et les mécanismes impliqués dans ces redistributions sont encore peu connus.

Enfin, quelques études se sont penchées sur l'effet qu'aurait une forte transpiration sur le message véhiculé par l'ABA.

Une augmentation du flux transpiratoire permettrait d'apporter une plus grande quantité d'ABA racinaire dans l'apoplaste des feuilles et ainsi d'y augmenter sa concentration. Le taux de transpiration amplifierait ainsi le message véhiculé par l'ABA (Zhang et Outlaw, 2001). Ce phénomène serait conforme à une stratégie de limitation des pertes en eau : lorsque la transpiration est forte, il est important de la contrôler ; lorsqu'elle est faible, cela l'est beaucoup moins.

Tardieu et Davies (1993) aboutissent à la même conclusion avec un raisonnement un peu différent. Selon ces auteurs, l'augmentation du taux de transpiration diluerait *a priori* la quantité d'ABA synthétisée dans les racines et transportée par le xylème. Cependant, lorsque les conditions d'approvisionnement en eau de la rhizosphère deviennent limitantes, la plus forte synthèse racinaire d'ABA l'emporterait sur cette dilution. Au final, la concentration en ABA du xylème augmenterait.

A-3-5 Contrôle hydraulique vs. contrôle hormonal ?

Nous venons d'exposer deux théories du contrôle des stomates : une théorie hormonale, originellement basée sur des signaux racinaires, et une théorie hydraulique. Ces deux approches sont-elles exclusives ou peuvent-elles être conciliées ?

Les résultats expérimentaux montrent assez clairement que l'ABA est nécessaire à la réponse des stomates au stress hydrique (Christmann *et al.*, 2007) et qu'une synthèse racinaire y est associée (Tardieu et Davies, 1993 ; Tardieu *et al.*, 1996 ; Zhang et Outlaw, 2001 ; Gutschick et Simonneau, 2002).

Comme toute réponse hormonale, la réponse des stomates au déficit hydrique du sol, *via* une synthèse racinaire d'ABA, est lente à se mettre en place. Elle s'exprime à l'échelle de la journée, voire plus pour de grands arbres. Si l'on considère que le pool d'ABA foliaire résulte uniquement de la synthèse racinaire, la réponse des stomates aux variations d'état hydrique du sol est trop rapide pour pouvoir être expliquée par ces signaux hormonaux. Il est cependant acquis que l'ABA racinaire participe sur le long terme à la réponse des stomates au déficit hydrique du sol.

L'implication de signaux hydrauliques pourrait alors expliquer les variations rapides d'ouverture des stomates observées expérimentalement (de l'ordre de la minute). Il a également été montré que les stomates répondaient de la même manière à toute variation de pression dans le xylème, quelle que soit sa source de variation : variation de la conductivité du sol, des racines, de la branche, ou variation du potentiel hydrique du sol (Cochard *et al.*, 2002). Cette réponse ne peut être expliquée que par des mécanismes hydrauliques et/ou par des signaux hormonaux foliaires.

Christmann *et al.* (2007) ont montré, sur *Arabidopsis*, que des signaux hydrauliques racinaires et la présence d'ABA au niveau foliaire (mais pas racinaire) étaient suffisants à la réponse des stomates. L'ABA racinaire ne serait donc pas le signal de longue distance recherché. La réponse des stomates serait ainsi dépendante de la redistribution d'ABA foliaire.

Le signal hydraulique provenant des racines pourrait alors être perçu au niveau des feuilles et conduire à une redistribution ou à une synthèse d'ABA foliaire (Christmann *et al.*, 2007). Dans le même ordre d'idées, il a été suggéré que la cavitation de veines foliaires pourrait déclencher une redistribution d'ABA au sein de la feuille (Salleo *et al.*, 2000).

La production d'ABA racinaire pourrait alors permettre de limiter durablement l'ouverture des stomates. Elle pourrait participer au maintien de la quantité globale d'ABA disponible dans la plante, le "turn over" de ces molécules étant très rapide.

L'ensemble de ces résultats montre que le contrôle hydraulique et le contrôle hormonal des stomates coexistent au sein de la plante. Les signaux hydrauliques expliqueraient la réponse rapide des stomates après la mise en place du déficit hydrique du sol, alors que les signaux hormonaux racinaires s'exprimeraient sur le plus long terme. Les signaux hydrauliques pourraient aussi entraîner une redistribution d'ABA foliaire.

Enfin, la concentration en acide abscissique dans l'apoplaste des feuilles dépend des quantités apportées par le flux transpiratoire et donc de son intensité. Contrôle hormonal et contrôle hydraulique de l'ouverture des stomates apparaissent ainsi intimement liés (Tardieu et Davies, 1993).

- Les stomates répondent à C_i .
- Les stomates répondent au flux transpiratoire, par l'intermédiaire de variations de Ψ_{fol} .
- L'ouverture des stomates et le taux d'embolie des vaisseaux du xylème sont liés : la fermeture des stomates permettrait de limiter le taux d'embolie. Les stomates répondraient alors à un potentiel hydrique critique induisant la cavitation des vaisseaux.
- Lors d'un stress hydrique, de l'ABA est synthétisé par les racines et des redistributions foliaires ont lieu. Quelle que soit son origine, les stomates répondent à la concentration apoplastique en ABA.
- La réponse au stress hydrique, implique (i) des signaux hydrauliques, rapides et de longue distance, en particulier racinaires, et (ii) des signaux hormonaux, plus lents et localisés à l'échelle foliaire. La synthèse racinaire d'ABA ne serait pas indispensable à la fermeture des stomates mais permettrait de la maintenir durablement.

A-4 Stratégies adoptées par les plantes face à un stress hydrique

Nous avons vu que les stomates répondaient à Ψ_{fol} et à K (ou à l'embolie). En retour, la fermeture des stomates modifie ces mêmes variables. L'hypothèse a alors été émise que **les stomates réguleraient Ψ_{fol} afin de le maintenir constant**. Cette régulation agit sur l'alimentation hydrique et permet de contrôler le taux d'embolie et les variations de K .

Les stratégies permettant de maintenir Ψ_{fol} et de limiter le taux d'embolie seront développées ci-dessous.

A-4-1 Maintenir le potentiel hydrique foliaire constant

Expérimentalement, selon l'espèce étudiée, on observe différentes relations entre Ψ_{fol} et g_s . Les espèces qui maintiennent Ψ_{fol} constant au cours d'un dessèchement sont qualifiées d'**isohydriques**. Celles qui voient Ψ_{fol} diminuer progressivement sont dites **anisohydriques**. Ainsi une très bonne corrélation linéaire entre Ψ_{fol} et g_s est observée chez les espèces anisohydriques (*Helianthus annuus*, Tardieu *et al.*, 1996 ; Nardini et Salleo, 2005), tandis qu'elle est absente chez les espèces isohydriques (Tardieu et Simonneau, 1998).

Tardieu *et al.* (1996) proposent une vision en apparence paradoxale : la relation statistique entre Ψ_{fol} et g_s observée chez les espèces **anisohydriques** résulterait de l'absence d'un **effet direct du statut hydrique de la feuille sur les stomates**. Pour ces auteurs, les stomates seraient contrôlés uniquement par la concentration xylémienne en ABA. Le statut hydrique de la feuille (Ψ_{fol}) dépendrait du flux d'eau dans la plante, lui-même en partie contrôlé par l'ouverture des stomates.

Au contraire, pour les espèces **isohydriques**, les stomates seraient contrôlés directement par Ψ_{fol} .

Plus précisément ce serait la **sensibilité des cellules de garde à l'ABA** qui déterminerait le comportement de la plante (Tardieu et Davies, 1993 ; Tardieu *et al.*, 1996).

Chez les espèces **isohydriques**, la **sensibilité des cellules de garde à l'ABA est inversement proportionnelle à Ψ_{fol}** . Ainsi, lorsque Ψ_{fol} diminue, la sensibilité augmente, et la fermeture des stomates est rapide. La diminution de Ψ_{fol} est ainsi limitée.

Chez les espèces **anisohydriques**, au contraire, cette **sensibilité est constante**. Ainsi, lorsque Ψ_{fol} diminue, la fermeture des stomates est moins rapide.

Entre ces deux extrêmes, tous les degrés de sensibilité pourraient exister.

Toutes les espèces contrôlèrent donc leurs stomates, mais chez les plantes isohydriques, le contrôle serait beaucoup plus étroit. En apparence, les stomates des espèces isohydriques répondent à Ψ_{fol} , tandis que ceux des espèces anisohydriques répondent à la concentration en ABA.

A-4-2 Limiter le taux d'embolie : maintenir le potentiel hydrique du xylème voisin du potentiel de cavitation

En prenant pour hypothèse que la fermeture des stomates permet d'éviter ou de limiter l'étendue de l'embolie (Tyree et Sperry, 1989), on peut envisager que les espèces **isohydriques** soient des **espèces vulnérables** qui ont une forte transpiration ou un faible K_{tot} (Tuzet *et al.*, 2003 ; Cochard, communication personnelle). En effet, dans ces conditions Ψ_{fol} et Ψ_{xyl} sont susceptibles de chuter rapidement en deçà de Ψ_{cav} . La nécessité de contrôler Ψ_{fol} et Ψ_{xyl} est alors grande. L'écart entre Ψ_{xyl} minimal et Ψ_{cav} , appelé "marge de sécurité", serait alors très faible (par extension, le terme sera aussi employé pour qualifier l'écart entre Ψ_{fol} minimal et Ψ_{cav}). Plusieurs études montrent que Ψ_{fol} est effectivement maintenu au-dessus de Ψ_{cav} (Cochard *et al.*, 1996a ; Lu *et al.*, 1996).

Les espèces **anisohydriques** seraient, au contraire, des espèces **peu vulnérables** pour lesquelles le contrôle étroit de Ψ_{fol} et Ψ_{xyl} serait moins important. La marge de sécurité, pour ces espèces, serait alors plus grande.

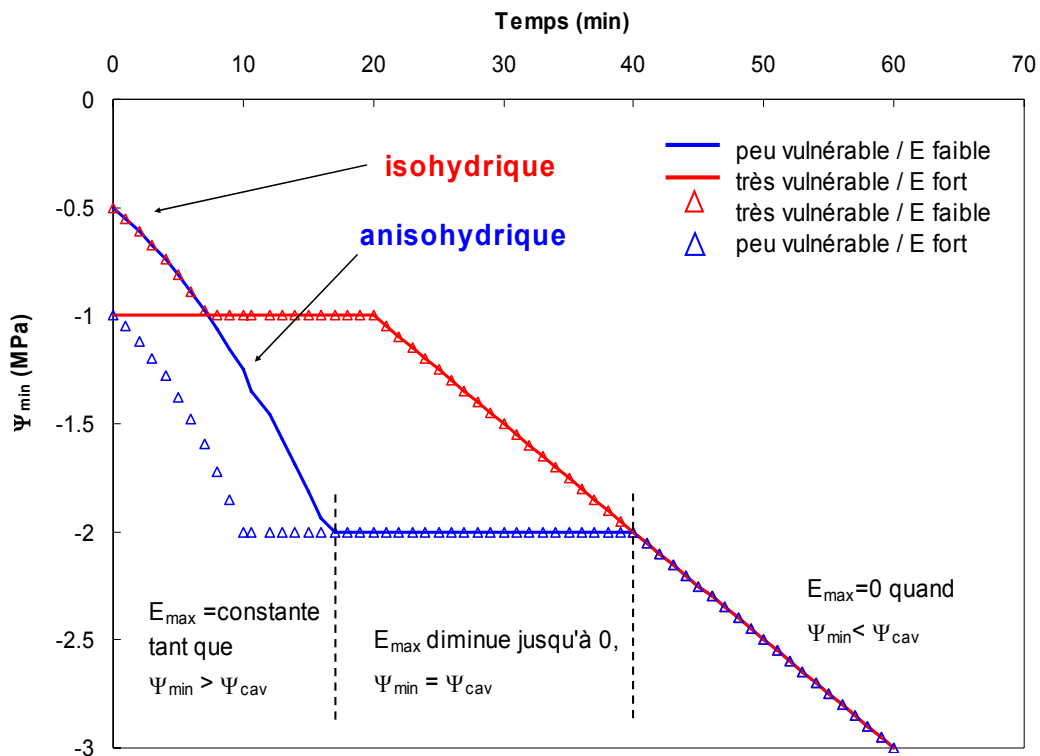


Figure 6 : Simulation de la diminution du potentiel hydrique foliaire minimum (Ψ_{\min}), au cours d'un dessèchement du sol, de quatre espèces aux vulnérabilités et taux de transpiration différents. Les espèces très vulnérables qui transpirent beaucoup ont un comportement isohydrique (trait continu rouge). Celles qui sont peu vulnérable et qui ont une transpiration faible ont un comportement anisohydrique (trait continu bleu). Entre ces deux extrêmes, tous les comportements existent (\circ et Δ).

Les simulations ont été faites selon les modèles présentés à la section II paragraphe B-4-3.

Une conductivité hydraulique du xylème totale sur le trajet sol-feuille (K_{tot}) décroissante avec le potentiel de base (Ψ_{base}) et identique pour tous les arbres a été fixée. La transpiration maximale qui permet d'éviter les risques de cavitation (E_{max}) a été calculée en fonction de (K_{tot}), de Ψ_{base} et du potentiel de cavitation (Ψ_{cav}) : $E_{\text{max}} = K_{\text{tot}} (\Psi_{\text{base}} - \Psi_{\text{cav}})$. Ψ_{\min} a alors été calculé selon : $E_{\text{max}} = K_{\text{tot}} (\Psi_{\text{base}} - \Psi_{\min})$. Les potentiels de cavitation et les transpirations initiales ont été fixés arbitrairement : $\Psi_{\text{cav}} = -2$ et -1 MPa pour les espèces peu et très vulnérables respectivement ; $E = 1$ et $2 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ min}^{-1}$ pour les espèces à transpiration faible et forte respectivement. Pour les espèces anisohydriques, les variations de E_{max} sont précisées sur la figure.

De ce point de vue, comportements anisohydrique et isohydrique seraient deux modalités d'un même type de fonctionnement, et ne se différencieraient que par une différence de sensibilité à la cavitation. Entre ces deux modalités, tous les comportements intermédiaires pourraient se rencontrer. La figure 6 présente différents comportements simulés par un modèle de transpiration incluant la sensibilité des espèces à la cavitation (les détails de ce type de modélisation seront exposés à la section II, paragraphe B-4-3).

Ainsi, espèces isohydriques et anisohydriques seraient tout aussi capables de contrôler l'ouverture des stomates. Cependant ce contrôle ne se mettrait en place que lorsque des risques de cavitation apparaissent, c'est-à-dire lorsque Ψ_{xyl} avoisinerait Ψ_{cav} . Cette situation est moins fréquente chez les espèces peu vulnérables, ce qui explique l'absence de contrôle apparent observé chez les espèces anisohydriques.

Le tableau 2, page suivante, récapitule les caractéristiques des espèces isohydriques et anisohydriques.

A-4-3 Stratégie de conservation vs. stratégie de production

Jones et Sutherland (1991) distinguent chez les plantes deux stratégies face à un déficit hydrique du sol :

- (i) une **stratégie de conservation** où la décroissance du potentiel hydrique est minimisée pour éviter toute cavitation (grâce à la régulation des stomates ou à une structure particulière du xylème) ;
- (ii) une **stratégie de production** où la plante chercherait à maximiser g_s , même si cela doit s'accompagner d'une certaine perte de conductivité hydraulique du xylème. La photosynthèse pourrait ainsi être maintenue à un niveau plus élevé.

En milieu naturel, les plantes, et en particulier les arbres, semblent s'accommoder d'un certain taux d'embolie appelé embolie native (Nardini et Salleo, 2000). Ce résultat irait dans le sens de la stratégie de production.

Par ailleurs, Tyree et Sperry (1988) ont montré, par modélisation, sur quatre espèces de milieux écologiques très différents (*Rhizophora mangle*, *Cassipourea elliptica*, *Acer saccharum* et *Thuja occidentalis*) que ces plantes fonctionnaient à des potentiels hydriques proches du seuil de cavitation. Les résultats de cette modélisation ont ensuite été vérifiés expérimentalement sur de nombreuses espèces (Alder *et al.*, 1996 ; Cochard *et al.*, 1996a ; Lu *et al.*, 1996). La marge de Ψ_{fol} est faible, tout au moins pour les organes les plus sensibles à la cavitation. Les risques de dépasser Ψ_{cav} et de voir apparaître une certaine perte de conductivité hydraulique du xylème sont alors grands.

Cette stratégie de production décrit un comportement optimisé des stomates pour un potentiel hydrique du sol donné (Jones et Sutherland, 1991). En effet, il répond à un compromis entre la maximisation de l'acquisition de carbone et la limitation des pertes en eau, afin de préserver l'intégrité du xylème. Mais en s'accommodant d'un certain taux d'embolie, les plantes peuvent maintenir leurs stomates un peu plus ouverts et améliorer leur taux de photosynthèse. La recherche d'un comportement optimal des stomates sera discutée plus en détail au paragraphe C-1.

Tableau 2 : Synthèse des caractéristiques des espèces isohydriques et anisohydriques.
 ABA : acide abscissique ; g_s : conductance stomatique ; Ψ_{cav} : potentiel de cavitation ;
 Ψ_{fol} : potentiel hydrique foliaire ; Ψ_{min} : potentiel hydrique foliaire minimal.

	Isohydriques	Anisohydriques
Corrélation g_s - Ψ_{fol}	non	oui
Facteur de réponse apparente des stomates	ABA et Ψ_{fol}	ABA
Sensibilité des stomates à l'ABA	variable selon Ψ_{fol}	constante
Capacité des stomates à contrôler Ψ_{fol}	oui	oui
Vulnérabilité (Ψ_{cav})	forte	faible
Marge de sécurité ($\Psi_{cav} - \Psi_{min}$)	petite	grande
Nécessité de contrôler étroitement l'ouverture des stomates (et ainsi Ψ_{fol})	forte	faible

- Les espèces isohydriques maintiennent Ψ_{fol} constant, au contraire des espèces anisohydriques. Entre ces deux extrêmes, tous les comportements sont rencontrés.
- La stratégie des plantes pourrait consister à maintenir $\Psi_{\text{xy}}l$ et Ψ_{fol} au-dessus ou voisin de Ψ_{cav} afin de limiter les risques de cavitation. La vulnérabilité des espèces serait alors la caractéristique clé du contrôle des stomates et de Ψ_{fol} .
- En milieu naturel, les plantes semblent s'accommoder d'un certain taux d'embolie. Selon une stratégie de production, ce comportement permettrait d'optimiser le taux d'assimilation de CO_2 .

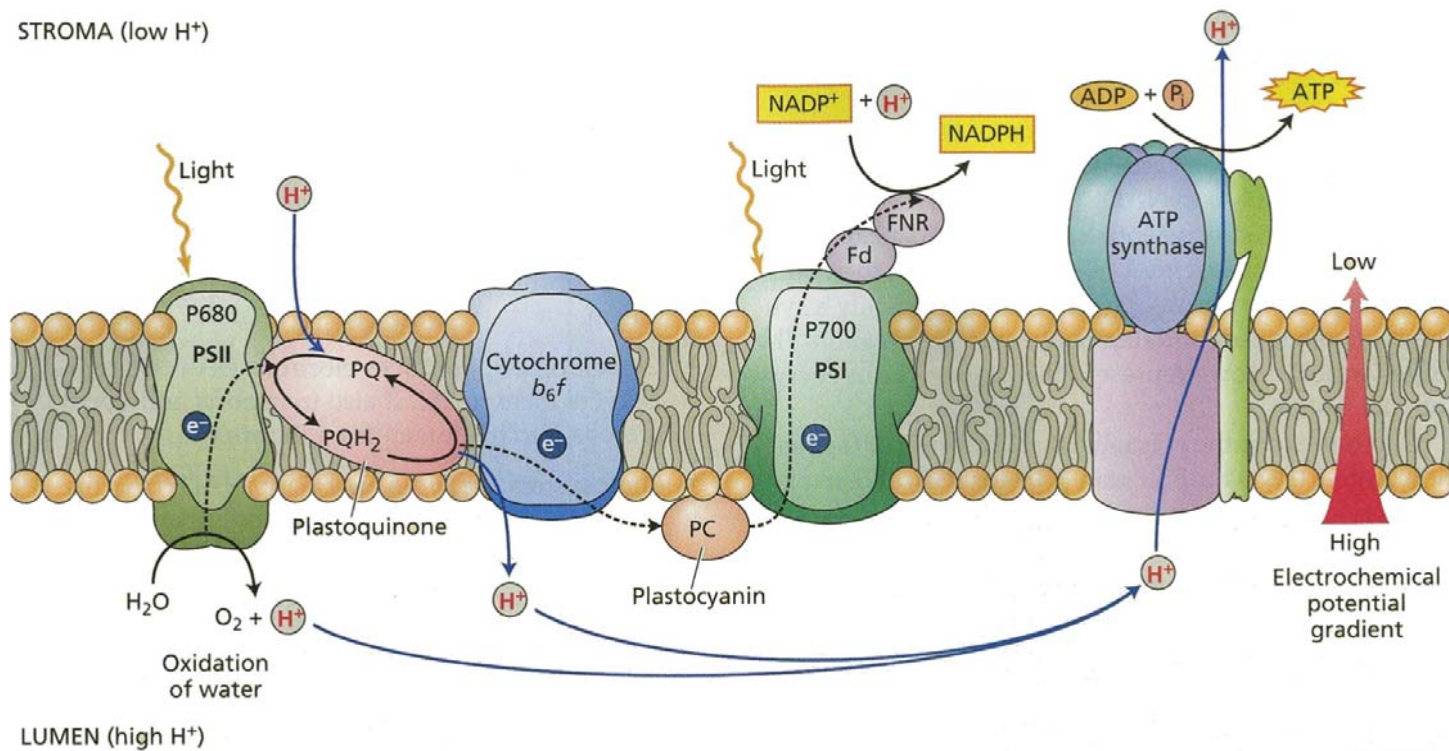


Figure 7 : Chaîne des transporteurs d'électrons insérés dans la membrane des thylakoïdes (Taiz et Zeiger, 2002). Le transfert d'électrons est initié au niveau des photosystèmes II (PSII), après excitation lumineuse des complexes pigmentaires P680. Les électrons sont ensuite pris en charge par des complexes membranaires jusqu'aux photosystèmes I (PSI) où ils permettent de réduire $NADP^+$ en NADPH. Parallèlement, la production de protons dans le lumen, résultant du flux électronique, crée un gradient électrochimique entre le lumen et le stroma. Les protons diffusent alors à travers l'ATP synthase membranaire, sous l'effet du gradient électrochimique et permettent la synthèse d'ATP.

Fd : ferredoxine ; FNR : ferredoxine-NADP reductase ; P700 : complexes pigmentaires des PSI.

B- PHOTOSYNTHESE ET STRESS HYDRIQUE

Nous avons vu, au travers de la partie A, de quelle manière les stomates répondaient aux variations des facteurs environnementaux et en particulier au stress hydrique. Dans cette nouvelle partie, nous nous intéresserons aux effets du stress hydrique sur la photosynthèse.

B-1 Processus de la photosynthèse et capacité photosynthétique

Afin de comprendre les effets du stress hydrique sur la photosynthèse, nous rappellerons brièvement dans cette première partie les processus de base de la photosynthèse ainsi que quelques définitions utiles. Nous définirons et présenterons aussi les espèces actives de l'oxygène et les antioxydants, composés produits en permanence par la plante. Ces molécules jouent un rôle crucial dans la réponse de la plante au stress hydrique.

B-1-1 Processus de la photosynthèse : rappels

La photosynthèse augmente avec l'intensité lumineuse et la concentration en CO_2 jusqu'à atteindre un plateau. Ce plateau correspond à des conditions où le CO_2 et la lumière sont saturants. Une intensité lumineuse de $1200 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ est, pour la majorité des espèces, suffisante pour saturer la photosynthèse en conditions hydriques non-limitantes.

La conversion d'énergie lumineuse en énergie électrochimique au cours de la photosynthèse permet la synthèse de sucres complexes à partir du CO_2 . Les cinq processus clés de cette synthèse sont détaillés ci-dessous.

- La conversion d'énergie lumineuse en un flux électronique s'opère au niveau des photosystèmes II (PSII) inclus dans la membrane des thylakoïdes. Elle débute par l'excitation lumineuse de la chlorophylle des antennes collectrices (voir figure 7). L'énergie d'excitation est alors transmise de proche en proche dans le complexe pigmentaire, puis au centre réactionnel du photosystème. Dans ce dernier, la chlorophylle excitée cède un électron à un accepteur d'électron (la phéophytine) avant d'être réduite à nouveau sous l'action d' H_2O . **Le transfert d'électrons est initié** tandis que de l'oxygène et des protons sont produits.

Une succession de réactions d'oxydoréduction se produit alors au niveau de plusieurs molécules (plastoquinones, plastocyanine, ferredoxine, ...). Ces molécules, les transporteurs d'électrons, permettent de transférer les électrons des PSII aux photosystèmes I (PSI) jusqu'à l'accepteur final NADP^+ , ainsi réduit en **NADPH**.

Notons ici que ce transfert d'électrons peut profiter à la fois à la photosynthèse *sensu stricto* (flux d'électrons pour la carboxylation) et à la photorespiration (flux d'électrons pour l'oxygénation, voir B-4-3).

- Les réactions d'oxydoréduction, correspondant au transport d'électrons, et la production d' H^+ dans le lumen des thylakoïdes créent un gradient électrochimique entre les deux faces de la membrane des thylakoïdes (voir figure 7). Ce gradient permet la **photophosphorylation : synthèse d'ATP** au niveau d'ATP synthases membranaires. La

synthèse d'ATP est permise grâce à l'énergie libérée par le passage des protons à travers les ATP synthases, selon le gradient électrochimique, du lumen vers le stroma.

Les ATP synthases sont constituées de deux sous-unités : CF₀, insérée dans la membrane des thylakoïdes, et CF₁, du côté du stroma. L'activité des ATP synthases est régulée par la liaison de ces deux sous-unités et leur agencement spatial (Tezara *et al.*, 1999).

- Le cycle de Calvin débute alors sous l'action principale de la Rubisco. Cette enzyme a la particularité d'accepter indifféremment le CO₂ ou l'O₂ comme substrat. Sa spécificité relative à l'une ou à l'autre de ces molécules s'exprime par le facteur de spécificité de la Rubisco (τ). Lorsqu'elle utilise du CO₂, la Rubisco permet de **synthétiser des hexoses** (fructose-1,6-bisphosphates) grâce à des **carboxylations** successives de son autre substrat, le Ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP). L'activité de carboxylation de la Rubisco est en général régulée de façon à s'accorder à la capacité à régénérer le RuBP. L'activité catalytique de la Rubisco n'est possible que (i) si le résidu lysine présent au niveau du site catalytique a été préalablement carbamylé, et (ii) si le site catalytique est libre de tout inhibiteur.

La carbamylation du résidu lysine se fait sous l'action de Mg²⁺ ou du CO₂ (Parry *et al.*, 2002). Chez la plupart des espèces, un inhibiteur, le CA1P, se fixe sur le site catalytique de la Rubisco au cours de la nuit. Cette fixation aurait un rôle protecteur en évitant la protéolyse des Rubisco inactives. Pour rendre à nouveau l'enzyme fonctionnelle, l'inhibiteur est évacué sous l'action d'une enzyme ATP-dépendante, la Rubisco activase. De façon générale, l'occupation du site catalytique de la Rubisco par des inhibiteurs correspond à différents mécanismes de régulation.

La fixation du RuBP et l'activité catalytique de la Rubisco sont alors permises par : (i) la présence de Rubisco activase, (ii) la présence d'ATP, (iii) l'activation du site catalytique (carbamylation des résidus lysine), et (iv) l'absence d'inhibiteurs.

Un certain nombre de termes décrivant l'activité de la Rubisco sont employés :

- l'activité initiale, qui reflète l'activité *in vivo* ;
- l'activité totale, lorsque toutes les molécules de Rubisco sont activées (carbamylation de tous les résidus lysine) ;
- l'activité maximale, lorsque l'activité est totale et que tous les inhibiteurs ont été préalablement enlevés.

L'état d'activation de la Rubisco correspond au rapport de l'activité initiale sur l'activité totale.

- Une fois les hexoses synthétisés, le **RuBP** doit être **régénéré** afin de pouvoir être réutilisé dans le cycle de Calvin. Une suite de réactions enzymatiques, nécessitant ATP et NADPH permet cette régénération.

- Enfin, le fructose-1,6-bisphosphate, produit par le cycle de Calvin, est utilisé pour la **synthèse des sucres complexes**. Une partie de ces trioses-phosphates sert à la synthèse d'amidon, dans le stroma du chloroplaste. Une autre partie est exportée vers le cytosol, à l'aide de transporteurs spécifiques qui couplent la sortie des trioses-phosphates à l'entrée des phosphates inorganiques (P_i). Une succession de réactions, dont une enzyme clé est la sucrose phosphate synthase (SPS), s'ensuit alors dans le cytosol. Elle conduit à la synthèse de saccharose.

B-1-2 Définition de la capacité photosynthétique et estimation

➤ Définition

La capacité photosynthétique est définie comme **l'ensemble des paramètres biochimiques déterminant le taux d'assimilation de CO₂, en conditions de lumière et de CO₂ saturantes**. La capacité photosynthétique **détermine donc le taux maximal d'assimilation de CO₂ permis par la machinerie photosynthétique**.

Une première estimation de la capacité photosynthétique consiste à mesurer la photosynthèse maximale lorsque le CO₂ n'est pas limitant (A_{\max}).

Plus précisément, quatre paramètres, liés aux processus fondamentaux de la photosynthèse, définissent la capacité photosynthétique :

- le flux électronique en condition de lumière saturante (J_{\max}),
- le taux de carboxylation maximal (V_{\max}),
- le taux de régénération de phosphates lors de l'utilisation des trioses-phosphates (production de saccharose) (TPU),
- et la respiration mitochondriale (R_d).

Parmi eux, J_{\max} et V_{\max} sont les plus couramment mesurés.

Nous avons vu plus haut que le flux d'électrons produit le NADPH et l'ATP nécessaires à la régénération du RuBP. En ce sens, J_{\max} est un indicateur de la **capacité de régénération du RuBP**. V_{\max} , quant à lui, est un indicateur de la **capacité de carboxylation de la Rubisco**.

Par ailleurs, les molécules (protéines et pigments) impliquées dans la photosynthèse contiennent plus de 75 % de l'azote total d'une feuille (Field et Mooney, 1986 ; Evans, 1989). Par conséquent, la capacité photosynthétique est fortement et linéairement liée à la concentration en azote d'une feuille sur une base massique ou surfacique (Field et Mooney, 1986 ; Evans, 1989 ; Harley *et al.*, 1992 ; Niinemets et Tenhunen, 1997 ; Walcroft *et al.*, 1997 ; Wilson *et al.*, 2000 ; Urban *et al.*, 2003 ; Diaz-Espejo *et al.*, 2006). **La concentration en azote conditionne donc la capacité photosynthétique**.

Peterson *et al.* (1999) ont montré, sur 39 espèces végétales en champs ou en serre, que la relation entre la photosynthèse maximale et la concentration massique en azote est robuste au sein du règne végétal.

➤ Estimation

J_{\max} , V_{\max} et TPU se déterminent classiquement à partir de courbes $A_{\text{net}}-C_i$, d'allure asymptotique (figure 8). La partie de la courbe correspondant aux faibles C_i est due à la limitation de la photosynthèse par la capacité de carboxylation de la Rubisco. La seconde partie correspond à la limitation par la capacité de régénération du RuBP. La limitation par l'utilisation des trioses-phosphates n'apparaît que pour de très forts C_i .

Cependant, en conditions de stress hydrique, l'estimation de C_i peut être erronée si la fermeture des stomates est hétérogène (voir A-2-3) ou si la transpiration cuticulaire est forte. Il convient donc d'interpréter avec précaution de telles estimations, une baisse de l'assimilation nette pouvant refléter à la fois une réduction de la capacité photosynthétique et une fermeture hétérogène des stomates (Terashima, 1992).

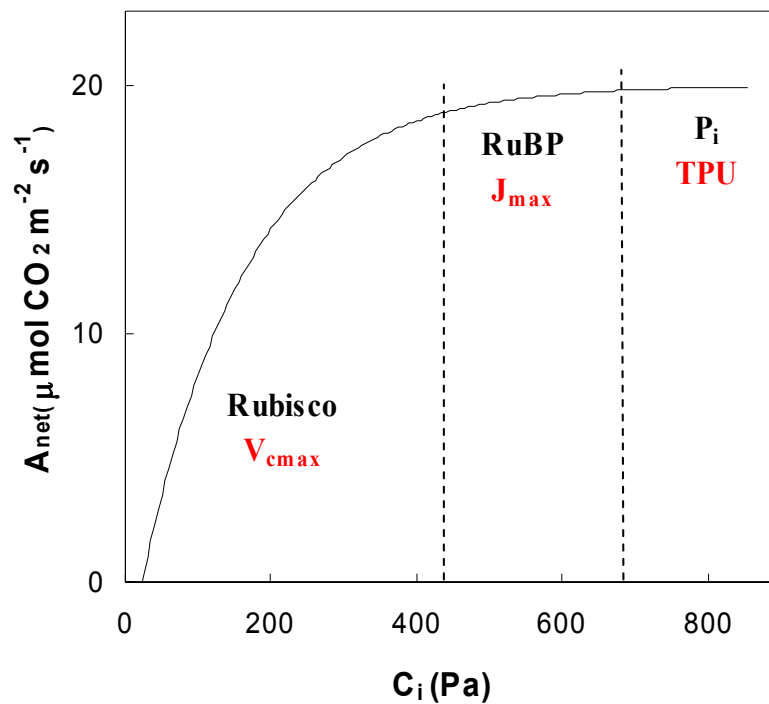


Figure 8 : Courbe A_{net} - C_i type et principales limitations biochimiques à la photosynthèse : par la capacité de carboxylation de la Rubisco, par la régénération du RuBP et par le taux de libération de phosphates (P_i) lors de l'utilisation des trioses-phosphates. Les paramètres de la capacité photosynthétique associés à ces limitations sont indiqués en rouge.

A_{net} : assimilation nette de CO_2 ; C_i : concentration intercellulaire en CO_2 ; J_{max} : flux électronique en condition de lumière saturante ; TPU : taux de régénération de phosphates lors de l'utilisation des trioses-phosphates ; V_{cmax} : taux de carboxylation maximal.

De plus, nous verrons au paragraphe B-3-2 qu'une diminution de la conductance mésophyllienne (g_m) amplifie cette erreur et amène à sous estimer les paramètres de la capacité photosynthétique à partir des courbes $A_{net}-C_i$ (Epron *et al.*, 1995 ; Lawlor et Cornic, 2002 ; Centritto *et al.*, 2003 ; Ethier et Livingston, 2004). Mathématiquement, on peut démontrer que l'impact de g_m sur V_{cmax} est plus important que sur J_{max} .

En toute rigueur, J_{max} et V_{cmax} ne devraient pas être déterminés à partir de C_i mais à partir de la concentration en CO_2 au niveau des sites de carboxylation (C_c). Les courbes $A_{net}-C_c$ devraient donc être préférées aux courbes $A_{net}-C_i$, mais compte tenu de la difficulté à estimer C_c , ceci est très rarement fait.

Imposer un très fort taux de CO_2 permet de s'affranchir des biais évoqués ci-dessus et d'estimer correctement J_{max} (Terashima, 1992). C'est ce qui a longtemps été utilisé. Désormais, certains auteurs (en particulier, Centritto *et al.*, 2003) acclimatent la feuille pendant plus d'une heure à un très faible taux de CO_2 pour permettre une pleine ouverture des stomates.

B-1-3 Espèces actives de l'oxygène et mécanismes antioxydants

B-1-3-1 Les espèces actives de l'oxygène

Le terme "espèces actives de l'oxygène" ("reactive oxygen species", ROS) désigne les radicaux libres de l'oxygène (oxygène singulet, 1O_2 , radicaux superoxyde, $\cdot O_2^-$, radicaux hydroxyl, $\cdot OH$, monoxyde d'azote $NO\cdot$, ...). Il désigne aussi certains dérivés oxygénés réactifs non-radicalaires de toxicité importante (principalement le peroxyde d'hydrogène, H_2O_2 , qui se décompose en deux $\cdot OH$).

Les radicaux libres sont des espèces chimiques comportant un électron périphérique non-apparié. L'atome ou la molécule est alors instable, très réactive et cherche à acquérir un autre électron ou à transférer l'électron célibataire vers une autre molécule. Si son instabilité est faible, le radical libre correspond à une étape intermédiaire d'une réaction d'oxydoréduction classique et est sans conséquence. Mais lorsque son instabilité est importante, il devient un composé très réactif et peut céder son électron surnuméraire à toute molécule se trouvant à proximité. Les radicaux libres se caractérisent alors par leur très forte réactivité et une espérance de vie courte.

Le danger des ROS vient de leur très forte réactivité qui entraîne des phénomènes d'oxydation en chaîne.

Ils sont incriminés dans la désactivation de certaines enzymes (H_2O_2 est responsable de l'inhibition de certaines enzymes du cycle de Calvin, voir plus loin) et dans l'attaque de certains composants cellulaires.

Ils interagissent avec les bases puriques et pyrimidiques de l'ADN. Ils peuvent aussi acquérir de l'hydrogène de nombreuses molécules biologiques, comme les thiols (R-SH) pour former des radicaux soufrés toxiques.

Mais surtout, les radicaux libres sont connus pour réagir avec les membranes jusqu'à entraîner leur destruction. Ils sont en particulier à l'origine de la peroxydation des lipides membranaires qui entraîne la production de peroxydes et d'hydroperoxydes lipidiques et *in fine* la formation d' $\cdot OH$. Ces derniers, formés à proximité des membranes, peuvent à leur tour attaquer les chaînes d'acides gras.

Les ROS sont produits à de nombreux niveaux du métabolisme d'une plante. Nous ne présenterons que quelques uns des principaux processus.

- La respiration produit des $\cdot\text{O}_2^-$, $\cdot\text{OH}$ et H_2O_2 .
- Lors de la photosynthèse, la désexcitation de la chlorophylle entraîne, au niveau des PSII, la transformation d'oxygènes triplets, stables, en oxygènes singulets, instables.
- La diminution du flux électronique favorise les risques de réduction des O_2 en $\cdot\text{O}_2^-$ par les électrons produits au niveau des antennes collectrices.
- Dans les peroxysomes, la photorespiration génère de l' H_2O_2 .

Lors d'un stress hydrique, g_s et A_{net} diminuent. Dans ces conditions, une intensité lumineuse même modérée conduit à la production d'énergie en excès et à l'apparition d'une contrainte ou stress photooxydatif (Lawlor et Cornic, 2002 ; Flexas *et al.*, 2006). La plante stressée reçoit et absorbe plus d'énergie lumineuse qu'elle ne peut en utiliser pour la photosynthèse. Des ROS peuvent alors être formés et entraîner des réactions d'oxydation en chaîne, aux conséquences néfastes. En conditions de stress hydrique, une augmentation de la peroxydation des lipides peut être observée (Bacelar *et al.*, 2006).

B-1-3-2 Les antioxydants

Les antioxydants sont des espèces chimiques très stables capables de piéger les radicaux libres en cédant un électron. Ils jouent le rôle de régulateurs de l'activité des ROS. Leur grande stabilité leur permet de terminer leur réaction d'oxydoréduction sans aucune conséquence.

Les principaux antioxydants sont l'ascorbate, le glutathion, l' α -tocophérol, la cystéine et l' γ -glutamylcystéine (ces deux derniers sont les précurseurs de l'acide ascorbique).

Les caroténoïdes sont surtout connus pour leur capacité à atténuer efficacement $^1\text{O}_2$ par transfert d'énergie.

D'autres métabolites secondaires, comme les composés phénoliques, peuvent aussi avoir une activité anti-oxydante.

A côté des molécules antioxydantes à proprement parler, des systèmes antioxydants sont aussi mis en place par les plantes :

- des enzymes de protection comme (i) la catalase qui, présente dans les peroxysomes, élimine H_2O_2 en H_2O et O_2 , (ii) les peroxydases comme la glutathion peroxydase qui utilise H_2O_2 comme accepteur d'électrons, ou (iii) les superoxide dismutases (SODs) qui, engagées dans la réaction de Mehler, éliminent $\cdot\text{O}_2^-$ en H_2O_2 .

- des enzymes servant à maintenir les antioxydants sous leur forme réduite active, l'ascorbate peroxydase et la glutathion réductase en particulier.

Le principal système de détoxification des ROS dans les chloroplastes est le cycle de l'ascorbate/glutathion. Au cours de ce cycle, le déshydroascorbate (DHA) réagit avec le glutathion sous forme réduite (GSH) pour produire de l'ascorbate et du glutathion sous forme oxydée (GSSG). L'ascorbate est alors oxydé par H_2O_2 et redonne du DHA, alors que le GSH est régénéré à partir du GSSG en présence de NADPH et H^+ .

Les molécules antioxydantes sont synthétisées en permanence par les plantes. Néanmoins, lors d'un stress hydrique, la synthèse de ces composés est accrue, de manière à faire face à la contrainte photooxydative.

De ce fait, certains auteurs ont essayé d'utiliser les antioxydants comme des marqueurs de stress hydrique. En particulier, Sircelj *et al.* (2007) ont observé, sur *Malus domestica*, que parmi de nombreux composés chimiques étudiés (chlorophylles, sorbitol, antioxydants,

proline), la zéaxanthine et le glutathion étaient de très bons marqueurs de stress. L'ascorbate est aussi un indicateur, mais seulement pour des stress modérés.

Ces résultats, bien qu'intéressants, mériteraient d'être confirmés par d'autres études afin de pouvoir être extrapolés à d'autres espèces végétales.

B-1-3-3 Les espèces actives de l'oxygène, des signaux cellulaires ?

A côté des effets potentiellement néfastes du stress oxydatif, les ROS jouent un rôle important de messenger dans la régulation du métabolisme, la morphologie et le développement de la plante (Foyer et Noctor, 2005). H_2O_2 serait alors l'un des messagers les plus fréquemment rencontrés. Nous avons déjà vu au paragraphe A-1-3 que les ROS sont impliqués dans la signalisation de l'ABA et conduisent à la fermeture des stomates.

Le signal transmis serait le résultat d'une balance entre émission de ROS et piégeage par les antioxydants. Par suite, les antioxydants pourraient être vus comme des modulateurs des signaux véhiculés par les ROS (Foyer et Noctor, 2005) et avoir une double fonction définie dans la littérature anglo-saxonne par "sensor-scavenging" (Foyer et Noctor, 2003).

Le terme "**signalisation oxydative**" devrait alors être préféré, tout au moins dans certains cas, à celui de stress oxydatif (Foyer et Noctor, 2005).

- **Les principaux processus de la photosynthèse sont : (i) le transfert d'électrons dans la membrane des thylakoïdes, (ii) la synthèse d'ATP par photophosphorylation, (iii) la carboxylation et la synthèse d'hexoses, (iv) la régénération du RuBP, et (v) la synthèse de sucres complexes.**
- **La capacité photosynthétique est définie comme l'ensemble des paramètres biochimiques déterminant le taux d'assimilation de CO_2 en conditions de lumière et de CO_2 saturantes. J_{max} , V_{cmax} , TPU et R_d en sont les principaux paramètres.**
- **Les ROS peuvent endommager les composants des cellules mais des mécanismes antioxydants protecteurs sont dans la plupart des conditions mis en place par les plantes. On leur attribue également un rôle important dans la signalisation intercellulaire.**

B-2 Le stress hydrique impose différentes limitations à la photosynthèse

Les conséquences d'un stress hydrique sont différentes selon son intensité, sa vitesse de mise en place et sa durée d'imposition. Peu d'études s'intéressent réellement à des pas de temps longs, comme ceux rencontrés en pleins champs (Pankovic *et al.*, 1999). Pankovic *et al.* (1999) et Flexas *et al.* (2006) soulignent que lorsqu'une plante est soumise à un stress hydrique imposé sur le long terme, des phénomènes d'acclimatation peuvent apparaître.

Tableau 3 : Sources des limitations à la photosynthèse résultant d'un stress hydrique.
 g_s : conductance stomatique ; g_m : conductance mésophyllienne.

	stomatiques	non-stomatiques
diffusives	conductance stomatique g_s	conductance mésophyllienne g_m
métaboliques		
réversible à court terme		capacité photosynthétique : <i>fonctionnement</i>
irréversible à court terme		capacité photosynthétique : <i>structure - pool d'azote</i>

B-2-1 Limitations stomatiques, non-stomatiques, diffusives et métaboliques

La photosynthèse peut être limitée, en conditions de stress hydrique, par divers processus. On utilise couramment une double classification : limitations stomatiques vs. non-stomatiques et limitations diffusives vs. métaboliques (tableau 3).

Lorsque la fermeture des stomates limite l'apport en CO₂ gazeux dans les cavités intercellulaires, on parle de **limitations stomatiques** à la photosynthèse.

Lorsque seuls les transferts diffusifs de CO₂, de l'air extérieur vers les sites de carboxylation, sont un frein à la photosynthèse, on parle de **limitations diffusives**. Elles s'expriment en décrivant la circulation de CO₂ gazeux dans la feuille, par analogie à la loi de Fick, selon les équations de diffusion suivantes :

$$A_{\text{net}} = g_b (C_a - C_s) \quad A_{\text{net}} = g_{s,c} (C_s - C_i) \quad A_{\text{net}} = g_m (C_i - C_c) \quad \text{éqs. 5-6-7}$$

où g_b , $g_{s,c}$ et g_m représentent les conductances au CO₂ respectivement de la couche limite, des stomates et du mésophylle ;
 C_a , C_s , C_i et C_c représentent respectivement les concentrations en CO₂ de l'air extérieur, à la surface de la feuille, du milieu intercellulaire et au niveau des sites de carboxylation.

On considère généralement que g_b est constante et très forte, et qu'elle ne limite ainsi pas la diffusion du CO₂. Il n'en sera plus question par la suite.

Les conductances stomatique et mésophyllienne (ou leurs inverses : les résistances), sont ainsi les deux composantes des limitations diffusives.

Expérimentalement, il est possible de s'affranchir des limitations diffusives en appliquant un très fort taux de CO₂ aux feuilles, de façon à saturer les sites de carboxylation. Pour Lawlor et Cornic (2002), en l'absence de stress hydrique et donc de fermeture trop importante des stomates, une concentration en CO₂ dans l'air ambiant cinq fois supérieure à la concentration atmosphérique serait suffisante.

Lorsque le stress s'intensifie ou se poursuit, le métabolisme de la photosynthèse peut, lui aussi, être altéré. On parle alors de **limitations métaboliques**. Celles-ci correspondent à l'altération de la capacité photosynthétique, et sont en conséquent aussi appelées **limitations non-diffusives**. Lorsque seul le fonctionnement de la machinerie photosynthétique est atteint, les limitations sont réversibles à court terme. En revanche, lorsque sa structure même est altérée, les limitations sont irréversibles à court terme.

On distingue couramment les limitations diffusives qui entraînent une diminution de C_i des limitations métaboliques qui entraînent plutôt une augmentation de C_i . Ce point sera développé au paragraphe C-2-3.

B-2-2 Importance relative des limitations à la photosynthèse

➤ *Les limitations diffusives sont prépondérantes*

A partir d'une synthèse de nombreuses études *in vivo* et *in vitro*, Flexas *et al.* (2002) concluent que le stress hydrique affecte principalement la diffusion du CO₂ (à travers les stomates et dans le mésophylle). La capacité photosynthétique est préservée dans la plupart

des cas rapportés. Grassi et Magnani (2005), sur *Fraxinus oxyphylla* et *Quercus robur*, et Escanola *et al.* (1999), sur *Vitis vinifera*, confirment que les limitations diffusives sont prépondérantes.

De façon similaire, les limitations diffusives expliquent à elles seules la baisse de photosynthèse due à un stress salin (Centritto *et al.*, 2003).

- *Les limitations stomatiques sont les premières à apparaître et sont de ce fait majoritaires*

Comme nous l'avons vu, les stomates réagissent très rapidement à la mise en place d'un stress hydrique. Ainsi, parmi toutes les limitations à la photosynthèse, les limitations stomatiques sont les premières à apparaître et sont les plus importantes en terme d'incidence sur la photosynthèse (Kaiser *et al.*, 1995 ; Escalona *et al.*, 1999 ; Chaves *et al.*, 2002 ; Cornic et Fresneau, 2002 ; Flexas *et al.*, 2004b ; Grassi et Magnani, 2005 ; Praexedes *et al.*, 2006).

Les limitations diffusives mésophylliennes, quant à elles, apparaissent certainement en léger décalage.

Enfin, si le stress perdure et s'intensifie, des limitations métaboliques peuvent se mettre en place (Grassi et Magnani, 2005).

Dans la plupart des études, les limitations stomatiques sont non seulement les premières à apparaître, mais sont également majoritaires. Escanola *et al.* (1999) observent, sur *Vitis vinifera*, lors de l'imposition d'un stress modéré, que 80 % des variations de A_{net} sont dues aux variations de g_s . Grassi et Magnani (2005) observent, sur *Quercus robur* soumis à une large gamme de stress hydrique, que les limitations stomatiques sont plus importantes que les limitations non-stomatiques. Cependant, les auteurs notent aussi que les limitations non-stomatiques augmentent plus rapidement que celles dues aux stomates. Par conséquent, lors d'un stress hydrique très prononcé, leur importance relative peut devenir égale. Enfin, Diaz-Espejo *et al.* (2006) observent, sur *Olea europea*, que les limitations stomatiques représentent 50 % de l'ensemble des limitations.

➤ **En conditions de stress hydrique, différentes limitations à la photosynthèse apparaissent : stomatiques ou non-stomatiques ; diffusives ou métaboliques.**

➤ **Les limitations stomatiques sont les premières à apparaître et les plus importantes en terme d'effet sur la photosynthèse.**

Les limitations stomatiques à la photosynthèse ont été traitées dans la partie A en étudiant le fonctionnement des stomates. Nous développerons donc, dans les paragraphes suivants, uniquement les limitations non-stomatiques : diffusives et métaboliques.

B-3 Les limitations diffusives non-stomatiques : une diminution de la conductance mésophyllienne

B-3-1 Définition de la conductance mésophyllienne

Les limitations diffusives non-stomatiques correspondent à la diminution de la conductance mésophyllienne au CO₂ (g_m). On les retrouve dans la littérature anglo-saxonne sous les noms de "transfert conductance", "internal conductance" et "mesophyll conductance".

Quelle que soit sa dénomination, cette conductance au CO₂ est relative au trajet du CO₂ dans le mésophylle (des espaces intercellulaires vers les sites de carboxylation). Ainsi, g_m a deux composantes : une résistance au trajet du CO₂ en phase gazeuse dans les espaces intercellulaires et une résistance en phase liquide à travers les membranes des cellules et des chloroplastes.

La résistance en phase gazeuse reflète la structure de la feuille : porosité, forme des cellules, densité, etc... Elle dépend aussi du trajet suivi, qui est conditionné par le degré d'hétérogénéité d'ouverture des stomates (Morison *et al.*, 2005).

La résistance en phase liquide repose, quant à elle, sur l'anatomie fine de la feuille : épaisseur des parois cellulaires, surface des membranes du mésophylle ou du chloroplaste, tortuosité du trajet en phase liquide à travers les membranes (von Caemmerer, 2000).

L'importance relative des résistances en phase gazeuse et en phase liquide serait différente selon les espèces (von Caemmerer, 2000). Cependant, différentes études ont montré que les résistances majeures se situaient, en phase liquide, au niveau des membranes du plasmalemme et des chloroplastes (von Caemmerer, 2000). Actuellement, le rôle des aquaporines est envisagé et pourrait être prépondérant dans le contrôle de g_m .

La dissolution du CO₂ ne représente pas une limitation en soi, mais elle implique de tenir compte d'un facteur correctif dans l'utilisation de certaines grandeurs (le facteur de spécificité de la Rubisco doit, par exemple, être corrigé des solubilités respectives du CO₂ et de l'O₂).

g_m est exprimé, par analogie à la loi de Fick, en fonction de C_i et C_c :

$$A_{\text{net}} = g_m (C_i - C_c)$$

éq. 7

En toute rigueur cette analogie ne s'applique qu'aux diffusions en phases gazeuses et n'est ainsi pas adaptée à la composante du trajet du CO₂ dans le mésophylle en phase liquide. En effet, lors de ce trajet, le gradient de concentration en CO₂ n'est pas proportionnel au flux (Jones, 1992a). Cependant, cette analogie est couramment utilisée à des fins pratiques.

B-3-2 Conductance mésophyllienne et stress hydrique

g_m diminue avec les stress hydrique (Lawlor et Cornic, 2002 ; Flexas *et al.*, 2004b ; Warren *et al.*, 2004 ; Grassi et Magnani, 2005) ou salin (Centritto *et al.*, 2003). A l'échelle du peuplement, on observe également une diminution de g_m qui affecte les sorties des modèles de fonctionnement global (Reichstein *et al.*, 2002).

Pour certains auteurs, la réponse de g_m au stress hydrique serait aussi rapide et réversible que celle de g_s (Ethier et Livingston, 2004). La relation entre A_{net} et g_m serait corrégulée de façon identique à celle entre A_{net} et g_s . Certains auteurs suggèrent que des anhydrases carboniques - enzymes permettant la conversion de HCO₃⁻ en CO₂ au niveau des chloroplastes - ou des

aquaporines participent à cette régulation (Flexas *et al.*, 2004b). Grassi et Magnani (2005) trouvent également une bonne relation entre A_{\max} et g_m .

En conditions hydriques non-limitantes, on observe une très bonne corrélation entre g_s et g_m (Epron *et al.*, 1995). Les résultats obtenus lors d'un stress hydrique sont en revanche plus contrastés. Certains auteurs ont observé une relation linéaire entre g_s et g_m (Centritto *et al.*, 2003), d'autres une relation non-linéaire (Flexas *et al.*, 2002), d'autres encore n'ont pu dégager aucune relation (Warren *et al.*, 2004). A partir de la synthèse d'un grand nombre d'études sur espèces tempérées, Warren et Adams (2006) concluent également que la relation entre g_s et g_m en fonction du stress hydrique est incertaine. Dans la très grande majorité des cas, cependant, les limitations de la photosynthèse dues à g_m sont au plus égales à celles dues à g_s .

Une conséquence importante de la diminution de g_m lors d'un stress hydrique est, si ces limitations sont négligées, la sous-estimation des paramètres de la capacité photosynthétique estimés par les courbes $A_{\text{net}}-C_i$ (Epron *et al.*, 1995 ; Lawlor et Cornic, 2002 ; Centritto *et al.*, 2003 ; Ethier et Livingston, 2004). En effet, l'estimation de ces paramètres repose sur l'hypothèse que C_i et C_c sont égaux, c'est-à-dire que g_m est infinie. Lorsque cette hypothèse n'est plus vérifiée, C_c est inférieur à C_i et les capacités d'assimilation sont sous-estimées (Ethier et Livingston, 2004 ; Grassi et Magnani, 2005). Ces mauvaises estimations peuvent conduire à conclure à une diminution de la capacité photosynthétique sous l'effet d'un stress hydrique, alors que seule une diminution de la conductance mésophyllienne peut en être la cause.

C'est ce qui a été montré dans quelques études (Ethier et Livingston, 2004 ; Flexas *et al.*, 2006) où l'interprétation des courbes $A_{\text{net}}-C_i$, dans le cas d'un stress hydrique, conduisait à surestimer les effets du stress hydrique sur la capacité photosynthétique réelle.

- **La conductance mésophyllienne correspond au trajet du CO_2 des espaces intercellulaires jusqu'aux sites de carboxylation. Ce trajet se décompose en deux phases : un trajet en phase gazeuse dans les espaces intercellulaires et un trajet en phase liquide à travers les membranes des cellules et des chloroplastes. g_m est communément exprimé par analogie à la loi de Fick.**
- **La conductance mésophyllienne diminue en situation de stress hydrique. Dans ces conditions, une relation entre g_s et g_m est parfois observée.**

B-4 Les limitations métaboliques et les réponses de la plante

Lorsque le métabolisme de la photosynthèse est à son tour atteint, on parle de **limitations métaboliques** à la photosynthèse. Ces limitations touchent la capacité photosynthétique.

Un premier paragraphe introduira quelques définitions et présentera les différents mécanismes qui limitent le métabolisme de la photosynthèse lors d'un stress hydrique. Les paragraphes suivants développeront ces mécanismes.

B-4-1 Réponse de la photosynthèse au stress hydrique

Lors d'un stress hydrique, la fermeture des stomates entraîne une diminution de l'apport en CO₂ et ainsi du taux de carboxylation. Parallèlement, l'une des premières conséquences physiologiques du stress hydrique est la baisse ou l'arrêt de l'expansion cellulaire. L'activité puit diminuant, les sucres s'accumulent dans les feuilles. L'effet inhibiteur d'une diminution de l'activité puit et d'une accumulation de sucres a été largement étudié (Paul et Foyer, 2001). Un certain nombre d'autres mécanismes concourent à une baisse généralisée de la photosynthèse.

B-4-1-1 Photoinhibition : photoprotection et destruction de la machinerie photosynthétique

➤ Définitions

Lorsque l'énergie lumineuse reçue devient supérieure à ce qui peut être utilisé par la photosynthèse, il y a des risques de **photoinhibition**. Cette situation est définie par Adams *et al.* (2005) comme la réponse à une exposition prolongée ou prononcée à la lumière. Le stress hydrique diminue le taux de photosynthèse et amplifie les risques de photoinhibition, d'autant plus que ces situations s'accompagnent généralement d'un très fort ensoleillement.

Si l'énergie d'excitation de la chlorophylle est supérieure à celle qui peut être convertie en flux électronique, ou si le flux électronique destiné à la photochimie est supérieur aux capacités de carboxylation ou d'oxygénation, des ROS peuvent se former et conduire à un **stress photooxydatif**.

De nombreux mécanismes se mettent en place pour prévenir et lutter contre la formation de ROS : systèmes évacuateurs d'énergie, systèmes consommateurs d'électrons, systèmes protecteurs au sens strict (atténuation de l'absorption lumineuse et piégeage de ROS).

Afin de limiter les transferts d'énergie et la formation de ROS, la synthèse de certaines protéines clés (en particulier la chlorophylle) peut également être régulée, dans une stratégie de protection.

Parallèlement, des mécanismes adaptatifs conduisent à la régulation de l'activité d'enzymes impliquées dans la photosynthèse. Sur le plus long terme, leur synthèse ainsi que la transcription des gènes qui les codent peuvent aussi être régulées. Ces mécanismes visent à équilibrer l'activité des différents processus de la photosynthèse entre eux, ainsi qu'avec la demande en assimilats (activité puit).

La chronologie de mise en place de ces différents mécanismes est encore peu connue. L'ordre de présentation adopté ici ne reflète, ni la succession des événements observés, ni une hiérarchie dans leur importance.

Nous définissons l'ensemble des mécanismes visant à protéger la plante vis-à-vis de l'excès d'énergie par le terme de **photoprotection** (Adams *et al.*, 2005).

Par opposition, lorsque les mécanismes de défense ne permettent pas de contrer le stress photooxydatif, la machinerie photosynthétique peut être endommagée de manière irréversible. Les anglo-saxons parlent de "**photodamage**" (Adams *et al.*, 2005).

Aux vues de la variété des mécanismes disponibles pour éviter ou lutter contre le stress photooxydatif, il semble peu probable que, sur le long terme, il soit la cause de dégradations de la machinerie photosynthétique. Les dégâts qu'il occasionne n'interviendraient ainsi que sur le court terme, le temps que l'ensemble des mécanismes de protection puisse être activés, ou lors de stress très intenses.

En effet, de nombreux auteurs ont montré la résistance de la machinerie photosynthétique face à la sécheresse et beaucoup s'accordent à dire que des dégradations sont rares dans les gammes de stress hydriques rencontrées au champ (Escalona *et al.*, 1999 ; Cornic, 2000 ; Chaves *et al.*, 2002 ; Cornic et Fresneau, 2002 ; Lawlor et Cornic, 2002 ; Flexas *et al.*, 2004a ; Warren *et al.*, 2004 ; Adams *et al.*, 2005). Dans la plupart des cas, la capacité photosynthétique peut être rapidement restaurée par l'application d'un très fort taux de CO₂, signe que seules des limitations diffusives étaient en cause (Brodribb, 1996). La même conclusion est obtenue lors d'un stress salin (Centritto *et al.*, 2003), confortant ainsi l'idée de la stabilité de la machinerie photosynthétique. Quelques études rapportent néanmoins des dégradations lorsque l'intensité de stress est très importante ($\Psi_{\min} = -6\text{MPa}$ pour des plantes de prairie en pot, Heckathorn *et al.*, 1997).

Parallèlement aux processus qui viennent d'être présentés, des **mécanismes adaptatifs** peuvent conduire à la régulation de l'activité d'enzymes impliquées dans la photosynthèse. Sur le plus long terme, la synthèse de ces enzymes, ainsi que la transcription des gènes qui les codent peuvent aussi être régulées. Ces mécanismes visent à équilibrer les différents processus de la photosynthèse entre eux, ainsi qu'avec la demande en assimilats (activité puit). Ces mécanismes sont expérimentalement peu dissociables des régulations mise en place dans une stratégie de protection, ou des destructions de la machinerie photosynthétique résultant d'un stress photooxydatif.

Photoprotection et destruction de la machinerie photosynthétique sont ainsi deux aspects de la photoinhibition.

Longtemps considérée comme totalement néfaste, la photoinhibition, sous son aspect de photoprotection, est maintenant perçue comme bénéfique. Elle permet à la plante de se prémunir des dommages dus à un excès d'énergie absorbée. L'une de ses principales manifestations est la diminution de la photosynthèse qui, aux vues des conditions environnementales, ne serait que peu ou pas meilleure (Adams *et al.*, 2005).

➤ *Apport de la fluorescence pour estimer la photoinhibition et la photoprotection*

La photoinhibition (photoprotection et destruction de la machinerie photosynthétique) peut être mise en évidence par des mesures de fluorescence (Butler, 1978 ; Krause, 1988 ; Adams *et al.*, 2005). Le principe de ces mesures de fluorescence ainsi que les variables couramment utilisées sont présentés en annexe 3. Nous rappelons juste ici que :

- F_0 et F_m sont les rendements de fluorescence, respectivement minimal et maximal, d'une feuille adaptée à l'obscurité ;
- F_0' et F_m' sont les rendements de fluorescence, respectivement minimal et maximal, d'une feuille adaptée à la lumière.

La fluorescence variable ($F_v = F_m - F_0$), et plus précisément l'efficacité quantique maximale des PSII (F_v/F_m), **diminue lorsque la photoinhibition augmente**. La diminution de F_v est généralement due à une diminution de F_m . F_0 est rarement atteint, sauf dans le cas de dommages irréversibles des PSII conduisant à la désactivation des antennes collectrices.

La diminution de F_v/F_m peut donc être due (i), dans une stratégie de photoprotection, à une dissipation thermique d'énergie dépendante de la zéaxanthine (voir paragraphe B-4-2), ou (ii) à une inactivation ou un désassemblage des PSII (Adams *et al.*, 2005).

La valeur de F_v/F_m observée en conditions non-limitantes pour la plupart des espèces, est d'environ 0.8 (Krause, 1988). En conditions de stress intense, des valeurs très basses, de l'ordre de 0.5 voire moins, peuvent être observées (Heckathorn *et al.*, 1997 ; Nogues et Baker, 2000).

Parallèlement, le "quenching" non-photochimique (NPQ) et l'efficacité de capture de l'énergie d'excitation des centres réactionnels PSII ouverts (F_v'/F_m') varient aussi avec la photoinhibition. NPQ augmente alors que F_v'/F_m' , associé à une dissipation thermique d'énergie, diminue.

Selon l'intensité de la photoinhibition, F_v/F_m , NPQ et F_v'/F_m' varient différemment les uns par rapport aux autres :

- Lorsque l'inhibition est faible, seuls les mécanismes de dissipation thermique d'énergie se mettent en place. Dans ces conditions, on observe un niveau élevé de F_v/F_m et NPQ d'une feuille adaptée à l'obscurité est nul. Avec l'augmentation de l'intensité lumineuse, F_v/F_m diminue et NPQ augmente. Le "quenching" non-photochimique est dans ce cas appelé "flexible NPQ" (Adams *et al.*, 2005). L'écart entre F_v/F_m et F_v'/F_m' est alors très grand.
- Lorsque l'inhibition est forte, les PSII sont en partie inactivés, la dissipation thermique d'énergie étant maintenue à des niveaux élevés. Dans ce cas, F_v/F_m est très bas et ne diminue plus que très peu avec l'augmentation d'intensité lumineuse. L'écart entre F_v/F_m et F_v'/F_m' est quasi nul. NPQ, quant à lui, reste à un niveau très élevé quelle que soit l'intensité lumineuse, mais il n'est plus quantifiable (absence de F_m de référence, voir annexe 3). On parle de "sustained NPQ" (Adams *et al.*, 2005).
- La situation intermédiaire d'un stress modéré cumule toutes ces caractéristiques. Le rapport F_v/F_m et NPQ d'une feuille à l'obscurité sont tous les deux à des valeurs intermédiaires, stables pour de faibles intensités lumineuses. F_v/F_m diminue et NPQ augmente lorsque l'intensité de stress augmente. L'écart entre F_v/F_m et F_v'/F_m' est intermédiaire.

B-4-1-2 Cas particulier de la régulation ou de la destruction des enzymes et protéines impliquées dans la photosynthèse

- *Régulation de la synthèse d'enzymes ou dégradations photooxydatives se traduisent par une diminution de la concentration en azote foliaire*

Les dégâts occasionnés par un stress photooxydatif ainsi que la régulation de la synthèse de protéines et de la transcription des gènes qui les codent (dans une stratégie de protection ou

non) participent à la photoinhibition. Ils se traduisent en général par une diminution de la concentration en protéines et une diminution de la capacité photosynthétique. Plus largement, la concentration en azote foliaire peut aussi varier.

Certaines études notent, sur le court terme, une diminution du pourcentage massique en azote des feuilles (Heckathorn *et al.*, 1997, sur graminées). D'autres montrent similairement, mais sur le long terme, une diminution soit du pourcentage massique (Llorens *et al.*, 2003 sur *Erica multiflora*) soit de la concentration surfacique en azote (Diaz-Espejo *et al.*, 2006). Les auteurs expliquent cette diminution par divers phénomènes non-exclusifs : (i) une diminution de l'absorption d'azote par les racines entraînant un déficit azoté dans les tiges (Llorens *et al.*, 2003), (ii) une volatilisation d'azote foliaire (Llorens *et al.*, 2003), (iii) une retranslocation d'azote des tiges vers les racines (Llorens *et al.*, 2003) ou (iv) une diminution de la masse surfacique des feuilles due à une plus faible croissance au cours de la sécheresse (Diaz-Espejo *et al.*, 2006).

Cependant, d'autres études rapportent aussi une augmentation de la concentration massique en azote des feuilles sur le long terme (Aranda *et al.*, 2005). Les mêmes résultats sont observés en pourcentage massique (Llorens *et al.*, 2003, sur *Globularia alyium*). Ces résultats semblent aller à l'encontre de la diminution attendue de la capacité photosynthétique des feuilles. Llorens *et al.* (2003) et Aranda *et al.* (2005) attribuent cette augmentation à une baisse de croissance de la plante ou à une différence d'allocation d'azote entre les racines et les feuilles.

De plus, des redistributions d'azote à l'échelle foliaire peuvent avoir lieu, soit entre deux pools d'azote investis dans la photosynthèse, soit même vers des pools non-photosynthétiques. De telles réallocations seront envisagées au paragraphe B-4-10.

Afin de mieux comprendre de quelle manière les enzymes et protéines impliquées dans la photosynthèse sont régulées, des analyses poussées sont nécessaires, en particulier biomoléculaires. Elles pourraient permettre (i) d'attribuer les variations de concentration en azote observées à la diminution de synthèse des protéines, ou de transcription des gènes, (ii) de déterminer les causes de ces variations : mécanismes adaptatifs, éventuellement dans une stratégie de photoprotection, ou destruction sous l'effet d'un stress photooxydatif.

Elles sont cependant absentes de nombreux protocoles expérimentaux.

Notons que la sénescence se traduit, tout comme le stress hydrique, par la dégradation de protéines de la machinerie photosynthétique, en particulier de la chlorophylle. Les deux phénomènes peuvent donc, dans une certaine mesure être rapprochés.

➤ *Diversité des processus affectés*

Tous les processus enzymatiques de la photosynthèse peuvent être régulés ou endommagés de façon différente selon les conditions expérimentales. Les résultats de la littérature sont souvent en contradiction quant à la succession ou à l'importance relative des processus affectés (Flexas *et al.*, 2004a). Il n'est ainsi pas possible de dégager un schéma unique de l'effet du stress hydrique sur la capacité photosynthétique.

De plus, la combinaison de la durée et de l'intensité du stress imposé conditionne l'apparition et l'ampleur des dégradations de la machinerie photosynthétique. A intensités de stress égales, un stress imposé sur le court terme (inférieur à un mois) entraîne en général une diminution

des concentrations en protéines et en azote. Un stress imposé sur le long terme, quant à lui, peut entraîner aussi bien une diminution qu'une augmentation de ces concentrations.

Pankovic *et al.* (1999) ont mis en parallèle deux études en tous points similaires hormis la vitesse d'imposition du stress. Lors d'un stress à court terme, les concentrations en protéines solubles, en Rubisco en particulier, ont diminué. Lors d'un stress à long terme, les concentrations ont augmenté. Les auteurs interprètent ce résultat comme une acclimatation de la plante aux conditions de stress : une "réserve" de Rubisco pourrait assumer une meilleure efficacité photosynthétique en réponse à des conditions environnementales variables. Dans ce cadre, le peu d'études sur l'effet d'un stress hydrique imposé sur le long terme (Pankovic *et al.*, 1999) est à regretter.

➤ *Difficultés à distinguer les mécanismes affectés et à en identifier les causes*

Nous avons vu que sans l'utilisation d'outils biochimiques, il était difficile d'attribuer des diminutions de concentrations en enzymes ou protéines, soit aux dégâts résultant d'un stress photooxydatif, soit à la régulation de la synthèse des protéines dans une stratégie de protection, soit à la régulation de ces synthèses et de la transcription des gènes impliqués afin d'équilibrer les processus de la photosynthèse.

Par ailleurs, l'activité individuelle des enzymes n'est pas toujours mesurée et l'activité globale dépend de leur concentration. Encore une fois, les analyses permettant de définir exactement les causes d'une diminution globale d'activité sont souvent manquantes. Les interprétations des variations d'activité et de concentrations sont alors souvent menées de front.

Compte tenu des difficultés à séparer, expérimentalement et dans la littérature, les différents mécanismes présentés dans ce paragraphe B-4-1-2, ainsi que leurs causes, nous traiterons de manière globale toutes les atteintes observées aux principales enzymes et protéines de la machinerie photosynthétique, que ce soit au niveau de leur activité, de leur synthèse ou de la transcription des gènes, ou que ces molécules soient dégradées en conséquence d'un stress photooxydatif.

Pour plus de clarté, nous choisirons de décrire ces atteintes ensemble, regroupées selon les différents processus clés de la photosynthèse : transfert d'électrons, régénération du RuBP et carboxylation par la Rubisco.

Les paragraphes suivants présenteront alors, sans hiérarchie ni ordre chronologique, les différents mécanismes qui sont mis en oeuvre face à un stress hydrique : (i) systèmes évacuateurs d'énergie, (ii) systèmes consommateurs d'électrons, (iii) systèmes protecteurs au sens strict (atténuation d'absorption lumineuse ou piégeage de ROS), puis (iv) les atteintes aux enzymes et protéines de la machinerie photosynthétique, regroupées par processus de la photosynthèse.

La figure 9 regroupe l'ensemble de ces mécanismes.

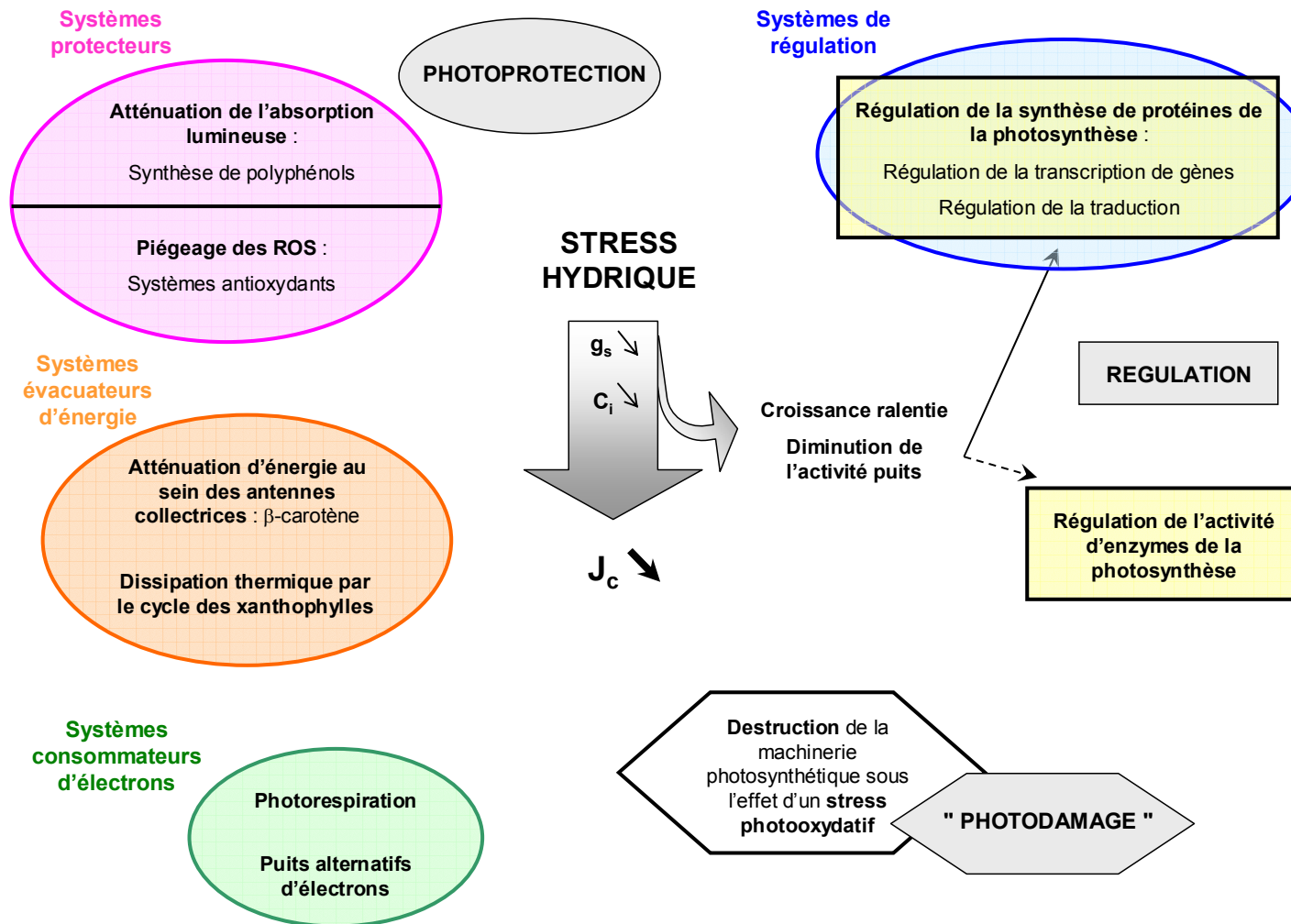


Figure 9 : Ensemble des mécanismes susceptibles de réduire la photosynthèse, lors d'un stress hydrique. Les liens de causalité et la chronologie d'apparition de ces mécanismes ne sont pas encore connus avec certitude. Photoprotection, destruction de la machinerie photosynthétique ("photodamage") et régulation de certaines enzymes clés participent à cette photoinhibition. Tous ces mécanismes sont développés au paragraphe B-4 de la section I. g_s : conductance stomatique ; C_i : concentration intercellulaire en CO_2 ; J_c : flux électronique vers la carboxylation.

B-4-2 Systèmes évacuateurs d'énergie lumineuse en excès

C'est au niveau des antennes collectrices qu'ont lieu les premiers mécanismes de dissipation d'énergie excédentaire. Les caroténoïdes, en particulier le **β -carotène**, pigments annexes de la photosynthèse sont excités par l'énergie lumineuse, en même temps que la chlorophylle, et peuvent évacuer une partie de l'énergie reçue (Kranner *et al.*, 2002).

Lorsque la chlorophylle passe de l'état excité à l'état stable, l'énergie libérée est très importante. Si cette énergie n'est pas utilisée pour initier le transport d'électrons, des $^1\text{O}_2$ dangereux peuvent se former. Au contraire, le passage du β -carotène de l'état excité à l'état stable libère beaucoup moins d'énergie, sans formation de $^1\text{O}_2$. Le β -carotène peut alors servir à évacuer l'énergie des chlorophylles excitées.

D'autres caroténoïdes, les xanthophylles, permettent également d'évacuer l'énergie en excès, par **dissipation thermique**. Le cycle des xanthophylles, par la production de zéaxanthine, est un mécanisme de protection des plantes très performant.

Lorsque la saturation en lumière approche, l'utilisation de protons pour la phosphorylation des ADP diminue. Par conséquent, la concentration en protons augmente dans le lumen des thylakoïdes. Cette acidification est propice à l'activation du cycle des xanthophylles dans les membranes thylakoïdiennes et à la dissipation thermique d'énergie. En effet, la violaxanthine de-époxydase, enzyme contenue dans le lumen des thylakoïdes et permettant la conversion de violaxanthine en antheraxanthine et en zéaxanthine, est activée par protonation (pH optimum environ égal à 5, Yamamoto, 1979).

Pour participer à la dissipation d'énergie excédentaire, la zéaxanthine doit se fixer sur la protéine PsbS, protéine clé des PSII. La fixation nécessite auparavant la protonation de sites spécifiques qui entraîne un changement de conformation de la PsbS (Adams *et al.*, 2005). La chlorophylle excitée peut alors se lier à d'autres sites spécifiques sur la PsbS et évacuer son énergie excédentaire par transfert à la zéaxanthine (Niyogi *et al.*, 2004).

Les deux phénomènes (conversion de violaxanthine en zéaxanthine et protonation des PsbS) sont nécessaires à la dissipation d'énergie sous forme de chaleur. Cependant, la conversion enzymatique est lente alors que la protonation est rapide (Adams *et al.*, 2005). De ce fait, la conservation d'un taux élevé de zéaxanthine permet une réponse au stress bien plus rapide par la suite. On parle d'état "amorcé" de dissipation thermique d'énergie.

La réversion de ce mécanisme est possible lorsque les intensités lumineuses diminuent. La déprotonation des PsbS permet le désengagement de la zéaxanthine. La conversion de zéaxanthine en violaxanthine se fait par la zéaxanthine époxydase (pH optimum environ égal à 7.5, Yamamoto, 1979).

Quantitativement, la dissipation thermique d'énergie est de loin la forme de dissipation d'énergie (lumineuse ou électronique) la plus importante. En effet, elle permet de dissiper plus de la moitié de l'énergie absorbée, jusqu'à 70 %, même chez des plantes bien irriguées (Chaves *et al.*, 2002 ; Flexas et Medrano, 2002). Parmi toutes les voies de dissipation d'énergie possible, la part de la dissipation thermique peut s'élever jusqu'à 70-90 % lors d'un stress hydrique modéré à sévère (Flexas et Medrano, 2002).

B-4-3 Systèmes consommateurs d'électrons

Lorsque le flux électronique vers la carboxylation (J_C) est réduit, le flux électronique vers la photorespiration (J_O) peut permettre de consommer les électrons excédentaires (Wingler *et al.*, 2000 ; Cornic et Fresneau, 2002 ; Lawlor et Cornic, 2002).

La photorespiration a pour origine la double spécificité de la Rubisco pour le CO₂ et l'O₂. En conditions naturelles, on considère que pour quatre molécules de CO₂ assimilées pour la photosynthèse, une molécule de CO₂ est perdue par la photorespiration. Lorsque les stomates se ferment en conséquence d'un stress hydrique, le rapport CO₂/O₂ diminue, favorisant la photorespiration. Il est ainsi courant d'observer une augmentation du rapport photorespiration sur photosynthèse en conditions de stress hydrique (Lawlor et Cornic, 2002).

De plus, la photorespiration produit des métabolites comme la sérine ou la glycine, précurseurs d'antioxydants (tel le glutathion pour la glycine). La photorespiration pourrait ainsi participer à la protection contre les dommages oxydatifs (Wingler *et al.*, 2000).

D'autres puits alternatifs d'électrons peuvent être sollicités en conditions de stress hydrique. La réaction de Mehler participe à l'utilisation d'électrons surnuméraires au niveau des PSI. La réduction des molécules d'H₂O en O₂ au niveau des PSI initie le transfert d'électrons par la chaîne de transporteurs. Cependant, si des électrons sont en excès, O₂ peut être réduit en anion O₂⁻. Ces anions sont ensuite réduits en O₂ et H₂O₂ par la superoxide dismutase (SOD). Enfin, H₂O₂ est réduit en H₂O par l'ascorbate peroxidase. Ce cycle de régénération des molécules d'eau est aussi appelé "water-water cycle".

Un dernier mécanisme consommateur d'électrons en excès est la réduction des nitrates.

La contribution des puits alternatifs, en particulier de la réaction de Mehler, dans la dissipation d'énergie électronique excédentaire reste faible, inférieure à 10 % (Cornic et Fresneau, 2002 ; Flexas et Medrano, 2002). La réaction de Mehler a donc un impact faible lors d'un stress hydrique (Chaves *et al.*, 2002).

B-4-4 Systèmes protecteurs

Afin de limiter l'absorption d'UV néfastes et ainsi de protéger les structures de la feuille, des flavonoïdes peuvent être produits. Ils jouent le rôle d'écran solaire. Ce phénomène est couramment observé dans le cas de l'acclimatation à une forte intensité lumineuse (Meyer *et al.*, 2006). Les flavonoïdes ont également des propriétés antioxydantes.

Afin de lutter contre les contraintes photooxydatives, des systèmes et molécules antioxydants sont activés en permanence au sein de la plante. En conditions de stress hydrique et photooxydatif accru, leur importance devient fondamentale. Parmi les principaux antioxydants mis en jeu, on peut citer le β-carotène, les tocophérols et le cycle de l'ascorbate-glutathion.

- Le β-carotène permet à l'oxygène de retourner à son état stable, triplet.
- Les tocophérols (α-tocophérol en particulier) diminuent le taux d'oxygène singulet et piègent les lipides peroxydés.
- Le cycle de l'ascorbate-glutathion (réactions de Halliwell-Asada) élimine H₂O₂. L'ascorbate participe aussi à la régénération de l'α-tocophérol, après son action sur les lipides peroxydés, et à la conversion de violaxanthine en zéaxanthine.

On observe généralement une synthèse accrue d'antioxydants en conditions de stress hydrique (Chaves *et al.*, 2002 ; Flexas *et al.*, 2006). Néanmoins, quelques auteurs rapportent qu'une partie des défenses antioxydantes pourrait être détruite lors d'un stress très sévère, notamment du fait de la mort de certaines cellules productrices (Kranter *et al.*, 2002). Dans ces conditions, les concentrations en α-tocophérol, glutathion, β-carotène et ascorbate diminuent avec le stress, jusqu'à atteindre zéro pour les deux derniers composés (Kranter *et al.*, 2002 ; Bacelar *et al.*, 2006 pour le carotène uniquement).

B-4-5 Atteinte des photosystèmes et du transport d'électrons

➤ *Photosystèmes*

Les avis sont partagés quant à l'atteinte des PSII lors d'un stress hydrique. En effet, un certain nombre d'études montre une diminution de l'efficacité des PSII, Φ_{PSII} (Genty *et al.*, 1989 ; Praexedes *et al.*, 2006). D'autres, au contraire, ne notent aucune atteinte du fonctionnement des PSII (Cornic et Fresneau, 2002), même dans le cas d'un stress sévère et prolongé (Pankovic *et al.*, 1999 sur *Helianthus annuus*).

➤ *Chlorophylle*

De nombreuses études montrent une décroissance de la concentration en chlorophylle avec le stress hydrique (Kaiser *et al.*, 1995 ; Heckathorn *et al.*, 1997 ; Munné-Bosch et Peñuelas, 2004, chez *Arbutus unedo* ; Bacelar *et al.*, 2006, chez *Olea europea*). Cependant, d'autres études montrent qu'au champ, la chlorophylle est assez résistante à la sécheresse (Heckathorn *et al.*, 1997 ; Llorens *et al.*, 2003).

La chlorophylle est en perpétuel équilibre entre synthèse et dégradation (Jacob-Wilk *et al.*, 1999). Réguler sa concentration, *via* la balance dégradation/synthèse, pourrait alors être un moyen pour les plantes de se protéger contre un excès d'énergie lumineuse en conditions de sécheresse. Certains végétaux particulièrement résistants à la sécheresse ("dessication tolerant plants" or "resurrection plants") peuvent ainsi, en adoptant une stratégie appropriée, atteindre des teneurs en eau relative de 4 à 13 % (Kranter *et al.*, 2002).

Kranter *et al.* (2002) proposent deux stratégies différentes. Les espèces "homoiochlorophyllous" garderaient leur pool de chlorophylle intact au cours du dessèchement. Une grande part de l'énergie lumineuse captée et convertie en énergie électrochimique au niveau des centres réactionnels serait alors en excès. Ces espèces devraient alors se munir d'importants mécanismes protecteurs contre les radicaux libres formés. D'un autre côté, les espèces "poikilochlorophyllous", réduiraient leur concentration en chlorophylle afin d'absorber moins d'énergie lumineuse et d'avoir ainsi moins d'énergie électrochimique en excès.

Une perte de chlorophylle pourrait ainsi être le signe d'un stress photooxydatif, ou plus probablement un mécanisme d'acclimatation (adaptation) de la machinerie photosynthétique.

➤ *Protéine D1*

Pour un certain nombre d'auteurs, l'altération des centres réactionnels des PSII est la conséquence principale d'un stress hydrique et s'exprime au niveau de la protéine D1. Cette protéine, constituant clé des PSII, pourrait être dégradée au niveau de son complexe pigmentaire P680 (Melis, 1999). Plus précisément, lorsque les plastoquinones A sont à l'état réduit, elles ne peuvent plus accepter les électrons provenant de l'excitation des P680 (*via* la phéophytine). Des radicaux libres (P680 triplets, puis 3O_2 et 1O_2) peuvent alors se former, entraînant ainsi une modification chimique des P680.

Dégradation et régénération des protéines D1 coexistent en permanence dans la plante. Cependant, lorsque l'excitation lumineuse est trop importante, ou lorsque le transfert d'électrons est bloqué en aval, trop de plastoquinones sont à l'état réduit. Cette modification oxydative déplace l'équilibre entre dégradation et synthèse de la protéine D1. Ainsi, la réparation n'est plus assez efficace. La relation dynamique entre dégradation et régénération des protéines D1 a aussi été vue comme une voie de régulation de la photosynthèse, qui

contrôlerait l'activité des PSII (Adams *et al.*, 2005). L'état d'oxydation des plastoquinones A pourrait être l'acteur principal d'une telle régulation (Melis, 1999).

➤ *Transport d'électrons*

Une atteinte du fonctionnement des PSII a pour conséquence immédiate la diminution du transport d'électrons dans les membranes des thylakoïdes. Les effets du stress hydrique sur l'efficacité des PSII se répercutent ainsi directement sur le transport d'électrons. Cependant, une atteinte directe des protéines impliquées dans le transport d'électrons pourrait être envisagée. Malheureusement, à notre connaissance, aucune étude ne s'y est attachée.

Quelles qu'en soient les causes, le transport d'électrons est généralement réduit lors d'un stress modéré (Medrano *et al.*, 2002 ; Flexas *et al.*, 2004a). Chez *Olea europea* ou *Oriza sativa*, comme chez de nombreuses autres espèces, J_{\max} est lui aussi réduit par le stress (respectivement Diaz-Espejo *et al.*, 2006 ; Zhou *et al.*, 2007)

B-4-6 Atteinte de la synthèse d'ATP et de la régénération du RuBP

De nombreuses études montrent que la limitation de la régénération du RuBP est l'une des premières réponses de la photosynthèse au stress hydrique (Pankovic *et al.*, 1999 ; Tezara *et al.*, 1999 ; Medrano *et al.*, 2002 ; Flexas *et al.*, 2004a).

Nous avons vu au paragraphe B-1-1 que la régénération du RuBP était dépendante de la production d'ATP et de NADPH par le flux d'électrons (et ainsi de l'activité des PSII) et de protéines solubles du stroma.

➤ *Synthèse d'ATP au niveau des ATP synthases : photophosphorylation*

Une baisse de la concentration en ATP des chloroplastes a souvent été observée à la suite d'un stress hydrique, signe d'une perte d'activité des ATP synthases (Tezara *et al.*, 1999 ; Lawlor et Cornic, 2002). Les auteurs observaient alors une diminution de la concentration en CF_0 , l'une des deux sous-unités des ATP synthases (Tezara *et al.*, 1999 ; Lawlor et Cornic, 2002). Plus précisément, la dégradation des liaisons entre les deux sous-unités serait la cause de la diminution d'activité des ATP synthases.

Cependant, selon d'autres auteurs, cette hypothèse ne permet pas de rendre compte de tous les faits expérimentaux (Cornic, 2000 ; Cornic et Fresneau, 2002). D'après les revues de Flexas *et al.* (2004a ; 2004b), peu d'auteurs s'accordent sur cette hypothèse d'une diminution de la concentration en ATP synthases lors d'un stress hydrique.

➤ *Recyclage des phosphates inorganiques et synthèse d'ATP*

Une baisse de concentration en P_i dans les chloroplastes pourrait aussi conduire à une baisse de la synthèse d'ATP. Lorsque l'exportation des triose-phosphates du chloroplaste vers le cytosol est réduite, en raison par exemple d'une diminution de l'activité des SPS, le recyclage des P_i vers le chloroplaste l'est aussi. En effet les transports de trioses-phosphates et P_i sont couplés.

L'activité des SPS est fortement réduite lors d'un stress hydrique, même de niveau modéré (Lawlor et Cornic, 2002 ; Flexas *et al.*, 2004b). Cette régulation pourrait être une conséquence de la diminution de l'activité puit (Paul et Foyer, 2001).

Cependant les avis sont partagés quant à l'importance d'une limitation de la photosynthèse par P_i . Certains auteurs considèrent que la concentration en P_i du chloroplaste limite

effectivement la photosynthèse (Cornic et Fresneau, 2002 ; Flexas *et al.*, 2004b). D'autres montrent au contraire que cette hypothèse, bien que théoriquement possible, est très peu probable (Lawlor et Cornic, 2002). Sur *Olea europea*, Diaz-Espejo *et al.* (2006), ont montré que TPU diminuait avec le stress, sans pour autant conclure que P_i devenait limitant pour la photosynthèse.

➤ *Concentration en réducteurs NADPH*

La concentration en réducteurs (NADPH) pourrait devenir limitante pour la régénération du RuBP. Cependant, lors d'un stress hydrique, la carboxylation étant fortement réduite, le taux de réduction minimal des $NADP^+$ en NADPH, maintenu par le transport d'électrons, est suffisant. Lawlor et Cornic (2002) suggèrent que NADPH ne limite alors pas la photosynthèse

➤ *Régénération du RuBP*

Peu d'études se sont intéressées à l'évolution au cours d'un stress hydrique des activités et des concentrations des enzymes impliquées dans la régénération du RuBP (Flexas *et al.*, 2004a). Ces rares études montrent cependant que l'activité de ces enzymes, même pour des intensités de stress faibles, est parmi les premières à diminuer, avant celle de la Rubisco (Flexas *et al.*, 2004a). La sedoheptulose-1,7-bisphosphatase (SBPase) et la fructose-1,6-bisphosphatase sont fortement affectées par les conditions environnementales, en particulier le stress hydrique, et pourraient être les éléments clés de la régulation de la régénération du RuBP (Allen *et al.*, 1998).

B-4-7 Atteinte de la Rubisco

Une diminution de V_{cmax} est fréquemment observée lors d'un stress hydrique (Diaz-Espejo *et al.*, 2006 ; Zhou *et al.*, 2007).

Les études et synthèses relatives à l'évolution de l'activité de la Rubisco en conditions de stress hydrique sont très nombreuses et parfois contradictoires.

Pour bon nombre d'auteurs, **l'activité initiale** de la Rubisco diminue avec le stress (synthèses et études de Parry *et al.*, 2002 ; Llorens *et al.*, 2003 ; Flexas *et al.*, 2004a ; Zhou *et al.*, 2007). Flexas *et al.* (2004a) montrent, à travers une vaste synthèse de résultats obtenus dans leur laboratoire et dans la littérature, que pour les espèces répertoriées (majoritairement des espèces tempérées), il existe un seuil de conductance stomatique à la vapeur d'eau de $0.15-0.1 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ à partir duquel l'activité initiale de la Rubisco diminue.

Cette diminution peut être la conséquence d'une diminution de **l'état d'activation** de la Rubisco (Lawlor et Cornic, 2002 ; Parry *et al.*, 2002 ; Zhou *et al.*, 2007). D'autres auteurs suggèrent que la diminution d'activité initiale soit aussi due à la fixation d'un inhibiteur, encore indéterminé, sur les sites catalytiques ou à un changement conformationnel de l'enzyme résultant en une activation lente (Parry *et al.*, 2002).

D'autres auteurs, enfin, concluent que l'activité de la Rubisco n'est affectée que dans de quelques très rares cas, loin d'être généralisables (Medrano *et al.*, 2002).

Bon nombre d'études mettent en évidence une diminution de la **concentration** en Rubisco chez les plantes fortement stressées, sur un pas de temps relativement court (voir les revues de Parry *et al.*, 2002 ; Flexas *et al.*, 2004b). Plus spécifiquement, Pankovic *et al.* (1999), observent une diminution de la concentration surfacique en Rubisco chez *Helianthus annuus* lors d'un stress sur le court terme. Heckathorn *et al.* (1997) observent une très forte

diminution de la concentration en protéines solubles du stroma, et parmi elles la Rubisco. Flexas *et al.* (2004b) concluent, à travers leur synthèse bibliographique, qu'une diminution de l'activité initiale de la Rubisco est assez générale, et doit être attribuée à une diminution de la concentration en Rubisco.

De nombreux résultats expérimentaux ont montré qu'une diminution de l'activité puit, comparativement à l'activité source, était à l'origine d'une répression des gènes codant pour la Rubisco, en particulier pour sa petite sous-unité rbcS (Moore *et al.*, 1999). Ce point sera revu au paragraphe B-4-9.

Une très bonne corrélation négative entre la concentration en H₂O₂ et l'activité initiale de la Rubisco a également été observée (Zhou *et al.*, 2007). En effet, l'accumulation de H₂O₂ dégraderait la grande sous-unité de la Rubisco (Ishida *et al.*, 1998). Le changement d'état redox associé serait un signal chloroplastique de la régulation de gènes chloroplastiques et nucléaires (Pfannschmidt, 2003).

Sur un pas de temps plus long, lors d'un stress sévère et prolongé, Pankovic *et al.* (1999) montrent, chez *Helianthus annuus*, que l'activité spécifique de la Rubisco (par mg de Rubisco) diminue, tandis que l'activité par unité de surface foliaire augmente. Ce résultat s'explique par une augmentation de la concentration surfacique en Rubisco. Les auteurs observent, de façon générale, une augmentation de la concentration surfacique en protéines solubles. Ils interprètent ces résultats comme une acclimatation de la plante aux conditions de stress.

Des travaux réalisés en champ montrent que les enzymes solubles du stroma, dont la Rubisco, sont bien plus affectées par un stress hydrique que les composés azotés des thylakoïdes, en particulier la chlorophylle (Heckathorn *et al.*, 1997 ; Llorens *et al.*, 2003).

B-4-8 Atteinte de la respiration mitochondriale

R_d répond de différentes manières à un stress hydrique (Flexas *et al.*, 2005 ; Ribas-Carbo *et al.*, 2005 ; Galmes *et al.*, 2007). Flexas *et al.* (2005) donnent plusieurs explications à cette diversité de résultats : (i) des différences d'espèces et de conditions de croissance, (ii) des interactions complexes entre R_d et les facteurs environnementaux autres que le stress hydrique, (iii) des niveaux de stress à partir desquels le comportement de R_d serait différent. Galmes *et al.* (2007) ont observé sur 11 espèces méditerranéennes, ayant connu les mêmes conditions de croissance et la même intensité de stress, que R_d augmentait pour certaines et restait stable pour d'autres. Ces résultats vérifient la première hypothèse selon laquelle les différences entre espèces seraient responsables de la diversité de réponse de R_d à un stress hydrique.

B-4-9 Inhibition de la photosynthèse par diminution de l'activité puit

La première réponse de la plante à un stress hydrique est une diminution de l'expansion cellulaire et, d'une manière générale, de l'activité puit. Elles se traduit par une diminution de l'exportation de saccharose et ainsi son accumulation dans les cellules de la feuille. Ce phénomène, largement étudié, est à l'origine d'une inhibition de la photosynthèse (voir la synthèse de Paul et Foyer, 2001).

Plus que la concentration en sucres en elle-même, il semble maintenant que ce soit l'activité puit qui soit le régulateur de la photosynthèse (Chapin et Wardlaw, 1988 ; Moore *et al.*, 1999 ; Paul et Foyer, 2001). Lorsque la production d'assimilats dépasse la demande par les puits, des gènes codant pour les enzymes de la photosynthèse sont réprimés. Ainsi, la balance entre l'activité source et l'activité puit (relation sources-puits) est maintenue.

Au cours de l'acclimatation des plantes à une concentration en CO₂ atmosphérique élevée, les plantes ont une faible activité puit comparativement à la production d'assimilats (rapport sources/puits fort). De la même façon, lors d'un stress hydrique, le métabolisme est ralenti. L'activité puit diminue et le rapport sources/puits augmente. Nous parlerons de "limitation par l'activité puit".

De nombreux résultats expérimentaux montrent qu'une limitation de la photosynthèse par l'activité puit réprime les gènes codant pour la Rubisco, plus précisément pour sa petite sous-unité *rbcS* (voir la revue de Moore *et al.*, 1999). Sage (1994) et Adams *et al.* (2005) suggèrent également que d'autres enzymes soient régulées, en particulier celles impliquées dans la régénération du RuBP.

L'azote de ces enzymes serait alors remobilisé vers les puits, pour favoriser la croissance par exemple (Moore *et al.*, 1999 ; Paul et Foyer, 2001). Cependant, si l'azote n'est pas limitant pour la plante, une remobilisation à partir des enzymes de la photosynthèse n'est plus nécessaire. Pour Ainsworth et Rogers (2007), c'est dans ce cas l'activité des enzymes qui est régulée et non pas leurs concentrations, ce qui illustre bien l'influence des relations sources/puits sur la régulation des gènes codant pour les enzymes de la photosynthèse.

Plusieurs travaux ont montré que le métabolisme des hexoses, au niveau des organes sources, permettait de percevoir la diminution de l'activité puit (voir la revue de Moore *et al.*, 1999). Les hexokinases seraient alors les "capteurs" de cette voie de signalisation, conduisant à la répression des gènes codant pour les protéines de la photosynthèse.

Moore *et al.* (1999) proposent que le cycle du saccharose (hydrolyse par les invertases, phosphorylation par les hexokinases et nouvelle synthèse de saccharose) soit le composant régulateur principal de la photosynthèse lorsque l'activité puit est limitante. Un rapport hexose/saccharose élevé indique un fort taux de recyclage du saccharose et donc une exportation et une utilisation faibles. Un rapport hexose/saccharose élevé est associé à une diminution de la capacité photosynthétique (Moore *et al.*, 1999). L'amidon serait alors un réservoir tampon qui permettrait de stocker temporairement les hexoses (Moore *et al.*, 1999 ; Paul et Foyer, 2001). La synthèse d'assimilats et le flux électronique pourraient alors être maintenus (Paul et Foyer, 2001). On observe couramment une forte corrélation entre concentration en amidon élevée et faible taux de photosynthèse.

Par ailleurs, certaines études montrent que l'ABA participe à l'action répressive des gènes codant pour les enzymes de la photosynthèse initiée par les sucres (Arenas-Huertero *et al.*, 2000 ; Rook *et al.*, 2006). Plusieurs voies d'interactions sont envisagées (Rook *et al.*, 2006) : (i) les sucres pourraient réguler la synthèse d'ABA et l'ABA réprimerait les gènes codant pour les enzymes de la photosynthèse *via* le régulateur de transcription ABI4, (ii) l'ABA pourrait moduler le signal véhiculé par les sucres, (iii) l'ABA et les sucres pourraient avoir une action synergique.

B-4-10 Réallocation d'azote

La destruction de protéines ou d'enzymes de la photosynthèse et la régulation de leur synthèse peuvent conduire à une réallocation d'azote au sein de la machinerie photosynthétique. Cette réallocation s'opère des pools les moins limitants vers les pools les plus limitants. En fonction de l'accès à la lumière et de l'âge des feuilles, de telles réallocations entre les pools de capture d'énergie lumineuse (chlorophylle), bioénergétique (transport d'électrons) et de carboxylation (Rubisco) sont courantes (Evans, 1989 ; Niinemets et Tenhunen, 1997 ; Niinemets, 2007).

Cependant, cet ajustement de la capacité photosynthétique n'est pas instantané. Des mécanismes dissipateurs d'énergie ou d'électrons sont donc mis en place afin d'éviter les dommages à la machinerie photosynthétique (Niinemets et Tenhunen, 1997).

Il est aussi probable qu'une partie de cet azote soit réallouée vers des pools non-photosynthétiques, en particulier la proline. La proline est une protéine osmoprotectante très étudiée (Bray, 1997) qui peut s'accumuler jusqu'à 100 fois dans les feuilles (Maggio *et al.*, 2002). La transcription du gène codant pour l'enzyme P5CS impliquée dans sa synthèse serait activée en présence d'ABA et donc lors d'un stress hydrique.

L'activité de la phénylalanine ammonia lyase (PAL) permet de recycler l'azote et se traduit par une accumulation de polyphénols. Une activité accrue de cette enzyme pourrait être le signe d'une remobilisation forte et de la redistribution de l'azote.

- **La photoinhibition est définie comme la réponse de la plante à une exposition prolongée ou prononcée à la lumière (Adams *et al.*, 2005). On l'observe en particulier en conditions de stress hydrique.**
- **La photoinhibition se traduit par la mise en place de mécanismes de protection de la plante contre l'excès de lumière (photoprotection), par une régulation de la machinerie photosynthétique afin d'équilibrer les processus de la photosynthèse, ou par des destructions sous l'effet d'un stress photooxydatif ("photodamage").**
- **Afin d'éviter la production de ROS destructeurs, l'énergie lumineuse et les électrons en excès sont consommés.**
 - (i) **La dissipation thermique d'énergie *via* le cycle des xanthophylles est la forme de dissipation d'énergie la plus importante.**
 - (ii) **La photorespiration ou la réaction de Mehler sont des systèmes de consommation d'électrons en excès.**
- **Les mécanismes antioxydants sont accrus lors d'un stress hydrique. Ils permettent de piéger les ROS qui se forment.**
- **L'activité des enzymes impliquées dans la photosynthèse, leur synthèse, ainsi que celle d'autres protéines clés, et la transcription des gènes les codant, peuvent être régulées. Une diminution de l'activité puit en est un facteur déclenchant. Cette régulation peut, dans certains cas, permettre de minimiser les risques de déséquilibres énergétiques et la formation de ROS.**
- **Les plantes disposent d'une grande quantité de mécanismes de protection pour éviter ou lutter contre le stress photooxydatif. Ceci suggère que les destructions photooxydatives n'apparaissent que sur le court terme, avant activation de tous ces mécanismes.**

C- RELATION ENTRE LES STOMATES ET LA PHOTOSYNTHESE

Nous avons vu que les mouvements des stomates modulaient la photosynthèse, en contrôlant l'apport en CO₂ dans le mésophylle, et que g_s comme A_{net} étaient sensibles à certains facteurs environnementaux. Ainsi, étudier la réponse du rapport g_s/A_{net} aux variations de ces facteurs s'avère pertinente. g_s étant assez directement lié au taux de transpiration, étudier le rapport g_s/A_{net} permet aussi de rendre compte de la double fonctionnalité des stomates : minimiser les pertes d'eau et maximiser la photosynthèse.

Nous commencerons par présenter le cadre conceptuel ayant servi de base aux études de la relation entre g_s et A_{net} : la théorie de l'optimisation. Ensuite, nous envisagerons les variations du rapport g_s/A_{net} sous l'effet ou non d'un stress hydrique. Enfin, nous développerons quelques interprétations permettant de comprendre les liens entre la photosynthèse et le fonctionnement des stomates, et comment ils peuvent être modifiés en conditions de stress hydriques.

C-1 Comportement optimal des stomates : théorie de l'optimisation

C-1-1 Formulation originale

Elaborée à la fin des années 70, la théorie de l'optimisation (Cowan, 1977 ; Cowan et Farquhar, 1977) formalise l'idée selon laquelle le fonctionnement des stomates est soumis à une double contrainte : minimiser les pertes d'eau et maximiser le gain de carbone.

Elle suggère que la sélection naturelle a favorisé les plantes qui contrôlent leurs stomates de telle façon que, à l'échelle de la journée, la transpiration totale soit minimisée, tout en maintenant un apport en CO₂ constant (Hari *et al.*, 1999).

Mathématiquement, cela revient à :

$$\text{minimiser } \int E \cdot dt \quad \text{tout en maintenant } \int A_{\text{net}} \cdot dt \quad \text{constant.}$$

En posant :

	$\int A_{\text{net}} \cdot dt = K$	et ainsi	$\int A_{\text{net}} \cdot dt - K = 0$	<i>éq. 8</i>
où	K est une constante.			

on peut écrire, par définition du multiplicateur Lagrangien, que les stomates ont un comportement optimal (g*) s'il existe λ tel que :

$\frac{\delta}{\delta g_s} \left(\int E \cdot dt \right)_{g^*} - \lambda \cdot \frac{\delta}{\delta g_s} \left(\int A_{\text{net}} \cdot dt - K \right)_{g^*} = 0$	<i>éq. 9</i>
--	--------------

C'est-à-dire s'il existe λ tel que :

$$\int \left(\frac{\delta E}{\delta g_s} \right)_{g^*} dt - \lambda \int \left(\frac{\delta A_{net}}{\delta g_s} \right)_{g^*} dt = 0 \quad \text{éq. 10}$$

et

$$\frac{\delta E}{\delta g_s} - \lambda \cdot \frac{\delta A_{net}}{\delta g_s} = 0 \quad \text{éq. 11}$$

En d'autres termes, les stomates se comportent de façon optimale si le rapport des sensibilités de l'assimilation et de la transpiration à la conductance stomatique reste constant à l'échelle de la journée :

$$\frac{\delta A_{net} / \delta g_s}{\delta E / \delta g_s} = \frac{1}{\lambda} \quad \text{éq. 12}$$

Cette expression revient à écrire que la quantité d'eau perdue par unité de CO₂ consommée, le **coût marginal en eau du gain de carbone** ($\delta E / \delta A_{net}$), reste constante au cours de la journée :

$$\frac{\delta E}{\delta A_{net}} = \lambda \quad \text{éq. 13}$$

L'optimisation est généralement raisonnée à l'échelle de la journée (Hari *et al.*, 1986 ; Thomas *et al.*, 1999b). Les stomates ont alors un comportement optimal à l'échelle de la journée si $\delta E / \delta A_{net}$ est constant et égal à λ .

La valeur de λ ainsi déterminée est stable pour une espèce et des conditions environnementales données.

En intégrant l'équation 11 sur g_s , on obtient une dernière formulation de la théorie de l'optimisation : les stomates ont un comportement optimal si le rapport $E / A_{net} = \lambda$, λ étant une constante.

Dans ce cas, l'**efficacité photosynthétique de l'eau** (A_{net} / E), est elle-même constante.

C-1-2 Validation expérimentale

Farquhar *et al.* (1980a) effectuent la première validation expérimentale de cette théorie de l'optimisation. Ils observent, chez *Nicotiana glauca* et *Corylus avellana*, que $\delta E / \delta A_{net}$ reste constant pour un état hydrique du sol optimal et dans une gamme habituelle de déficit de saturation en vapeur d'eau de l'air (V_{pd} compris entre 0.8 et 3.2 kPa).

Hari *et al.* (1986 ; 1999) ont reformulé la théorie de l'optimisation afin qu'elle apparaisse explicitement dans un modèle de conductance stomatique couplé à la photosynthèse. Les auteurs expriment A_{net} et E en fonction de g_s , de l'intensité lumineuse (Q), des concentrations de l'air ambiant en CO₂ et H₂O et des concentrations intercellulaires en CO₂ et H₂O. En tenant compte de la contrainte d'optimisation ($\delta E / \delta A_{net} = \lambda$) ils expriment g_s en fonction des variables précédentes et de λ .

La théorie de l'optimisation ainsi reformulée a alors été testée au champ : A_{net} , E et g_s estimés sont très satisfaisants et le modèle explique entre 84 et 98 % de la variance observée.

La seconde formulation de la théorie de l'optimisation ($E/A_{\text{net}} = \lambda$) a également été validée (notamment par Franco et Lüttge, 2002).

En revanche, Thomas *et al.* (1999b) ont observé dans la littérature une forte variabilité de $\delta E/\delta A_{\text{net}}$, allant de 100 à 2000 mol H₂O mol⁻¹ CO₂. Givnish (1986) a suggéré que $\delta E/\delta A_{\text{net}}$ soit lié à la conductivité hydraulique de la plante.

Thomas *et al.* (1999a) estiment $\delta E/\delta A_{\text{net}}$ par cinq méthodes différentes, sur *Maranthus corymbosa* et *Myristica insipida* (deux espèces d'arbres de forêt pluvieuse), et montrent que ce rapport augmente avec V_{pd} . Ces mêmes auteurs (Thomas *et al.*, 1999b) complètent cette étude avec six espèces provenant de milieux écologiques différents. $\delta E/\delta A_{\text{net}}$ augmente avec V_{pd} et Q , diminue lorsque l'état hydrique du sol est dégradé, mais reste insensible aux variations de température.

La réponse observée de $\delta E/\delta A_{\text{net}}$ au V_{pd} semble contradictoire avec les conclusions de Farquhar *et al.* (1980a) présentées précédemment. Cependant, la gamme de V_{pd} étudiée par Thomas *et al.* (1999a ; 1999b) est très large (1 à 6 kPa), et est rarement rencontrée en intégralité pour une même espèce ou une même étude. Aux extrêmes de cette large gamme, les stomates pourraient en effet se comporter de façon non-optimale.

La variation de $\delta E/\delta A_{\text{net}}$ en fonction de l'état hydrique du sol sera approfondie au paragraphe C-1-4.

Dans les gammes de V_{pd} rencontrées au champs, et pour des conditions hydriques non-limitantes, l'hypothèse que l'efficacité photosynthétique de l'eau reste constante a ainsi été validée.

C-1-3 Optimisation simultanée des efficacités photosynthétiques de l'eau et de l'azote

Le formalisme précédent peut apparaître réducteur, dans le sens où il ne considère pas le lien physiologique fort qui existe entre l'efficacité photosynthétique de l'eau et celle de l'azote. L'efficacité photosynthétique de l'eau détermine l'apport en carbone, tandis que l'efficacité photosynthétique de l'azote détermine la demande en carbone. Il apparaît alors plus pertinent de définir le comportement optimal des stomates comme celui qui maximise le ratio journalier entre l'assimilation nette de CO₂ et la quantité de ressources (azote ou eau) disponibles (Buckley *et al.*, 2002). Le comportement optimal est atteint lorsque les coûts marginaux en eau et en azote, $\delta A_{\text{net}}/\delta E$ et $\delta A_{\text{net}}/\delta N$, restent simultanément constants (Buckley *et al.*, 2002).

Bien que l'étude de cette double optimisation se révèle plus pertinente que celle de l'optimisation de l'efficacité photosynthétique de l'eau seule, elle sera juste mise en perspective par la suite, sans être approfondie. Nous préférons nous attacher à la formulation originelle de l'optimisation (Cowan, 1977 ; Cowan et Farquhar, 1977) de complexité moindre.

C-1-4 Stress hydrique et théorie de l'optimisation

Thomas *et al.* (1999b) ont observé que $\delta E/\delta A_{\text{net}}$ diminuait lorsque le déficit hydrique du sol augmentait. Les auteurs ont travaillé sur des plantes en pots, et aucune indication de durée du stress n'est donnée. Cependant, compte tenu des modalités de dessèchement (arrosage inférieur à la demande) et des potentiels du sol atteints, on peut estimer que le stress a été imposé durant quelques semaines.

Xu et Baldocchi (2003), au contraire, ont étudié au champ les effets des variations saisonnières d'état hydrique du sol et n'ont observé qu'une légère tendance à la diminution de $\delta E/\delta A_{\text{net}}$. Ils concluent alors à la stabilité de $\delta E/\delta A_{\text{net}}$ en conditions réelles, au champ.

De nouvelles études seraient nécessaires afin de confirmer ces résultats et de trancher quant à l'effet d'une diminution de l'état hydrique du sol sur $\delta E/\delta A_{\text{net}}$.

Ainsi, en conditions de stress hydrique, les stomates pourraient ne plus suivre le comportement optimal défini par Cowan (1977) et Cowan et Farquhar (1977). En effet, dans les résultats présentés ici, E diminue plus que A_{net} .

Nous verrons au paragraphe C-2-3 que lorsque le stress est plus sévère, la situation s'inverse et A_{net} diminue plus que E .

Afin de comprendre en quoi ces comportements seraient avantageux, nous allons envisager ce qui se passe lorsque les stomates se ferment, et lorsqu'ils restent ouverts, en conditions de stress hydrique.

- Fermer les stomates permet de limiter les pertes en eau et les risques d'embolie. Cependant, fermer les stomates correspond aussi à une diminution du taux d'assimilation de CO_2 et entraîne ainsi une baisse de productivité. En conditions de stress hydrique, souvent accompagnées d'un fort éclaircissement, diminuer le taux d'assimilation augmente les risques de production de ROS, et avec eux, les risques de destruction de la machinerie photosynthétique. Dans ce cas, la productivité sur le long terme serait encore plus diminuée.
- Maintenir les stomates ouverts permet une meilleure assimilation de carbone. Mais en contrepartie, cela accroît les pertes en eau. Lorsque les réserves en eau du sol sont faibles, les risques d'embolie deviennent très importants, limitant sur le long terme la circulation de la sève.

Ainsi, dans un premier temps, fermer les stomates permettrait de maîtriser l'étendu de l'embolie et de préserver l'intégrité du xylème.

Puis, dans un second temps, lorsque le stress et les risques de production de ROS s'intensifient, maintenir une certaine ouverture des stomates pourrait s'avérer avantageux. La photosynthèse serait moins limitée par l'apport de CO_2 , la production de ROS pourrait être moindre et la machinerie photosynthétique préservée. On peut aussi imaginer que la machinerie photosynthétique s'adapte aux conditions de stress afin de permettre une meilleure efficacité de la photosynthèse. Dans cette perspective, l'idée d'une optimisation simultanée de l'efficacité de l'eau et de l'azote (Buckley *et al.*, 2002) se révèle pertinente.

Il faut cependant rester prudent quant à de telles interprétations.

La théorie de l'optimisation, dans sa forme originelle, repose sur l'optimisation du fonctionnement physiologique instantané de la plante. Bien que certainement correcte en conditions de non-stress, en conditions réelles (présence de stress hydrique par exemple), il semble plus juste de raisonner en terme de survie.

Un décalage entre les mécanismes d'optimisation du fonctionnement physiologique instantané et ceux conduisant à la survie de la plante, ou même des conditions environnementales

extrêmes, pourraient expliquer certains faits expérimentaux observés. Par exemple, certains pins de régions sèches gardent leurs stomates très ouverts et ont alors une très mauvaise efficacité photosynthétique de l'eau (inférieure à celle de pins tempérés). En situations très arides, cette propriété permet le maintien d'un niveau d'acquisition de carbone viable. Dans le même ordre d'idées et à l'échelle de trois écosystèmes méditerranéens, Reichstein *et al.* (2002) observent une diminution de l'efficacité photosynthétique de l'eau A_{net}/E avec le stress hydrique.

Nous retiendrons que la base de la théorie de l'optimisation, $\delta E/\delta A_{\text{net}} = \lambda$ (éq. 13), peut ne plus être vérifiée en conditions de stress hydrique et que λ diminue, généralement, avec l'état hydrique du sol.

C-1-5 Extension de la théorie de l'optimisation à l'efficacité photosynthétique intrinsèque de l'eau

La théorie de l'optimisation propose que le rapport E/A_{net} , et ainsi l'efficacité photosynthétique de l'eau A_{net}/E , reste constant.

En considérant la relation qui lie la conductance stomatique à la transpiration :

$$E = g_{s,w} \cdot V_{pd}$$

éq. 3

et en se plaçant dans des conditions où V_{pd} est constant, maintenir le rapport A_{net}/E constant revient à maintenir le rapport A_{net}/g_s constant.

A_{net}/g_s est appelé par certains auteurs (Reichstein *et al.*, 2002 ; Rouhi *et al.*, 2007) **efficacité photosynthétique intrinsèque de l'eau**. Les variations de ce rapport sont étudiées au paragraphe C-2 suivant.

- **La théorie de l'optimisation formalise l'idée selon laquelle le contrôle des stomates tend à minimiser les pertes en eau tout en maximisant le gain de carbone.**
- **Les stomates adoptent un comportement optimal à l'échelle de la journée, lorsque $\delta E/\delta A_{\text{net}}$ ou E/A_{net} reste constant ($\delta E/\delta A_{\text{net}} = \lambda$).**
- **Par extension, lorsque V_{pd} est constant, maintenir E/A_{net} constant correspond à maintenir A_{net}/g_s constant.**
- **Validée expérimentalement en conditions hydriques non-limitantes, cette théorie peut ne plus être vérifiée lors d'un stress hydrique. Dans ce cas, on observe une diminution de λ . L'avantage que pourrait représenter un tel comportement a été discuté.**

C-2 Comportement du rapport g_s/A_{net}

C-2-1 Relation entre l'efficacité photosynthétique de l'eau (A_{net}/E), g_s/A_{net} et C_i

Nous venons de voir que lorsque V_{pd} est constant, les rapports A_{net}/E et A_{net}/g_s sont équivalents.

Par ailleurs, A_{net}/g_s et C_i/C_s varient en sens opposé, selon l'équation de diffusion :

$$A_{net} = g_{s,c} (C_s - C_i) \quad \text{éq. 6}$$

$$\text{d'où} \quad \frac{A_{net}}{g_{s,c}} = C_s \left(1 - \frac{C_i}{C_s} \right) \quad \text{éq. 14}$$

Dans nos conditions expérimentales, la conductance de la couche d'air limite (g_b) est très grande et varie peu. C_s est ainsi considéré comme peu différent de C_a ($C_a - C_s$ tend vers 0) :

$$\frac{A_{net}}{g_b} = (C_a - C_s) \quad \text{éq. 15}$$

Il faut cependant noter que C_s est fonction de la température à la surface de la feuille, alors que C_a est fonction de la température atmosphérique.

Beaucoup d'auteurs étudient alors le rapport C_i/C_a plutôt que C_i/C_s . En conditions naturelles, C_a et C_s sont considérées comme constants. Raisonner sur la base de C_i/C_a , C_i/C_s , ou C_i est donc équivalent.

Compte tenu des éléments précédents, les variables g_s/A_{net} , C_i/C_a , C_i/C_s et C_i sont corrélées et varient dans le même sens. A_{net}/g_s est équivalent à A_{net}/E , l'efficacité photosynthétique de l'eau, tant que l'humidité de l'air reste stable. L'effet du stress hydrique sera par la suite envisagé indifféremment sur l'une ou l'autre de ces variables.

Rappelons tout de même que l'évaluation de C_i en conditions de stress hydrique est délicate. C_i n'étant pas directement mesurable, les valeurs présentées dans la littérature sont estimées à partir de données d'échanges gazeux mesurés, selon von Caemmerer et Farquhar (1981). Ces estimations, bien que courantes, peuvent faire l'objet de trois biais principaux (Lawlor et Cornic, 2002 ; Flexas *et al.*, 2006) dus à : (i) une fermeture hétérogène des stomates (Terashima, 1992), (ii) une transpiration cuticulaire non négligeable, et (iii) l'imprécision des mesures due aux faibles valeurs de g_s et A_{net} lors d'un stress. Nous considérerons par la suite que les résultats présentés ne sont affectés par aucun de ces biais.

C-2-2 Conditions hydriques non-limitantes

Une relation linéaire entre g_s et A_{net} est couramment observée (en particulier Wong *et al.*, 1979), dans une grande variété de conditions environnementales. Wong *et al.* (1978) suggèrent alors qu'il existe un lien direct entre g_s et A_{net} . L'interaction entre g_s et A_{net} serait centrale et leur réponse aux facteurs environnementaux serait coordonnée.

En accord avec la théorie de l'optimisation étendue à l'efficacité photosynthétique intrinsèque de l'eau, Norman (1982) a émis l'hypothèse que les stomates se fermaient pour maintenir le rapport C_i/C_a constant. Un consensus assez général s'est créé autour de cette idée (Wong *et al.*, 1978 ; Mott, 1988 ; Aphalo et Jarvis, 1993), appuyée par de nombreux résultats expérimentaux. Par exemple, Leuning (1995) a montré que C_i/C_s restait constant pour toute variation d'intensité lumineuse et de C_s .

Au cours d'une journée, g_s et A_{net} diminuent aux heures les plus ensoleillées (vers midi, d'où sa dénomination "dépression de midi"). Tuzet *et al.* (2003) ont montré, à l'aide d'un modèle complet du fonctionnement de la plante (couplant conductance stomatique, photosynthèse, transferts radiatifs et trajet d'eau dans la plante), que les profils journaliers de g_s et A_{net} étaient symétriques lorsque l'apport en eau n'était pas limitant. Par conséquent, C_i/C_a et g_s/A_{net} sont constants à l'échelle de la journée.

Certains auteurs ont cependant montré que C_i/C_s (et g_s/A_{net}) pouvait varier en fonction de la température, de l'état nutritionnel de la plante et de ses conditions de croissance. Une relation linéaire ou curvilinéaire entre C_i/C_s et V_{pd} a également été observée (Aphalo et Jarvis, 1993 ; Leuning, 1995).

Pour de très faibles intensités lumineuses, g_s devient tellement faible que l'assimilation de CO_2 peut devenir inférieure à sa consommation par la respiration mitochondriale. C_i et le rapport C_i/C_a augmentent alors. Dans ces conditions, l'hypothèse de Norman (1982) n'est plus vérifiée (Baldocchi, 1994).

De manière générale, on considère que dans la plupart des cas rencontrés dans nos conditions expérimentales, C_i/C_a est maintenu constant lorsque les conditions hydriques ne sont pas limitantes.

C-2-3 Conditions hydriques limitantes

C-2-3-1 Variations journalières de g_s/A_{net} et C_i

La dépression de midi observée pour g_s et A_{net} est d'autant plus précoce et de forte amplitude que le stress hydrique est intense (Baldocchi, 1997 ; Tuzet *et al.*, 2003).

On observe également couramment que les valeurs de g_s et A_{net} sont plus importantes le matin que l'après midi. Le modèle de Tuzet *et al.* (2003) montre effectivement que la symétrie des profils journaliers de ces deux variables disparaît en conditions de stress hydrique. Les auteurs expliquent cette dissymétrie par la diminution du potentiel hydrique foliaire dans l'après-midi, en raison de l'augmentation de la demande évaporative et d'une moindre disponibilité en eau à proximité des racines.

Le modèle de Tuzet *et al.* (2003) montre également qu'en présence de stress hydrique, les variations de g_s sont plus importantes que celles d' A_{net} . Par conséquent, en conditions hydriques limitantes, C_i/C_a varie au cours de la journée, au contraire des situations où le stress hydrique est absent (Tuzet *et al.*, 2003).

C-2-3-2 Variations interjournalières de g_s/A_{net} et C_i

Sur des pas de temps plus longs, interjournaliers, l'intensité du stress hydrique détermine l'évolution de g_s/A_{net} et de C_i . Ces variables diminuent dans un premier temps, puis augmentent lorsque le stress s'intensifie.

Plusieurs auteurs ont cherché à déterminer des seuils de teneur en eau relative (Lawlor et Cornic, 2002) ou de conductance stomatique (Medrano *et al.*, 2002 ; Flexas *et al.*, 2004a) permettant de décrire ce comportement.

- De façon schématique, g_s diminue plus que A_{net} dans les premières phases du stress (Tuzet *et al.*, 2003 ; Rouhi *et al.*, 2007). Les stomates limitent l'entrée de CO_2 dans la cavité sous-stomatique, C_i diminue, et la photosynthèse est ainsi limitée par des **limitations diffusives** (Escalona *et al.*, 1999 ; Lawlor et Cornic, 2002 ; Medrano *et al.*, 2002 ; MacFarlane *et al.*, 2004). Ces limitations se traduisent par une diminution des rapports g_s/A_{net} , C_i/C_a et E/A_{net} (Brodrribb, 1996 ; Escalona *et al.*, 1999 ; Katul *et al.*, 2003 ; Misson *et al.*, 2004), et une augmentation de l'efficacité photosynthétique de l'eau A_{net}/E (Tenhunen *et al.*, 1990). La photosynthèse maximale en conditions de CO_2 et de lumière saturantes (A_{max}) et J_{max} restent stables (Lawlor et Cornic, 2002 ; Medrano *et al.*, 2002 ; Flexas *et al.*, 2004a).

Dans une seconde phase, lorsque le stress s'intensifie, des **limitations métaboliques** s'installent. L'utilisation photosynthétique de CO_2 pour la synthèse d'hexoses diminue, ce qui se traduit par une augmentation de C_i et de g_s/A_{net} (Luo, 1991 ; Brodrribb, 1996 ; Lawlor et Cornic, 2002 ; Medrano *et al.*, 2002 ; MacFarlane *et al.*, 2004). A_{max} , le flux d'électrons et la conductance mésophyllienne diminuent jusqu'à devenir très faibles (Medrano *et al.*, 2002 ; Flexas *et al.*, 2004a). Le rapport F_v/F_m diminue, ce qui est un signe de photoinhibition (Medrano *et al.*, 2002 ; Flexas *et al.*, 2004a).

Ces observations amènent à se demander si la relation entre g_s et A_{net} observée en conditions hydriques non-limitantes ne serait pas fortuite.

- Pour Lawlor et Cornic (2002), certaines espèces, qu'ils qualifient d'espèces de type 1, adoptent clairement ce comportement en deux phases. Le passage des limitations diffusives aux limitations métaboliques se produit lorsque la teneur en eau relative est égale à 75 %. Pour d'autres espèces, dites espèces de type 2, limitations stomatiques et métaboliques sont mêlées tout au long du dessèchement.

Flexas *et al.* (2004a) et Medrano *et al.* (2002) décrivent la progression du stress hydrique en fonction de la conductance stomatique, considérée comme paramètre de référence. A la suite d'une vaste synthèse de résultats obtenus dans leur laboratoire et dans la littérature, chez des espèces majoritairement tempérées, les auteurs concluent qu'il existe deux seuils principaux de conductance stomatique.

Pour des conductances stomatiques supérieures à $0.15 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, seule la diffusion limite la photosynthèse et C_i diminue.

Lorsqu'elles sont comprises entre 0.15 et $0.05 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, les limitations diffusives restent prédominantes mais des limitations métaboliques commencent à apparaître. Lawlor et Cornic (2002) ont alors observé que même lorsque le stress était intense, C_i pouvait rester stable ou diminuer. Dans ce cas, la baisse de C_i due aux limitations diffusives l'emporterait face à l'augmentation théorique de C_i causée par les limitations métaboliques.

Lorsque les conductances stomatiques deviennent inférieures à $0.05 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, les limitations métaboliques deviennent prépondérantes et C_i augmente.

La plupart des études portant sur l'évolution de l'efficacité photosynthétique de l'eau (A_{net}/E) ont été réalisées dans des conditions naturelles, en champ, avec un degré de stress modéré. Dans ces conditions, les limitations diffusives sont majoritaires et entraînent une diminution de E/A_{net} . Ceci explique qu'on ne rapporte que très rarement une augmentation de E/A_{net} et justifie ce qui a été établi au paragraphe C-1-4 de cette section, à savoir que λ diminuait généralement avec l'état hydrique du sol.

- Les variables g_s/A_{net} , C_i/C_a et C_i sont corrélées et varient dans le même sens. A_{net}/g_s est équivalent à A_{net}/E , l'efficacité photosynthétique de l'eau, tant que l'humidité de l'air reste stable. Toutes ces variables permettent de traduire le même phénomène : la variation simultanée de g_s et A_{net} .
- Une corrélation linéaire est couramment observée entre g_s et A_{net} . Ainsi, le rapport g_s/A_{net} est maintenu constant.
- En conditions de stress hydrique, g_s/A_{net} et C_i diminuent lorsque la photosynthèse est limitée par des limitations diffusives (court terme). g_s/A_{net} et C_i augmentent lorsque la photosynthèse est limitée par des limitations métaboliques (long terme). Entre ces deux situations, divers comportements de C_i peuvent être observés.

C-3 Éléments d'interprétations de la relation entre g_s et A_{net}

L'ensemble des paragraphes précédents a montré que g_s et A_{net} étaient fortement liés, et que leurs variations étaient coordonnées en conditions hydriques non-limitantes. L'hypothèse d'une interaction étroite entre ces deux variables a été émise. Alors que cette hypothèse semble vérifiée en conditions hydriques non-limitantes, elle l'est beaucoup moins lors d'un stress hydrique.

L'étude de cette relation se révèle complexe car elle se décline en trois volets :

- (i) un effet de g_s sur la photosynthèse,
- (ii) un effet de la photosynthèse sur g_s ,
- (iii) une régulation indépendante de ces deux variables.

Connaître les mécanismes qui régissent ces trois aspects pourrait permettre de comprendre dans quelle mesure la relation observée entre g_s et A_{net} résulte de leur interaction (i et ii), ou n'est que fortuite (iii). Les modifications observées en conditions de stress hydrique pourraient alors être mieux interprétées.

Cependant, ces mécanismes ne sont encore que partiellement connus. Nous présenterons dans un premier temps quelques mécanismes qui pourraient être impliqués dans l'interaction entre g_s et A_{net} . Ensuite, nous regarderons de quelle manière ils sont affectés par le stress hydrique, et quelles en sont les conséquences pour la relation entre g_s et A_{net} .

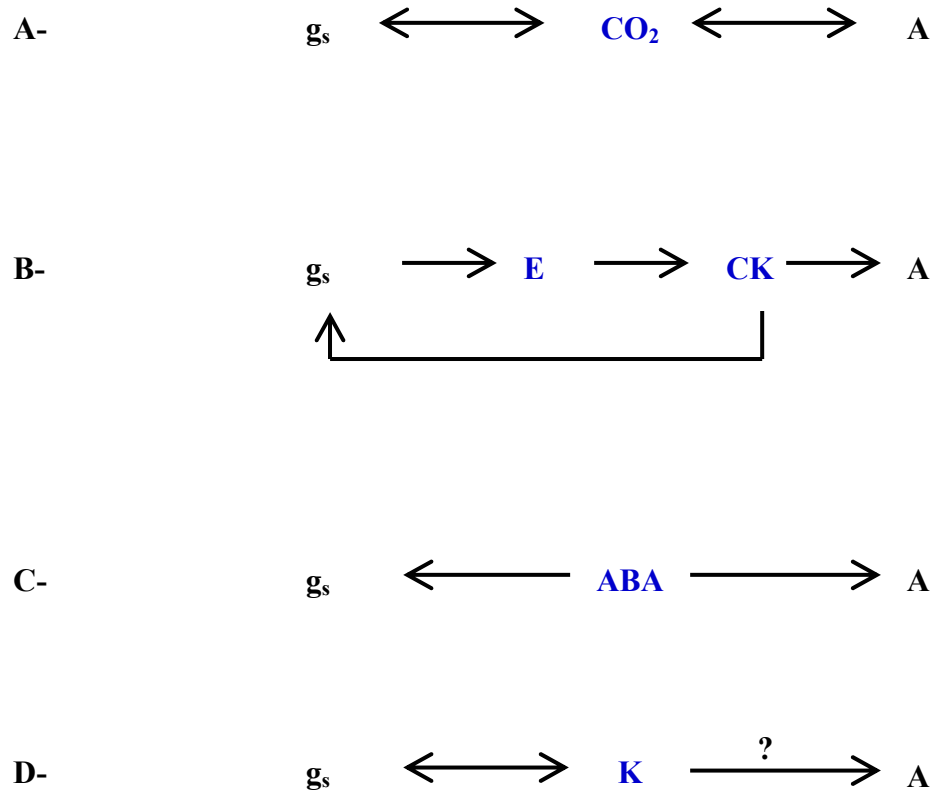


Figure 10 : Schématisation de quelques mécanismes pouvant expliquer la relation entre la conductance stomatique (g_s) et la photosynthèse (A). La photosynthèse représente tout aussi bien la photosynthèse instantanée (taux d'assimilation nette de CO_2) que la capacité photosynthétique. Ces mécanismes illustrent une interaction entre g_s et A (A-), un effet unilatéral (B- et D-) ou une régulation indépendante de ces deux variables (C-).

\leftrightarrow : interaction ; \rightarrow : régulation ; ? : lien encore non prouvé.

ABA : acide abscissique ; CK : cytokinines ; E : transpiration ; K : conductivité hydraulique du xylème.

C-3-1 Mécanismes pouvant expliquer la coordination entre g_s et A_{net} en conditions hydrique non-limitantes

Les paragraphes précédents ont montré que g_s et A_{net} semblaient coordonnés, que leur relation apparaissait stable, tant que l'état hydrique n'était pas limitant (en particulier, Wong *et al.*, 1979). Le Roux *et al.* (1999) ont également observé, en conditions hydriques non-limitantes, que la conductance stomatique maximale (g_{smax}) et la photosynthèse maximale à saturation en CO_2 (A_{max}) étaient très bien corrélées. Les auteurs établissent une relation linéaire entre g_{smax} et la concentration surfacique en azote, N_a .

En formalisant mathématiquement les hypothèses d'optimisation des efficacités photosynthétiques de l'eau et de l'azote, Buckley *et al.* (2002) dégagent un lien entre la capacité photosynthétique et la conductance stomatique. En effet, l'optimisation simultanée de ces deux variables conduit à maintenir le coût marginal en eau du gain d'azote, $\delta E/\delta N$, constant (où N représente la concentration foliaire en azote, corrélée à la capacité photosynthétique).

Mitchell et Hinckley (1993) ont montré que l'application d'azote foliaire augmentait la capacité photosynthétique (V_{cmax}), sans modifier g_s dans un premier temps. Dans un second temps, les auteurs notent une adaptation de g_s , qui augmente. Ils concluent alors à un effet direct de la capacité photosynthétique sur la conductance stomatique.

De nombreux liens ont ainsi été établis entre g_s et la photosynthèse, que ce soit la photosynthèse instantanée (A_{net}) ou la capacité photosynthétique (A_{max}). Différents molécules et processus étudiés au cours de cette synthèse bibliographique sont impliqués, mais selon des liens de causes à effets difficiles à établir.

Nous présenterons donc successivement ces différents éléments qui pourraient expliquer (i) l'interaction entre g_s et A_{net} , ou (ii) leur régulation indépendante.

La figure 10 schématise les relations entre g_s , A_{net} et ces éléments.

C-3-1-1 Concentration en CO_2 : un lien direct entre g_s et A_{net} (figure 10A)

La fermeture des stomates, en réduisant l'apport en CO_2 , diminue A_{net} .

En retour, les cellules de garde répondent au CO_2 (voir paragraphe A-4-4). La concentration intercellulaire en CO_2 (et ainsi la demande en CO_2 , A_{net}) module ainsi g_s . Wong *et al.* (1979) mettent en évidence un effet négatif de C_i sur g_s , par application de DCMU (un inhibiteur du flux électronique). En effet, le DCMU bloque le flux électronique, ce qui se traduit par une diminution de A_{net} et une augmentation de C_i . Les auteurs attribuent donc la diminution de g_s observée à cette augmentation de C_i .

Ces relations montrent une **interaction entre g_s et A_{net}** et vont dans le sens de l'hypothèse de Norman (1982) selon laquelle les stomates sont régulés de manière à maintenir C_i/C_a constant. Dans l'hypothèse d'une interaction étroite entre g_s et A_{net} le CO_2 pourrait être un élément clé.

C-3-1-2 Rôle de la conductivité hydraulique du xylème (figure 10B)

La conductivité hydraulique est dépendante du taux d'embolie des vaisseaux, lui-même contrôlé par l'ouverture des stomates. En retour, des modifications de conductivité hydraulique pourraient être un signal de fermeture des stomates.

Conductivité hydraulique et conductance stomatique sont ainsi étroitement liées.

Hubbard *et al.* (2001) ont observé une **relation linéaire entre A_{net} et la conductivité hydraulique** du trajet sol-feuille, en l'absence de stress.

Brodribb et Feild (2000) ont étudié la relation entre la conductivité hydraulique des branches de 16 espèces ligneuses et la capacité photosynthétique de leur feuille (estimée par Φ_{PSII} mesuré à 1000 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Toujours en l'absence de stress hydrique, une relation linéaire a été établie entre ces deux paramètres.

Katul *et al.* (2003) ont alors testé par modélisation l'hypothèse selon laquelle la demande biochimique maximale pour l'acquisition de carbone (capacité photosynthétique) est en équilibre avec le gain maximal permis par les contraintes hydrauliques du trajet sol-racine-xylème.

Les auteurs expriment les limites hydrauliques imposées à la transpiration par l'expression classique de flux (équation 70 : $E = K_{\text{tot}}(\Psi_{\text{sol}} - \Psi_{\text{fol}})$, voir section II, B-4-1) et en utilisant l'expression de la conductance hydraulique, $K_{\text{tot}}(\Psi)$, développée par Jones et Sutherland (1991, voir section II paragraphe B-4-3). Les limites relatives à la demande atmosphérique sont incluses en exprimant la transpiration en fonction de g_s et V_{pd} , puis en exprimant g_s en fonction de A_{net} et des concentrations en CO_2 . Les auteurs obtiennent alors une expression de la limitation hydraulique à la photosynthèse :

$$A_{\text{net}} = \text{fonction} (\Psi_{\text{sol}}, \Psi_{\text{fol}}, K_{\text{tot}}(\Psi) V_{\text{pd}}, C_i) \quad \text{éq. 16}$$

Les limitations biochimiques sont, quant à elles, exprimées selon le modèle de Farquhar *et al.* (1980b) :

$$A_{\text{net}} = \text{fonction} (\text{paramètres de la photosynthèse}, C_i) \quad \text{éq. 17}$$

A l'équilibre, et selon l'hypothèse de départ, les deux équations peuvent être égalées. La résolution en C_i permet de tester ce modèle au champ.

Le modèle donne de très bonnes prédictions et l'hypothèse de départ est validée. Les auteurs proposent alors une **relation entre V_{cmax} et la conductivité hydraulique**. Cette relation est linéaire lorsque l'état hydrique du sol est optimal, et non-linéaire lorsqu'il ne l'est pas.

Bien que les auteurs concluent à un effet limitant de la conductivité hydraulique sur la capacité photosynthétique, aucun lien de causalité n'a pu être mis en évidence.

C-3-1-3 Rôle du flux transpiratoire et de certaines molécules véhiculées

L'une des fonctions principales des stomates est de contrôler le flux transpiratoire. Transpiration et conductance stomatique sont de ce fait étroitement liées.

Plusieurs auteurs se sont intéressés au déterminisme de l'acclimatation à la lumière des feuilles. Pons et Bergkotte (1996) ont montré que des modifications du taux de transpiration (obtenues par des modifications de V_{pd} , en l'absence de variations d'intensité lumineuse) ou

une acclimatation à la lumière conduisaient aux mêmes variations de capacité photosynthétique. Boonman *et al.* (2007) ont par la suite confirmé ces résultats.

➤ *Les cytokinines* (figure 10C)

L'idée a ainsi été émise que l'acclimatation à la lumière pouvait être induite par des composés véhiculés par le flux transpiratoire, en particulier les cytokinines (Pons et Bergkotte, 1996). En accord avec ces hypothèses, Boonman *et al.* (2007) ont montré que la concentration en cytokinines des feuilles dépendait du flux transpiratoire.

Les cytokinines participent à la **synthèse de nombreux composés de la machinerie photosynthétique** (Taiz et Zeiger, 2002). Elles pourraient être un indicateur de la régulation de l'allocation d'azote (et ainsi de la capacité photosynthétique) en réponse aux variations de lumière (Pons et Bergkotte, 1996).

Par ailleurs, les **cytokinines sont reconnues pour augmenter l'ouverture des stomates** (Pospisilova *et al.*, 2000 ; Veselova *et al.*, 2005 ; Boonman *et al.*, 2007) (voir A-1-6).

Les cytokinines pourraient ainsi **réguler g_s et A_{net} de façon indépendante**.

Cependant, **les mouvements des stomates**, en régulant la transpiration, déterminent la quantité de cytokinines apportées aux feuilles et **agissent à leur tour sur la photosynthèse maximale**.

➤ *L'ABA* (figure 10D)

La concentration en ABA des feuilles détermine le degré d'ouverture des stomates.

Jarvis et Davies (1998) ont aussi mis en évidence une relation entre l'ajout expérimental d'ABA dans le flux transpiratoire et une diminution de la photosynthèse maximale en conditions de CO₂ non-limitantes. Les auteurs interprètent ce résultat par un effet de l'ABA **sur l'ouverture des stomates, qui agirait à son tour sur A_{max}** .

Cependant, l'idée d'un effet répresseur direct de l'ABA sur la capacité photosynthétique, comme suggéré entre autre par Dreyer et Scuiller (1989), semble plus plausible. En effet, nous avons vu au paragraphe B-4-9 que les sucres et l'ABA concouraient à réprimer des gènes codant pour des protéines de la photosynthèse (Arenas-Huertero *et al.*, 2000 ; Rook *et al.*, 2006). Dans ce cas, l'ABA permettrait de **réguler indépendamment g_s et A_{net}** .

C-3-1-4 Conclusion

Différents facteurs pouvant être impliqués dans la relation entre g_s et A_{net} ont été ici présentés. Les liens de causalité ne sont pas bien connus et d'autres éléments, non-évoqués ici, participent aussi probablement à cette relation.

Certains régulent g_s et A_{net} de façon indépendante et d'autres leurs permettent d'interagir. Ainsi, il semble peu probable que la relation linéaire observée entre g_s et A_{net} en conditions hydriques non-limitantes résulte uniquement d'une interaction étroite entre ces deux variables. Cependant, l'hypothèse d'une régulation totalement indépendante doit elle-aussi être exclue.

La relation entre g_s et A_{net} doit alors être la conséquence d'une **combinaison de régulations et d'interactions**.

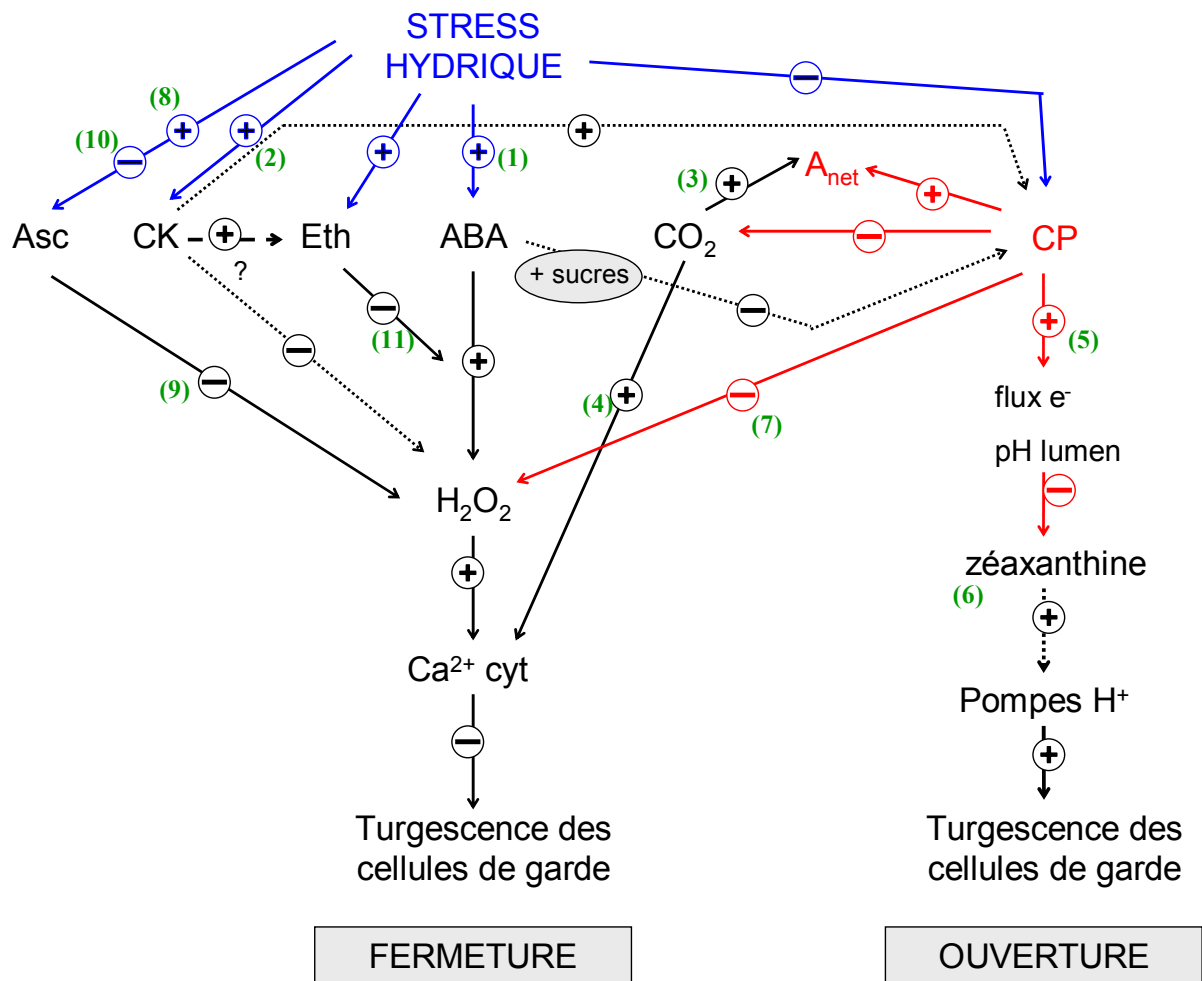


Figure 11 : Effet du stress hydrique sur quelques processus et molécules impliqués dans la régulation des mouvements des stomates (fermeture et ouverture) et de la photosynthèse. Les numéros entre parenthèses renvoient aux mécanismes décrits dans le texte au paragraphe C-3-2 de la section I. Les flèches indiquent qu'un élément influe sur l'autre : ⊕ indique une relation positive, ⊖ indique une relation négative. Certains mécanismes sont encore peu connus à l'heure actuelle, ils sont représentés en pointillés. ABA ; acide abscissique ; A_{net} : assimilation nette de CO₂ ; Asc : acide ascorbique ; Ca²⁺ cyt : concentration en Ca²⁺ dans le cytosol ; CK : cytokinines ; CP : capacité photosynthétique ; Eth : éthylène ; e⁻ : électrons

C-3-2 Effet du stress hydrique sur quelques processus et molécules impliqués dans la régulation de g_s et A_{net}

Lors d'un stress hydrique, g_s et A_{net} diminuent. Leur relation reste linéaire au cours d'une journée, mais le rapport g_s/A_{net} varie. Cette observation va dans le sens de la conclusion du paragraphe précédent : une interaction simple entre g_s et A_{net} serait exclue.

Les effets du stress hydrique sur la physiologie de la plante sont multiples. Les processus et molécules abordés au paragraphe précédent, ainsi que ceux à l'origine des mouvements des stomates présentés au paragraphe A-1, sont tous susceptibles d'être affectés. La réponse de g_s et A_{net} , ainsi que leur relation est donc d'autant plus complexe.

Nous étudierons alors maintenant de quelle manière g_s , A_{net} et A_{max} peuvent être modifiés par le stress hydrique sur la base de quelques mécanismes moléculaires qui pourraient être impliqués dans leur relation. Les relations entre ces divers éléments sont schématisées à la figure 11.

C-3-2-1 Variation des concentrations en ABA et cytokinines

Lors d'un stress hydrique, la synthèse d'ABA est accrue et provoque la fermeture des stomates (voir A-1-3 et A-3-4) **(1)**.

Au contraire, la concentration en cytokinines diminue (Pospisilova *et al.*, 2000) **(2)**. Ces hormones ayant un effet inhibiteur sur l'action de l'ABA (synthèse d'éthylène ou piégeage des H_2O_2 , voir A-4-6), la diminution de leur concentration pourrait permettre une action de l'ABA meilleure et concourir à la **fermeture des stomates**.

Nous avons par ailleurs vu (i) que l'ABA pouvait avoir un effet inhibiteur sur la capacité photosynthétique (voir B-4-9) et (ii) que les cytokinines participaient à la synthèse de nombreux composés de la machinerie photosynthétique (voir C-3-1-3).

Ainsi, sur le plus long terme, l'augmentation de la concentration en ABA et la diminution de concentration en cytokinines contribueraient à la diminution de la **capacité photosynthétique** qui peut être observée en conditions de stress hydrique.

C-3-2-2 Modification de la concentration en CO_2 dans la feuille

La conductance stomatique diminue fortement lors du stress hydrique, en particulier sous l'effet de l'ABA. En conséquent, l'apport en CO_2 dans la chambre sous-stomatique et dans le mésophylle est réduit et la **photosynthèse diminue (3)**.

Lorsque le stress est assez long et intense pour que la capacité photosynthétique soit atteinte, la consommation de CO_2 diminue et sa concentration dans le mésophylle de la feuille augmente. **Les stomates** répondent négativement au CO_2 et auraient alors **tendance à se fermer** d'autant plus (voir A-1-4) **(4)**.

Cependant, l'ABA et le CO_2 utilisent la même voie de signalisation (voir A-1-4) pour conduire à la fermeture des stomates. Lors d'un stress hydrique, la réponse des stomates à la forte concentration en ABA dans l'apoplaste proche des cellules de garde pourrait alors masquer la réponse au CO_2 .

C-3-2-3 Diminution du flux électronique

Lorsque le flux électronique diminue, le flux de protons à travers les ATP synthases, du lumen des thylakoïdes vers le stroma, diminue et le lumen s'acidifie (5).

Le pH optimum de la violaxanthine de-epoxidase (enzyme catalysant la conversion de violaxanthine en zéaxanthine) étant de 5.2, cette acidification du lumen favorise la conversion en zéaxanthine. Une activation des pompes à protons par la zéaxanthine a été suggérée (voir A-1-2) et participe à **l'ouverture des stomates (6)**.

Par ailleurs, lorsque le flux électronique est faible comparativement à la quantité d'énergie d'excitation reçue, il y a des risques de production d' H_2O_2 (7). Il a été montré que le peroxyde d'hydrogène était un second messenger important dans la réponse des stomates à l'ABA et qu'il conduisait à leur fermeture (voir A-1-3).

On pourrait alors imaginer que, si des H_2O_2 sont produits, la **fermeture stomatique est favorisée**.

C-3-2-4 Modification de la synthèse d'antioxydants et d'éthylène

Enfin, lors d'un stress hydrique, la synthèse de certaines molécules est modifiée.

La synthèse d'antioxydants, en particulier l'acide ascorbique, est accrue (voir B-4-4) (8). Le cycle de l'ascorbate-gluthation pourrait alors être activé et piéger les H_2O_2 (9) produits lorsque les capacités de transport du flux électronique ne sont pas suffisantes. Dans ce cas, la **fermeture des stomates serait moins importante**.

Cependant, certains auteurs ont observé une diminution du pool d'acide ascorbique qui pourrait résulter d'un déséquilibre de l'état redox de la cellule (Chen et Gallie, 2004) (10). La forte production d'oxydants, en particulier H_2O_2 pourrait expliquer ce déséquilibre. Le piégeage des H_2O_2 produits ne serait alors que partiel et la **fermeture des stomates serait favorisée**. Ce processus permettrait une meilleure tolérance à la sécheresse en limitant les pertes d'eau (Chen et Gallie, 2004).

La synthèse d'éthylène est également accrue en conditions de stress hydrique (Tanaka *et al.*, 2005). L'éthylène et l'ABA se fixent sur les mêmes récepteurs et sont ainsi antagonistes (voir A-1-6) (11). Tanaka *et al.* (2005) ont suggéré que cette synthèse d'éthylène pouvait permettre de **maintenir une certaine ouverture des stomates** et un niveau minimum de photosynthèse pendant le stress.

La succession de mécanismes présentée ici, ainsi que leur importance relative n'est pas connue. C'est la combinaison de tous ces mécanismes qui pourrait expliquer les variations observées dans la relation entre g_s et A_{net} .

Seules des mesures précises et complètes de concentration de certaines molécules ainsi que des outils de biologie moléculaire devraient permettre de dresser un tableau précis et complet des processus mis en place lors d'un stress hydrique.

- La relation entre g_s et A_{net} , se décline en trois volets : (i) un effet direct de g_s sur la photosynthèse, (ii) un effet direct de la photosynthèse sur g_s , et (iii) une régulation indépendante de ces deux variables sous l'effet d'un même facteur.
- Plusieurs mécanismes pourraient expliquer la coordination observée entre g_s et A_{net} lorsque les conditions hydriques ne sont pas limitantes. Parmi eux, nous avons présenté les effets de variations de concentration en CO_2 , de la conductivité hydraulique du xylème, du taux de transpiration, ou plus précisément, des quantités d'ABA et de cytokinines transportées. De nombreux processus restent à préciser et certainement beaucoup d'autres à découvrir.
- Ainsi, des molécules communes sont impliquées dans le contrôle des stomates et de la photosynthèse.
- La combinaison de tous ces mécanismes, modifiés en conditions hydriques limitantes, pourrait expliquer les variations observées dans la relation entre g_s et A_{net} .

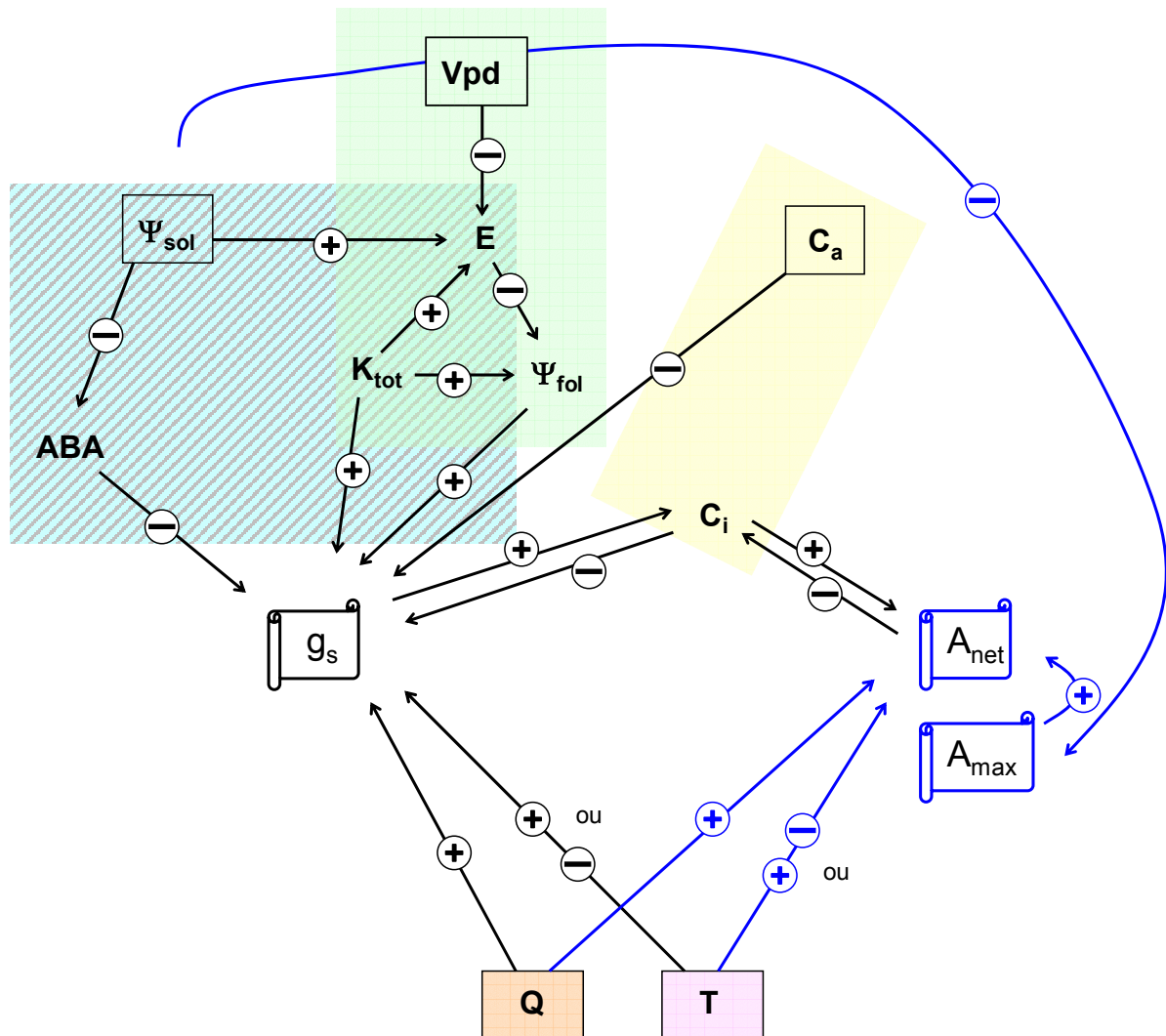


Figure 12 : Relation entre la conductance stomatique (g_s), la photosynthèse (l'assimilation nette de CO_2 A_{net} ou la capacité photosynthétique A_{max}) et les principaux facteurs environnementaux et physiologiques qui les modifient. Les déterminismes moléculaires connus à l'heure actuelle n'ont pas été représentés afin de faciliter la lecture. Les flèches indiquent qu'un élément influe sur l'autre : \oplus indique une relation positive, \ominus indique une relation négative.

ABA : acide abscissique ; C_a : concentration en CO_2 de l'air ; C_i : concentration intercellulaire en CO_2 ; E : transpiration ; K_{tot} : conductance hydraulique du xylème totale sur le trajet sol-feuille ; Q : intensité lumineuse ; T : température ; Vpd : déficit de saturation en vapeur d'eau de l'air ; Ψ_{fol} : potentiel hydrique foliaire ; Ψ_{sol} : potentiel hydrique du sol.

D- CONCLUSIONS

L'ensemble de ce qui a été présenté dans les trois parties précédentes souligne la complexité du déterminisme de l'ouverture des stomates.

Nous avons envisagé trois niveaux de réflexion :

- un niveau large, en regardant la réponse des stomates aux facteurs environnementaux (climatiques et état hydrique du sol)
- un niveau intermédiaire, en s'intéressant aux variables qui décrivent le fonctionnement physiologique de la plante
- un niveau plus fin, en abordant le déterminisme moléculaire des mouvements des stomates.

La photosynthèse est, elle aussi, affectée par ces différents éléments, en particulier le stress hydrique.

De plus, le fonctionnement des stomates et la photosynthèse résultent d'une combinaison d'interactions et de régulations indépendantes. La relation entre ces deux éléments est alors complexe et les mécanismes impliqués encore peu connus.

La figure 12 regroupe les principales variables qui modifient g_s et A_{net} . Les déterminismes moléculaires connus à l'heure actuelle n'ont pas été indiqués afin de faciliter la lecture. Les figures 3 et 4 les ont précédemment représentés.

Pour mettre de l'ordre dans toutes ces relations, le recours à la modélisation peut s'avérer très efficace.

SECTION II : MODELISATION DE LA CONDUCTANCE STOMATIQUE

Dans cette section, nous présenterons les différentes voies de modélisation utilisées afin de rendre compte de la réponse des stomates aux principaux facteurs déterminant leur ouverture. Nous avons vu, à la section I (voir A-1-2), que la plupart des facteurs climatiques changeaient très rapidement. Au contraire, un déficit hydrique du sol se met en place beaucoup plus lentement. Les pas de temps de réponse des stomates sont ainsi différents et les effets de ces différents facteurs sont souvent étudiés séparément.

La modélisation de la conductance stomatique en conditions de stress hydrique est relativement récente et repose principalement sur les concepts et méthodes élaborés en conditions non-stressantes.

Afin de comprendre le cadre général de modélisation de la conductance stomatique, nous aborderons, dans une première partie, les modèles de réponse aux facteurs climatiques, en l'absence de stress hydrique. Dans une seconde partie, nous présenterons un certain nombre de modèles adaptés aux conditions de stress hydrique.

Nous rappelons ici que, dans le texte, la conductance stomatique est toujours notée g_s . Dans les équations, les conductances stomatiques à la vapeur d'eau et au CO_2 ($g_{s,w}$ et $g_{s,c}$ respectivement) sont au contraire différenciées.

Le tableau 4 regroupe l'ensemble des modèles présentés dans cette section.

A- MODELES SANS STRESS HYDRIQUE

A-1 Réponse des stomates aux facteurs environnementaux seuls (relation g_s -E)

La plupart des variables climatiques et environnementales influent sur l'ouverture ou la fermeture des stomates (voir section I, A-2). En particulier, l'intensité lumineuse (Q), la concentration en CO_2 de l'air (C_a), le taux d'humidité de l'air (humidité relative h_r , et/ou déficit de saturation en vapeur d'eau de l'air V_{pd}) et la température sont couramment étudiés.

A-1-1 Modèles généraux, intégrant les effets de l'ensemble des facteurs environnementaux

De nombreux auteurs ont proposé d'intégrer la totalité ou une partie de ces facteurs environnementaux dans des modèles empiriques, pour la plupart multiplicatifs. Dans ce type de modèles, la réponse à chaque facteur est supposée indépendante et est déterminée à partir de courbes limites ("boundary line analysis", Webb, 1972).

Jarvis (1976) a le premier proposé un modèle complet, empirique, de réponse des stomates à l'ensemble de l'environnement. Ce modèle est basé sur l'hypothèse selon laquelle la conductance stomatique est dépendante de Q et de limitations imposées par d'autres facteurs

environnementaux : température à la surface de la feuille (T_f), Vpd et C_a . L'état hydrique de la feuille, conséquence de la demande évaporative et du statut hydrique de la plante, a aussi été pris en considération en intégrant une réponse des stomates au potentiel hydrique foliaire (Ψ_{fol}). Enfin, la dépendance de g_s vis-à-vis de ces quatre variables est exprimée de façon multiplicative.

Chaque facteur agit ici de manière **supposée** indépendante :

$$g_{s,w} = f_1(Q).f_2(T_f).f_3(Vpd).f_4(C_a).f_5(\Psi_{fol}) \quad \text{éq. 18}$$

où les f_i sont des fonctions empiriques des différentes variables étudiées :
 $f_1(Q)$ est une fonction asymptotique,
 $f_2(T_f)$ une fonction hyperbolique,
 $f_3(Vpd)$ une fonction linéaire,
 $f_4(C_a)$ une fonction décroissante partiellement linéaire,
 $f_5(\Psi_{fol})$ une fonction exponentielle négative.

Les résultats de ce modèle sont satisfaisants. Une première validation, effectuée en laboratoire, conclut que 95 % des variations observées de g_s sont expliquées par le modèle (Jarvis, 1976). Les avis sont cependant contrastés quant à la généralisation des paramètres des fonctions de réponse déterminés dans cette étude (Misson *et al.*, 2004). Il est alors préférable de les paramétrer pour chaque situation.

C'est l'hypothèse d'indépendance entre les facteurs qui fait l'objet des principales critiques de ce type de modèles.

Suivant la même idée, White *et al.* (1999) modélisent l'ouverture instantanée des stomates en conditions hydriques non-limitantes comme le produit de l'ouverture stomatique maximale (g_{smax}) et de fonctions de Q , T_f et Vpd :

$$g_{s,w} = g_{smax}.f(Q).f(T_f).f(Vpd) \quad \text{éq. 19}$$

où les fonctions de réponse à Q , T_f et Vpd sont des relations empiriques à paramétrer.

D'autres approches, basées sur l'idée d'un facteur limitant, ont aussi été développées. Notamment, Noe et Giersch (2004) considèrent que la conductance stomatique est fonction du minimum de deux limitations, par l'une par Q et l'autre par Vpd :

$$g_{s,w} = g_{smax} \cdot \min[f(Q), f(Vpd)] \quad \text{éq. 20}$$

A-1-2 Réponse spécifique des stomates à l'humidité de l'air, à la transpiration et au potentiel hydrique foliaire

Nous avons vu, à la section I, que l'humidité de l'air, la transpiration (E) et Ψ_{fol} étaient fortement liés. La réponse des stomates à ces trois facteurs a été largement étudiée, et modélisée.

A-1-2-1 Humidité de l'air

Selon les auteurs, l'humidité de l'air est exprimée en terme de pression partielle ou concentration en vapeur d'eau (p_w), d'humidité relative (h_r), de déficit de saturation en vapeur d'eau (Vpd) ou de potentiel hydrique (Ψ).

Ψ est rarement utilisé pour caractériser l'état hydrique de l'air et ne sera pas étudié ici.

h_r et Vpd sont tous les deux des fonctions de p_w et de la pression partielle en vapeur d'eau à saturation à la température considérée, $p_{ws(T)}$:

$$h_r = \frac{p_w}{p_{ws(T)}} \quad \text{éq. 21}$$

$$Vpd = p_{ws(T)} - p_w \quad \text{éq. 22}$$

Cependant, la réponse des stomates à h_r n'est pas unique et son allure est différente selon les conditions d'expérimentation (Aphalo et Jarvis, 1991). Au contraire, la réponse des stomates à Vpd est linéaire quelles que soient les conditions (Aphalo et Jarvis, 1991).

Monteith (1995) a plus précisément décrit la réponse apparente des stomates à Vpd. Dans les gammes classiques de Vpd (c'est-à-dire hors valeurs extrêmes), il a montré que g_s décroît de façon légèrement exponentielle lorsque Vpd augmente.

Parmi les nombreuses relations qui ont été proposées pour rendre compte de l'effet de Vpd sur g_s , trois sont particulièrement utilisées :

- une approximation linéaire tenant compte de l'ouverture maximale des stomates (Monteith, 1995) :

$$g_{s,w} = g_{smax} - k.Vpd \quad \text{éq. 23}$$

où k est un paramètre empirique.

En toute rigueur, g_{smax} est atteint lorsque la saturation en eau de l'air est proche. Dans ces conditions, il est difficilement mesurable car les erreurs de mesures de g_s et Vpd sont importantes. Pour cette relation, g_{smax} est alors généralement estimé par extrapolation de la courbe.

- une fonction linéaire du logarithme de Vpd :

$$g_{s,w} = b - m.\ln(Vpd) \quad \text{éq. 24}$$

où $(-m)$ représente la sensibilité des stomates à Vpd ;
 b est une conductance de référence mesurée à $Vpd = 1\text{kPa}$.

Cette relation permet de ne plus avoir à estimer g_{smax} comme dans l'approximation linéaire.

- la relation hyperbolique de Lohammer *et al.* (1980) qui permet de simuler la relation linéaire couramment observée entre g_s et E (voir plus loin) :

$$g_{s,w} = \frac{1}{\left(1 + \frac{Vpd}{D_0}\right)} \quad \text{éq. 25}$$

où D_0 est un paramètre empirique.

A-1-2-2 Transpiration

Dans la gamme classique (hors extrêmes) de transpiration rencontrée en conditions naturelles, g_s est une fonction linéaire décroissante de E (Monteith, 1995) :

$$g_{s,w} = a(1-b.E) \quad \text{éq. 26}$$

Dans cette gamme, la relation linéaire entre g_s et E peut être transformée en une relation linéaire entre $1/E$ et $1/Vpd$, relation fréquemment observée.

En considérant la relation liant g_s , E et Vpd :

$$E = g_{s,w} \cdot Vpd \quad \text{éq. 3}$$

et en substituant $g_{s,w}$ calculé par l'équation 3 dans l'équation 26, on obtient :

$$\frac{E}{Vpd} = a(1 - bE) \quad \text{éq. 27}$$

En divisant cette dernière équation par $a.E$, on obtient la relation attendue :

$$\frac{1}{E} = \frac{1}{a.Vpd} + b \quad \text{éq. 28}$$

A-1-2-3 Potentiel hydrique foliaire

Nous avons vu, au paragraphe A-3-2 de la section I, que plusieurs auteurs ont suggéré que les stomates répondaient aux variations à très court terme du potentiel hydrique des cellules de garde et épidermiques proches (en particulier, Mott et Parkhurst, 1991).

Certains auteurs (en particulier Dewar, 1995) ont alors proposé des modèles mécanistes où g_s était exprimé de façon à tenir compte du fonctionnement des cellules de garde (modèles "hydromécanistes"). Ces auteurs suggèrent que c'est la différence entre la pression de turgescence des cellules de garde ($P_g > 0$) et celle des cellules de l'épiderme ($P_e > 0$) qui est le moteur du mouvement des stomates.

Dewar (1995) a alors proposé :

$$g_{s,w} = \chi (P_g - P_e) \quad \text{éq. 29}$$

où χ est une constante empirique.

Par ailleurs, en prenant pour convention que le potentiel hydrique (Ψ) est négatif et que le potentiel osmotique (π) est positif :

$$\Psi_g = (P_g - \pi_g) \quad \Psi_e = (P_e - \pi_e) \quad \Psi_e - \Psi_g = \frac{E}{k} \quad \text{éqs. 30-31-32}$$

où Ψ_g et π_g sont respectivement les potentiels hydrique et osmotique des cellules de garde ;
 Ψ_e et π_e sont respectivement les potentiels hydrique et osmotique des cellules de l'épiderme ;
 k est la conductance hydraulique entre une cellule moyenne de la feuille et les cellules de garde.

En combinant les équations 29 à 32, on aboutit à une relation entre g_s et la différence de potentiel osmotique entre les cellules de garde et les cellules de l'épiderme ($\Delta\pi$) :

$$g_{s,w} = \chi \cdot \Delta\pi \left(1 - \frac{E}{k \cdot \Delta\pi} \right) \quad \text{éq. 33}$$

Cette différence de potentiel osmotique est difficilement mesurable. Les auteurs interprètent alors leur modèle en se rapprochant du modèle de conductance stomatique développé par Leuning (1995) qui sera vu au paragraphe A-2-1. L'idée est que la turgescence des cellules de garde (et ainsi g_s) dépend du flux de solutés à l'intérieur des cellules de garde. Elle est ainsi fonction de l'activité photosynthétique. Nous ne rentrerons pas dans les détails de l'analogie qui est faite entre les deux modèles. Nous noterons seulement que $\Delta\pi$ s'exprime en fonction du taux d'assimilation de CO_2 :

$$\Delta\pi = f(A_{net}, C_i, g_{s,w}) \quad \text{éq. 34}$$

où A_{net} est fonction de C_i , T_f et Q .

Cette expression fait apparaître un effet de g_s sur $\Delta\pi$. Dewar (1995) l'explique mécaniquement par le fait que les variations du volume des cellules de garde affectent la perméabilité de leurs membranes aux ions impliqués dans l'ajustement osmotique.

Ce modèle est le premier réellement mécaniste. Il présente néanmoins quelques limites : il n'intègre (i) ni la plus forte sensibilité de l'ouverture des stomates à la turgescence des cellules de l'épiderme qu'à celle des cellules de garde (avantage mécanique, voir B-5), (ii) ni les effets du stress hydrique. Ces deux points seront revus à la partie B de cette section.

A-2 Réponse des stomates aux facteurs physiologiques (relation g_s - A_{net})

Nous avons vu à la section I que la réponse des stomates aux facteurs environnementaux est souvent indirecte et passe par une réponse à des facteurs physiologiques. En conditions hydriques non-limitantes, c'est principalement la réponse des stomates à C_i qui a été modélisée.

Cependant, malgré l'intérêt d'utiliser C_i dans des modèles de conductance stomatique, cette variable n'est pas directement mesurable et n'est ainsi jamais explicitement introduite. Etant fortement liée à la photosynthèse, cette réponse des stomates à C_i est couramment traduite en introduisant un terme relatif à la photosynthèse : l'assimilation nette de CO_2 ou une estimation de la capacité photosynthétique. Le modèle de conductance stomatique doit alors être couplé à un modèle de photosynthèse ("modèles couplés photosynthèse / conductance stomatique"). Les modèles de photosynthèse utilisés dans le couplage ainsi que les principes du couplage sont présentés à l'annexe 4.

g_s peut alors être modélisé par :

- un sous-modèle d'assimilation de CO_2 ,
- un sous-modèle basé sur la taille du pool de substrat fixateur de carbone, qui exprime la capacité photosynthétique de la feuille.

Ces deux voies de modélisation sont présentées dans les deux paragraphes suivants.

A-2-1 Conductance stomatique estimée par un sous-modèle d'assimilation de CO_2

Les modèles les plus utilisés se basent sur une **relation directe entre le fonctionnement des stomates et l'assimilation de CO_2** .

Nous avons vu, au paragraphe C-2-2 de la section I, qu'on observe expérimentalement une forte corrélation linéaire entre g_s et A_{net} , lorsque l'intensité lumineuse varie mais que l'humidité relative et l'état hydrique du sol restent constants (Wong *et al.*, 1979 ; Mott, 1988 ; Aphalo et Jarvis, 1991 ; Buckley *et al.*, 2003). Ces observations viennent en appui de la théorie de l'optimisation : E/A_{net} et g_s/A_{net} sont équivalents tant que V_{pd} ne varie pas et sont alors tous les deux constants.

Les modèles de conductance stomatique les plus utilisés ont ainsi été élaborés à partir de l'idée que les stomates ont évolué pour maximiser le gain de carbone, tout en minimisant les pertes en eau (théorie de l'optimisation, Cowan, 1977 ; Cowan et Farquhar, 1977).

Pour Ball, Woodrow et Berry (1987), un modèle empirique simple (qu'on notera BWB) permet de décrire g_s en fonction de A_{net} , h_r et de la concentration en CO_2 à la surface de la feuille (C_s). Dans sa formulation originelle, le modèle indique que la conductance est nulle lorsque l'assimilation est nulle. Par la suite, de nombreux auteurs ont amélioré ce modèle en introduisant une ordonnée à l'origine g_0 , paramètre empirique :

$$g_{s,w} = g_0 + a.A_{net} \frac{h_r}{C_s} \quad \text{éq. 35}$$

La température est prise en compte de façon indirecte *via* h_r . Aphalo et Jarvis (1993) proposent d'améliorer les simulations du modèle en rendant explicite la dépendance de g_s , d'une part à l'humidité de l'air (en utilisant V_{pd}), et d'autre part à T_f :

$$g_{s,w} = \frac{A_{net}}{C_s} [k_0 + f(T_f) + f(V_{pd}) + f(T_f, V_{pd})] \quad \text{éq. 36}$$

où k_0 est un paramètre empirique.

Ces auteurs insistent sur le fait que, d'un point de vue théorique, le modèle BWB est un modèle de la relation entre g_s et A_{net} mais qu'il ne dégage pas de liens de causalité entre ces deux variables.

Plusieurs critiques du modèle BWB ont été formulées (Leuning, 1990 ; Leuning, 1995).

- Tout d'abord, l'expression proposée ne rend pas compte des observations selon lesquelles, lorsque C_s est égal au point de compensation en CO_2 (Γ), l'assimilation est nulle et les stomates atteignent leur minimum d'ouverture. Leuning (1990) propose alors une nouvelle formulation plus rigoureuse :

$$g_{s,w} = g_0 + a.A_{net} \frac{h_r}{C_s - \Gamma} \quad \text{éq. 37}$$

- Aphalo et Jarvis (1991) ont ensuite montré que les stomates répondaient à V_{pd} et non à h_r . Bien que nous ayons vu que les stomates répondaient plutôt à la transpiration qu'à V_{pd} (Mott et Parkhurst, 1991), Leuning *et al.* (1995) ont préféré, dans un souci de simplicité, garder une réponse de g_s à V_{pd} seul :

$$g_{s,w} = g_0 + a.A_{net} \frac{f(V_{pd})}{C_s - \Gamma} \quad \text{éq. 38}$$

Parmi les nombreuses fonctions $f(V_{pd})$ possibles, la relation hyperbolique proposée par Lohammer *et al.* (1980) donne les meilleures simulations de g_s . Elle permet en particulier de rendre compte de la relation linéaire observée entre g_s et E . Le modèle final de Leuning *et al.* (1995) s'écrit alors :

$$g_{s,w} = g_0 + a \frac{A_{net}}{\left(1 + \frac{V_{pd}}{D_0}\right)(C_s - \Gamma)} \quad \text{éq. 39}$$

où D_0 est un paramètre empirique.

- Enfin, les stomates ne répondent pas à C_s mais à C_i (Mott, 1988). La relation entre g_s et C_s n'est qu'apparente et découle de l'équation de diffusion du CO_2 au travers des stomates :

$$A_{net} = g_{s,c} (C_s - C_i) \quad \text{c'est-à-dire} \quad g_{s,c} = \frac{A_{net}}{C_s \left(1 - \frac{C_i}{C_s}\right)} \quad \text{éqs. 6 et 40}$$

Considérant que C_i/C_s est généralement constant, cette équation met bien en évidence une relation entre g_s et C_s , et non pas C_i . Cette relation reste fortuite.

Ces modèles empiriques reposent sur une corrélation forte entre A_{net} et g_s . Cependant, conformément à l'analyse des mécanismes physiologiques présentée à la section I, il est

important de noter qu'aucune de ces deux variables ne contrôle exclusivement l'autre (Aphalo et Jarvis, 1993).

Dans tous ces modèles, la résolution complète des équations nécessite d'employer un modèle approprié de photosynthèse. A cet effet, il est courant d'utiliser le modèle biochimique de Farquhar *et al.* (1980b) exprimant l'assimilation nette en fonction des paramètres de la capacité photosynthétique. Le modèle biochimique de photosynthèse et les couplages utilisés sont présentés à l'annexe 4.

A-2-2 Conductance stomatique estimée par un sous-modèle exprimant la capacité photosynthétique de la feuille

Nous venons de voir que de nombreux auteurs expriment la relation directe observée entre le fonctionnement des stomates et l'assimilation de CO₂. D'autres ont cependant préféré exprimer plus explicitement la relation entre l'ouverture des stomates et la capacité photosynthétique.

Farquhar et Wong (1984) ont montré que cette relation pouvait être expliquée en reliant la conductance stomatique à la taille du pool de substrat fixateur de carbone.

Ces modèles ne nécessitent plus un couplage avec un modèle de photosynthèse, mais requièrent une estimation de la capacité photosynthétique. Ce type d'approche décrit moins directement la relation observée entre g_s et A_{net} .

Farquhar et Wong (1984) utilisent une relation empirique entre g_s et T, un paramètre relié à la concentration en ATP dans les chloroplastes des cellules du mésophylle (en mmol mol⁻¹ Chl) :

$$g_{s,w} = 10^5 \rho \cdot T \quad \text{éq. 41}$$

où ρ est la densité surfacique en chlorophylle ;
 10^5 est un facteur empirique permettant d'avoir des valeurs de $g_{s,w}$ raisonnables.

T, et ainsi la concentration en ATP, est modélisé par extension du modèle de photosynthèse de Farquhar *et al.* (1980b) en fonction des paramètres de la photosynthèse. Plus précisément, T est fonction du taux de carboxylation limité par les propriétés cinétiques de la Rubisco (W_c) ou par le taux de transport d'électrons (W_j), de la concentration en sites de carboxylation de la Rubisco (reliée elle-même à V_{cmax}) et de la concentration en RuBP.

T est ainsi lié à la capacité photosynthétique.

Bien que les apports mécanistes de ce modèle soient intéressants, sa difficulté d'utilisation, en particulier pour l'estimation de la concentration en RuBP, le rend peu fonctionnel pour modéliser la conductance stomatique en milieu naturel.

La nature du signal reliant g_s à la taille du pool de substrat fixateur de carbone n'est pas précisément connue. Jarvis et Davies (1998) proposent alors d'utiliser, à la place de T, la "capacité photosynthétique résiduelle", différence entre le taux d'assimilation mesuré et le taux d'assimilation maximal dans des conditions de CO₂ saturant ($A_{max}-A$). Les auteurs proposent alors que l'ouverture des stomates soit contrôlée par la transpiration (et ainsi la demande évaporative) et par la "capacité photosynthétique résiduelle".

Ils considèrent que g_s est proportionnel à la "capacité photosynthétique résiduelle" :

$$g_{s,w} = G^*(A_{\max} - A) \quad \text{éq. 42}$$

avec $G^* = G \cdot s \cdot E \quad \text{éq. 43}$

où G^* est la sensibilité de $g_{s,w}$ à $(A_{\max} - A)$;
 G est la sensibilité maximale de $g_{s,w}$ à $(A_{\max} - A)$;
 s est la sensibilité de G^* à E .

En utilisant la relation entre g_s , E et V_{pd} ($E = g_{s,w} \cdot V_{pd}$ équation 3), on obtient :

$$g_{s,w} = \frac{G}{s \cdot V_{pd} + \frac{1}{A_{\max} - A}} \quad \text{éq. 44}$$

Le principal intérêt du modèle ainsi obtenu est sa simplicité d'utilisation.

Cependant, cette simplicité ne rend pas compte de tous les faits expérimentaux (Buckley *et al.*, 2003). En particulier, d'après ce modèle, la réponse des stomates à la concentration en oxygène serait invariable quelles que soient les conditions expérimentales, ce qui est contraire à certaines observations. g_s serait ainsi moins directement lié à la capacité photosynthétique que le modèle ne le suggère.

- Parmi les principales approches envisagées pour modéliser g_s en conditions hydriques non-limitantes, nous retiendrons :
 - (i) des modèles purement empiriques qui intègrent de façon multiplicative la réponse des stomates à chacun des facteurs environnementaux ;
 - (ii) des modèles semi-empiriques qui, basés sur une relation directe et linéaire entre g_s et A_{net} (Ball *et al.*, 1987 ; Leuning, 1995), sont généralement couplés à un modèle de photosynthèse.
- Certains auteurs ont néanmoins préféré exprimer explicitement une relation entre l'ouverture des stomates et la capacité photosynthétique.
- Un modèle mécaniste, décrivant g_s en termes de fonctionnement des cellules de garde, a aussi été proposé (Dewar, 1995). Sa complexité le rend moins facilement utilisable.
- Ces modèles ne sont plus fonctionnels lorsque les conditions hydriques deviennent limitantes.

B- MODELES INTEGRANT L'EFFET DU STRESS HYDRIQUE

B-1 Modèles empiriques dépendant de facteurs climatiques

B-1-1 Modèles multiplicatifs

Une manière intuitive d'intégrer le stress hydrique à la réponse des stomates aux facteurs environnementaux est d'ajouter une fonction du déficit hydrique du sol au modèle multiplicatif de Jarvis (1976).

Stewart (1988) reprend la formulation de Jarvis en remplaçant la fonction de réponse au potentiel hydrique foliaire par une fonction de réponse au déficit en eau du sol ($\delta\theta$, différence entre teneur en eau du sol à saturation et teneur en eau mesurée) :

$$g_{s,w} = g_{s,max} \cdot f(Q) \cdot f(T_f) \cdot f(Vpd) \cdot f(\delta\theta) \quad \text{éq. 45}$$

avec $f(\delta\theta) = 1 - \exp(k_6 (\delta\theta - \delta\theta_m))$ éq. 46

où k_6 est un paramètre empirique ;
 $\delta\theta_m$ est la valeur maximale de $\delta\theta$ déterminée empiriquement.

White *et al.* (1999) proposent un modèle similaire, mais où l'état hydrique du sol est défini par une fonction du potentiel de base (Ψ_{base}), plutôt que par une fonction de $\delta\theta$. Ils considèrent par ailleurs que c'est la somme des stress journaliers subis par la plante pendant la période considérée qui est pertinente. Chaque fonction de réponse aux facteurs environnementaux est alors intégrée sur la période considérée afin d'obtenir une conductance stomatique globale.

Mac Farlane *et al.* (2004) testent une version simplifiée du modèle de White *et al.* (1999), sur *Eucalyptus globulus* stressés au champ, et montrent une très bonne adéquation du modèle aux données expérimentales. La formulation utilisée par les auteurs considère la conductance stomatique instantanée et non pas intégrée sur une période de stress. Les fonctions de réponse à Q , T_f et Vpd correspondent alors aux valeurs instantanées de ces variables. Le stress hydrique est finalement intégré sur une période de stress de n jours (somme de stress $S(\Psi)$) :

$$g_{s,w} = g_{s,max} \cdot f(Q) \cdot f(T_f) \cdot f(Vpd) \cdot f(\Psi_{base}) \quad \text{éq. 47}$$

avec $f(\Psi_{base}) = 1.09 \exp^{-1.27S(\Psi)}$ éq. 48

et $S(\Psi) = \frac{1}{n} \sum (-\Psi_{base} - 0.2)$ éq. 49

Compte tenu du fait que les effets d'un stress hydrique à long ou court terme sont différents, l'idée de sommer les stress hydriques journaliers sur la période étudiée semble des plus pertinente.

D'autres auteurs préfèrent inclure l'effet de Ψ_{base} dans la fonction de réponse à Vpd et introduire une fonction de réponse à Ψ_{fol} (Misson *et al.*, 2004) :

	$g_{s,w} = f(Q).f(T_f).f(Vpd).f(\Psi_{fol})$	éq. 50
avec	$f(Vpd) = f(\text{fonction de réponse des stomates à } \Psi_{base})$	éq. 51
et	$f(\Psi_{base}) = g_{smax} - a(\Psi_{min} - \Psi_{base})$	éq. 52
où	g_{smax} est la conductance stomatique maximale ; Ψ_{min} est le potentiel hydrique foliaire correspondant à la fermeture totale des stomates.	

Les modèles multiplicatifs, présentés au paragraphe A-1-1 ainsi qu'aux équations 45 à 52, présentent deux handicaps principaux :

- Ils supposent que chaque facteur agit indépendamment. En toute rigueur, cette hypothèse est fautive, la température dépendant de l'intensité lumineuse, Vpd dépendant de la température, etc...

- Ils nécessitent l'élaboration de courbes de réponse à chaque facteur. Ce qui, du fait de la difficulté d'effectuer ces calibrations en maintenant tous les autres paramètres constants et du grand nombre de paramètres total estimé, est contraignant.

Néanmoins, dans des conditions données, ces modèles peuvent donner des résultats satisfaisants.

B-1-2 Autres voies de modélisation

Les espèces isohydriques régulent leur transpiration de manière à maintenir Ψ_{fol} constant (voir section I, A-4-1).

Dans cette optique, Ogle et Reynolds (2002) modélisent g_s en fonction g_{smax} . g_{smax} dépend alors de Ψ_{base} et de la demande climatique (traduite par Vpd). Plus précisément, les auteurs déterminent des seuils empiriques de Vpd entre lesquels l'ouverture des stomates est régulée en fonction de Vpd, et au delà desquels g_s est soit nul, soit maximal :

	$g_{s,w} = \begin{cases} 0 \\ g_{smax} \\ g_{smax} \frac{m \cdot \ln(Vpd) + b_0}{\eta} \end{cases}$	
avec	$g_{smax} = \tau \cdot \exp\left(\frac{\rho \cdot \Psi_{base}}{T_{gro}}\right) \cdot \frac{4(T_{max} - T_{gro})(T_{gro} - T_{min})}{(T_{max} - T_{min})^2}$	éq. 54
où	b_0 , η et m sont des paramètres à estimer, qui déterminent les seuils de Vpd ; T_{gro} est la moyenne sur sept jours des températures journalières ; T_{min} et T_{max} sont les minimum et maximum de T_{gro} .	

Les auteurs montrent que la sensibilité à Vpd diminue avec Ψ_{base} .

B-2 Modèles intégrant l'assimilation nette de CO₂ : modification des modèles de Ball, Woodrow et Berry et de Leuning

B-2-1 Structure des modèles

Nous avons vu que le stress hydrique modifiait la relation entre g_s et A_{net} (voir section I, C-2-3). De nombreux auteurs ont alors modifié les modèles BWB et de Leuning vus précédemment en imposant une variation de la pente de la relation g_s - A_{net} . Ils multiplient le modèle original par une fonction exprimant l'état hydrique de la plante.

Nous nommerons par la suite g_{bwb} et g_L les pentes relatives aux modèles BWB et de Leuning, respectivement :

$$g_{s,w} = g_0 + g_{bwb} \frac{A_{net} \cdot h_r}{C_s} \quad \text{éq. 55}$$

et

$$g_{s,w} = g_0 + g_L \frac{A_{net}}{\left(1 + \frac{V_{pd}}{D_0}\right)(C_s - \Gamma)} \quad \text{éq. 56}$$

à la place de :

$$g_{s,w} = g_0 + m \frac{A_{net} \cdot h_r}{C_s} \quad \text{éq. 35}$$

et

$$g_{s,w} = g_0 + a \frac{A_{net}}{\left(1 + \frac{V_{pd}}{D_0}\right)(C_s - \Gamma)} \quad \text{éq. 39}$$

- Parmi les premiers, Tenhunen *et al.* (1990) proposent une modification du modèle BWB en introduisant le facteur **GFAC**, variable et à calculer pour chaque situation donnée :

$$g_{bwb} = \text{GFAC} \quad \text{éq. 57}$$

- Plus explicitement, Baldocchi (1997) utilise un "**index de stress hydrique**" pour corriger le modèle BWB. Cet index, calculé sur une période déterminée, correspond au rapport de la somme des précipitations (P) sur la somme des évapotranspirations potentielles (ETP) :

$$g_{bwb} = m \frac{\sum P}{\sum \text{ETP}} \quad \text{éq. 58}$$

- D'autres auteurs ont utilisé une fonction correctrice dépendant du **potentiel de base**. Chez *Quercus ilex*, Sala et Tenhunen (1996) observent une relation entre g_{bwb} et Ψ_{base} exponentielle décroissante pour des potentiels compris entre -1 et 0 MPa, et linéaire pour des potentiels plus négatifs.

Nikolov *et al.* (1995) corrigent le modèle BWB en intégrant une fonction de Ψ_{fol} . Ce modèle n'a pas été testé en conditions hydriques limitantes. Il est repris par Misson *et al.* (2004) qui substituent Ψ_{base} à Ψ_{fol} :

$$g_{bwb} = \frac{m}{1 + \left(\frac{\Psi_{base}}{\Psi_0} \right)^n} \quad \text{éq. 59}$$

où n et Ψ_0 sont des paramètres à estimer.

- Wang et Leuning (1998) expriment quant à eux g_L en fonction de la **teneur en eau du sol** (θ_{sol}) :

$$g_L = a \cdot \min \left(1; 10 \frac{\theta_{sol} - \theta_f}{3(\theta_{cc} - \theta_f)} \right) \quad \text{éq. 60}$$

où θ_{cc} et θ_f sont respectivement les teneurs en eau du sol à la capacité au champ et au point de flétrissement permanent.

Dans le même ordre d'idées, Van Wijk *et al.* (2000) modifient les modèles BWB et Leuning par :

$$g_{bwb}, g_L = a \left[1 - k_4 \exp \left(k_5 \frac{\theta_{cc} - \theta_{sol}}{\theta_{cc} - \theta_f} \right) \right] \quad \text{éq. 61}$$

où k_5 est égal à $1 - k_4$, et k_4 est un paramètre empirique.

- Enfin, de manière moins précise, Uddling *et al.* (2005) modifient le modèle de Leuning par une **fonction du jour de l'année** (f_{season}). Les effets d'un stress hydrique saisonnier, parmi d'autres facteurs, sont contenus dans cette fonction :

$$g_L = a \cdot f_{season} \quad \text{éq. 62}$$

avec $f_{season} = \min(1; k_7 + k_8 \cdot DOY)$ éq. 63

où DOY correspond au jour calendaire ;
 k_7 et k_8 sont des paramètres empiriques.

B-2-2 Caractéristiques et qualité d'ajustement de quelques modèles

L'une des premières critiques ayant été émise à l'encontre de ces modèles est qu'ils ne rendaient pas compte de la réponse journalière des stomates. Cependant, nous avons vu qu'un déficit hydrique du sol est relativement lent à se mettre en place (voir section I, A-2-1). Ainsi, pour étudier des situations de stress hydrique, la qualité de ces modèles est suffisante puisqu'ils simulent correctement la conductance stomatique sur le long terme.

Une seconde critique, plus importante, est le côté empirique de tous les modèles. Ils ne permettent pas de décrire précisément les modifications physiologiques que le stress hydrique impose.

Tableau 5 : Qualité de l'ajustement de quelques modèles de conductance stomatique à la vapeur d'eau ($g_{s,w}$) ou de transpiration (E), fonctionnels en conditions hydriques limitantes et intégrant l'assimilation de CO_2 (voir section II, B-2). La gamme de stress hydrique imposée indique la gamme de validité des conclusions dégagées (en potentiel de base Ψ_{base} , ou en teneur en eau du sol θ_{sol}). Dans les résultats présentés, la photosynthèse a été mesurée et non pas prédite par un modèle de photosynthèse.

Auteurs	Espèces	Variable	Prédit vs. observé		Gamme de stress
			R ²	pente	
Uddling <i>et al.</i> (2005)	<i>Betula pendula</i>	$g_{s,w}$	0.8	1.00	$\Psi_{base} = [-0.55 ; 0]$ MPa
Van Wijk <i>et al.</i> (2000)	<i>Pseudotsuga menziesii</i>	E	0.88	0.94	$\theta_{sol} = [4 ; 19]$ %
Misson <i>et al.</i> (2004)	<i>Pinus ponderosa</i>	$g_{s,w}$	0.71	1.01	$\Psi_{base} = [-1.7 ; 0]$ MPa
Sala et Tenhunen (1996)	<i>Quercus ilex</i> (2 milieux écologiques)				$\Psi_{base} = [-2.7 ; -0.2]$ MPa
	feuilles de soleil	$g_{s,w}$	0.862	0.97	
				0.813	
	feuilles d'ombre	$g_{s,w}$	0.756	1.02	
			0.826	1.00	

Tableau 6 : Caractéristiques de modèles de conductance stomatique basés sur ceux de Leuning et BWB dont la pente de la relation g_s-A_{net} (g_L et g_{bwb}) a été modifiée afin de tenir compte de l'état hydrique du sol. La forme générale de ces deux modèles est décrite aux équations 55 et 56. En plus des paramètres nécessaires au calcul de g_L et g_{bwb} , les modèles basés sur ceux de Leuning et BWB comportent respectivement deux et un paramètres empiriques supplémentaires.

DOY : jour calendaire ; ETP : évapotranspiration ; P : pluviométrie ; θ_{cc} : teneur en eau à la capacité au champ ; θ_f : teneur en eau au point de flétrissement ; θ_{sol} : teneur en eau du sol.

Terme g_{bwb} modifiant le modèle BWB			
	Nombre de paramètres empiriques à estimer	Autres paramètres	Variables à mesurer
Tenhunen <i>et al.</i> (1990)	1	/	/
Baldocchi (1997)	1	/	P et ETP
Misson <i>et al.</i> (2004)	3	/	Ψ_{base}
Van Wijk <i>et al.</i> (2000)	2	θ_{cc} et θ_f	θ_{cc} et θ_f

Terme g_L modifiant le modèle de Leuning			
	Nombre de paramètres empiriques à estimer	Autres paramètres	Variables à mesurer
Van Wijk <i>et al.</i> (2000)	2	θ_{cc} et θ_f	θ_{sol}
Wang et Leuning (1998)	1	θ_{cc} et θ_f	θ_{sol}
Uddling <i>et al.</i> (2005)	3	/	DOY

Dans plusieurs études, les simulations de modèles multiplicatifs et de différents modèles intégrant A_{net} ont été comparées sur un même jeu de données. Bien que les conclusions ne soient pas forcément généralisables à toutes les situations, nous les présentons à titre informatif.

- Van Wijk *et al.* (2000) comparent les modèles BWB et de Leuning corrigés d'une fonction de la teneur en eau du sol. Les auteurs montrent que si le modèle BWB doit être corrigé par l'état hydrique du sol, il doit aussi l'être en fonction de T_f . **L'adaptation du modèle de Leuning ne présente pas cet inconvénient et, par souci de simplicité, est à privilégier par rapport au modèle BWB.**
- Parallèlement, Misson *et al.* (2004) comparent le modèle BWB avec un modèle empirique multiplicatif (basé sur celui de Jarvis, 1976) en intégrant à chacun une fonction de Ψ_{base} . **Ainsi modifié, le modèle BWB est plus en accord avec les observations que le modèle multiplicatif.**
- Uddling *et al.* (2005) comparent leur modification (par une fonction du jour de l'année) du modèle de Leuning avec deux modèles multiplicatifs, l'un tenant compte d'une variation de sensibilité des stomates à V_{pd} au cours de la journée, l'autre pas. La différence entre les deux modèles multiplicatifs est très faible. **Les simulations des modèles multiplicatifs se révèlent aussi bonnes que celles du modèle de Leuning modifié.**

Le tableau 5 regroupe les caractéristiques et la qualité de l'ajustement de quelques uns des modèles présentés à la partie B-2. Les résultats présentés ont été obtenus par mesure de la photosynthèse et non par prédiction par le modèle biochimique de Farquhar *et al.* (1980b). En effet, en prédisant la photosynthèse par ce modèle, les simulations des modèles regroupés au tableau 5 sont en général peu satisfaisantes.

Dans leurs conditions originelles d'utilisation, les modèles de Uddling *et al.* (2005), Van Wijk *et al.* (2000), Misson *et al.* (2004) et Sala et Tenhunen (1996) simulent très bien les conductances stomatiques ou les transpirations mesurées. En particulier, le modèle de Sala et Tenhunen (1996) fonctionne tout aussi bien pour des feuilles de lumière que pour des feuilles d'ombre.

En plus de la qualité de l'ajustement des modèles, la faisabilité des mesures et la facilité du paramétrage sont également des critères de choix. Le tableau 6 récapitule le nombre de paramètres à estimer et les variables nécessaires afin de calculer les pentes g_L et g_{bwb} , relatives aux modèles de Leuning et BWB modifiés.

Le nombre de paramètres empiriques requis par ces modèles reste faible (jusqu'à trois). θ_{sol} , utilisée dans les modèles de Van Wijk *et al.* (2000) et Wang et Leuning (1998), est plus facile à mesurer que Ψ_{base} . En revanche, θ_{cc} et θ_f peuvent être difficiles à estimer.

Le choix d'un de ces modèles doit répondre à un compromis entre le nombre de paramètres nécessaires, la faisabilité des mesures et la qualité de l'ajustement du modèle final. Ce choix peut aussi être influencé par les situations environnementales.

Au contraire de ces modèles, qui intègrent A_{net} , les modèles multiplicatifs nécessitent généralement un grand nombre de paramètres, ceci pour calibrer les réponses à chaque variable environnementale. Leur qualité d'ajustement ne sera pas étudiée ici.

B-3 Lien entre potentiel hydrique foliaire et réponse à l'ABA – Voies de modélisation

Il est admis que la concentration en acide abscissique (ABA) de la sève récoltée par pressurisation représente une bonne estimation de la concentration xylémienne en ABA. Ainsi mesurée, la concentration en ABA est très fortement corrélée à la conductance stomatique. Elle est pour cela utilisée pour modéliser l'effet de l'ABA sur le comportement des stomates. Cependant, la concentration au niveau des cellules de garde, beaucoup plus pertinente d'un point de vue mécaniste, peut être différente en raison de redistributions intrafoliaires d'ABA et de son éventuelle synthèse foliaire (voir section I, A-3-3). L'hypothèse a alors été émise que la concentration en ABA de la sève récoltée par pressurisation pouvait être une moyenne des différentes concentrations à l'intérieur de la feuille (Tardieu et Simonneau, 1998).

Quoi qu'il en soit, la forte corrélation entre g_s et la concentration en ABA ($[ABA]$) ainsi que sa facilité de mesure, suffisent à elles seules à justifier son utilisation, dans le cadre d'une modélisation semi-empirique.

L'intensité de l'effet de l'ABA peut être modulée par Ψ_{fol} , selon le type d'espèce considéré, anisohydrique ou isohydrique.

En effet, les **espèces isohydriques**, qui maintiennent Ψ_{fol} constant au cours d'un dessèchement, présentent la particularité d'avoir une sensibilité des stomates à l'ABA dépendante de Ψ_{fol} (Tardieu et Davies, 1993). La sensibilité est plus forte pour des potentiels faibles. Les auteurs proposent d'exprimer g_s en fonction de ces deux variables :

$$g_{s,w} = g_{min} + \alpha \cdot \exp\{[ABA] \cdot \beta \cdot \exp(\delta \cdot \Psi_{fol})\} \quad \text{éq. 64}$$

où g_{min} représente la conductance stomatique minimale ;
 α , β et δ sont des constantes à déterminer.

La concentration en ABA est calculée en fonction du flux d'ABA (J_{ABA}), proportionnel au potentiel hydrique racinaire (Ψ_r) :

$$[ABA] = \frac{J_{ABA}}{J_w + b} = \frac{a \cdot \Psi_r}{J_w + b} \quad \text{éq. 65}$$

J_w , le flux d'eau à travers la plante, est exprimé par deux équations hydrauliques basées sur une analogie à la loi de Fick :

$$J_w = \frac{\Psi_{fol} - \Psi_r}{R_p} \quad \text{et} \quad J_w = \frac{\Psi_r - \Psi_{sol}}{R_{sp}} \quad \text{éqs. 66-67}$$

où R_p est la résistance au passage de l'eau dans la plante ;
 R_{sp} est la résistance au passage de dans le sol et à l'interface sol-racines ;
 Ψ_{sol} est le potentiel hydrique du sol.

Enfin, une dernière équation, utilisant la relation de Penman-Monteith, permet de boucler le système : J_w y est exprimé en fonction de paramètres climatiques.

Pour les **espèces anisohydriques**, pour lesquelles Ψ_{fol} diminue avec le dessèchement du sol, le contrôle des stomates en conditions de stress hydrique ne dépend que de la concentration en ABA dans le xylème (Tardieu *et al.*, 1996). Tardieu et Simonneau (1998) utilisent dans ce cas le modèle de Tardieu et Davies (1993) en posant $\delta = 0$.

Gutschick et Simonneau (2002) proposent un autre modèle, basé sur le modèle BWB et intégrant la concentration xylémienne en ABA sur la base du modèle de Tardieu et Davies (1993) :

$$g_{s,w} = \exp(-\beta[ABA]) \cdot m \frac{A_{net} \cdot h_r}{C_s} + b \quad \text{éq. 68}$$

Ce modèle multiplicatif se rapproche des formulations vues au paragraphe B-2. La pente de la relation entre g_s et A_{net} du modèle BWB (g_{bwb}) est modifiée par une fonction de la concentration en ABA.

Les auteurs élaborent aussi une autre formulation décrivant la transition entre deux processus limitants (effet de l'humidité de l'air en interaction avec la photosynthèse et effet de la concentration en ABA) :

$$g_{s,w} = \min \left\{ m \cdot A_{net} \frac{h_r}{C_s} + b; g_{max} \exp(-\beta[ABA]) + g_{min} \right\} \quad \text{éq. 69}$$

Tant qu'il n'aura pas été démontré que les stomates fonctionnent selon des processus limitants ou selon le cumul de ces processus, il ne sera pas possible de trancher objectivement entre ces deux modèles. Les prédictions du modèle multiplicatif restent meilleures que celles du modèle limitant, le modèle multiplicatif est à privilégier.

B-4 Modèles hydrauliques

Tous les modèles hydrauliques qui vont être présentés sont basés sur la même équation de flux, analogue à la loi de Fick :

$$E = K_{tot} (\Psi_{sol} - \Psi_{fol}) \quad \text{éq. 70}$$

où K_{tot} est la conductance totale du trajet de l'eau à travers la plante, du sol jusqu'aux feuilles, et est exprimée en $\text{mol H}_2\text{O} (\text{s MPa})^{-1}$;
 E est exprimé en $\text{mol H}_2\text{O s}^{-1}$.

Ce sont donc principalement des modèles de transpiration. Cependant, il est aisé de les transformer en modèles de conductance stomatique en utilisant la relation $E = g_{s,w} \cdot V_{pd}$ (équation 3).

B-4-1 Modèles simples basés sur la conductance hydraulique totale du trajet de l'eau du sol aux feuilles

De manière très simplificatrice, Oren *et al.* (1999) expriment g_s en fonction de la conductance totale du trajet de l'eau du sol aux feuilles :

$$g_{s,w} = \frac{K_{tot}}{A_L} \cdot \frac{\Psi_{sol} - \Psi_{fol}}{Vpd} \quad \text{éq. 71}$$

où A_L est la surface foliaire ;
 (K_{tot}/A_L) représente ainsi la conductance hydraulique spécifique de feuille du trajet.

Bien que les auteurs aient utilisé cette expression à d'autres fins que la prédiction de la conductance stomatique, cette formulation, qui a le mérite d'être simple, peut être utilisable.

B-4-2 Modèles où la conductivité hydraulique dépend de l'architecture hydraulique de la plante

Tyree et Sperry (1988) expriment la transpiration de l'arbre selon l'équation de flux 70. Cependant, les auteurs prennent en compte l'architecture hydraulique de l'arbre. Le trajet du sol aux feuilles est alors discrétisé en segments dont le diamètre détermine la conductance hydraulique. L'ensemble du système est traité comme un circuit électrique : les résistances en séries s'ajoutent et les conductances en parallèle s'ajoutent.

De la même façon, Sperry *et al.* (1998) divisent l'arbre selon ses différents organes, des racines jusqu'aux feuilles, et intègrent une description fine du transfert d'eau du sol aux racines.

Avec une formalisation beaucoup plus complexe, Tuzet *et al.* (2003) utilisent eux aussi l'équation de flux 70, mais dans le but d'exprimer Ψ_{fol} . Les auteurs proposent un modèle de conductance stomatique au CO_2 ($g_{s,c}$) basé sur le modèle de Leuning mais où la fonction de Vpd est remplacée par une fonction de Ψ_{fol} :

$$g_{s,c} = g_0 + f(\Psi_{fol}) \cdot a \frac{A_{net}}{C_i - \Gamma} \quad \text{éq. 72}$$

avec $f(\Psi_{fol}) = \frac{1 + \exp(s \cdot \Psi_r)}{1 + \exp[s(\Psi_f - \Psi_{fol})]} \quad \text{éq. 73}$

où s est un paramètre de sensibilité ;
 Ψ_f est un paramètre empirique à déterminer.

Ψ_{fol} est alors simulé à partir de l'équation :

$$E = \frac{\Psi_{sol} - \Psi_{fol}}{\chi_v} \quad \text{éq. 74}$$

où Ψ_{sol} est simulé à partir de l'absorption d'eau par les racines, fonction du potentiel hydrique du sol et de ses caractéristiques hydrauliques ;
 E est calculée par une équation décrivant l'évaporation au niveau des feuilles ;
 χ_v est la résistance hydraulique de la plante, qui tient compte de l'architecture hydraulique.

Nous n'entrerons pas plus dans les détails de ce modèle assez complexe.

Ce modèle, couplé à des modèles de photosynthèse, de transferts radiatifs et de trajet de l'eau dans la plante, simule très bien les échanges gazeux dans une large gamme de conditions environnementales.

B-4-3 Modèles utilisant le potentiel de cavitation Ψ_{cav}

Jones et Sutherland (1991) expriment la conductance stomatique directement à partir de la conductance hydraulique de la plante entière fonction du potentiel hydrique, $K_{tot}(\Psi)$, et du potentiel hydrique du sol (Ψ_{sol}) :

$$\Psi_{fol} - \Psi_{sol} = -\frac{c \cdot Vpd \cdot g_{s,w}}{K_{tot}(\Psi)} \quad \text{éq. 75}$$

où c est un coefficient empirique.

$K_{tot}(\Psi)$ est alors exprimé en fonction de la conductance hydraulique maximale du xylème (K_{max}) et de Ψ_{fol} :

$$K_{tot}(\Psi) = \begin{cases} K_{max} & \text{si } \Psi_{cav} < \Psi_{fol} \\ K_{max} \frac{\Psi_{fol} - \Psi_{100}}{\Psi_{cav} - \Psi_{100}} & \text{si } \Psi_{cav} > \Psi_{fol} > \Psi_{100} \\ 0 & \text{si } \Psi_{100} > \Psi_{fol} \end{cases} \quad \text{éq. 76}$$

où Ψ_{100} est le potentiel foliaire provoquant 100 % d'embolie ;
 Ψ_{cav} est le potentiel de cavitation.

Lorsque Ψ_{fol} est compris entre Ψ_{cav} et Ψ_{100} , le terme multiplicateur de K_{max} est fonction de Ψ_{fol} et Ψ_{cav} . Cette formulation permet de comparer Ψ_{fol} mesuré et Ψ_{cav} et donne en quelques sortes une estimation du taux d'embolie.

Les auteurs précisent que ce modèle simplifié leur semble suffisant pour les céréales mais qu'il faudrait tenir compte de l'architecture hydraulique pour simuler correctement le comportement des arbres.

Plus simplement, Cochard *et al.* (1996a) et Lu *et al.* (1996) déterminent une **transpiration critique** (E_{crit} , voir aussi Sperry *et al.*, 2002), à partir de laquelle de l'embolie peut apparaître ($\Psi_{fol} = \Psi_{cav}$) :

$$E_{crit} = K_{tot}(\Psi_{sol} - \Psi_{cav}) \quad \text{éq. 77}$$

Avec l'hypothèse selon laquelle les stomates sont régulés de manière à limiter l'embolie (Tyree et Sperry, 1989 ; Sperry *et al.* 2002), la transpiration maximale observée de la plante ne devrait pas dépasser la transpiration critique calculée.

Cochard *et al.* (2002) complètent ce formalisme en estimant K_{tot} à partir d'une discrétisation fine du *continuum* sol-plante-feuille. Ici encore, chez *Juglans regia*, la transpiration maximale journalière observée ne dépasse pas la transpiration critique calculée.

B-5 Modèles hydromécanistes

Au paragraphe A-1-2-3, nous avons vu une formulation mécaniste de la conductance stomatique en terme de fonctionnement des cellules de garde, lorsque l'état hydrique n'était pas limitant (Dewar, 1995). Ce type de modèle a été qualifié d'hydromécaniste. Par la suite, d'autres auteurs ont développé ce modèle en y introduisant les effets du stress hydrique.

Dewar (2002) a lui-même complété son précédent modèle en introduisant l'effet du stress hydrique *via* la concentration en ABA des feuilles. L'idée est de décomposer la réponse globale de l'ouverture des stomates en (i) une réponse hydropassive purement hydraulique (qui correspond au modèle initial) et (ii) une réponse hydroactive correspondant à une régulation osmotique des cellules de garde *via* le potentiel hydrique des cellules de l'épiderme (Ψ_e) et la concentration en ABA.

L'équation :

$$g_{s,w} = \chi (P_g - P_e) \quad \text{éq. 29}$$

où χ est une constante empirique ;
 P_g et P_e sont, respectivement, les pressions de turgescence des cellules de garde et de l'épiderme ($P > 0$).

est alors décomposée en :

$$g_{s,w} = \chi (\Delta\pi - \Delta\Psi) \quad \text{éq. 78}$$

où $\Delta\pi$ est la différence de potentiel osmotique entre les cellules de garde et l'épiderme, elle correspond à la réponse hydroactive ($\pi > 0$) ;
 $\Delta\Psi$ est la différence de potentiel hydrique entre les cellules de garde et l'épiderme, elle correspond à la réponse hydropassive ($\Psi < 0$).

A l'équilibre, la quantité d'ions entrant dans les cellules de garde (estimée par π_{in}) est égale à la quantité d'ions sortant (estimée par π_{out}). π_{out} est exprimé en fonction du taux de diffusion des ions vers ces cellules :

$$\pi_{in} = d \cdot \Delta\pi \quad \text{éq. 79}$$

et ainsi $\Delta\pi = \frac{\pi_{in}}{d}$ éq. 80

où d est le coefficient de diffusion des ions entre les cellules de garde et les cellules de l'épiderme.

L'idée est alors que le taux de diffusion des ions hors des cellules de garde est stimulé par l'ABA. La sensibilité des stomates à l'ABA est dépendante de Ψ_{fol} (Tardieu et Davies, 1993).

Dewar (2002) propose alors que la sensibilité de d à la concentration en ABA soit dépendante de Ψ_e :

$$d = d_{\min} \cdot \exp\{[ABA] \cdot \beta \cdot \exp(\delta \cdot \Psi_e)\} \quad \text{éq. 81}$$

où d_{\min} est le taux de diffusion minimal entre les cellules de garde et l'apoplaste ;
 β et δ sont des paramètres décrivant la sensibilité de la diffusion des ions à l'ABA.

Comme dans le modèle initial, $\Delta\Psi$ reste à calculer à partir de l'équation de transpiration analogue à la loi de Fick :

$$\Delta\Psi = \Psi_e - \Psi_g = \frac{E}{k} \quad \text{éq. 82}$$

où k est la conductance hydraulique entre une cellule moyenne de la feuille et les cellules de garde ;
 Ψ_g est potentiel hydrique des cellules de garde.

On aboutit donc à l'expression de la conductance stomatique suivante :

$$g_{s,w} = \chi \left(\frac{\pi_{in}}{d} - \frac{E}{k} \right) \quad \text{éq. 83}$$

où d est fonction de la concentration en ABA et de Ψ_e ;
 π_{in} , n'étant pas mesurable, est estimé par une fonction de A_{net} , R_d et C_i .

Il est à noter que cette formulation permet d'interpréter de manière mécaniste le modèle de Tardieu et Davis (1993) présenté précédemment.

Gao *et al.* (2002) ont développé le même type d'approche, avec quelques modifications dans les hypothèses de départ qui permettent de décrire de façon plus explicite l'effet du stress hydrique.

Pour ces auteurs, l'ouverture des stomates répond à la pression de turgescence des cellules de garde seule :

$$g_{s,w} = \frac{1}{\beta} P_g \quad \text{avec} \quad P_g = \Psi_g - \pi_g \quad \text{éqs. 84-85}$$

La conductance stomatique est alors exprimée en fonction de la transpiration. Celle-ci est exprimée, par analogie à la loi de Fick en fonction de la conductance hydraulique totale du trajet de l'eau entre le sol et les cellules de garde (estimée par la conductivité totale du sol aux feuilles, K_{tot}) :

$$E = g_{s,w} \cdot Vpd \quad \text{et} \quad E = K_{tot} (\Psi_{sol} - \Psi_g) \quad \text{éqs. 3 et 86}$$

Le potentiel osmotique des cellules de garde (π_g) est dépendant de la photosynthèse et de l'énergie lumineuse (Q) reçue :

$$\pi_g = \pi_0 - \alpha \cdot Q \quad \text{éq. 87}$$

où π_0 est le potentiel osmotique de nuit ;
 α est un paramètre empirique.

Les auteurs obtiennent alors une expression de g_s fonction du potentiel hydrique du sol, de la conductance hydraulique du trajet sol-plante, du potentiel osmotique des cellules de garde et de la demande évaporative :

$$g_{s,w} = f[\Psi_{\text{sol}}, K_{\text{tot}}, \pi_g(Q), V_{pd}] \quad \text{éq. 88}$$

La formulation hydraulique est ici plus simple que celle de Dewar (2002). Néanmoins, aucun terme ne fait apparaître l'effet d'une régulation osmotique (taux de diffusion des ions entre les cellules de garde et l'apoplaste).

Ces deux modèles (Dewar, 2002 ; Gao *et al.*, 2002) comportent encore quelques simplifications qui ne permettent pas d'expliquer l'ensemble des comportements observés. En particulier, aucun des deux modèles ne prend en compte l'**avantage mécanique** des cellules de l'épiderme. En effet, les variations de pression de turgescence des cellules de l'épiderme ont plus d'influence sur l'ouverture des stomates que les variations de pression de turgescence des cellules de garde.

Les travaux de Buckley (voir la revue Buckley, 2005) répondent à cette limite : Buckley *et al.* (2003) ont intégré l'avantage mécanique des cellules de l'épiderme sur les cellules de garde. Le formalisme est similaire à ceux des modèles précédemment présentés dans ce paragraphe. Nous nous contenterons donc de souligner les différences importantes.

- L'avantage mécanique des cellules de garde est à la base de cette modélisation :

$$g_{s,w} = \chi (P_g - m P_e) \quad \text{éq. 89}$$

où m représente l'avantage mécanique ($m > 1$)

- Le potentiel osmotique des cellules de garde (π_g) est fonction du flux de solutés qui est dû au gradient électrochimique créé par les ATP synthases membranaires. Les auteurs expriment alors π_g en fonction de la concentration en ATP des cellules de garde. Le modèle de Farquhar et Wong (1984), présenté au paragraphe A-2-2, est utilisé pour simuler la concentration en ATP des cellules de garde :

$$\pi_g = f([ATP]) \quad \text{éq. 90}$$

L'utilisation de ce modèle se base sur l'hypothèse que les mêmes processus biochimiques contrôlent la concentration en ATP dans les cellules du mésophylle et dans les cellules de garde (Buckley *et al.*, 2003), hypothèse qui peut être remise en cause.

- Par ailleurs, Buckley (2005) indique que les effets du stress hydrique sont perçus à proximité des cellules de garde (peut-être dans l'épiderme). En effet, les stomates répondent de la même façon à toutes les perturbations du *continuum* hydraulique (Ψ_{fol} , K_{tot} , Ψ_{sol} , ...), y compris à des variations locales de turgescence de l'épiderme, trop faibles pour faire varier Ψ_{fol} . π_g répondrait alors à la concentration en ATP des cellules de garde en fonction de la pression de turgescence des cellules de l'épiderme, proches des cellules de garde.

$$\pi_g = f([ATP], P_e) \quad \text{éq. 91}$$

- La formulation finale proposée par Buckley *et al.* (2003) ressemble à celle de Gao *et al.* (2002), équation 88, mais avec en particulier une expression de π_g différente :

$$g_{s,w} = f[\Psi_{sol}, K_{tot}, \pi_g(ATP, P_e), \pi_e, Vpd] \quad \text{éq. 92}$$

L'effet de l'ABA pourrait être inclus dans le modèle en considérant que le flux d'ions entrant dans les cellules de garde, et donc π_g , est dépendant de l'ABA.

Ce modèle, complexe, présente deux caractéristiques intéressantes.

- La conductance stomatique est reliée au potentiel osmotique, lui-même déterminé par l'activité photosynthétique. L'activité photosynthétique est rattachée à la concentration en ATP, qui, on l'a vue, détermine la capacité de régénération du RuBP, et ainsi la capacité photosynthétique.

L'ouverture des stomates est donc reliée à la capacité photosynthétique.

- Ensuite, ce modèle tient compte de la plus forte sensibilité de l'ouverture des stomates à la turgescence des cellules de l'épiderme qu'aux cellules de garde (avantage mécanique). Ce gain en terme d'explications mécanistes permet de mieux simuler les variations de g_s en fonction de Vpd . En particulier, la réponse en deux temps des stomates est bien prédite : leur ouverture passagère lorsque Vpd augmente (réponse hydropassive par des phénomènes hydrauliques purs et rapides), puis leur fermeture (réponse hydroactive par régulation osmotique plus lente à se mettre en place et contrecarrant l'effet de la première).

L'inconvénient majeur de ce modèle reste la complexité de la formulation et le nombre élevé de paramètres à déterminer.

➤ **Beaucoup de modèles de conductance stomatique, proposés pour tenir compte de conditions hydriques limitantes, sont basés sur les modèles élaborés en l'absence de stress hydrique. On retrouve alors :**

(i) des modèles multiplicatifs purement empiriques,

(ii) des modèles basés sur la relation entre g_s et A_{net} pour lesquels la pente de la relation g_s - A_{net} est fonction de l'état hydrique du sol ou de la plante.

➤ **Des modèles hydrauliques ou basés sur la concentration en ABA ont aussi été proposés. Les modèles hydrauliques décrivent la circulation de l'eau par analogie à une équation de flux. Certains sont purement empiriques, tandis que d'autres répondent à l'hypothèse selon laquelle les stomates se ferment afin de limiter l'embolie.**

➤ **Quelques rares modèles intègrent ces aspects hormonaux ou hydrauliques à la relation entre g_s et A_{net} .**

➤ **Le modèle mécaniste de Dewar (1995), basé sur le fonctionnement des cellules de garde, a aussi été amélioré afin de tenir compte de conditions hydriques limitantes. C'est le seul modèle à intégrer l'ensemble des facteurs envisagés : hydriques-hydrauliques, hormonaux et lien avec la photosynthèse.**

Tableau 4 : Ensemble des modèles de conductance stomatique (g_s) présenté à la section II, classés selon le type de facteurs qu'ils intègrent. Les modèles fonctionnels en conditions hydriques limitantes sont repérés par *. cases orangées : modèles purement empiriques ; cases jaunes : modèles semi-empiriques ; case bleue : modèle mécaniste. Se reporter à la "liste des abréviations" pour la significations des différentes abréviations employées.

	Modèles indépendants de la photosynthèse	Modèles à coupler à la photosynthèse
Climatique	Lohammar et al. (1980) : $g_s = (Vpd)$ Montheith (1995) : $g_s = f(Vpd)$, $g_s = f(E)$ Ogle et Reynolds (2002) * : $g_s = f(Vpd, \Psi_{base})$ Noe et Giersch (2004) : $g_s = f(Vpd, Q)$	Farquhar et Wong (1984) : $g_s = [ATP]$ Jarvis et Davies (1998) : $g_s = A_{max}$ <i>Relation linéaire entre g_s et A_{net}</i> Ball, Woodow et Berry (1987) : $g_s = (A_{net}, h_r)$ pende g_s-A_{net} : g_{bwb} Leuning (1990) : $g_s = (A_{net}, h_r)$ Aphalo et Jarvis (1993) : $g_s = (A_{net}, Vpd, T_r)$ Leuning (1995) : $g_s = (A_{net}, Vpd)$ pende g_s-A_{net} : g_L
	<i>Modèles multiplicatifs</i> Jarvis (1976), White et al. (1999) Stewart (1988), White et al. (1999), Mac Farlane (2004), Misson et al. (2004) *	<i>Modification de la pente de g_{bwb} et g_L</i> Tenhunen et al. (1990) * : $g_{bwb} =$ constante à paramétrer Baldocchi (1997) * : $g_{bwb} = (P, ETP)$ Sala et Tenhunen (1996), Misson et al. (2004) * : $g_{bwb} = f(\Psi_{base})$ Wang et Leuning (1998), Van Wijk et al. (2000) * : $g_{bwb}, g_L = f(\theta_{sol})$ Uddling et al. (2005) * : $g_L = f(DOY)$
Hormonal	Tardieu et Davies (1993) * : espèces isohydriques Tardieu et Simonneau (1998) * : espèces anisohydriques	Gutschik et Simonneau (2002) * : $g_{bwb} = f([ABA])$
Hydraulique	Oren et al. (1999) * : $g_s = f(K_{TOT})$ Tyree et Sperry (1988), Sperry et al. (1998) * : $g_s = f(K)$, $K = f(\text{architecture hydraulique})$ Jones et Sutherland (1991) * : $g_s = f(K)$, $K = f(\Psi_{cav})$	Tuzet et al. (2003) * : $g_s = f(A_{net}, \Psi_{fol})$, $\Psi_{fol} = f(K, \text{architecture hydraulique})$
	Cochard et al. (1996), Lu et al. (1996), Cochard et al. (2002) * : $E_{crit} = f(\Psi_{cav})$	
Fonctionnement des cellules de garde	Couplage de toutes ces approches Dewar (1995) Dewar (2002), Gao et al. (2002), Buckley et al. (2003) *	

Problématique

PROBLEMATIQUE

Au travers de cette synthèse bibliographique, nous avons montré que de nombreux facteurs, environnementaux ou liés à la physiologie de la plante, concourent à l'ouverture et à la fermeture des stomates. Beaucoup d'entre eux agissent en interaction. Le déterminisme de ces mouvements stomatiques est encore mal connu. Le fonctionnement des stomates est en particulier en relation étroite avec la photosynthèse, dont la régulation est tout aussi complexe.

Le stress hydrique modifie les variations de ces divers facteurs, de la conductance stomatique et de la photosynthèse, ainsi que leurs relations.

Face à la complexité du déterminisme du fonctionnement des stomates, les modèles développés se sont, pour la plupart, concentrés sur un nombre réduit de facteurs. Une meilleure connaissance du déterminisme et des mécanismes à la base du fonctionnement des stomates et de la photosynthèse devrait permettre de modéliser de façon plus réaliste ce fonctionnement, en particulier lorsque l'apport en eau est réduit.

Cette synthèse bibliographique nous a ainsi permis de faire un **état des lieux des connaissances actuelles autour du déterminisme de la fermeture des stomates, en particulier en conditions de stress hydrique**. Certains aspects sont encore imparfaitement connus et les avis divergent sur d'autres points.

Les stomates se ferment rapidement lorsque les conditions hydriques deviennent limitantes. L'assimilation nette diminue elle aussi, en partie en raison de la fermeture des stomates et de la diminution d'apport en CO_2 qui s'ensuit, mais aussi en raison de modifications propres, en particulier de la capacité photosynthétique. Ces modifications dépendent de la combinaison de l'intensité et de la durée du stress imposé. Au cours d'un stress hydrique imposé sur le long terme, les modifications de la capacité photosynthétique et leurs causes, sont peu connues. L'étude d'un stress hydrique imposé sur le long terme est particulièrement importante puisqu'elle correspond à des situations réelles au champ relativement courantes.

Nous avons aussi vu que l'efficacité photosynthétique de l'eau et le rapport g_s/A_{net} , maintenus constants en l'absence de stress hydrique, étaient modifiés lorsque l'état hydrique du sol et de la plante variait. Ce comportement va à l'encontre des théories qui ont pu être élaborées autour du contrôle des stomates : théorie de l'optimisation (Cowan, 1977 ; Cowan et Farquhar, 1977), maintien de C_i constant (Norman, 1982) et hypothèse d'une relation directe entre g_s et A_{max} (Wong *et al.*, 1979).

Dans ce cadre, un certain nombre de questions a été soulevé :

Tout d'abord, les mécanismes exacts de la fermeture des stomates en conditions de stress hydrique sont encore mal connus. Plusieurs voies de contrôle ont été proposées. On sait que les stomates répondent à C_i , à Ψ_{fol} , à l'ABA et à des signaux hydrauliques.

- ♦ **Quels sont le rôle et l'importance relative de ces différentes réponses, et quelles sont leurs interactions ?**

Au-delà de ces aspects mécanistes, la question se pose aussi de comprendre pourquoi les stomates se ferment.

- ♦ **Les stomates sont-ils régulés afin de maintenir (i) C_i constant, (ii) l'état hydrique des feuilles constant, (iii) afin de limiter l'embolie ?**

Les effets sur la photosynthèse d'un stress hydrique imposé sur le long terme étant mal connus, de nombreuses hypothèses ont été émises et soulèvent un certain nombre de questions. En particulier :

- ♦ **Quelle est la part des limitations stomatiques et non-stomatiques lors d'un stress hydrique imposé sur le long terme ?
Quel rôle jouerait alors g_m dans la diminution de la photosynthèse observée ?**
- ♦ **Pour un stress hydrique imposé sur le long terme, quelle est l'importance de la photoprotection et de la destruction de la machinerie photosynthétique sous l'effet de stress photooxydatifs ?**
- ♦ **Les modifications de la capacité photosynthétique observées sont-elles dues à une diminution de l'activité puit ?
Quelle serait alors l'implication de l'ABA dans ces mécanismes ?**

Enfin, on peut se demander comment et pourquoi la relation entre g_s et A_{net} est modifiée en conditions de stress hydrique. Les conséquences d'une diminution de g_s sur A_{net} sont directes : une diminution de g_s diminue l'apport en CO_2 dans le mésophylle et ainsi la photosynthèse. Les conséquences d'une diminution de A_{net} sur g_s ont été évoquées mais restent peu claires. Une régulation indépendante de ces deux variables n'a que rarement été étudiée.

L'une des questions pertinentes est alors :

- ♦ **Lors d'un stress hydrique, une régulation de g_s et A_{net} sous l'effet d'un même facteur, mais indépendamment, pourrait-elle expliquer les modifications de la relation entre g_s et A_{net} observées dans ces conditions ?**

Nous avons choisi d'étudier expérimentalement quelques unes de ces questions sur le manguiier et le litchi, avec pour enjeu de **mieux comprendre le déterminisme du fonctionnement des stomates et de la photosynthèse lors d'un stress hydrique, dans une optique de simulation.**

Trois objectifs généraux ont guidé le travail :

1. Comprendre et simuler l'évolution de la conductance stomatique lors d'un déficit hydrique du sol, en mettant l'accent sur les aspects hydrauliques.
2. Etudier l'effet d'un stress hydrique imposé sur le long terme sur la photosynthèse et la capacité photosynthétique.
3. Décrire et discuter les modifications de la relation entre g_s et A_{net} lors d'un stress hydrique.

Dans un premier temps, nous avons alors cherché à **caractériser le comportement hydrique** du manguier et du litchi, c'est-à-dire l'importance de la régulation stomatique et les variations de Ψ_{fol} , en conditions hydriques limitantes.

Afin de mieux comprendre le déterminisme de la fermeture des stomates dans ces conditions, nous avons testé l'hypothèse selon laquelle les stomates sont régulés afin de limiter l'embolie. Cet objectif a nécessité de **caractériser ces deux espèces sur le plan hydraulique**, en déterminant principalement les paramètres qui décrivent leur sensibilité à la cavitation (Ψ_{cav} en particulier). Une voie de **simulation de la transpiration** et ainsi de la conductance stomatique basée sur cette hypothèse a alors été envisagée.

Ces éléments ont aussi permis de discuter la résistance de ces espèces face à la sécheresse.

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à l'**évolution de la capacité photosynthétique** au cours d'un stress hydrique imposé sur le long terme, au champ ou dans des conditions similaires. Plus particulièrement, nous avons regardé de quelle manière la concentration surfacique en azote (N_a) et J_{max} évoluaient. Nous avons alors envisagé deux **hypothèses pour rendre compte des variations observées** : celle d'un rôle de la diminution de l'activité puit et celle d'un rôle des mécanismes de photoprotection.

L'objectif guidant cette étude a été d'apporter des **éléments nouveaux permettant de modéliser la photosynthèse** lors d'un stress hydrique imposé sur le long terme.

A partir de cette même expérimentation, **l'effet du stress hydrique sur la relation entre g_s et A_{net}** a été étudié.

Matériel et méthodes

MATERIEL ET METHODES

Note sur l'emploi de l'abréviation g_s : Dans les parties qui vont suivre, il ne sera plus question que de conductance stomatique à la vapeur d'eau. Elle sera désormais abrégée g_s , que ce soit dans le texte, les équations, ou sur les graphiques.

A- RESULTATS METHODOLOGIQUES PRELIMINAIRES

A-1 Mesure du potentiel hydrique foliaire chez le manguiier

Rappel des mesures de potentiel hydrique faites sur feuille

Le potentiel hydrique xylémien (Ψ_{xyl}) correspond au potentiel hydrique de la sève contenu dans les vaisseaux du xylème. Il est mesuré sur une feuille non transpirante (ensachée hermétiquement).

Le potentiel hydrique foliaire (Ψ_{fol}) représente le potentiel hydrique global de la feuille. Il est estimé par le potentiel hydrique de la sève d'une feuille transpirante.

Le potentiel de base (Ψ_{base}) est mesuré le matin avant le lever du soleil sur des feuilles hermétiquement ensachées depuis la veille. Il permet d'estimer le potentiel hydrique du sol, au voisinage des racines.

Ψ_{fol} et Ψ_{xyl} sont couramment mesurés à l'aide d'une chambre hermétiquement fermée et capable de supporter une pression de plusieurs mégapascals, appelée chambre à pression (voir annexe 1).

Une feuille est introduite dans la chambre humidifiée, hermétiquement refermée. L'extrémité du pétiole, coupée perpendiculairement à l'axe, est maintenue à l'extérieur de la chambre pour permettre les observations. La pression est très progressivement augmentée dans la chambre par injection d' N_2 gazeux. Au niveau de la section du pétiole, la sortie de sève est repérée à l'aide d'une loupe à main ou binoculaire. Un écoulement de sève uniforme sur la section du pétiole apparaît lorsque la pression hydrostatique (tension) dans les vaisseaux du xylème et la pression appliquée sont en équilibre.

La sève brute étant très peu chargée en solutés, la composante osmotique du potentiel hydrique est négligeable ($\pi_{sève} \approx 0$). Le potentiel hydrique de la sève ($\Psi_{sève}$) est donc estimé par la pression hydrostatique de la sève ($P_{sève}$) (voir annexe 1) :

$$\Psi_{sève} \approx P_{sève}$$

éq. 93

Déterminer le potentiel hydrique d'une feuille revient donc à repérer la pression à appliquer dans la chambre pour que la sève sorte.

Les rameaux et pétioles de manguier contiennent un grand nombre de canaux laticifères. Fortement chargé en solutés, le latex a *a priori* un potentiel osmotique non négligeable, bien plus fortement négatif que celui de la sève ($\pi_{\text{latex}} < \pi_{\text{sève}}$). Etant en équilibre, avec la sève, son potentiel hydrique est égal à celui de la sève ($\Psi_{\text{latex}} = \Psi_{\text{sève}}$). En conséquent, la pression hydrostatique du latex (P_{latex}) doit être supérieure à celle de la sève :

	$\Psi_{\text{sève}} \approx P_{\text{sève}}$	et	$\Psi_{\text{latex}} = \pi_{\text{latex}} + P_{\text{latex}}$	<i>éqs. 93 et 94</i>
or	$\Psi_{\text{latex}} = \Psi_{\text{sève}}$	et	$\pi_{\text{latex}} < 0$	
donc	$P_{\text{latex}} > P_{\text{sève}}$			

Lors de la montée en pression de la chambre, il y a alors des risques de confusion entre sortie de sève et sortie de latex (Pongsomboon *et al.*, 1992). Compte tenu du raisonnement précédent, le latex devrait apparaître avant la sève lorsqu'on augmente la pression dans la chambre.

Il a alors été nécessaire de déterminer et valider une méthode permettant de mesurer Ψ_{fol} et Ψ_{xyl} à la chambre à pression, sur manguier. L'utilisation de psychromètres s'est révélée inadaptée aux feuilles de manguier. Les potentiels hydriques seraient en effet sous-estimés, car la cuticule absorberait de la vapeur d'eau, diminuant ainsi l'humidité dans la chambre (Lu, communication personnelle). L'idée a alors été de mesurer et de comparer Ψ_{base} sur deux espèces, dont le manguier, plantées dans un même pot et aux enracinements à peu près similaires.

Matériel végétal et dispositif expérimental

Trois manguiers, cv. Cogshall greffé sur Maison Rouge, ont été plantés en conteneurs de 70 L contenant un mélange 50 % sol ferralitique – 50 % TKSII (tourbe blonde). Ces plants ont été placés sous serre pendant un an et demi. De jeunes plants de tomates (*Lycopersicon esculentum*), de la variété à croissance indéterminée 'Murano', ont alors été plantés dans les mêmes conteneurs. Le choix de la tomate a été guidé par sa rapidité de croissance racinaire et par son utilisation courante dans les mesures de potentiel hydrique à la chambre à pression. Les conteneurs ont été parfaitement arrosés pendant un mois et demi.

L'arrosage a alors été arrêté et la surface des conteneurs couverte d'une bâche afin d'homogénéiser la teneur en eau du substrat. Tous les deux ou trois jours au cours d'un dessèchement de deux semaines, Ψ_{base} a été mesuré sur deux feuilles de plants de tomate et deux feuilles de manguier plantés dans le même conteneur, à l'aide d'une chambre à pression Scholander (Sam Precip, Gradignan, France).

Détermination de Ψ_{fol} chez le manguier

Chez le manguier, l'augmentation de pression dans la chambre s'accompagne dans un premier temps d'un bullage lent, épais et non uniforme. Il correspond à la sortie du latex. Ce liquide a été éliminé, au fur et à mesure de sa sortie, en essuyant précautionneusement la section du pétiole à l'aide d'un coton tige.

Dans un second temps, un bullage plus intense et uniforme apparaît, similaire à celui observé sur d'autres espèces. Il correspond à la sortie de la sève.

La relation entre Ψ_{base} mesuré chez le manguier selon la méthode décrite ci-dessus et Ψ_{base} mesuré chez la tomate a été ajustée par une régression linéaire (logiciel R, R Development Core Team, 2005) et l'intervalle de confiance à 95 % de la pente estimée a été calculé.

Les potentiels de base mesurés chez le manguier et la tomate ont été bien corrélés ($R^2 = 0.97$ figure 13). La pente de la droite de régression entre le potentiel mesuré chez le manguier et celui mesuré chez la tomate a été très proche de 1 (1.13 , $I.C._{95\%} = [1.02 ; 1.23]$).

En conséquent, la valeur de potentiel hydrique mesurée sur manguier à la chambre à pression a été considérée comme correcte.

Cependant, pour certains, la présence de latex pose deux types de problèmes :

(i) Le latex et la sève sortent à des pressions appliquées différentes et donc à des moments différents de l'observation.

(ii) La sève sort de façon non uniforme sur la section du pétiole lorsque la transpiration est non nulle, c'est-à-dire pour des mesures de potentiel hydrique faites au cours de la journée.

Le problème (i) a ici été résolu : **en prenant la précaution d'essuyer régulièrement la section du pétiole avec un coton tige pour éliminer le latex, la valeur du potentiel hydrique doit être retenue lorsque le bullage devient intense et uniforme.**

Le problème (ii) nécessiterait une seconde validation, pour des Ψ_{fol} mesurés au cours de la journée. Cependant, ce problème n'a jusqu'à présent pas été observé sur notre variété de manguier.

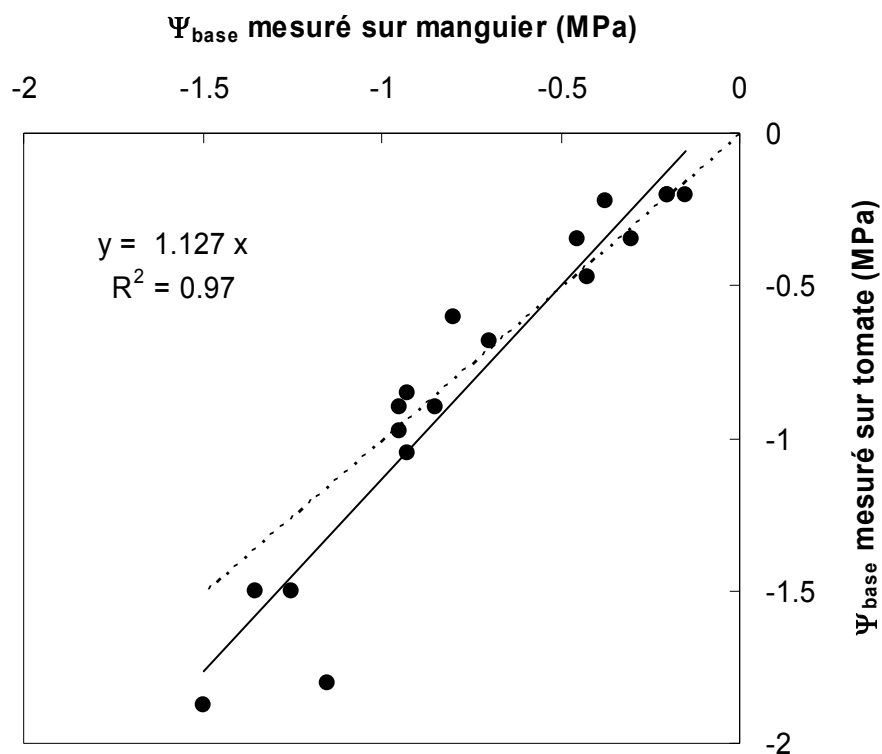


Figure 13 : Relation entre les potentiels de base (Ψ_{base}) mesurés chez le manguier (cv. Cogshall) et sur des plants de tomate (var. Murano).

La 1^{ère} bissectrice est représentée en pointillés. La droite de la régression (trait continu) ainsi que l'équation de la régression et le coefficient de détermination sont également présentés.

A-2 Variations journalières des concentrations en sucres : à quel moment de la journée estimer les paramètres de la capacité photosynthétique ?

Nous avons vu au paragraphe B-4-9, section I de la synthèse bibliographique, que l'accumulation de sucres dans les feuilles pouvait inhiber la photosynthèse. Au cours de la journée, les sucres s'accumulent et peuvent en particulier biaiser les estimations des paramètres de la photosynthèse. Il est donc nécessaire de déterminer le moment à partir duquel la concentration en sucres dans les feuilles devient critique.

Au cours d'une même journée, des feuilles de manguier, cv. Cogshall, et de litchi, cv. Kwai Mi, ont été prélevées sur des arbres âgés de 14 ans plantés en parcelle expérimentale et parfaitement irrigués. Un échantillon de huit feuilles prises au hasard pour chaque espèce a été prélevé toutes les 1 h 30, de 8 h à 16 h 30 (soit sept fois au cours de la journée). Les échantillons ont été immédiatement congelés après récolte, puis lyophilisés et broyés.

Les concentrations en sucres solubles ont été déterminées par HPLC (Gilson, Middleton, Wisconsin, USA) après extraction à l'éthanol, selon une méthode adaptée de Boehringer (1984) pour le glucose, le fructose et le saccharose et de Popp *et al.* (1997) pour le quebrachitol. Le quebrachitol est un cyclitol (sucre cyclique) constitutif de la feuille de litchi. Les concentrations en amidon ont été déterminées par hydrolyse enzymatique en saccharose (Thievend *et al.*, 1972), en utilisant un spectrophotomètre à lecteur de microplaques (BioTek instruments, Winooski, Vermont, USA).

Chez le manguier, les concentrations en amidon et sucres solubles ont atteint respectivement 22.2 et 85.4 mg g⁻¹ de matière sèche (MS) en fin de journée (figure 14) ; chez le litchi, elles ont atteint respectivement 18.0 et 39.6 mg g⁻¹ MS en fin de journée (figure 14).

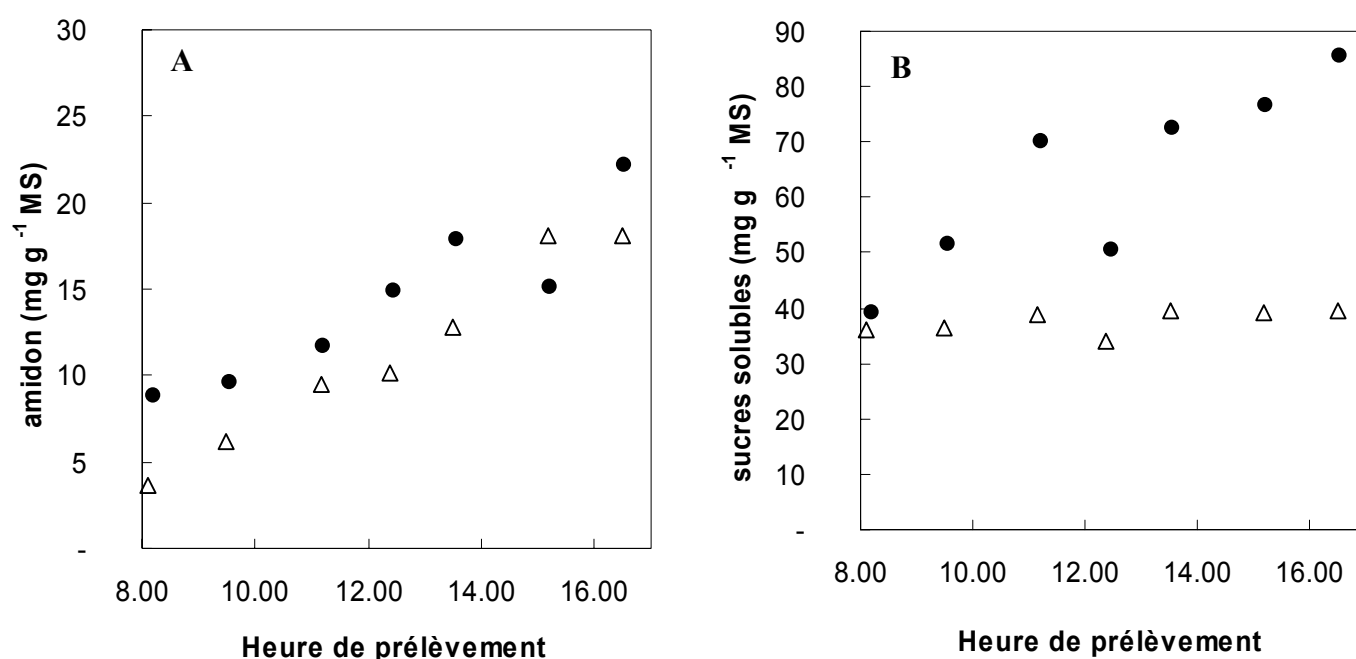


Figure 14 : Variation journalière de la teneur massique en amidon (A) et en sucres solubles (B) de feuilles de manguier (●) et de litchi (Δ).

Un précédent jeu de données, constitué de mesures conjointes de flux électronique (J) et de concentrations en amidon et sucres solubles chez le manguier (Urban, communication personnelle), a servi de référence afin d'interpréter nos résultats sur cette espèce. La concentration en amidon observée en fin de journée reste à un niveau bas, inférieur à 25 mg g⁻¹ MS. On peut considérer qu'il n'y a pas d'effet de la concentration en amidon sur J. Au contraire, la concentration en sucres solubles atteint des niveaux plus élevés. Sur la base du jeu de données de référence, le seuil critique de concentration surfacique en sucres solubles au-dessus duquel la photosynthèse est inhibée est de 12 g m⁻². En estimant que la masse surfacique des feuilles de manguier est d'environ 150 g m⁻², le seuil de concentration massique est égal à 80 mg g⁻¹ MS. Les concentrations mesurées dépassent ce seuil vers 15 h 30.

La concentration en sucres solubles reste stable chez le litchi. Nous ne possédons malheureusement pas de valeurs de référence permettant de discuter un éventuel effet inhibiteur sur J.

Par précaution, au cours des différentes expérimentations qui vont être présentées par la suite, nous n'avons jamais fait de mesures dans l'après-midi. Aux vues des conclusions tirées de cette étude préliminaire, cette précaution semble suffisante pour le manguier. Nous faisons l'hypothèse qu'elle l'est aussi pour le litchi.

A-3 Détermination du point de compensation en CO₂ en l'absence de respiration mitochondriale (Γ*) et de la respiration mitochondriale sur manguier

Nous verrons par la suite que l'estimation de la conductance mésophyllienne (g_m) à partir de mesures couplées fluorescence / échanges gazeux nécessite l'utilisation du facteur de spécificité de la Rubisco (τ) et de la respiration mitochondriale (R_d). La précision de ces mesures demande une détermination fine de ces deux paramètres.

Classiquement, le facteur de spécificité est emprunté à la littérature sur des espèces de référence (principalement Bernacchi *et al.*, 2001 sur *Nicotiana tabacum*), et la respiration mitochondriale est estimée par la respiration de nuit (R_n). R_n est mesuré sur une feuille placée 5 min à l'obscurité. R_d (exprimé en valeurs positives) est dans ce cas surestimée en raison de l'effet inhibiteur de la lumière sur la respiration mitochondriale.

Par ailleurs, τ et R_d varient en fonction de la température à la surface de la feuille (T_f) :

$$\text{paramètre} = \exp\left(c - \frac{E_a}{R.T_f}\right) \quad \text{éq. 95}$$

où E_a est l'énergie d'activation ;
c un paramètre spécifique ;
R la constante des gaz parfaits (8.314 J K⁻¹ mol⁻¹).

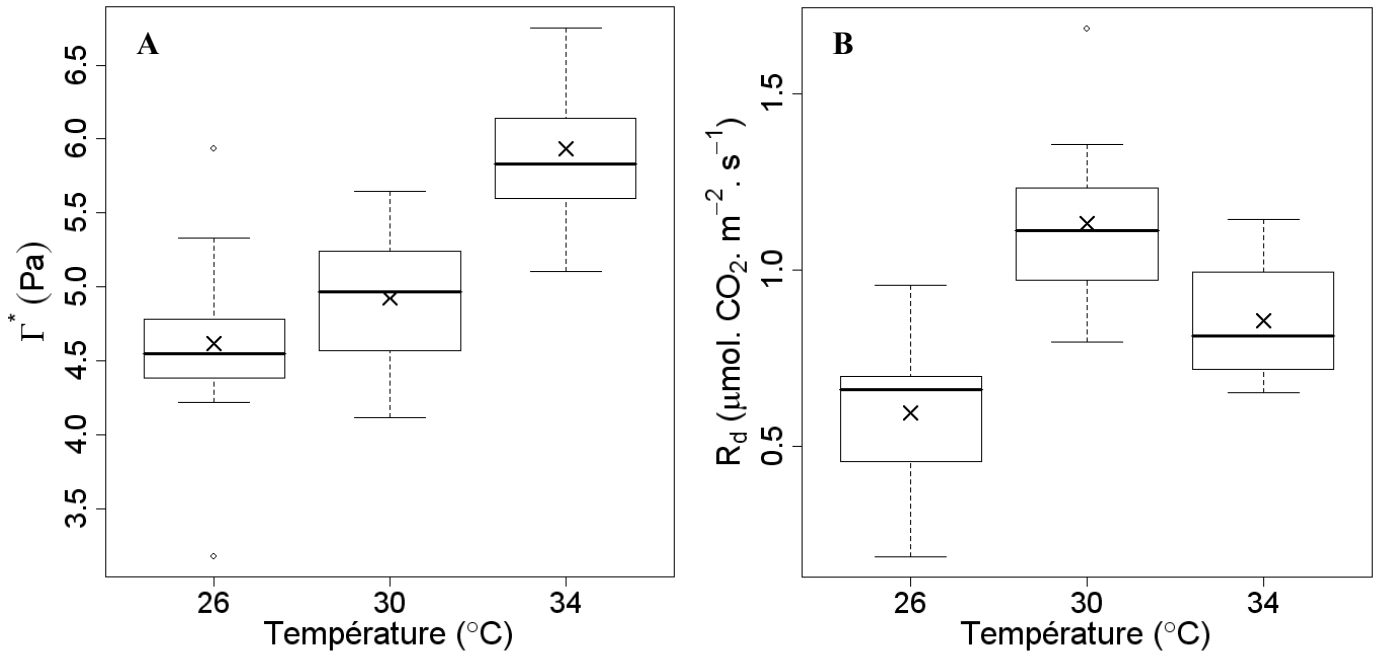


Figure 15 : Relation entre le point de compensation en CO₂ en l'absence de respiration mitochondriale, Γ^* (A) et la respiration mitochondriale, R_d (B) et la température. Les lignes en gras à l'intérieur des boîtes à moustaches représentent les médianes ; les croix représentent les moyennes. $n = 12$ dans chaque boîte.

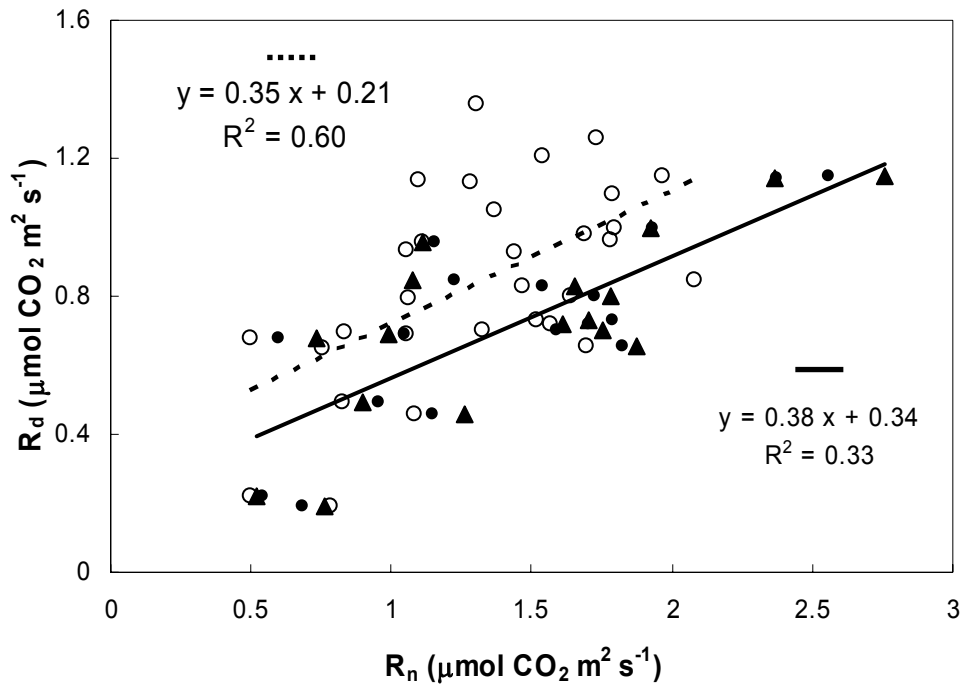


Figure 16 : Relation entre la respiration mitochondriale (R_d) et la respiration de nuit (R_n) pour des intensités lumineuses de 70 (\circ), 170 (\blacklozenge) et 350 (\blacktriangle) $\mu\text{mol photons m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Les droites des régressions correspondant aux données acquises à 70 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (pointillés) et à 170 et 350 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ groupées (trait continu) sont représentées. Les équations des droites de ces régressions ainsi que le coefficient de détermination sont également présentés.

Afin de comparer les données entre elles, il est nécessaire de tenir compte de T_f . L'équation 96 permet alors de corriger les données acquises à la température T_{ref} par la température recherchée T_f :

$$\text{paramètre}(T_f) = \text{paramètre}(T_{ref}) \cdot \exp\left\{E_a \left(\frac{1}{R \cdot T_f}\right) - \left(\frac{1}{R \cdot T_{ref}}\right)\right\} \quad \text{éq. 96}$$

τ est relié au point de compensation en CO_2 en l'absence de respiration mitochondriale (Γ^*) :

$$\Gamma^* = \frac{0.5 \cdot O}{\tau} \quad \text{éq. 97}$$

où O est la pression partielle en O_2 dans le milieu intercellulaire.

Nous avons alors cherché (i) à déterminer R_d et Γ^* pour la gamme de températures rencontrée dans nos conditions expérimentales à la Réunion afin d'estimer E_a pour chaque variable, (ii) à établir ainsi une valeur de référence de τ pour le manguier (iii) et à proposer une relation entre R_d et R_n afin de corriger les mesures de R_n faites au champ.

Γ^* et R_d ont été déterminés selon la méthode de Brooks et Farquhar (1985). Γ^* et R_d sont les coordonnées du point d'intersection des courbes $A_{net}-C_i$ faites à différentes intensités lumineuses et pour de faibles concentrations en CO_2 .

Une feuille mature d'un manguier de trois ans (cv. Cogshall) en conteneur de 70 L et parfaitement arrosé a été choisie chaque matin, pendant 12 jours. Les échanges gazeux ont été mesurés à l'aide d'un analyseur de $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$ gazeux à infrarouge et d'une chambre foliaire dotée d'une source lumineuse rouge + bleue (LI 6400 et LI 6400-02B, Li-Cor Inc., Lincoln, USA). Trois niveaux lumineux ont été successivement appliqués : 350, 170 et 70 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Pour chaque niveau lumineux, des concentrations croissantes de CO_2 ont été imposées : 5, 6, 7.5, 10, 12.5, 15 et 17.5 Pa. L'assimilation de CO_2 correspondante a été mesurée. A la fin de chaque série de mesure, pour chaque niveau lumineux, la feuille a été emballée dans un sachet aluminisé pour la maintenir à l'obscurité. R_n a été mesuré après 5 min. Cette procédure a été répétée à trois niveaux de température de feuille : 26, 30 et 34 °C.

Γ^* a augmenté avec la température, avec des valeurs moyennes égales à 4.61, 4.92 et 5.93 Pa à 26, 30 et 34 °C respectivement (figure 15A). R_d a atteint un maximum de 1.13 $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ à 30 °C et a diminué pour une température supérieure (figure 15B). Bernacchi *et al.* (2001) trouvaient sur *Nicotiana tabacum* des valeurs de Γ^* proches : 4.29, 5.52 et 7.04 à 25, 30 et 35 °C respectivement. Pour R_d , cependant, les auteurs observaient une décroissance exponentielle avec la température.

Nous retiendrons donc la valeur de référence de τ à 26 °C sur manguier : 2220 mol O_2 mol⁻¹ CO_2 .

Les énergies d'activation relatives à R_d et Γ^* ont été estimées, après linéarisation de l'équation 95, par une régression linéaire entre ces variables et T_f à l'aide du logiciel R.

Les énergies d'activation de Γ^* et R_d ont été respectivement estimées à 24.71 et 55.50 kJ mol⁻¹.

La relation entre R_d et R_n , ajustée par une régression linéaire, a varié selon l'intensité lumineuse (figure 16). Cependant, les droites de régressions correspondantes aux valeurs acquises à 170 et 350 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ont été très proches. Il semble donc que le niveau d'inhibition par la lumière reste stable à partir de 170 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Compte tenu des intensités lumineuses rencontrées au champs (de 200 à 2200 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en cours de journée), la relation déterminée sur les données acquises à 170 et 350 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ peut être utilisée pour corriger les valeurs de R_n mesurées :

$$R_d = 0.35 R_n + 0.21$$

éq. 98

La pente de cette courbe correspond à la gamme observée par Brooks et Farquhar (1985) sur *Spinacia oleracea*. Pour ces auteurs, le rapport R_d/R_n devient presque constant à partir de 300 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et est alors proche de 0.2.

B- CARACTERISATION HYDRAULIQUE ET HYDRIQUE DU MANGUIER ET DU LITCHI

B-1 Mesure de la conductivité hydraulique du xylème et estimation du taux d'embolie

La conductivité hydraulique du xylème a été mesurée selon la méthode de Sperry *et al.* (1988a), à l'aide du XYL'EM (Xylem Embolism Meter, INRA Licensed Instrutec, France). L'appareil calcule directement la conductance hydraulique par le rapport entre le flux d'eau mesuré et un gradient de pression connu. La conductivité est définie comme le produit de la conductance par la longueur de l'échantillon étudié (voir annexe 2).

B-1-1 Collecte et préparation des échantillons

Un segment de pétiole ou de rameau a été prélevé sous l'eau. Les segments de rameaux feuillés, maintenus immergés, ont été défoliés et les cicatrices foliaires entourées de ruban Téflon. Chez le manguier, de nombreux canaux laticifères sont concentrés dans l'écorce. Le latex exsudé au cours de la mesure étant susceptible de colmater des vaisseaux du xylème, l'écorce a été enlevée délicatement sur toute la longueur du pétiole ou aux deux extrémités des rameaux, en veillant à ne pas abîmer le bois. Les parties écorcées ont été enroulées dans du ruban Téflon pour éviter les fuites latérales.

La longueur précise de l'échantillon a été mesurée afin de pouvoir calculer la conductivité.

B-1-2 Mesure de la conductivité initiale et à saturation

Les échantillons ainsi préparés ont été insérés dans l'appareil sous un faible flux d'eau pour éviter de créer, lors de l'insertion, des pressions susceptibles de résorber l'embolie. De l'eau distillée contenant 10 mmol L^{-1} de KCl a été perfusée à travers les échantillons sous l'effet d'une pression hydrostatique de 2 kPa environ. L'ajout de KCl permet de stabiliser le flux d'eau à travers les vaisseaux.

La conductance a été mesurée à la stabilisation du flux ($CV < 0.5 \%$). Cette conductance est appelée "conductance initiale". La conductivité initiale (K_i) a alors été calculée.

Les échantillons ont ensuite été perfusés à une pression de 0.1 MPa pendant environ 20 s pour les pétioles (environ 1 cm de long) et entre 90 et 120 s pour des rameaux de 3 ou 4 cm de long. La perfusion sous forte pression permet d'éliminer les bulles d'air et de saturer les vaisseaux en eau.

La conductance "à saturation" a été mesurée de la même manière que la conductance initiale. La conductivité à saturation (K_{sat}) a été calculée.

B-1-3 Calcul du taux d'embolie

Le taux d'embolie est estimé par le pourcentage de perte de conductivité (PLC), calculé à partir de K_i et de K_{sat} :

$$PLC = 100 \left(1 - \frac{K_i}{K_{sat}} \right) \quad \text{éq. 99}$$

B-2 Matériel végétal

A l'exception des expérimentations présentées aux paragraphes B-4-2 et B-4-3, toutes celles présentées dans cette partie ont été menées sur des parcelles expérimentales de manguier (cv. Cogshall greffé sur Maison Rouge) et de litchi (cv. Kwai Mi, issus de marcottes) à Saint Pierre. Les arbres des deux parcelles, âgés de 14 ans, ont été plantés avec un espacement de 6 m x 4 m pour les manguiers et de 6 m x 8 m pour les litchis. L'irrigation a été conduite de manière à couvrir 100 % de l'évapotranspiration potentielle (ETP) tout au long de l'année. Le matériel végétal et le dispositif expérimental relatifs aux expérimentations présentées aux paragraphes B-4-2 et B-4-3 diffère et est présenté dans ces mêmes paragraphes.

B-3 Estimation de la vulnérabilité à la cavitation

La vulnérabilité à la cavitation des deux espèces a été estimée par le potentiel de cavitation (Ψ_{cav}), déterminé à partir des courbes de vulnérabilité (courbes potentiel hydrique – PLC) :

- par déshydratation à la paillasse (Sperry *et al.*, 1988a), sur pétioles et rameaux,
- par centrifugation (Cochard, 2002a), sur rameaux.

Pour le manguier, des échantillons (rameaux et pétioles) prélevés sur des branches à l'intérieur de la canopée, dits "échantillons d'ombre", ont été différenciés d'échantillons prélevés sur des branches bien exposées, dits "échantillons de lumière". Pour le litchi, tous les échantillons ont été prélevés sur des branches bien exposées.

B-3-1 Déshydratation à la paillasse

Plusieurs rameaux de manguier et de litchi ont été prélevés et déposés pour une durée allant de quelques heures à plusieurs jours sur une paillasse de laboratoire. Les rameaux ont été recouverts d'un sac plastique noir, afin de maintenir les potentiels hydriques homogènes le long des rameaux.

Les rameaux ont été successivement choisis en fonction de leur degré de dessèchement attendu. Sur chacun de ces rameaux, Ψ_{fol} a été mesuré à la chambre à pression sur deux feuilles. Un segment éloigné de la coupe d'au moins la longueur maximale des vaisseaux (voir B-5-1) a été prélevé sous l'eau. Pour construire la courbe de vulnérabilité des pétioles, cinq pétioles ont été prélevés sur chaque segment, et leur taux d'embolie mesuré. Les valeurs de PLC obtenues pour un même Ψ_{fol} ont été moyennées. Pour déterminer la courbe de

vulnérabilité des rameaux, cinq échantillons de rameaux de 3 à 4 cm ont été prélevés, leur taux d'embolie mesuré et moyenné comme ci-dessus.

B-3-2 Centrifugation

La méthode de mesure du taux d'embolie par centrifugation, exposée par Cochard *et al.* (2002a), est brièvement rappelée. Un segment de rameau de 28 cm est inséré dans une centrifugeuse construite à cet effet, centré à l'intérieur du dispositif. Ses deux extrémités sont maintenues immergées dans des réservoirs d'eau latéraux. Le niveau d'eau des deux réservoirs est différent, ce qui permet le développement d'une différence de pression durant la centrifugation.

Au cours de la centrifugation, un flux d'eau apparaît, du réservoir au niveau d'eau le plus élevé (réservoir d'amont) vers le réservoir au niveau d'eau le plus bas (réservoir d'aval). Le niveau d'eau du réservoir d'amont, repéré verticalement en raison de la force centrifuge, diminue au cours de la centrifugation. Sa vitesse de diminution est calculée en déterminant optiquement la distance entre les ménisques d'eau et d'air dans le réservoir.

La vitesse de diminution du niveau d'eau dans le réservoir d'amont permet de déterminer le flux d'eau imposé. La vitesse de rotation de la centrifugeuse détermine le gradient de pression créé. Les conductance et conductivité hydrauliques peuvent ainsi être calculées.

L'élaboration d'une courbe de vulnérabilité consiste alors à augmenter progressivement la vitesse de rotation afin de diminuer la pression minimale imposée au segment de rameau (P , au centre du rameau). Une mesure à $P = -0.5$ MPa précède chaque mesure faite à une pression inférieure. La conductivité mesurée à $P = -0.5$ MPa joue le rôle de conductivité de référence (K_{sat} des mesures classiques d'embolie) et permet de calculer le taux d'embolie généré.

La vulnérabilité à la cavitation de deux rameaux (de lumière) de litchi et de 19 rameaux de manguier (dont 14 de lumière et cinq d'ombre) a été mesurée par cette méthode.

B-3-3 Correction des données obtenues par déshydratation à la paille

Les rameaux ont fréquemment un taux d'embolie minimal non nul, résiduel de l'historique du rameau, dit embolie native (PLC_0 , PLC à $\Psi_{\text{xyt}} = 0$). La centrifugation permet d'évaluer les changements de conductance par rapport à l'état initial (Cochard *et al.*, 2005). Les vaisseaux déjà embolisés ne sont pas resaturés et c'est ainsi l'embolie des vaisseaux non embolisés au début de la mesure qui est calculée. Par conséquent, la méthode ne permet pas de prendre en compte l'embolie native. Lorsque celle-ci est importante, des écarts significatifs entre les deux méthodes de détermination des courbes de vulnérabilité sont à attendre.

PLC_0 a été estimée par la moyenne des PLC mesurés sur les échantillons pour lesquels Ψ_{xyt} était supérieur ou égal au Ψ_{xyt} le plus bas mesuré *in situ* pour des arbres non stressés.

Chez le manguier, seul Ψ_{fol} a été mesuré. Ψ_{xyt} a alors été estimé à partir de mesures simultanées de Ψ_{fol} et du taux de transpiration foliaire (E , mesuré par échanges gazeux, voir B-4-2), et en considérant une conductance de feuille, K_{fol} , de $13 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} (\text{s MPa})^{-1}$ (moyenne observée sur les arbres tropicaux, Sack et Holbrook, 2006) :

$$\Psi_{\text{xyl}} = \frac{E}{K_{\text{fol}}} + \Psi_{\text{fol}} \quad \text{éq. 100}$$

Nous avons considéré que les PLC_0 des rameaux ou pétioles d'ombre et de lumière du manguier étaient identiques.

Afin de comparer les courbes de vulnérabilité obtenues par les deux méthodes, et de s'affranchir de cette embolie native, les PLC mesurés après déshydratation à la paille ont alors été corrigés :

$$PLC_n = (PLC - PLC_0) \frac{100}{100 - PLC_0} \quad \text{éq. 101}$$

où PLC_n est le nouveau pourcentage de perte de conductivité calculé.

B-3-4 Ajustement d'une courbe de référence

Les données obtenues par centrifugation ou déshydratation à la paille ont été ajustées par une régression non linéaire à une équation sigmoïde exponentielle (Pammenter et Vander Willigen, 1998) :

$$PLC = \frac{100}{1 + \exp(a(\Psi - b))} \quad \text{éq. 102}$$

La valeur 100 représente la perte maximale de conductivité. b équivaut au potentiel hydrique pour lequel on observe 50 % d'embolie (Ψ_{50}). a est relié à la pente de la courbe, et ainsi à la gamme de potentiels hydriques où l'on observe les plus fortes pertes de conductivité. Ψ_{cav} a été estimé par le potentiel induisant 10 % d'embolie.

Les régressions non linéaires ont été effectuées selon la méthode des moindres carrés (Venables et Ripley, 2002) à l'aide du logiciel R (R Development Core Team, 2005).

Les courbes construites par la méthode de déshydratation à la paille et par la méthode de centrifugation seront respectivement appelées "courbe par déshydratation" et "courbe par centrifugation".

B-4 Comportement hydrique du manguier et du litchi lors d'un stress hydrique

B-4-1 Cinétique de déshydratation de rameaux coupés

Trois rameaux de manguier et trois rameaux de litchi ont été coupés et laissés pendant plusieurs heures sur une paille de laboratoire. La température et l'hygrométrie ont été contrôlées et sont restées stables. Pendant toute la durée de l'expérimentation, les rameaux ont été recouverts d'un sac plastique noir, afin de maintenir les potentiels hydriques homogènes le long du rameau. Sur chaque rameau, cinq feuilles ont été ensachées hermétiquement en début

d'expérimentation. Ψ_{xy1} d'une feuille ensachée et Ψ_{fol} d'une feuille voisine, non ensachée, ont été mesurés pour chaque rameau cinq fois au cours d'une période de dessèchement allant de 30 min à 7 h.

La même procédure a été reproduite, avec le même nombre de répétitions et de mesures, sur une période de dessèchement plus longue, allant de 6 h 30 à 57 h.

Lorsque la diminution de Ψ_{fol} et Ψ_{xy1} avec le temps était linéaire, les données ont été ajustées par une régression linéaire à l'aide du logiciel R.

B-4-2 Modèle hydraulique de transpiration sur manguier

➤ *Matériel végétal et dispositif expérimental*

L'expérimentation a été conduite du 2 au 10 janvier 2006, sur cinq manguiers de deux ans, cv. Cogshall greffé sur Maison Rouge, plantés en conteneurs de 70 L. Trois conteneurs contenaient un mélange 50 % sol ferrallitique – 50 % TKSII (tourbe blonde), deux pots contenaient 100 % de sol ferrallitique. Les conteneurs ont été arrosés chaque jour, avant le début de l'expérimentation, de façon à couvrir l'ETP (estimée à 5 mm par jour) et afin de maintenir le sol à saturation.

Le premier jour de l'expérimentation, l'arrosage a été stoppé et la surface des conteneurs protégée de la pluie, si nécessaire, par une bâche.

Les données climatiques ont été enregistrées chaque jour par une station météo située près du lieu d'expérimentation. L'ETP a été directement calculée par la station, selon la formule de Penman-Monteith.

➤ *Mesures de potentiels hydriques et d'échanges gazeux*

Cinq jours au cours de la période de sécheresse imposée (après 1, 3, 5, 7 et 8 jours), Ψ_{base} a été mesuré, à l'aide d'une chambre à pression Scholander (Sam Precis, Gradignan, France), le matin avant le lever du soleil, sur des feuilles ensachées la veille. Il a été choisi comme estimation du potentiel hydrique du sol.

Ces mêmes jours, les échanges gazeux et Ψ_{fol} ont été mesurés à trois moments de la journée. Afin d'avoir des situations contrastées, les mesures ont eu lieu : tôt le matin (vers 8 h), au moment du plus fort ensoleillement (entre 10 h 30 et 11 h pour éviter une forte couverture nuageuse) et plus tard dans l'après-midi (à partir de 14 h).

Lors de chaque série de mesures, les échanges gazeux puis Ψ_{fol} ont été mesurés sur une feuille bien exposée par plant. Les échanges gazeux ont été mesurés à l'aide d'un analyseur de $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$ gazeux à infrarouge et d'une chambre foliaire dotée d'une source lumineuse rouge + bleue (LI 6400 et LI 6400-02B, Li-Cor Inc., Lincoln, USA), en imposant une pression partielle en CO_2 dans la chambre (C_a) de 36.5 Pa. Les mesures ont été faites en mode track afin de minimiser les fluctuations de lumière mesurée par un capteur externe. Ψ_{fol} a été mesuré à la chambre à pression. Ψ_{xy1} a été estimé selon la méthode décrite au paragraphe B-3-3, équation 100.

Les résultats n'ayant pas été différents entre les deux substrats, nous ne les différencierons plus par la suite.

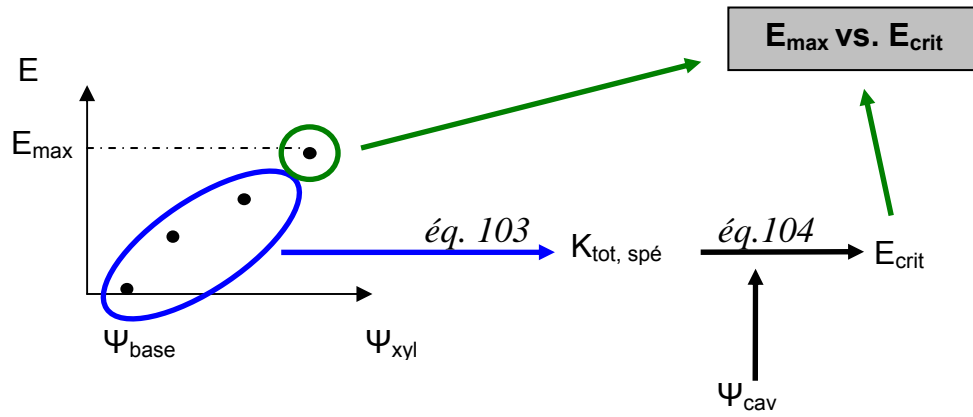


Figure 17 : Méthode de calcul de la conductance hydraulique du xylème spécifique de feuille ($K_{\text{tot,spé}}$) et de la transpiration critique (E_{crit}), en vue de la comparaison entre E_{crit} et la transpiration foliaire maximale observée (E_{max}). Se reporter au texte, paragraphe B-4-2 pour le détail des équations.

E : transpiration foliaire ; Ψ_{base} : potentiel de base, estimateur du potentiel hydrique du sol ; Ψ_{cav} : potentiel de cavitation ; $\Psi_{\text{xy}}l$: potentiel hydrique du xylème.

➤ *Calcul d'une transpiration critique et confrontation à la transpiration maximale observée*

La méthode d'exploitation des résultats est schématisée à la figure 17 et commentée ci-dessous.

Pour chaque jour de mesure (et donc pour chaque Ψ_{base}), le couple de mesures potentiel hydrique / transpiration foliaire pour lequel la transpiration foliaire était maximale (E_{max}) n'a pas été considéré pour les calculs suivants (équation 103 et 104).

Les deux autres couples, plus Ψ_{base} , ont servi à estimer la conductance hydraulique totale du xylème spécifique de feuille, c'est-à-dire exprimée par unité de surface foliaire ($K_{\text{tot,spé}}$). $K_{\text{tot,spé}}$ a été estimée par une régression linéaire (logiciel R), pour chaque arbre et chaque jour de mesure (soit pour chaque Ψ_{base}) selon le modèle hydraulique :

$$E = (\Psi_{\text{base}} - \Psi_{\text{xyl}}) K_{\text{tot,spé}} \quad \text{éq. 103}$$

Pour chaque arbre et chaque jour, le seuil de transpiration (E_{crit}) à partir duquel les risques de cavitation apparaissent a été calculé à l'aide de Ψ_{cav} , selon le modèle hydraulique de Cochard *et al.* (2002) :

$$E_{\text{crit}} = (\Psi_{\text{base}} - \Psi_{\text{cav}}) K_{\text{tot,spé}} \quad \text{éq. 104}$$

Le modèle a été successivement utilisé avec les valeurs de Ψ_{cav} obtenues par déshydratation (-1.01 MPa) et par centrifugation (-2.21 MPa).

Calculer $K_{\text{tot,spé}}$ sans considérer le couple de mesures potentiel hydrique / transpiration foliaire correspondant à E_{max} a permis de découpler mathématiquement les calculs de $K_{\text{tot,spé}}$ et E_{crit} , de E_{max} .

La demande évaporative a été peu variable au cours de l'expérimentation (ETP comprises entre 5.6 et 6.2). Cependant, par souci de rigueur, E_{max} et E_{crit} ont été pondérés par le rapport entre l'ETP du jour de la mesure (jour i, ETP_i) et une ETP de référence, correspondant à la celle du premier jour de l'expérimentation ($ETP_{\text{réf}}$) :

$$E_{p,i} = E_i \frac{ETP_i}{ETP_{\text{réf}}} \quad \text{éq. 105}$$

où $E_{p,i}$ est la transpiration mesurée ou calculée au jour i, corrigée de la demande évaporative ;
 E_i est la transpiration mesurée ou calculée au jour i.

Même lorsque les stomates sont fermés, on observe un niveau de perte en eau minimal qui correspond à la transpiration cuticulaire. Afin d'en tenir compte, une transpiration cuticulaire de $0.06 \text{ mmol H}_2\text{O s}^{-1} \text{ m}^{-2}$, estimée précédemment sur manguier cv. Cogshall (Urban et Jannoyer, 2004), a été ajoutée à E_{crit} calculée.

Les valeurs de E_{max} et E_{crit} ont alors été comparées selon deux cas de figures :

- sans prise en compte de la transpiration cuticulaire dans le calcul de E_{crit} ,
- après correction de E_{crit} par la transpiration cuticulaire.

Afin de confirmer la dépendance de $K_{\text{tot,spé}}$ envers Ψ_{base} , la relation entre ces deux variables a été ajustée par une régression avec le logiciel R. Une régression non linéaire, hyperbolique, a été choisie pour rendre compte de l'équation 103. La méthode des moindres carrés (Venables et Ripley, 2002) a été utilisée.

B-4-3 Relation entre le potentiel hydrique foliaire, la conductance stomatique et le potentiel de base

Des relations entre g_s , Ψ_{fol} et Ψ_{base} ont été établies pour les deux espèces. Le jeu de données présenté au paragraphe précédent (B-4-2) a été utilisé pour le manguier. Le même protocole de mesures d'échanges gazeux et de Ψ_{fol} a été utilisé sur des litchis (cv. Kwaï Mi) de trois ans, plantés en verger expérimental. Ces arbres ont été soumis à une sécheresse modérée de 2.5 mois, jusqu'à atteindre $\Psi_{\text{base}} = -2.5$ MPa.

Ψ_{xy1} a été estimé selon l'équation 100 en considérant une conductance de feuille moyenne pour les arbres tropicaux de $13 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} (\text{s MPa})^{-1}$ (Sack et Holbrook, 2006).

Comme présenté au paragraphe précédent, dans le cadre du calcul de E_{crit} et de sa comparaison à E_{max} , Ψ_{xy1} a été pondéré par le rapport entre l'ETP du jour de la mesure et une ETP de référence, correspondant à celle du premier jour de l'expérimentation (équation 105).

B-5 Eléments d'interprétation

B-5-1 Estimation de la longueur des vaisseaux

La méthode de construction des courbes de vulnérabilité par centrifugation se révèle inadaptée pour certaines espèces végétales (Cochard *et al.*, 2005). Les problèmes rencontrés ont été attribués à une trop forte longueur des vaisseaux. Afin de pouvoir discuter des courbes de vulnérabilité construites pour le manguier et pour le litchi, la longueur des vaisseaux a été estimée sur des rameaux de ces deux espèces.

➤ *Longueur maximale des vaisseaux*

Cinq rameaux de manguier et sept rameaux de litchi ont été prélevés. L'extrémité coupée de chaque rameau a été insufflée avec de l'air sous pression (0.2 MPa), de façon à créer de l'embolie dans les vaisseaux sectionnés. Le taux d'embolie a été mesuré sur des segments de 2 ou 3 cm, placés à une distance croissante de la coupe.

La diminution du taux d'embolie avec la distance à la coupe a été représentée. La distance pour laquelle il n'y a plus d'embolie correspond à la longueur des vaisseaux les plus longs des échantillons utilisés.

➤ *Mesure du pourcentage de vaisseaux ouverts le long d'un rameau de 28 cm coupé aux deux extrémités*

Cinq rameaux de manguier et six de litchi ont été à nouveau prélevés. Une portion de 28 cm a été gardée et de l'air sous pression (0.2 MPa) a été insufflé aux deux extrémités. Le taux

d'embolie a alors été mesuré sur des segments de 4 cm également répartis le long des rameaux (cinq position de segments au total).

Pour chaque position de segment, la PLC moyenne a été calculée, comme estimation de la proportion de vaisseaux sectionnés.

B-5-2 Estimation du diamètre des vaisseaux et de l'épaisseur des parois

La vulnérabilité à la cavitation est reliée à certaines caractéristiques anatomiques des vaisseaux du xylème (Hacke *et al.*, 2001). Afin de compléter l'étude de la vulnérabilité à la cavitation du manguier et du litchi, le diamètre du lumen (b) et l'épaisseur des parois entre deux vaisseaux (t) ont été mesurés (voir figure 20).

Sur un rameau de chaque espèce, ayant servi à la construction des courbes de vulnérabilité par centrifugation, des coupes transversales (10 μm d'épaisseur) ont été réalisées à l'aide d'un microtome, puis colorées à la safranine.

Pour chaque espèce, b et t ont été mesurés sur 20 vaisseaux, choisis parmi les plus gros. Pour cela, les coupes ont été étudiées à l'aide d'un microscope (Wild M11, Heerbrugg, Suisse) et d'une camera Infinity 1 (Lumera, Canada) équipés d'un dispositif numérique permettant le calcul de distances. b a été mesuré avec un grossissement 100x et une résolution de 1 μm . t a été mesuré avec un grossissement 1000x et une résolution de 0.1 μm .

La rigidité mécanique des parois a alors été estimée, selon Hacke *et al.* (2001) par le rapport t^2/b^2 .

B-5-3 Effet de l'écorçage des échantillons de manguier sur la conductivité hydraulique mesurée

Lors des mesures de conductivité hydraulique, les échantillons de manguier ont été écorcés afin d'éviter le colmatage des vaisseaux par du latex. Cependant, on peut se demander si cet écorçage manuel, (i) ne biaise pas les conductivités mesurées en supprimant un flux d'eau sous écorce, et/ou (ii) n'endommage pas les vaisseaux.

Nous avons testé cette hypothèse sur des pétioles de manguier. A cet effet, nous avons établi la relation entre la conductivité hydraulique à saturation (K_{sat}) de pétioles avec ou sans écorce et le diamètre sans écorce de ces pétioles. Si l'écorçage manuel introduit un biais, les conductivités mesurées avec écorce devraient être supérieures à celles mesurées sans écorce. Dans ce cas, les courbes établies pour les deux types d'échantillon devraient être différentes.

Onze couples de feuilles voisines ont été choisis sur des rameaux de manguier. Au sein de chaque couple, un pétiole a été délicatement écorcé sous l'eau et enroulé dans du ruban Téflon ; l'autre est resté intact. Tous les échantillons ont été saturés en eau (voir paragraphe B-2) et la conductance à saturation a été mesurée.

Tous les pétioles ont alors été écorcés ; leur diamètre et leur longueur ont été mesurés. La conductivité à saturation, K_{sat} , a été calculée.

La relation entre K_{sat} et le diamètre des pétioles sans écorce a été ajustée par une régression linéaire (logiciel R). L'intervalle de confiance à 95 % de la pente estimée a été calculé. L'effet de l'écorçage sur la relation linéaire entre K_{sat} et le diamètre des pétioles a été testé par analyse de covariance.

C- EFFET DU STRESS HYDRIQUE SUR LA CAPACITE PHOTOSYNTHETIQUE ET LA RELATION ENTRE g_s ET A_{net} CHEZ LE LITCHI ET LE MANGUIER

L'effet d'un stress hydrique imposé sur le long terme, c'est-à-dire similaire à une sécheresse en conditions réelles de plein champ, sur certains paramètres de la capacité photosynthétique a été étudié sur le manguiier et le litchi. Ces deux espèces sont potentiellement différentes en terme de résistance à la sécheresse, et les effets du stress hydrique sur leur capacité photosynthétique pourraient être différents.

C-1 Le litchi

C-1-1 Matériel végétal et dispositif expérimental

L'expérimentation a été conduite, près de Saint Paul, sur un verger expérimental de litchis cv. Kwai Mi issus de marcottes. Les arbres ont été plantés en 2002, chacun dans un puit de terre de 2 m x 1.6 m sans fond, aux parois recouvertes sur 2 m de profondeur d'un film plastique résistant. Le sol était un vertisol standard, constitué en parts égales d'argile, de limon et de sable grossier, caractérisé par une forte capacité de rétention d'eau et une très faible conductivité hydraulique. L'espacement des arbres était de 4 m x 5 m. Les arbres ont été irrigués, au goutte-à-goutte, chaque jour de manière à couvrir 100 % de l'ETP (base de 5 mm).

L'irrigation de la moitié des arbres de la parcelle, dits "stressés", a été suspendue du 8 mai au 24 octobre 2005, c'est-à-dire pendant l'hiver austral, saison fraîche et sèche. La surface des puits de terre a été couverte d'une bâche plastique afin d'éviter toute pénétration d'eau de pluie. Afin de permettre l'évaporation du sol et un dessèchement correct, les bâches ont été pliées le jour lorsque les conditions climatiques étaient bonnes, et dépliées la nuit et en cas de pluie.

En conditions de plein champ, le statut hydrique de l'arbre dépend de la teneur en eau du sol, mais aussi de l'enracinement de l'arbre et de sa physiologie. Les arbres étudiés ayant trois ans, leurs développements aérien et racinaire ne devaient pas être homogène entre arbres. Nous espérons donc obtenir, pour ces arbres, une large gamme de statut hydrique.

Au cours du dessèchement, Ψ_{base} a été mesuré à cinq reprises à l'aide d'une chambre à pression Scholander (Sam Preci, Gradignan, France), sur deux feuilles par arbre, hermétiquement ensachées depuis la veille.

Six arbres irrigués et six arbres stressés ont été choisis au début de l'expérimentation. Avant arrêt de l'irrigation, des mesures d'échanges gazeux, de fluorescence et des concentrations en sucres et en azote sur une feuille bien exposée par arbre a permis de vérifier l'homogénéité des arbres sur ces variables mesurées.

A la fin de la période de stress, soit après 5.5 mois, une autre feuille bien exposée par arbre a été choisie pour servir à l'ensemble des mesures exposées ci-dessous. Afin de s'assurer que l'âge des feuilles était très peu différent, toutes les feuilles ont été prélevées au sommet de la canopée, sur le rameau mature le plus récent.

C-1-2 Mesures des échanges gazeux et de la respiration de nuit

Les échanges gazeux ont été mesurés sur le dernier foliole de chaque feuille choisie, quatre fois au cours d'une même journée, à l'aide d'un analyseur de CO₂/H₂O gazeux à infrarouge et d'une chambre foliaire dotée d'une source lumineuse rouge + bleue (LI 6400 et LI 6400-02B, Li-Cor Inc., Lincoln, USA). Les mesures ont été faites en mode track afin de minimiser les fluctuations de lumière mesurée par un capteur externe, à une pression partielle en CO₂ de 36.5 Pa. La température n'a pas été contrôlée.

Le déficit de saturation en vapeur d'eau (Vpd) n'a jamais excédé 3 kPa.

L'assimilation nette en CO₂ (A_{net}), la conductance stomatique à la vapeur d'eau (ici notée g_s) et la pression partielle en CO₂ du milieu intercellulaire (C_i) ont été calculées selon von Caemmerer et Farquhar (1981).

R_n a été mesuré sur les mêmes folioles, placés à l'obscurité pendant 5 min. Les mesures ont été faites à $T_f = 29$ °C et $C_a = 36.5$ Pa.

C-1-3 Mesures de fluorescence

Les mesures de fluorescence ont été effectuées à l'aide d'une chambre à fluorescence LI 6400-40 LCF (Li-Cor Inc., Lincoln, USA) sur les mêmes folioles que ceux utilisés pour les mesures d'échanges gazeux

L'efficacité quantique maximale des PSII (F_v/F_m , voir équation A3-2 annexe 3), un indicateur de photoinhibition, a été mesuré tôt le matin, sur un foliole de chaque feuille, protégé de la lumière depuis la veille au soir. Le rendement de fluorescence minimal a été mesuré à la stabilité du signal. Le rendement de fluorescence maximal a été mesuré après illumination par un flash saturant de 4200 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ appliqué pendant 0.8 secondes. Les mesures ont toutes été faites à la pression partielle de CO₂ atmosphérique (environ 36.5 Pa).

L'efficacité quantique du transport d'électrons par le PSII (Φ_{PSII} , voir équation A-3-1 annexe 3) a été estimée en mesurant le rendement de fluorescence à l'équilibre des feuilles adaptées à la lumière et le rendement de fluorescence maximal après illumination par un flash saturant de 4800 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ appliqué pendant 0.8 secondes. Φ_{PSII} a été mesuré après que chaque feuille ait été adaptée à une densité de flux de photons (Q) de 2000, 1200, 400 et 10 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Les mesures ont toutes été faites à $T_f = 30$ °C et $C_a = 200$ Pa, afin de s'affranchir des effets d'une faible diffusion de CO₂. Les mesures ont été faites dans la matinée pour éviter tout risque d'inhibition de la photosynthèse par l'accumulation de sucres (voir A-2).

L'absorbance (θ) a été mesurée à l'aide d'un appareil de mesure de chlorophylle foliaire SPAD-502 (Soil Plant Analysis Development, Minolta, Osaka, Japan). La relation entre les mesures de SPAD et θ a été établie précédemment en utilisant une sphère intégrative (équation de la régression : $\theta = 7.10^{-5} \text{SPAD}^2 + 0.0153 \text{SPAD} + 0.46923$). Les mesures ont été faites sur quatre ou cinq folioles par feuille suivie. Une absorbance moyenne par feuille a été calculée.

Le flux d'électrons en condition de lumière saturante (J_{max}) est couramment estimé à partir de courbes $A_{net}-C_i$. A la suite du stress hydrique imposé, les stomates étant trop fermés, cette méthode n'a pas pu être utilisée, même en appliquant transitoirement un très faible C_a afin

d'induire leur réouverture (Centritto *et al.*, 2003). L'efficacité de conversion de l'énergie lumineuse (α) et J_{\max} ont alors été simultanément estimés à partir des courbes $\Phi_{\text{PSII}}-Q$ (Urban *et al.*, 2004a) :

$$\Phi_{\text{PSII}} = 2.\alpha. \left[1 + \left(\frac{\alpha.\theta.Q}{J_{\max}} \right)^2 \right]^{-0.5} \quad \text{éq. 106}$$

C-1-4 Prélèvement des feuilles et mesures biochimiques

À la fin des mesures d'échanges gazeux et de fluorescence, toutes les feuilles ont été prélevées à la même heure de la journée.

La surface de feuille (SF) a été mesurée à l'aide d'un planimètre (AM200, ADC BioScientific Ltd., Hoddesdon, England), avant de congeler les feuilles à $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Les échantillons ont ensuite été lyophilisés et broyés avant analyses des concentrations en sucres et en azote. La masse sèche (MS) a été déterminée après lyophilisation.

Les concentrations en sucres solubles ont été déterminées par HPLC (Gilson, Middleton, Wisconsin, USA) après extraction à l'éthanol, selon une méthode adaptée de Boehringer (1984) pour le glucose, le fructose et le saccharose et de Popp *et al.* (1997) pour le quebrachitol.

Les concentrations en amidon ont été déterminées après hydrolyse enzymatique en saccharose (Thievend *et al.*, 1972), en utilisant un spectrophotomètre à lecteur de microplaques (BioTek instruments, Winooski, Vermont, USA).

Les concentrations massiques (g g^{-1} MS) ont été exprimées par unité de surface de feuille (concentration surfacique, en g m^{-2})

Les masses d'amidon et de sucres ont été soustraites de la masse sèche afin d'obtenir la masse sèche structurale (MS_s). La masse surfacique de chaque feuille (M_a) a pu alors être calculée :

$$M_a = \frac{\text{MS}_s}{\text{SF}} \quad \text{éq. 107}$$

La concentration en azote total de la feuille (N, en g N g^{-1} MS) a été mesurée sur 5 mg de poudre de feuille, avec un analyseur élémentaire (Carlo Erba Instruments, Milano, Italy), d'après la méthode de Colombo *et al.* (1988).

Les concentrations massiques et surfaciques en azote (respectivement N_m , en g N g^{-1} MS_s , et N_a , en g N m^{-2}) ont été calculées :

$$N_m = \frac{N.MS}{\text{MS}_s} \quad \text{éq. 108}$$

$$N_a = N_m . M_a \quad \text{éq. 109}$$

C-1-5 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été faites à l'aide du logiciel R (R Development Core Team, 2005).

Au début de l'expérimentation, avant différenciation des traitements, l'homogénéité entre d'une part les arbres irrigués choisis, et d'autre part les arbres stressés choisis a été testée par une analyse de variance à un facteur (facteur traitement).

α et J_{\max} ont été estimés simultanément pour chaque feuille par une régression non linéaire entre Φ_{PSII} et Q , selon la méthode des moindres carrés (Venables et Ripley, 2002).

Les relations entre les variables étudiées et Ψ_{base} ont été ajustées par une régression. L'indice de Aikake (AIC, Aikake's information criterion) a été calculé afin de choisir entre un ajustement linéaire ou non linéaire. Des régressions linéaires ont été utilisées afin d'ajuster les relations entre N_m , F_v/F_m , et Ψ_{base} . Des régressions exponentielle ou puissance, utilisant des estimateurs des moindres carrés (Venables et Ripley, 2002), ont permis d'ajuster les relations entre les autres variables et Ψ_{base} .

C-2 Le manguier

C-2-1 Matériel végétal et dispositif expérimental

Huit manguier de un an, cv. Cogshall greffé sur Maison Rouge, ont été plantés le 21 mars 2007 en conteneurs de 40 L. Leur substrat était un mélange équilibré de tourbe blonde (TKSI), de sol ferrallitique et de fumier. Les plants ont été placés sous serre et arrosés au goutte-à-goutte de façon à maintenir le sol à saturation.

Début mai 2007, les conteneurs ont été sortis de la serre et le 18 mai, les arbres ont été répartis au hasard entre deux traitements : un traitement "sec" et un traitement "irrigué".

L'arrosage des arbres du traitement sec a alors été diminué à 50 % de l'ETP estimée, calculée sur une base moyenne du mois d'avril (3.5 mm, soit 0.25 L par jour et par conteneur). Ce traitement a permis d'imposer le stress sur le long terme et de mimer une situation de plein champ. Les arbres du traitement irrigué ont reçu une dose journalière de 0.75 L (soit 150 % de l'ETP estimée), afin de se prémunir de tout risque de déficit hydrique du sol du aux variations des paramètres climatiques. Les conteneurs des arbres "secs" ont été recouverts d'un couvercle de poubelle en plastique soulevé le jour lorsque les conditions climatiques étaient bonnes, et rabaisé et ajusté hermétiquement la nuit et en cas de pluie, de façon à protéger les conteneurs.

Le 11 septembre 2007, après quatre mois de dessèchement, tous les arbres du traitement "sec" ont été arrosés à saturation. L'arrosage a alors été poursuivi comme pour le traitement "irrigué".

Les arbres des deux traitements ont été suivis à trois stades de dessèchement : du 7 au 10 mai 2007, avant différenciation des traitements (campagne 1, C1) ; du 8 au 10 août 2007 (campagne 2, C2) et du 4 au 6 septembre 2007 (campagne 3, C3).

Lors de chaque campagne de mesures, Ψ_{base} a été mesuré à la chambre à pression Scholander (Sam Precis, Gradignan, France), sur deux feuilles par arbre de chaque traitement, hermétiquement ensachées depuis la veille.

A chaque campagne de mesures, trois feuilles bien exposées par arbre ont été choisies pour servir à l'ensemble des mesures exposées ci-dessous. Compte tenu de la faible taille des plants, on peut considérer que l'exposition de toutes les feuilles était peu différente.

Afin de vérifier si la capacité photosynthétique était rapidement restaurée après la reprise de l'arrosage, une dernière campagne de mesures (C4) a été menée, du 18 au 20 septembre, soit une semaine après la reprise de l'arrosage. Pour cette campagne, six feuilles par traitement (une feuille par arbre sur trois arbres et trois feuilles sur le dernier arbre) ont été échantillonnées, toujours bien exposées. Les mêmes mesures que pour les campagnes précédentes ont été effectuées, à l'exception de F_v/F_m et de la concentration en chlorophylle.

C-2-2 Mesures des échanges gazeux et de la respiration de nuit

Les échanges gazeux ont été mesurés sur chaque feuille, quatre fois au cours d'une même journée, à l'aide d'un analyseur de $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$ gazeux à infrarouge et d'une chambre foliaire dotée d'une source lumineuse rouge + bleue (LI 6400 et LI 6400-02B, Li-Cor Inc., Lincoln, USA). Les mesures ont été faites en mode track afin de minimiser les fluctuations de lumière mesurée par un capteur externe, à une pression partielle en CO_2 36.5 Pa. La température n'a pas été contrôlée.

Le déficit de saturation en vapeur d'eau (V_{pd}) était compris entre 0.78 et 2.87 kPa. Il avait été montré précédemment que dans cette gamme, g_s et V_{pd} étaient faiblement corrélés chez le manguier (Urban, communication personnelle).

L'assimilation nette en CO_2 (A_{net}), la conductance stomatique à la vapeur d'eau (g_s) et la pression partielle en CO_2 du milieu intercellulaire (C_i) ont été calculés selon von Caemmerer et Farquhar (1981).

R_n a été mesurée au cours des campagnes C1 et C3 à l'aide de la Licor 6400. Les mesures ont été faites à $T_f = 29^\circ\text{C}$ et $C_a = 36.5$ Pa sur les feuilles placées à l'obscurité pendant 5 min. R_d a été estimé selon la relation établie au paragraphe A-3.

C-2-3 Mesures de fluorescence

Toutes les mesures de fluorescence ont été effectuées dans la matinée afin d'éviter tout risque d'inhibition de la photosynthèse par accumulation de sucres (voir A-2).

Lors des campagnes C1, C2 et C3, F_v/F_m , a été mesuré tôt le matin à l'aide d'un FMS2 (Hansatech Instruments), sur les feuilles protégées de la lumière depuis la veille au soir. Le rendement de fluorescence minimal a été mesuré après 2.5 s de stabilisation. Le rendement de fluorescence maximal a été mesuré après illumination par un flash saturant de 14400 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ appliqué pendant 0.7 secondes. Les mesures ont toutes été faites à la pression partielle de CO_2 atmosphérique (env. 36.5 Pa).

Φ_{PSII} a été estimée sur les feuilles préalablement adaptées à une intensité lumineuse de 1400 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et à l'aide d'une chambre à fluorescence LI 6400-40 LCF (Li-Cor Inc., Lincoln, USA). Le rendement de fluorescence à l'équilibre a été mesuré après 10 min de stabilisation. Le rendement de fluorescence maximal a été mesuré après illumination par un flash saturant de 4800 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ appliqué pendant 0.8 secondes. Les mesures ont

toutes été faites à $T_f = 29\text{ °C}$ et $C_a = 500\text{ Pa}$, en utilisant une bouteille de gaz externe (N_2 : 79.5 %, O_2 : 20 %, CO_2 : 0.5 %).

θ a été mesurée comme exposé au paragraphe C-1-3, sur litchi, en cinq points de chaque feuille. Une absorbance moyenne par feuille a été calculée.

L'intensité lumineuse et le fort C_a , appliqué lors de la mesure de Φ_{PSII} permettent de travailler dans des situations où la photosynthèse est saturée. Ainsi, le flux d'électron J peut estimer J_{max} . En considérant que la lumière est reçue en parts égales par les photosystèmes I et II, J peut être calculé selon :

$$J = 0.5\Phi_{PSII} \cdot \theta \cdot Q \equiv J_{max} \quad \text{éq. 110}$$

L'efficacité de capture de l'énergie d'excitation des centres réactionnels PSII ouverts (F_v'/F_m' , voir équation A3-3 annexe 3) a été mesurée afin d'estimer les variations de dissipation thermique. Les mesures ont été faites sur les feuilles préalablement adaptées à une intensité lumineuse de $1400\text{ }\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{ s}^{-1}$, à l'aide d'une chambre à fluorescence LI 6400-40 LCF (Li-Cor Inc., Lincoln, USA). Le rendement de fluorescence minimal a été mesuré après 5 min d'acclimatation à l'obscurité. Le rendement de fluorescence maximal a été mesuré après illumination par un flash saturant de $4800\text{ }\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ appliqué pendant 0.8 secondes. Les mesures ont toutes été faites à $T_f = 29\text{ °C}$ et $C_a = 36.5\text{ Pa}$.

Afin de s'assurer qu'un flash lumineux de $4800\text{ }\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ appliqué pendant 0.8 secondes était suffisant pour saturer les PSII, deux modalités de flash différentes ont été comparées. Au cours de la campagne C3, Φ_{PSII} et F_v'/F_m' ont été mesurés deux jours consécutifs sur les mêmes feuilles. Le premier jour, un flash dit "standard" de $4800\text{ }\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ a été appliqué pendant 0.8 secondes. Le second jour, un flash dit "fort", de $6000\text{ }\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ a été appliqué pendant 2 secondes.

C-2-4 Mesure de la conductance mésophyllienne

La conductance mésophyllienne (g_m) est reliée à A_{net} et aux concentrations en CO_2 des espaces intercellulaires et au niveau des sites catalytiques de la Rubisco (respectivement C_i et C_c), selon une équation de diffusion analogue à la loi de Fick :

$$A_{net} = g_m(C_i - C_c) \quad \text{éq. 7}$$

Or g_m n'est pas directement mesurable, mais doit être estimé par des mesures couplées fluorescence / échanges gazeux, par exemple. C'est cette méthode qui a été employée et qui est détaillée ci-dessous.

Le flux total d'électrons à travers les photosystèmes (J) est estimé en première approximation par l'efficacité quantique maximale du flux d'électrons total (Φ_e), multipliée par le flux de photons reçu par le PSII. En supposant que l'énergie lumineuse est également répartie entre les PSI et les PSII, J s'exprime :

$$J = 0.5 \Phi_e \cdot \theta \cdot Q \quad \text{éq. 111}$$

On considère généralement que :

$$\Phi_{e^-} = \Phi_{PSII} \quad \text{éq. 112}$$

et on retrouve ainsi l'équation 110 :

$$J = 0.5\Phi_{PSII} \cdot \theta \cdot Q \quad \text{éq. 110}$$

Cependant, pour tenir compte d'éventuels flux d'électrons vers des puits alternatifs, l'équation 110 peut être modifiée en utilisant une relation linéaire entre Φ_{PSII} et l'efficacité de fixation du CO_2 (Φ_{CO_2}). Cette relation doit être établie en conditions non-photorespiratoires (Genty *et al.*, 1989) :

$$\Phi_{PSII} = k \cdot \Phi_{CO_2} + b \quad \text{éq. 113}$$

Quatre électrons étant nécessaires à l'assimilation d'une molécule de CO_2 :

$$\Phi_{e^-} = 4 \Phi_{CO_2} \quad \text{éq. 114}$$

En remplaçant l'équation 113 dans l'équation 114, on obtient :

$$\Phi_{e^-} = 4 \frac{\Phi_{PSII} - b}{k} \quad \text{éq. 115}$$

Selon les équations 112 et 115, les valeurs théoriques de k et b sont respectivement 4 et 0. Toute déviance correspond à la présence de puits alternatifs et de flux d'électrons cycliques et pseudocycliques.

Enfin, des équations 111 et 115, on obtient l'expression de J suivante :

$$J = 0.5 \frac{4(\Phi_{PSII} - b)}{k} \theta \cdot Q \quad \text{éq. 116}$$

J est alors utilisé pour déterminer les flux d'électrons utilisés pour la carboxylation (J_C) et pour l'oxygénation (J_O) du RuBP par le ribulose-1,5-bisphosphate. En faisant l'hypothèse habituelle que l'oxygénation de deux molécules de RuBP entraînent le rejet d'une molécule de CO_2 , (Ögren 1984, Sharkey 1988, Peterson 1989, Harley and Sharkey 1991, Zelitsch 1992), J_C et J_O peuvent s'exprimer par (Epron *et al.*, 1995 ; Valentini *et al.*, 1995):

$$J_C = \frac{1}{3} [J + 8(A_{net} + R_d)] \quad \text{éq. 117}$$

$$J_O = \frac{2}{3} [J - 4(A_{net} + R_d)] \quad \text{éq. 118}$$

Par ailleurs, le facteur de spécificité apparent (en phase gazeuse) de la Rubisco est défini par :

$$\tau = \frac{J_c}{J_o} \cdot \frac{O_c}{C_c} \quad \text{éq. 119}$$

où O_c est la concentration en oxygène au niveau des sites de carboxylation (21 kPa).

Connaissant τ , R_d et θ , on peut calculer successivement : J , J_o , J_c , C_c (équations 117 à 119) et enfin g_m (équation 7) à partir de mesures simultanées d'échanges gazeux (A_{net} , C_i) et de fluorescence (Φ_{PSII}).

Des mesures couplées fluorescence / échanges gazeux ont été conduites lors de la campagne C3 à $Q = 1400 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $C_a = 36.5 \text{ Pa}$ et $T_f = 29^\circ\text{C}$ en utilisant une chambre à fluorescence LI 6400-40 LCF et un analyseur de $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$ gazeux LI 6400 (Li-Cor Inc., Lincoln, USA).

Φ_{PSII} a été estimé à partir du rendement de fluorescence à l'équilibre, mesuré à la stabilisation d' A_{net} et de g_s , et de la fluorescence maximale. Le rendement de fluorescence maximal a été mesuré après illumination par un flash saturant de $6000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ appliqué pendant 2 secondes.

C-2-5 Prélèvement des feuilles et mesures biochimiques

A la fin de chaque campagne de mesures, les feuilles ont été prélevées à la même heure de la journée.

Excepté pour la campagne C4, cinq disques de feuille de 5 mm de diamètre ont été prélevés dans les 2/3 de feuille les plus éloignés du pétiole et immédiatement congelés à -40°C . Ces disques de feuille ont été utilisés pour mesurer les concentrations en chlorophylle et caroténoïdes.

La surface foliaire a été mesurée, les échantillons ont été lyophilisés et broyés et les concentrations en sucres solubles et azote ont été déterminées selon le protocole présenté au paragraphe C-1.

Les disques de feuilles prélevés ont été décongelés. La chlorophylle et les caroténoïdes ont été extraits par incubation des échantillons pendant 2 h à 65°C , dans 6 mL de DMSO. Un système chauffant à sec (Reacti Therm) a été utilisé. L'extraction a été faite à l'abri de la lumière.

A la fin de l'incubation, 1 mL de solution de chaque échantillon a été prélevé et placé dans une cuve de spectrophotomètre. Les densités optiques à 730, 665, 649, 480 nm (A_{730} , A_{665} , A_{649} , A_{480} respectivement) ont été mesurées par spectrophotométrie (BioMate 3, Thermo Electron Corporation).

Les pigments étudiés ayant une absorbance nulle à 730 nm, la valeur A_{730} correspond à une absorbance résiduelle des échantillons, qui a été soustraite des absorbances mesurées aux autres longueurs d'ondes.

Les concentrations en chlorophylles a et b et caroténoïdes totaux (respectivement C_a , C_b , et C_{x+c} , en $\mu\text{g mL}^{-1}$ de solvant) ont alors été calculées d'après Wellburn (1994) :

$$C_a = 12.19 A_{665} - 3.45 A_{649} \quad \text{éq. 120}$$

$$C_b = 21.99 A_{649} - 5.32 A_{665} \quad \text{éq. 121}$$

$$C_{x+c} = \frac{1000.A_{480} - 2.14.C_a - 70.16.C_b}{220} \quad \text{éq. 122}$$

La concentration surfacique en pigments a ensuite été calculée.

Les caroténoïdes étudiés ici correspondent en majorité aux pigments associés aux chlorophylles, en particulier le β -carotène.

C-2-6 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (R Development Core Team, 2005).

L'effet de l'utilisation d'un flash standard ou d'un flash fort sur Φ_{PSII} et F_v'/F_m' a été étudié par un test de Student sur échantillons appariés.

La relation entre g_s et A_{net} a été ajustée par une régression linéaire, pour chaque traitement et chaque campagne de mesures.

Les effets de la campagne de mesures et du traitement ne sont pas indépendants. Une analyse de variance à deux facteurs n'a donc pas pu être utilisée afin de tester l'effet respectif de ces deux facteurs.

Nous avons défini un **effet de la campagne** de mesures pour le traitement irrigué, et un **effet de la sécheresse** (affranchi de l'effet de la campagne de mesures) pour le traitement sec. Pour cela, pour chaque variable et chaque campagne, la valeur moyenne du traitement témoin irrigué a été soustraite aux observations du traitement sec. L'effet de la sécheresse a alors été testé sur ces **données pondérées**.

L'effet de la sécheresse sur la pente de la courbe g_s - A_{net} a été étudié par analyse de covariance. L'effet du traitement, au sein de chaque campagne, ainsi que l'effet de la campagne de mesures, pour les arbres du traitement irrigué, ont été testés de la même manière.

L'effet de la sécheresse sur chacune des autres variables mesurées a été étudié par des analyses de variance à un facteur. Les différences entre traitements ont été étudiées, campagne par campagne, par des analyses de variance. L'évolution au cours des campagnes de ces variables a aussi été étudiée dans le traitement irrigué, par une analyse de variance, afin de tester l'effet de la campagne de mesures.

Pour chacun des tests énoncés ci-dessus (analyses de variance et de covariance), les moyennes significativement différentes ont été dégagées par comparaisons multiples de moyennes en utilisant le test de Tukey (Tukey Honest significant difference).

Résultats

RESULTATS

A- CARACTERISATION HYDRAULIQUE ET HYDRIQUE DU MANGUIER ET DU LITCHI

A-1 Estimation de la longueur des vaisseaux

La longueur maximale des vaisseaux du xylème a été estimée sur des échantillons de rameaux de litchi et de manguiier coupés à une extrémité, en mesurant le taux d'embolie (estimé par la perte de conductivité hydraulique PLC) à des distances croissantes de la coupe.

Sur les rameaux de manguiier, le taux d'embolie a diminué régulièrement avec la distance à la coupe (figure 18A). A 20 cm de la coupe, le taux d'embolie a atteint 6 %, et il s'est annulé, pour certains rameaux, à 25 cm. A partir de 29 cm de la coupe, le taux d'embolie est resté nul. La longueur maximale moyenne des vaisseaux du manguiier est ainsi estimée à 29 cm.

Pour le litchi, le taux d'embolie a diminué plus lentement avec la distance à la coupe. Les valeurs sont restées assez élevées, d'environ 15 %, même à 50 cm de l'extrémité coupée (figure 18B), indiquant que les vaisseaux du litchi étaient d'une longueur supérieure à 50 cm.

Le profil de PLC a par ailleurs été mesuré sur d'autres échantillons coupés aux deux extrémités et de longueur similaire à ceux utilisés pour déterminer les courbes de vulnérabilité par centrifugation. Pour ces échantillons, le segment central prélevé, était embolisé à 30 % et 46 % pour le manguiier et le litchi, respectivement (figure 19). On estime ainsi que, pour le manguiier, 30 % des vaisseaux du milieu de l'échantillon ont au moins une extrémité sectionnée, contre 46 % pour le litchi.

Ces résultats sont en accord avec les longueurs maximales de vaisseaux déterminées ci-dessus. Les vaisseaux de litchi sont plus longs que ceux de manguiier.

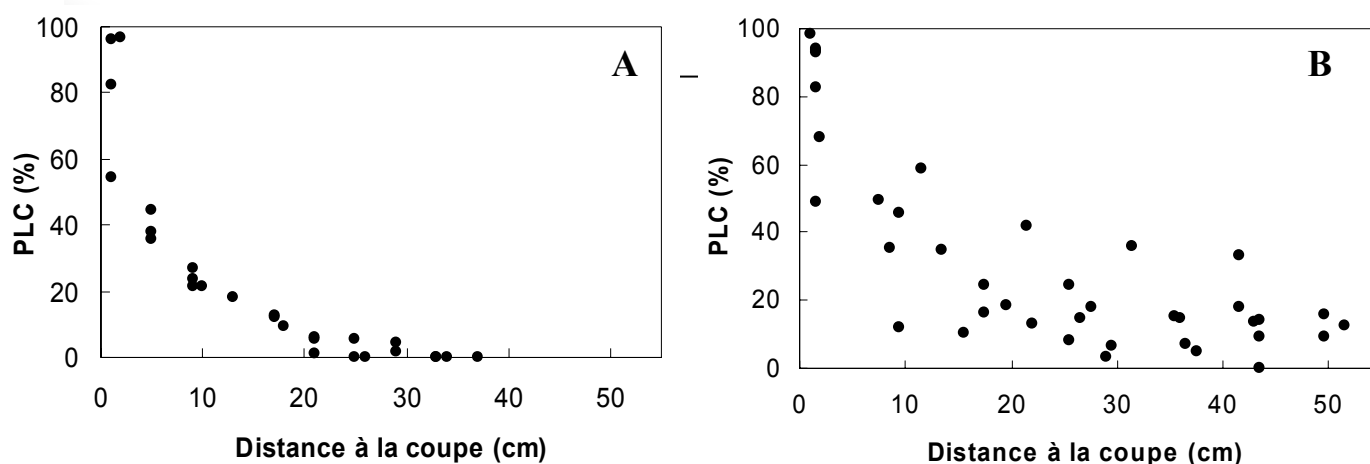


Figure 18 : Profil du taux d'embolie (PLC) le long de rameaux de manguiier (A, $n = 5$) et de litchi (B, $n = 7$) coupés à une extrémité. Les rameaux ont été préalablement insufflés d'air sous pression afin de saturer les vaisseaux sectionnés.

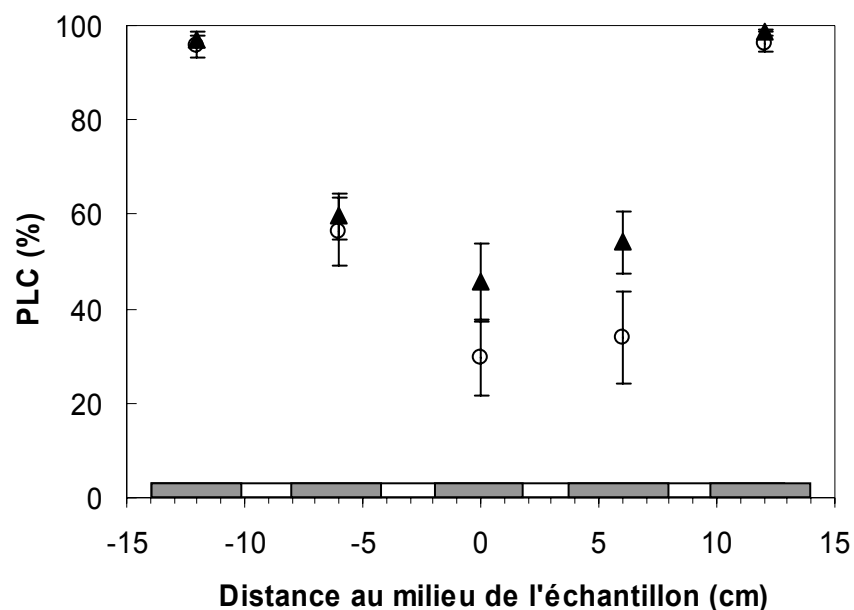


Figure 19 : Profil du taux d'embolie (PLC) le long de rameaux de manguier de 28 cm de long (▲, $n = 5$) et de litchi (○, $n = 6$), aux deux extrémités coupées et saturés en air. La PLC estime la proportion de vaisseaux sectionnés. Les barres verticales représentent les erreurs standard.

A-2 Estimation du diamètre des vaisseaux et de l'épaisseur des parois

Les vaisseaux de manguier observés étaient en moyenne presque deux fois plus gros que ceux de litchi (111.3 ± 2.3 contre $61.0 \pm 0.7 \mu\text{m}$ de diamètre) (figure 20 et tableau 7).

Les parois des vaisseaux du manguier étaient plus fines que celles du litchi.

En conséquent, la rigidité mécanique des parois des vaisseaux du manguier était sept fois plus faible que celle du litchi ($3.0 \cdot 10^{-3}$ contre $20.6 \cdot 10^{-3}$ respectivement).

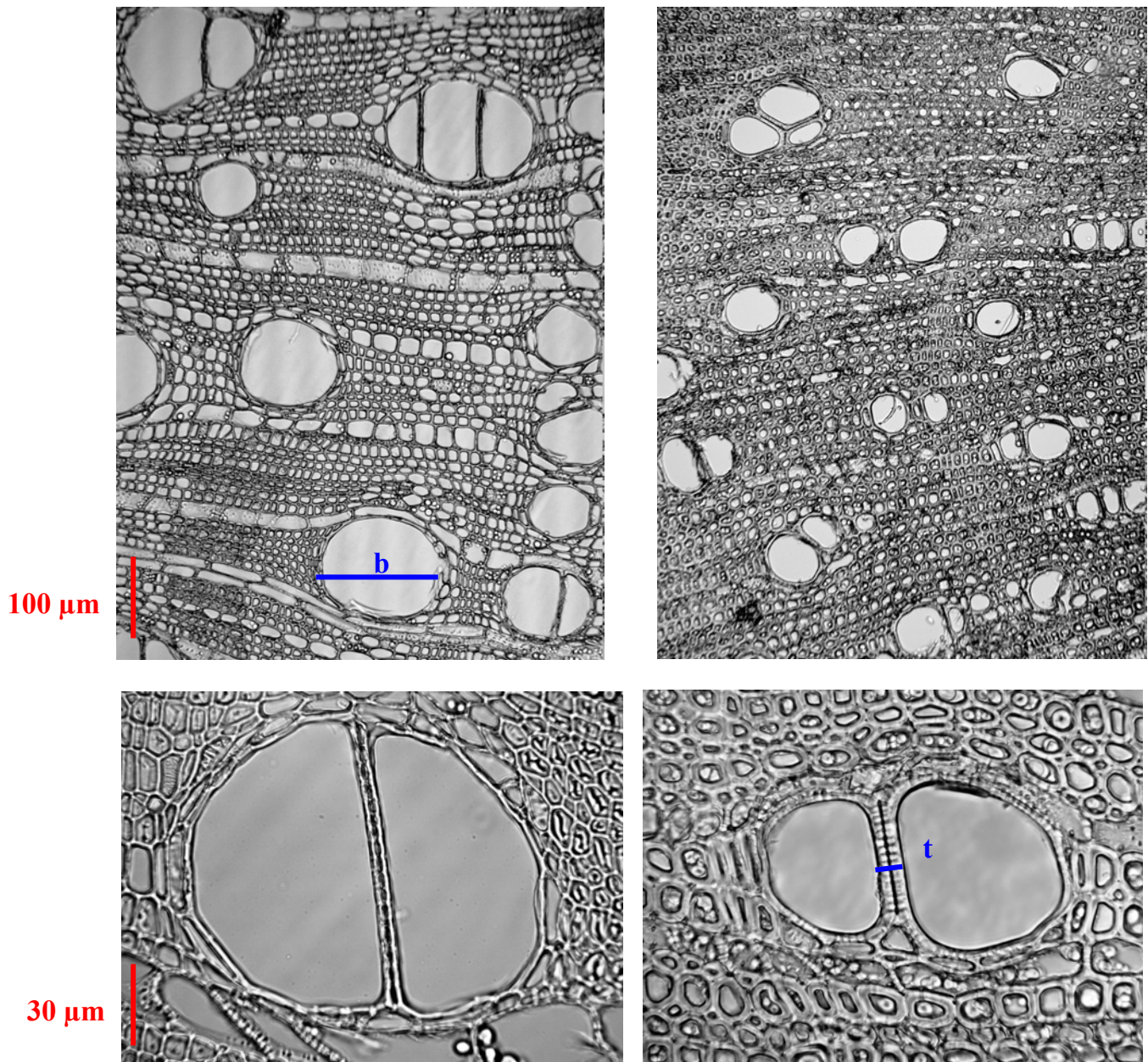


Figure 20 : Sections transversales de rameaux de manguiers (A et C) et de litchi (B et D).

b : diamètre du lumen des vaisseaux du xylème ; t : épaisseur des parois entre deux vaisseaux du xylème

Tableau 7 : Caractéristiques anatomiques des vaisseaux du manguiers et du litchi : diamètre du lumen des vaisseaux du xylème (b), épaisseur des parois entre deux vaisseaux (t) et estimation de la rigidité mécanique des parois (t^2/b^2). Les moyennes sont suivies des erreurs standard.

	manguiers	litchi
b (µm)	111.3 ± 2.3	61.0 ± 0.7
t (µm)	6.1 ± 0.1	8.7 ± 0.3
t^2/b^2	$3.0 \cdot 10^{-3}$	$20.6 \cdot 10^{-3}$

A-3 Effet de l'écorçage des échantillons de manguier sur la conductivité hydraulique mesurée

Afin de vérifier que l'écorçage manuel des échantillons de manguier ne biaisait pas les mesures de conductance hydraulique, la relation entre la conductivité à saturation (K_{sat}) de pétioles avec ou sans écorce et leur diamètre sans écorce a été établie.

K_{sat} est resté compris entre 0.13 et 0.50 $\text{mmol H}_2\text{O m (s MPa)}^{-1}$ pour des diamètres sans écorce allant de 0.8 à 1.4 mm (figure 21).

La relation entre K_{sat} et le diamètre sans écorce des pétioles a été linéaire, avec des pentes égales à 0.35 [0.14 ; 0.55] et 0.53 [0.18 ; 0.87] pour les pétioles dont la conductance hydraulique a été mesurée avec et sans écorce, respectivement. Les pentes des deux courbes ne sont pas significativement différentes ($P = 0.07$), indiquant que l'écorçage manuel n'a pas affecté les conductances mesurées.

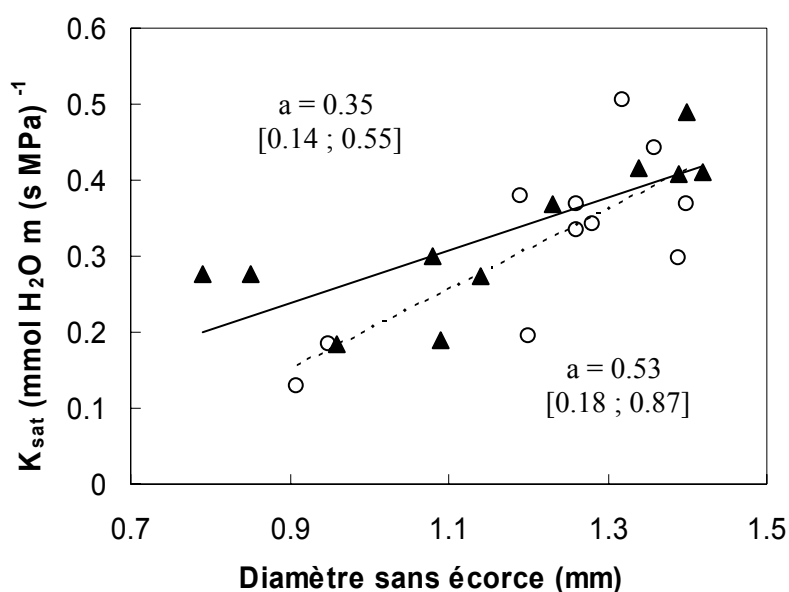


Figure 21: Conductivité à saturation (K_{sat}) de pétioles de manguier écorcés (O) et non écorcés (▲) en fonction du diamètre du pétiole sans écorce. A chaque pétiole écorcé correspond le pétiole d'une feuille voisine, non écorcé ($n = 11$ couples).

Les droites des régressions pour les pétioles avec et sans écorces sont représentées, en trait plein et pointillé respectivement. La pente (a) de chaque courbe est indiquée ainsi que son intervalle de confiance à 95 %.

A-4 Estimation de la vulnérabilité

Sur manguier comme sur litchi, les courbes de vulnérabilité des pétioles et des rameaux construites par déshydratation à la paillasse étaient similaires pour les deux organes. Les données ont alors été regroupées.

A-4-1 Estimation de l'embolie native

L'embolie native (PLC_0) correspond au taux d'embolie mesuré au champ sur des arbres non stressés. Dans ces conditions, le potentiel hydrique du xylème (Ψ_{xyl}) le plus bas a été égal à - 1.67 MPa pour le litchi et -1.17 MPa pour le manguier.

Les PLC_0 ont alors été estimés pour le litchi et le manguier, respectivement à 15.6 et 16.5 %.

A-4-2 Vulnérabilité du manguier

➤ Rameaux d'ombre et rameaux de lumière

Les courbes de vulnérabilité des rameaux et pétioles d'ombre et de lumière ont été sensiblement différentes, que la méthode par centrifugation ou celle par déshydratation ait été utilisée (figure 22). Le tableau 8 regroupe les paramètres hydrauliques relatifs à chaque courbe.

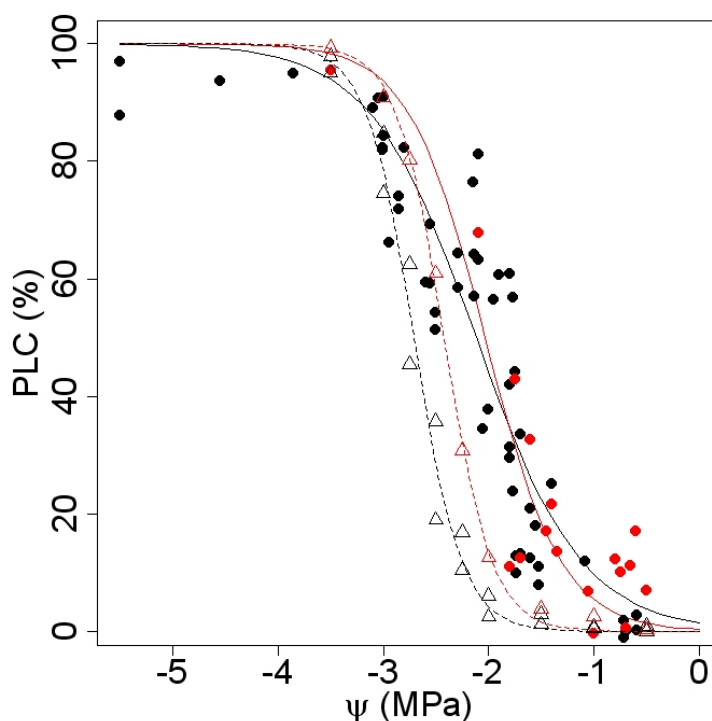


Figure 22 : Courbes de vulnérabilité établies sur des rameaux et pétioles de manguier de lumière (en noir) et d'ombre (en rouge). Les courbes ont été construites par déshydratation des rameaux à la paillasse (● et courbes continues) ou centrifugation (Δ et courbes tiretées).

Les données et courbes par déshydratation ont été corrigées afin de s'affranchir de l'embolie native observée *in situ*.

Tableau 8 : Paramètres hydrauliques du manguier, déterminés à partir des courbes de vulnérabilité construites par déshydratation à la paillasse et par centrifugation.

Les données par déshydratation ont été corrigées afin de s'affranchir de l'embolie native observée *in situ*.

Les courbes de vulnérabilité ont été ajustées aux données par une régression non-linéaire, suivant une équation sigmoïde (Pammenter and Vander Willigen, 1998) : $PLC = 100/[1+\exp(a(\Psi - \Psi_{50}))]$. Le paramètre a est relié à la pente de la courbe et ainsi à la gamme de potentiel hydrique dans laquelle on observe les plus fortes pertes de conductivité. Les potentiels Ψ_{50} et Ψ_{cav} (potentiel de cavitation) représentent respectivement les potentiels pour lesquels on observe 50 et 10 % d'embolie.

Méthode de mesure		a	Ψ_{50} (MPa)	Ψ_{cav} (MPa)
Déshydratation	lumière	1.99	-2.12	-1.01
	ombre	2.77	-2.03	-1.24
Centrifugation	lumière	4.4	-2.71	-2.21
	ombre	4.39	-2.42	-1.92

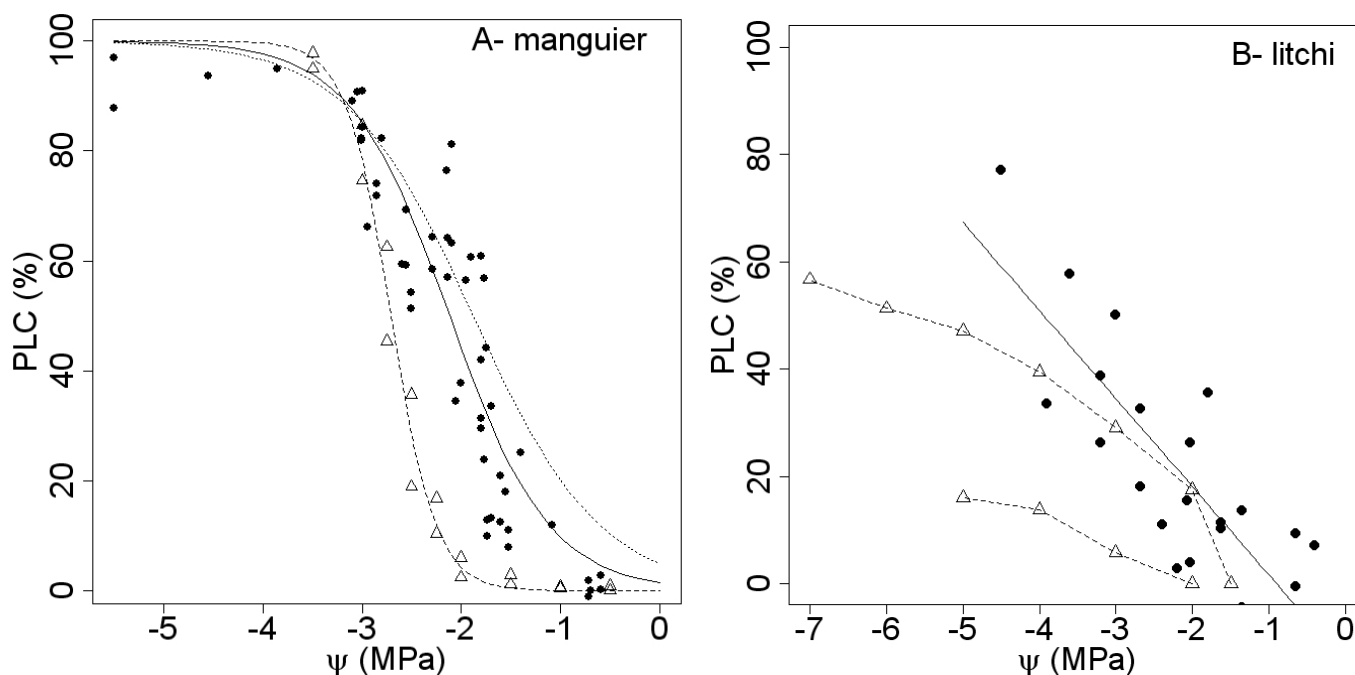


Figure 23 : Courbes de vulnérabilité de pétioles et de rameaux de manguier (A) et de litchi (B), construites par déshydratation des rameaux à la paillasse (● et courbes continues) ou centrifugation (Δ et courbes tiretées).

Les données et courbes par déshydratation ont été corrigées afin de s'affranchir de l'embolie native observée *in situ*. Pour le manguier, la courbe en pointillés représente la courbe par déshydratation initiale, sans correction des données. Pour le litchi, les deux courbes tiretées représentent les deux rameaux suivis par centrifugation.

Selon la courbe par centrifugation, le potentiel de cavitation (Ψ_{cav}) des rameaux d'ombre a été moins négatif que celui des rameaux de lumière (-1.92 contre -2.21 MPa).

Par déshydratation à la paille, le résultat inverse a été obtenu. Cependant, par cette méthode, une seule observation, pour les rameaux d'ombre, a été faite en-dessous d'un potentiel de -2 MPa. La courbe de vulnérabilité ainsi élaborée pourrait donc être biaisée par le peu d'observations dans les potentiels fortement négatifs. La dispersion des points correspondant aux échantillons d'ombre est également supérieure à celle des points correspondant aux échantillons de lumière.

➤ *Comparaison entre les courbes de vulnérabilité par centrifugation et par déshydratation à la paille*

Nous ne présentons ici que les résultats relatifs aux rameaux et pétioles de lumière.

Les courbes par déshydratation et par centrifugation ont été sigmoïdes, mais d'allures différentes (figure 23A). Par rapport à la courbe par centrifugation, la courbe par déshydratation a beaucoup surestimé l'embolie pour les potentiels faiblement négatifs et les a légèrement sous-estimé pour les potentiels fortement négatifs. La correction des données relatives à la courbe par déshydratation, afin de la ramener à $PLC = 0$ pour $\Psi_{xyl} = 0$, a réduit les différences avec la courbe par centrifugation.

La courbe par centrifugation a eu une pente plus forte que la courbe par déshydratation (paramètre a, tableau 8). La gamme de potentiel explorée en établissant la courbe par centrifugation a été plus étroite et a porté sur des potentiels hydriques plus bas. Le potentiel hydrique induisant 50 % d'embolie (Ψ_{50}) estimé par centrifugation a été plus négatif que Ψ_{50} estimé par déshydratation. Ψ_{cav} estimé par centrifugation a été plus de deux fois plus négatif que celui estimé par déshydratation : -2.2 et -1.01 MPa respectivement.

A-4-3 Vulnérabilité du litchi

Pour le litchi, les courbes de vulnérabilité apparaissent plus atypiques, elles n'ont pas été sigmoïdes (figure 23B). Bien que les observations aient été assez dispersées, l'augmentation du taux d'embolie avec la diminution du potentiel a eu une tendance linéaire. Le taux d'embolie est resté relativement faible pour des potentiels bas : il a atteint 80 % à -4.5 MPa pour les données acquises par déshydratation, et 60 % à -7 MPa par centrifugation.

Par centrifugation chaque rameau étudié a produit une courbe différente. Les résultats ne sont pas reproductibles.

L'allure atypique de ces courbes n'a pas permis d'estimer Ψ_{cav} chez le litchi.

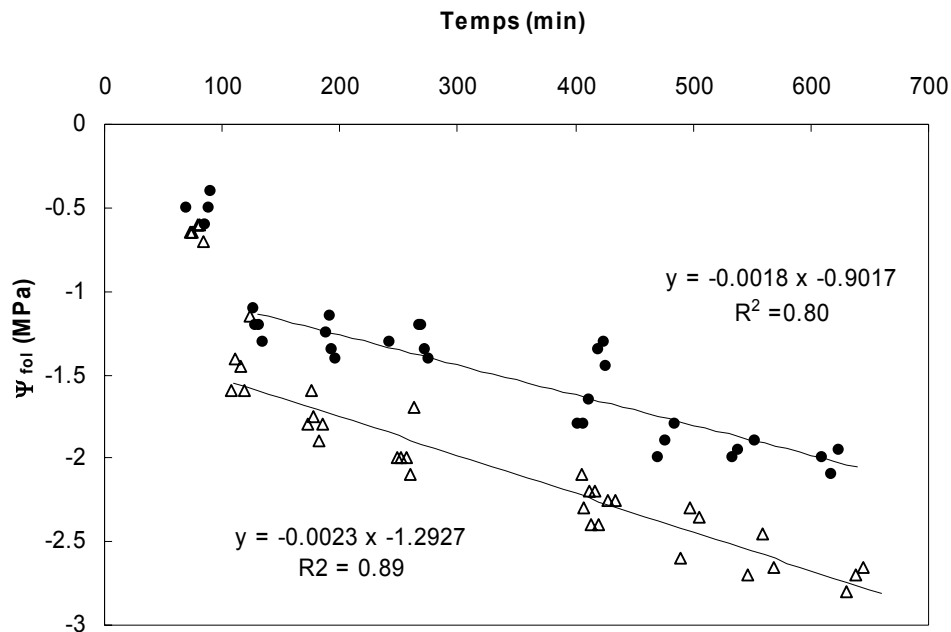


Figure 24 : Evolution de l'état hydrique de rameaux de manguier (●, $n = 3$) et de litchi (Δ , $n = 3$) coupés, en conditions de température et humidité contrôlées. L'état hydrique est estimé par le potentiel hydrique foliaire (Ψ_{fol}). Les droites et équations des régressions correspondantes aux parties linéaires de la courbe sont représentées.

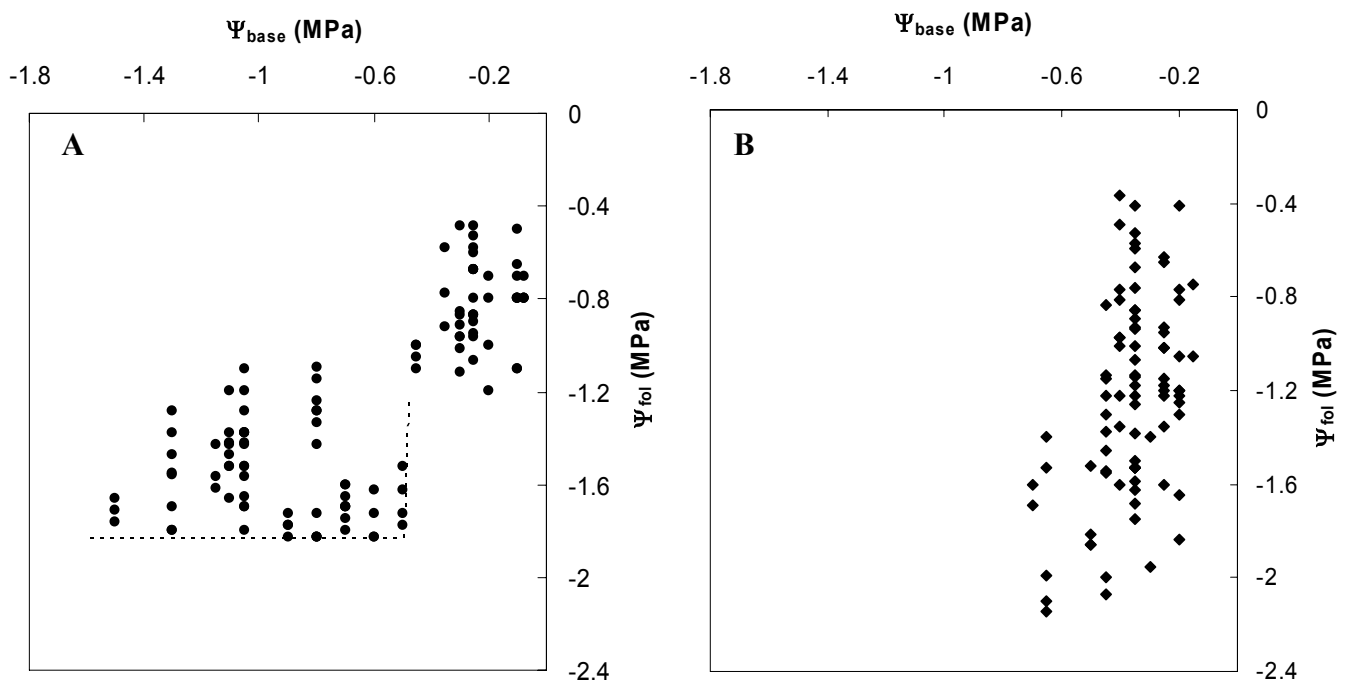


Figure 25 : Evolution du potentiel hydrique foliaire (Ψ_{fol}) en fonction du potentiel de base (Ψ_{base}), chez le manguier (A) et le litchi (B).

Afin de s'affranchir des variations de la demande évaporative, Ψ_{fol} a été pondéré par le rapport entre l'ETP du jour de la mesure sur l'ETP du premier jour de l'expérimentation. Pour le manguier, les données ont été acquises au cours d'une sécheresse de huit jours imposée à cinq plants de manguier en conteneurs de 70 L.

La courbe pointillée représente le potentiel minimal observé au cours du dessèchement. Pour le litchi, les données correspondent à une sécheresse de 2.5 mois imposée en champs.

A-5 Comportement hydrique du manguier et du litchi lors d'un stress hydrique

A-5-1 Cinétique de déshydratation de rameaux coupés

Le potentiel hydrique foliaire (Ψ_{fol}) et Ψ_{xyL} ont été mesurés sur des rameaux coupés au cours de leur dessèchement sous atmosphère contrôlée. Pour la gamme de dessèchement explorée (jusqu'à -4.2 MPa), Ψ_{fol} et Ψ_{xyL} étaient similaires, chez le manguier comme chez le litchi.

Chez le manguier, Ψ_{fol} a chuté dans les premières phases du dessèchement (2 h), jusqu'à -1.2 MPa (figure 24). Le dessèchement a été ensuite moins rapide et les rameaux ont atteint des potentiels de -4.1 MPa après 57 h.

Chez le litchi, Ψ_{fol} a chuté les deux premières heures jusqu'à -1.6 MPa (figure 24). Ψ_{fol} a continué de décroître linéairement jusqu'à atteindre -2.8 MPa après 10 h 30 de dessèchement. Après 57 h (fin de l'expérimentation), Ψ_{fol} était trop bas pour pouvoir être mesuré à l'aide de la chambre à pression.

Ψ_{fol} et Ψ_{xyL} sont restés plus bas chez le litchi que chez le manguier pendant toute la période de dessèchement.

A-5-2 Relation entre le potentiel hydrique foliaire, le potentiel de base, et la conductance stomatique

Au cours de la période de stress imposée au manguier (jusqu'à $\Psi_{\text{base}} = -1.6$ MPa), le potentiel hydrique foliaire maximal a diminué avec Ψ_{base} (figure 25A). Le potentiel hydrique foliaire minimal (Ψ_{min}) a diminué plus ou moins progressivement jusqu'à $\Psi_{\text{base}} = -0.5$ MPa, puis a chuté brusquement à -1.8 MPa pour $\Psi_{\text{base}} < -0.5$ MPa. Ψ_{min} est alors resté stable à cette valeur. Ce comportement suggère une régulation forte de Ψ_{fol} afin de le maintenir égal ou supérieur à -1.8 MPa.

La conductance stomatique (g_s) s'annule presque pour $\Psi_{\text{base}} < -1.2$ MPa (figure 26). En d'autres termes, pour les dessèchements les plus forts les stomates étaient presque totalement fermés, indiquant que nous avons atteint un niveau de régulation stomatique maximal.

Chez le litchi, Ψ_{min} a chuté plus rapidement et a atteint des valeurs inférieures à -2 MPa même pour des valeurs de Ψ_{base} relativement élevées (-0.4 MPa, figure 25B). Aucune stabilisation de Ψ_{min} n'a été observée. Ce résultat laisse supposer que le litchi régule moins fortement Ψ_{fol} que le manguier.

Cependant, nous ne disposons pas de données concernant l'évolution de Ψ_{fol} pour des dessèchements correspondant à $\Psi_{\text{base}} < -0.7$ MPa.

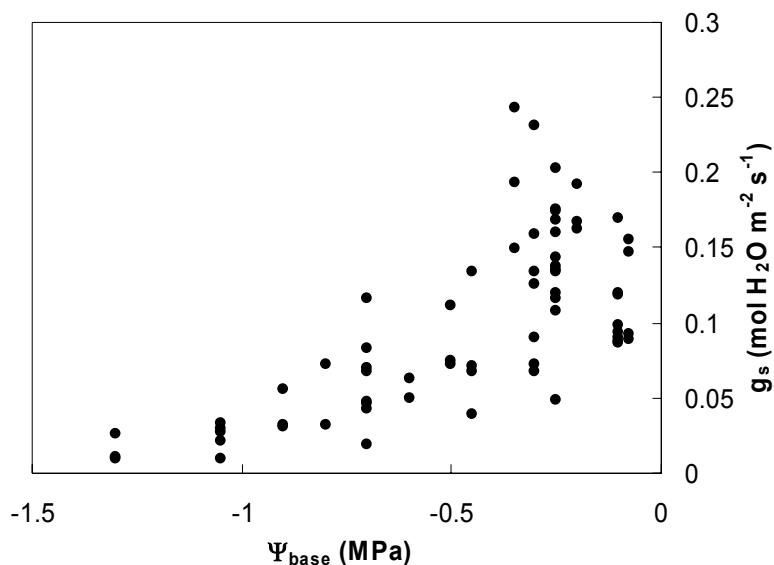


Figure 26 : Evolution de la conductance stomatique (g_s) en fonction du potentiel de base (Ψ_{base}), chez le manguier. Les données ont été acquises au cours d'une sécheresse de huit jours imposée à cinq plants de manguier en conteneurs de 70 L.

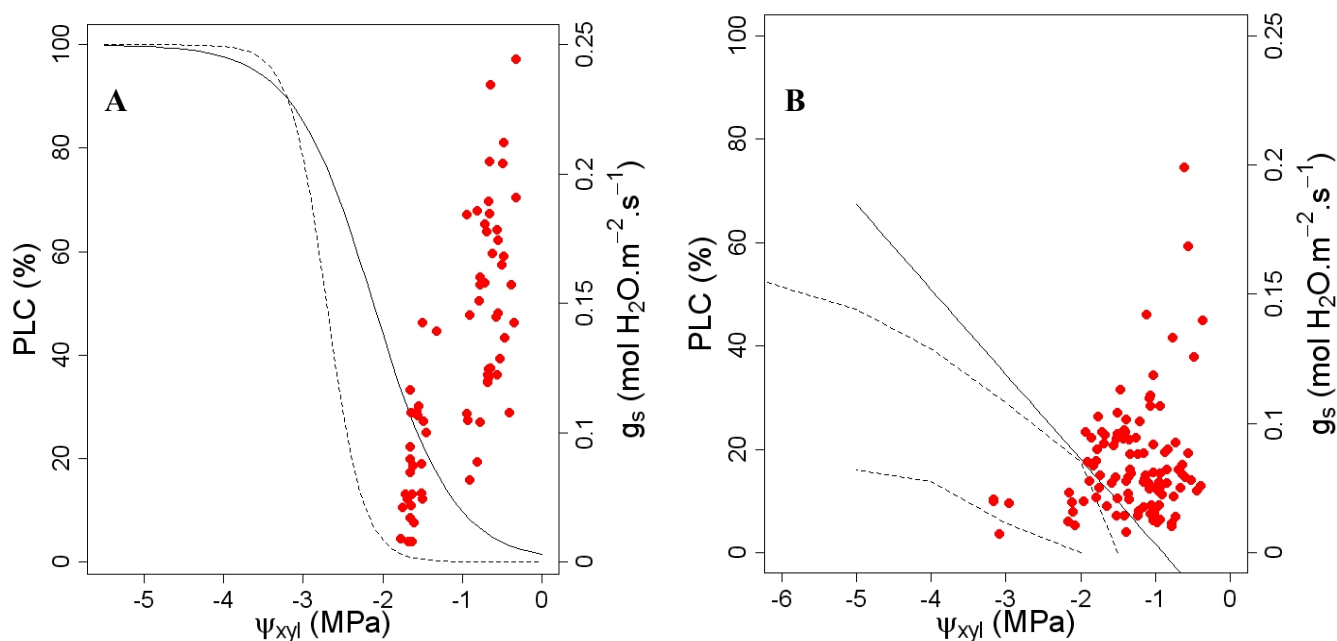


Figure 27 : Pourcentage de perte de conductivité hydraulique (PLC) et conductance stomatique (g_s) en fonction du potentiel hydrique xylémien (Ψ_{xyl}) chez le manguier (A) et le litchi (B).

Les points rouges représentent l'évolution de g_s avec Ψ_{xyl} .

L'évolution de la PLC est représentée par les courbes continues (courbes de vulnérabilité). Les courbes de vulnérabilité des rameaux de lumière sont représentées des rameaux de lumière établies par déshydratation (courbe continue) et centrifugation (courbe en pointillés). La courbe par déshydratation a été corrigée afin de s'affranchir de l'embolie native observée *in situ*. Ψ_{xyl} a été estimé en considérant une conductance de feuille moyenne pour les arbres tropicaux de $13 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} (\text{s MPa})^{-1}$ (Sack and Holbrook, 2006).

Pour le manguier, les données ont été acquises au cours d'une sécheresse de huit jours imposée à cinq plants de manguier en conteneurs de 70 L. Pour le litchi, les données correspondent à une sécheresse de 2.5 mois imposée en champs.

g_s a diminué très rapidement et abruptement chez le manguier lorsque Ψ_{xyl} a diminué, jusqu'à atteindre des valeurs presque nulles vers $\Psi_{xyl} = -1.8$ MPa (figure 27A). g_s a diminué plus lentement chez le litchi, atteignant à peine 10 % de sa valeur initiale à $\Psi_{xyl} = -3$ MPa (figure 27B).

Afin de tester l'hypothèse selon laquelle les stomates se ferment afin de limiter le développement de l'embolie, nous avons comparé les évolutions de g_s et du taux d'embolie lorsque Ψ_{xyl} diminue. Les courbes de vulnérabilité établies sur litchi étant d'allure atypiques et Ψ_{cav} n'ayant pas pu être déterminé, cette hypothèse n'a pas été testée sur cette espèce.

Chez le manguier, la diminution de g_s est assez bien reliée à l'augmentation d'embolie, selon la courbe de vulnérabilité par déshydratation (figure 27A, courbe continue). Cependant, la fermeture des stomates est plus lente que l'apparition de l'embolie et un taux d'embolie important apparaît. Lorsque g_s atteint 10 % de sa valeur initiale (stomates très fermés), un taux d'embolie de 30 % est attendu. Inversement, pour un Ψ_{xyl} égal à Ψ_{cav} , g_s serait encore égal à environ 45 % de sa valeur initiale.

Selon la courbe de vulnérabilité par centrifugation, il n'y a au contraire pas d'embolie, même lorsque les stomates sont totalement fermés (figure 27A, courbe en pointillés).

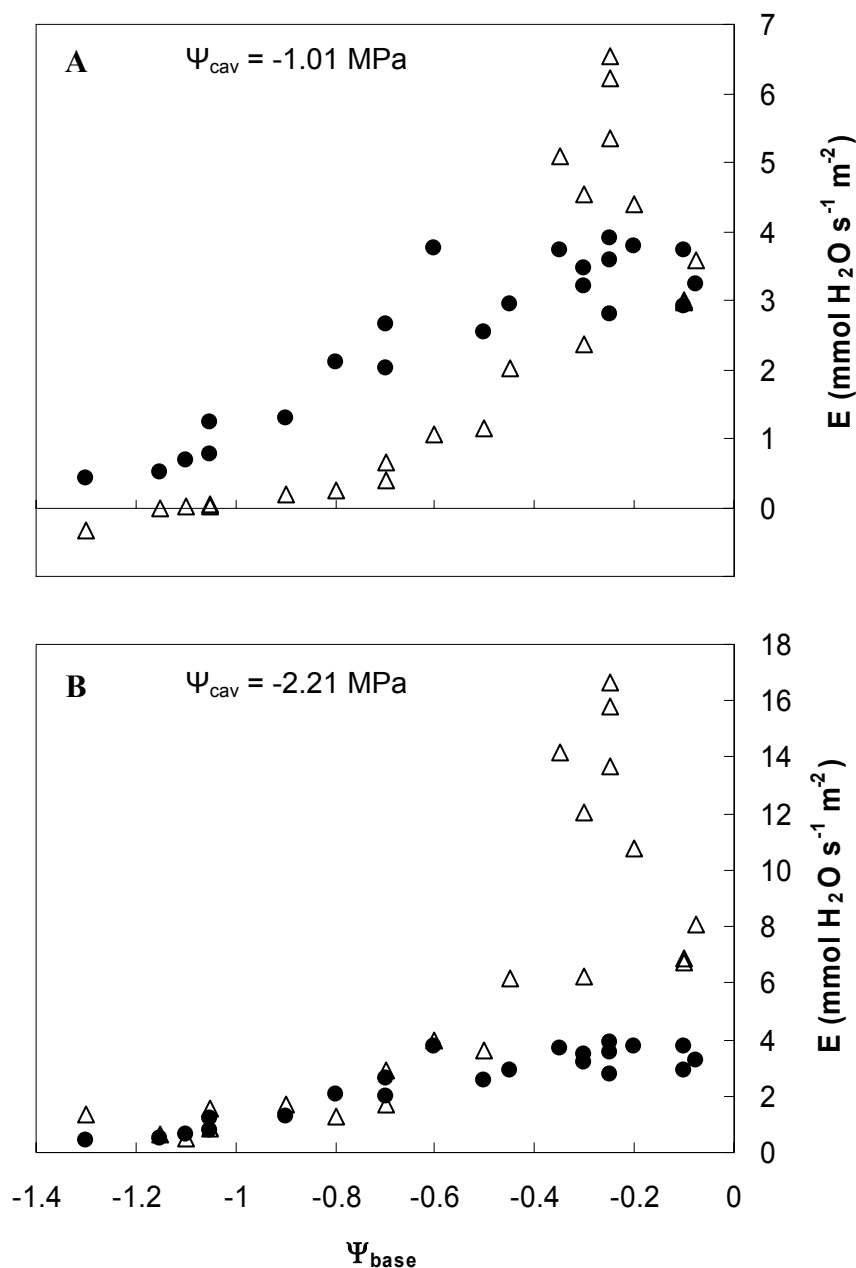


Figure 29 : Comparaison, au cours d'une sécheresse, entre la transpiration foliaire maximale (E_{max} , ●) et la transpiration foliaire critique (E_{crit} , Δ) calculée à l'aide de deux potentiels de cavitation (Ψ_{cav}) différents (A et B).

La sécheresse a été imposée à cinq plants de manguier élevés en conteneurs, pendant huit jours. L'état hydrique du sol est estimé par le potentiel de base (Ψ_{base}).

E_{crit} a été calculé selon le modèle hydraulique de Cochard *et al.* (2002) : $E_{\text{crit}} = (\Psi_{\text{base}} - \Psi_{\text{cav}}) K_{\text{tot,spé}}$, en tenant compte d'une transpiration cuticulaire de $0.06 \text{ mmol H}_2\text{O s}^{-1} \text{m}^{-2}$. Ψ_{cav} a été estimé (A) par déshydratation à la paillasse à -1.01 MPa , et (B) par centrifugation à -2.21 MPa (B).

La conductivité hydraulique $K_{\text{tot,spé}}$ a été calculée à partir des potentiels xylémiens estimés en considérant une conductance de feuille moyenne pour les arbres tropicaux de $13 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} (\text{s MPa})^{-1}$ (Sack and Holbrook, 2006).

Afin de s'affranchir des variations de la demande évaporative, les transpirations présentées ont été pondérées par le rapport entre l'ETP du jour de la mesure sur l'ETP du premier jour de l'expérimentation.

A-5-3 Modèle hydraulique de transpiration sur manguier

La sécheresse imposée a permis d'atteindre des valeurs de Ψ_{base} de -1.3 MPa au bout de huit jours. Au cours de cette période, la conductance hydraulique totale du xylème spécifique de feuille ($K_{\text{tot,spé}}$) a chuté non linéairement avec Ψ_{base} , de valeurs proches de $5.5 \text{ mmol H}_2\text{O (s MPa)}^{-1} \text{ m}^{-2}$ (ajustement non linéaire) à des valeurs inférieures à $1 \text{ mmol H}_2\text{O (s MPa)}^{-1} \text{ m}^{-2}$ (figure 28). Au tout début du dessèchement, les valeurs de $K_{\text{tot,spé}}$ ont été très dispersées. Nous n'avons pas pu expliquer ce comportement.

Pour le manguier, la transpiration foliaire maximale au cours d'une journée (E_{max}) est restée assez stable, comprise entre 3 et 4 $\text{mmol H}_2\text{O s}^{-1} \text{ m}^{-2}$, jusqu'à Ψ_{base} égal à -0.6 MPa (figure 29). Elle a ensuite diminué non linéairement jusqu'à atteindre des valeurs proches de zéro pour $\Psi_{\text{base}} = -1.2 \text{ MPa}$.

Qu'une transpiration cuticulaire de $0.06 \text{ mmol H}_2\text{O s}^{-1} \text{ m}^{-2}$ ait été prise en compte ou pas, les transpirations critique estimées (E_{crit}) ont été très peu différentes. Afin de se rapprocher au mieux des conditions naturelles, les valeurs de E_{crit} intégrant la transpiration cuticulaire ont été préférées et sont représentées à la figure 29.

En utilisant Ψ_{cav} déterminé par déshydratation (-1.01 MPa), les valeurs de E_{crit} calculées étaient très faibles, proches de 0 à $\Psi_{\text{base}} = -0.82 \text{ MPa}$ (figure 29A). E_{max} dépassait largement E_{crit} quel que soit le degré de dessèchement.

Au contraire, en considérant Ψ_{cav} déterminé par centrifugation (-2.21 MPa), E_{max} est resté inférieur ou égal à E_{crit} calculé (figure 29B). Plus précisément, E_{max} est resté très inférieur à E_{crit} pour Ψ_{base} supérieur à -0.5 MPa. En dessous de -0.5 MPa, E_{max} a suivi E_{crit} , sans jamais la dépasser. Les simulations n'ont pas été poursuivies au-delà de $\Psi_{\text{base}} = -1.3 \text{ MPa}$.

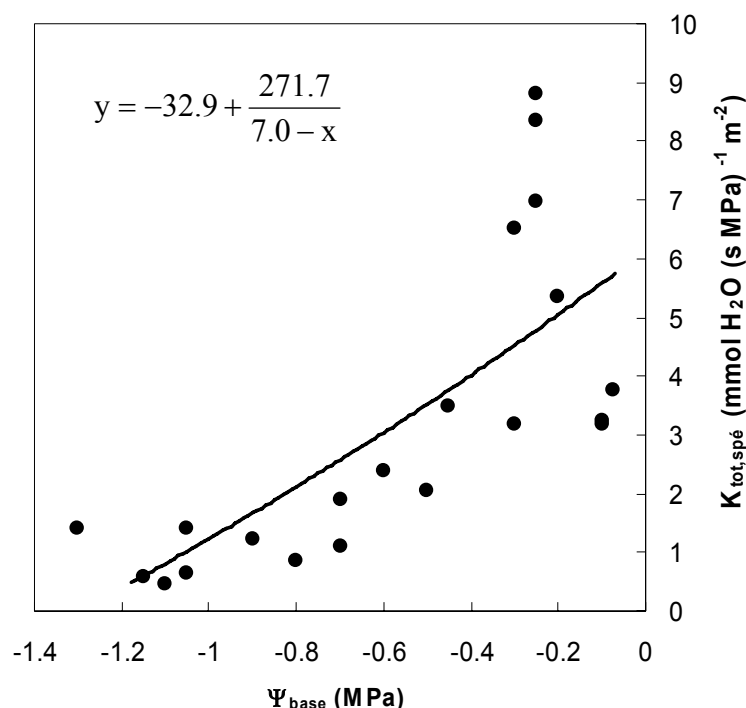


Figure 28 : Evolution de la conductance hydraulique du xylème par unité de surface foliaire ($K_{\text{tot,spé}}$) au cours d'une sécheresse de huit jours imposée à cinq plants de manguier en conteneurs de 70 L. L'état hydrique du sol est estimé par le potentiel de base (Ψ_{base}). $K_{\text{tot,spé}}$ a été estimé à partir du potentiel hydrique xylémien estimé, du potentiel de base et de la transpiration foliaire.

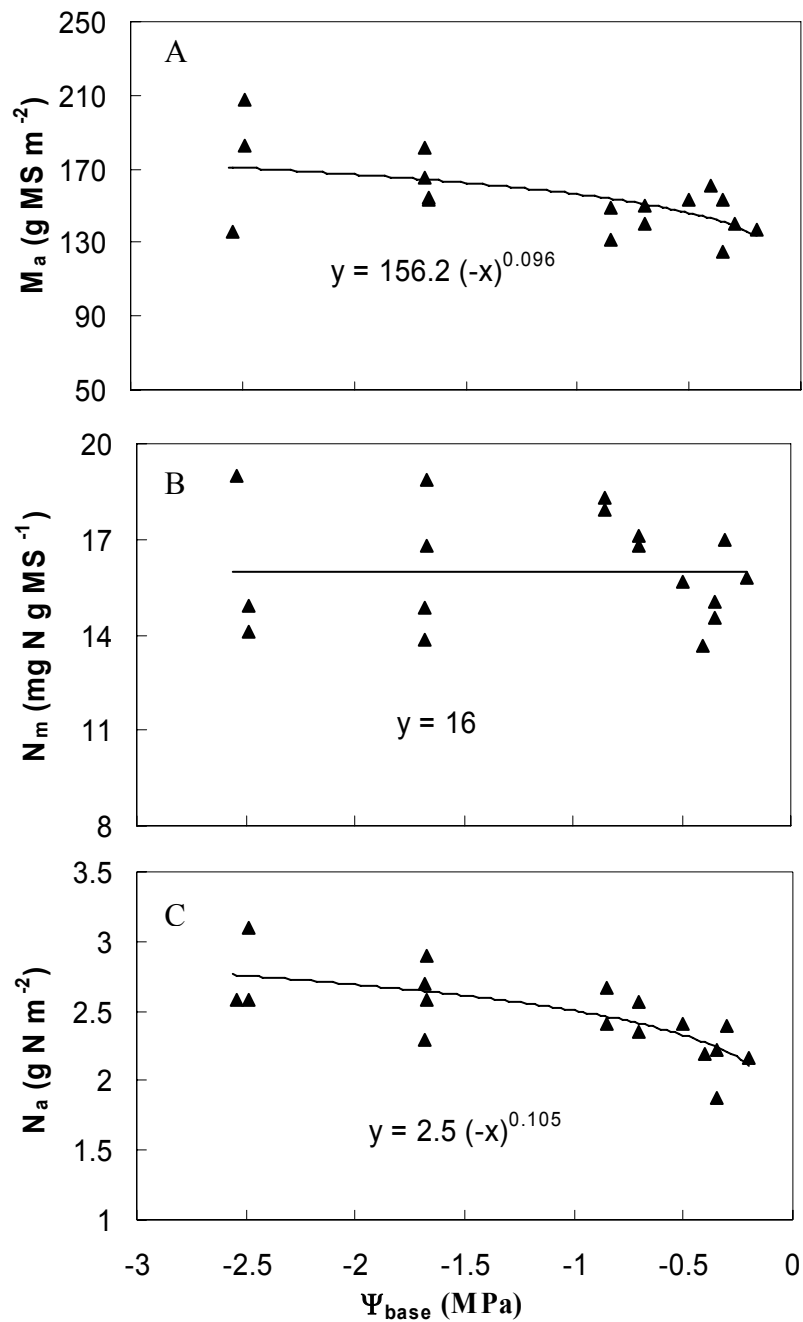


Figure 30 : Relation entre la masse surfacique M_a (A), la concentration massique en azote N_m (B), la concentration surfacique en azote N_a (C) et le potentiel de base Ψ_{base} ($n = 17$). Ces relations ont été établies chez le litchi au cours d'un dessèchement de 2.5 mois.

Les courbes correspondent aux régressions linéaires et puissance. Les équations de régression sont indiquées.

B- EFFET DU STRESS HYDRIQUE SUR LA CAPACITE PHOTOSYNTHETIQUE ET LA RELATION ENTRE g_s ET A_{net} CHEZ LE LITCHI ET LE MANGUIER

B-1 Le litchi

Après 5.5 mois de dessèchement, nous avons étudié, chez des litchis plantés en puit de terre, toute une gamme d'état hydrique des arbres résultant d'une privation totale en eau. Ψ_{base} s'échelonnaient entre -0.2 et -2.5 MPa selon les arbres, ce qui correspond à un stress assez fort dans nos conditions expérimentales.

B-1-1 Variations des concentrations en azote et en sucres au cours du stress hydrique

Dans la gamme de Ψ_{base} obtenue après 5.5 mois de dessèchement (-0.2 et -2.5 MPa), la masse surfacique (M_a) a augmenté de 26 % lorsque Ψ_{base} a diminué (figure 30A).

Au contraire, la concentration massique en azote (N_m) est resté stable à une valeur moyenne de 16 mg N g⁻¹ de matière sèche (figure 30B), indiquant que le pool d'azote total n'a pas été atteint.

La concentration surfacique en azote (N_a) a augmenté de 30 % lorsque Ψ_{base} a diminué (figure 30C). Par définition N_a est le produit de N_m et M_a . L'augmentation de N_a est alors attribuée en majorité à l'augmentation de M_a .

La concentration surfacique en amidon a diminué brutalement de 75 % dans les premières phases du dessèchement, entre $\Psi_{base} = -0.2$ et -0.8 MPa (figure 31). Pour des valeurs de Ψ_{base} inférieures à -0.8 MPa, la concentration en amidon diminuait plus doucement.

Les concentrations surfaciques en glucose et fructose+saccharose étaient respectivement deux et dix fois plus faibles que les concentrations en quebrachitol (résultats non présentés). Les concentrations de tous les sucres solubles ont augmenté de façon similaire lorsque Ψ_{base} diminuait. En conséquence, la concentration surfacique en sucres solubles totaux a augmenté lorsque Ψ_{base} diminuait (figure 31).

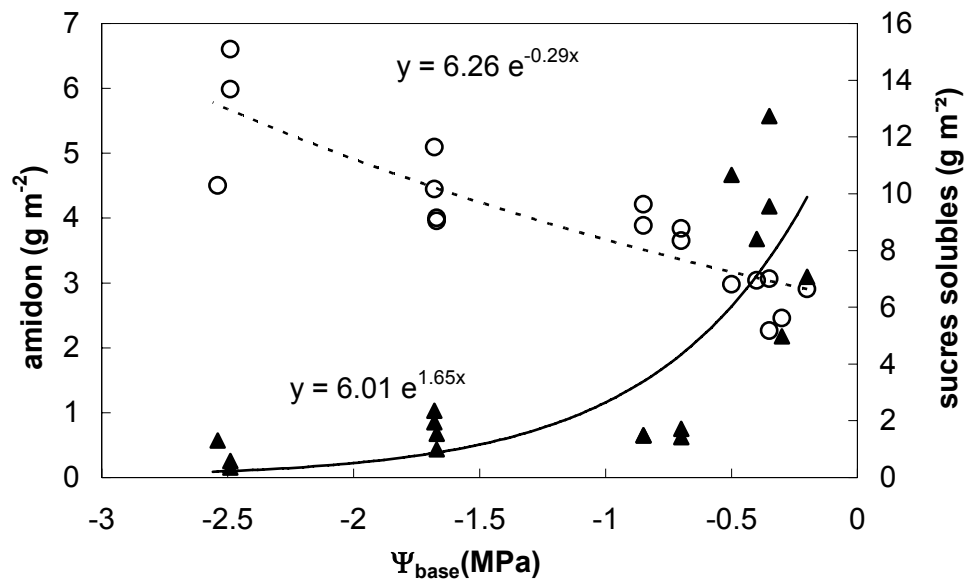


Figure 31 : Relation entre les concentrations surfacique en amidon (▲) et en sucres solubles (○), et le potentiel de base (Ψ_{base}) ($n = 17$). Ces relations ont été établies chez le litchi au cours d'un dessèchement de 2.5 mois. Les sucres solubles incluent le glucose, le fructose, le saccharose et le quebrachitol. Les courbes continue et en pointillés correspondent aux régressions exponentielles entre, respectivement, les concentration en amidon et en sucres solubles, et Ψ_{base} . Les équations des régressions sont indiquées.

B-1-2 Effet d'une sécheresse sur le long terme sur la photosynthèse et la conductance stomatique

La température n'a pas été contrôlée pendant les mesures d'échanges gazeux et la température à la surface de la feuille (T_f) a varié de 26 à 34 °C. Dans cette gamme, nous avons vérifié que T_f n'avait aucun effet sur l'assimilation nette A_{net} (résultats non-présentés).

Les valeurs maximales de A_{net} et les valeurs correspondantes de g_s ont diminué exponentiellement, et en parallèle, lorsque Ψ_{base} a diminué. Les stomates se sont presque fermés pour $\Psi_{base} = -2.5$ MPa environ (figure 32).

La concentration intercellulaire en CO₂ (C_i) n'a pas diminué avec la sécheresse (résultats non-présentés), indiquant que des facteurs autres que la faible conductance stomatique au CO₂ limitaient la photosynthèse.

La respiration de nuit (R_n) est restée stable quelle que soit Ψ_{base} , en moyenne (erreur standard) égale à 1.6 (0.08) $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

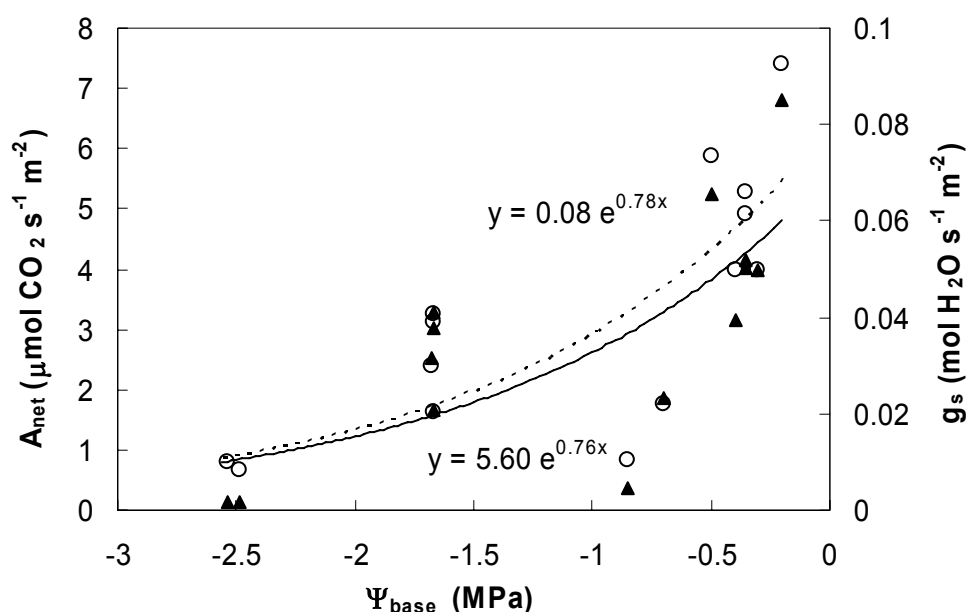


Figure 32 : Relation entre l'assimilation nette maximal journalier (A_{net} , ▲) et la conductance stomatique correspondante (g_s , ○), et le potentiel de base (Ψ_{base}) ($n = 14$). Ces relations ont été établies chez le litchi au cours d'un dessèchement de 2.5 mois.

Les courbes continues et en pointillés correspondent aux régressions exponentielles entre respectivement A_{net} maximal et le g_s correspondant, et Ψ_{base} . Les équations de régression sont indiquées

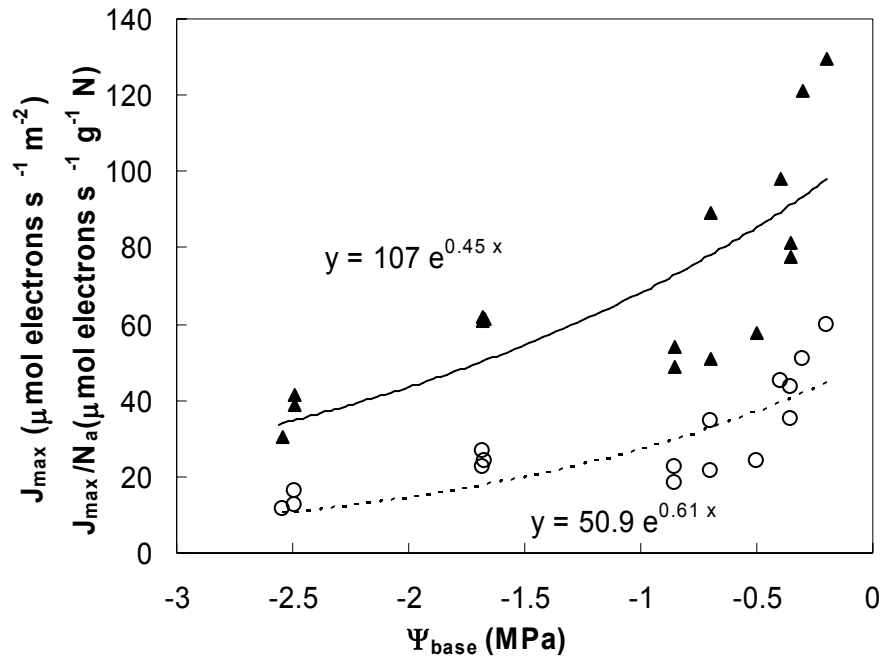


Figure 33 : Relation entre le flux électronique en condition de lumière saturante J_{\max} (▲), et le rapport J_{\max}/N_a (○) et le potentiel de base (Ψ_{base}) ($n = 16$). Ces relations ont été établies chez le litchi au cours d'un dessèchement de 2.5 mois.

Les courbes continue et en pointillés correspondent respectivement aux régressions exponentielles entre J_{\max} et J_{\max}/N_a , et Ψ_{base} . Les équations des régressions sont indiquées.

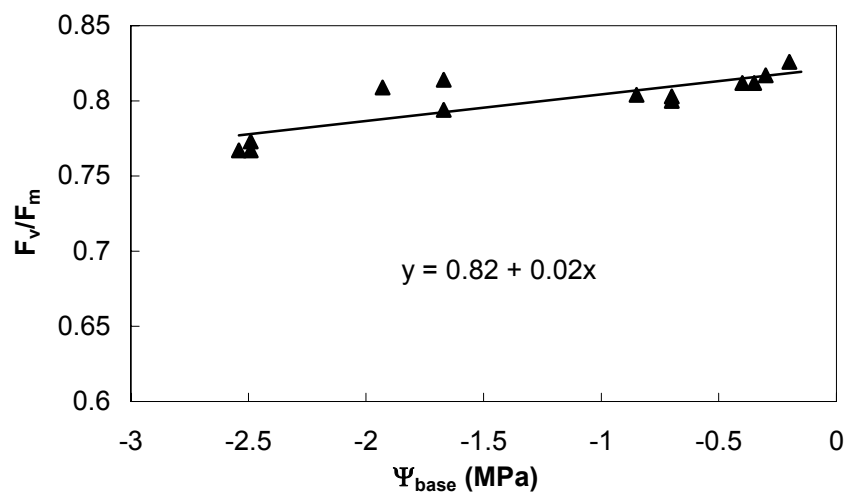


Figure 34 : Relation entre F_v/F_m et le potentiel de base (Ψ_{base}) ($n = 13$), chez le litchi au cours d'un dessèchement de 2.5 mois.

La droite représentée correspond à la régression linéaire entre F_v/F_m et Ψ_{base} . L'équation de régression est indiquée.

B-1-3 Effet d'une sécheresse sur le long terme sur les paramètres de fluorescence

L'efficacité de conversion de l'énergie lumineuse (α) et l'absorbance (θ), un indicateur de la concentration en chlorophylle, n'ont pas été affectés par la diminution de Ψ_{base} (résultats non-présentés). Une valeur moyenne pour α de $0.245 \mu\text{mol électrons s}^{-1} \text{m}^{-2}$ a été estimée.

Au contraire, le flux électronique en condition de lumière saturante (J_{max}) et le rapport J_{max}/N_a ont diminué exponentiellement lorsque Ψ_{base} a diminué (figure 33). Les deux variables ont tout d'abord chuté de 58 % entre $\Psi_{\text{base}} = -0.2$ et -0.8 MPa, puis plus doucement d'encre 15 % pour des Ψ_{base} inférieurs.

Une relation entre J_{max} , N_a et Ψ_{base} a été dégagée :

$$J_{\text{max}} = 50.9 N_a \exp(0.61 \Psi_{\text{base}})$$

éq. 123

L'augmentation de N_a (figure 30) et la diminution de J_{max}/N_a observée en conséquence de la sécheresse montre que l'azote a été réalloué à l'échelle foliaire aux dépens du pool photosynthétique d'azote.

L'efficacité quantique maximale des PSII (F_v/F_m) mesurée à l'aube a diminué légèrement et linéairement lorsque Ψ_{base} diminuait (figure 34). Des valeurs de F_v/F_m inférieures à 0.8, la valeur généralement mesurée sur des feuilles non stressées, ont uniquement été observées pour $\Psi_{\text{base}} = -2.5$ MPa environ. Même à ce niveau de dessèchement, les valeurs sont toutefois restées assez élevées ($F_v/F_m = 0.767$), n'indiquant qu'une photoinhibition modérée.

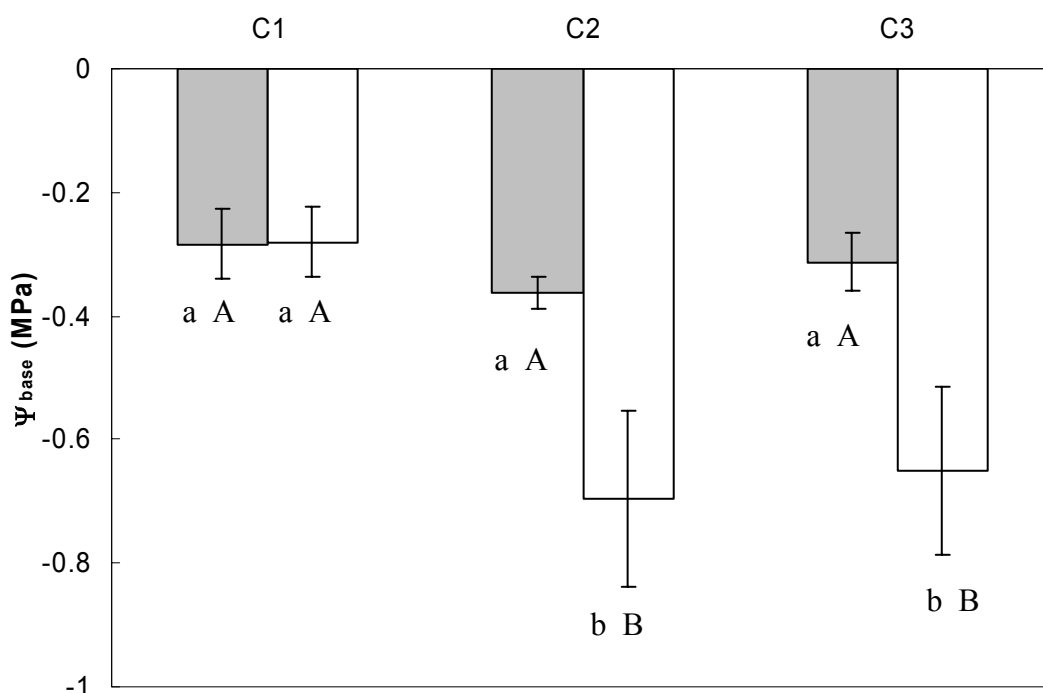


Figure 35 : Evolution du potentiel de base moyen (Ψ_{base}) au cours d'une période de restriction hydrique chez le manguiers, pour les traitements irrigué (barres grises, $n = 8$) et sec (barres blanches, $n = 8$). Les traits verticaux représentent les écart-types.

La campagne de mesures C1 correspond à la situation initiale où tous les arbres étaient parfaitement arrosés. Les campagnes de mesures C2 et C3 ont été menées après, respectivement, 11 et 15 semaines de dessèchement contrôlé pour le traitement sec.

L'effet du traitement, à chaque campagne, et l'effet de la campagne, pour le traitement irrigué, ont été testés par une analyse de variance sur les données brutes.

L'effet de la sécheresse a été testé par une analyse de variance sur les données du traitement sec pondérées à chaque campagne par la valeur moyenne du traitement témoin irrigué.

Pour chaque campagne, les traitements significativement différents sont repérés par des lettres majuscules différentes (test de Tukey, $P < 0.05$).

Pour le traitement irrigué, les campagnes significativement différentes sont repérées par des lettres minuscules différentes (test de Tukey, $P < 0.05$).

Pour le traitement sec, les campagnes significativement différentes (effet sécheresse) sont repérées par des lettres minuscules différentes (test de Tukey, $P < 0.05$).

B-2 Le manguier

Au cours de 3.5 mois d'une privation contrôlée en eau, nous avons suivi, l'évolution des échanges gazeux et de variables relatives à la capacité photosynthétique, chez des manguiers plantés en conteneurs. Ces variables ont été mesurées lors de trois campagnes de mesures au cours du dessèchement, puis une semaine après arrosage des arbres auparavant stressés. Tout au long de cette expérimentation, les arbres stressés (traitement sec) ont été comparés à des arbres témoins non-stressés (traitement irrigué).

B-2-1 Evolution du potentiel de base au cours de l'expérimentation

Pour les arbres du traitement sec, après deux mois et trois semaines de limitation de l'apport en eau (campagne C2), Ψ_{base} a diminué significativement et a atteint -0.7 MPa en moyenne (figure 35). Bien que le dessèchement ait été poursuivi encore un mois (campagne C3), Ψ_{base} s'est maintenu à cette valeur.

Lors de la campagne C4, les arbres étaient manuellement arrosés à saturation depuis une semaine. L'état hydrique du sol a alors été totalement restauré. Sur la base d'observations faites sur des dispositifs du même type (manguier en conteneurs arrosés manuellement à saturation), nous avons estimé que Ψ_{base} n'était pas inférieur à -0.3 MPa.

Tableau 9 : Masse surfacique (M_a), concentrations massique et surfacique en azote (N_m et N_a respectivement), concentration en chlorophylles (a et b) et concentration en caroténoïdes mesurés sur les feuilles de manguiers des traitements irrigué (I) et sec (S), au cours des quatre campagnes de mesures (C1, C2, C3, C4). Les moyennes (erreurs standard) sont présentées.

Les moyennes ne sont pas significativement différentes entre elles, que ce soit entre campagnes au sein d'un même traitement, ou entre traitements.

MS : matière sèche.

	traitement	C1	C2	C3	C4
M_a (g MS m ⁻²)	I	134 (2.8)	149 (4.4)	147 (3.7)	148 (4.2)
	S	133 (3.5)	143 (4.3)	146 (2.4)	151 (1.83)
N_m (mg N g MS ⁻¹)	I	19.7 (0.3)	19.6 (0.4)	18.7 (0.5)	19.4 (0.9)
	S	19.3 (0.9)	18.5 (0.7)	18.2 (0.6)	20.0 (0.8)
N_a (mg N m ⁻²)	I	2.6 (0.07)	2.9 (0.14)	2.8 (0.12)	2.9 (0.17)
	S	2.6 (0.15)	2.7 (0.13)	2.7 (0.10)	3.0 (0.10)
Chlorophylles a+b (g m ⁻²)	I	1.35 (0.05)	1.43 (0.09)	1.38 (0.10)	
	S	1.43 (0.01)	1.27 (0.01)	1.35 (0.01)	
Caroténoïdes (g m ⁻²)	I	1.48 (0.08)	1.27 (0.11)	1.35 (0.01)	
	S	0.32 (0.01)	0.30 (0.01)	0.29 (0.01)	

B-2-2 Effet d'une sécheresse sur le long terme sur les concentrations en azote total, chlorophylle et sucres

M_a , N_m , N_a et les concentrations en chlorophylles, caroténoïdes (tableau 9) n'ont pas varié au cours du dessèchement. Les moyennes des deux traitements sont restées similaires quelle que soit la campagne de mesures. Sur l'ensemble des campagnes, les moyennes de N_a et de la concentration en chlorophylles (a et b) ont été respectivement de $2.74 \pm 0.04 \text{ g N m}^{-2}$ et $1.38 \pm 0.04 \text{ g m}^{-2}$.

Les concentrations en sucres solubles sont également restées stables au cours du dessèchement, en moyenne autour de $11.9 \pm 0.17 \text{ g m}^{-2}$ (tableau 10).

La concentration en amidon a augmenté entre C1 et C2, pour le traitement irrigué puis est redescendue de façon non significative aux campagnes suivantes (tableau 10).

Dans le traitement sec, au contraire, la concentration a chuté brutalement entre C1 et C2, atteignant des valeurs inférieures à 1 g m^{-2} , puis a continué à diminuer entre C2 et C3. Pour ces deux campagnes, les concentrations ont alors été significativement différentes entre traitements. L'analyse de l'effet de la sécheresse sur les observations du traitement sec pondérées par les moyennes du traitement témoin irrigué a alors confirmé un effet significatif de la sécheresse.

Lors de la campagne C4, les feuilles des arbres de traitement sec ont récupéré leur niveau de concentration en amidon initial, et identique à celui du traitement irrigué.

Le rapport hexose/saccharose, indicateur de l'activité puit, était à un niveau très élevé lors de la campagne C1 pour les deux traitements : 0.75 et 1.04 en moyenne, pour les traitements irrigué et sec respectivement (tableau 10).

Pour le traitement irrigué, le rapport a diminué jusqu'à des valeurs comprises entre 0.15 et 0.18 lors des campagnes suivantes. Cet effet de la campagne de mesures sera discuté par la suite.

Pour le traitement sec, le rapport hexose/saccharose s'est maintenu à un niveau élevé aux campagnes C2 et C3 et a diminué en C4, atteignant un niveau similaire à celui du traitement irrigué.

Les observations du traitement sec pondérées n'ont pas été significativement différentes entre campagnes, indiquant que la sécheresse a contribué à maintenir un rapport hexose/saccharose élevé.

Tableau 10 : Concentrations en sucres solubles et en amidon et rapport hexose/saccharose mesurés sur les feuilles de manguiers des traitements irrigué (I) et sec (S), au cours des quatre campagnes de mesures (C1, C2, C3, C4). Les moyennes (erreurs standard) sont présentées.

L'effet du traitement, à chaque campagne, et l'effet de la campagne, pour le traitement irrigué, ont été testés par une analyse de variance sur les données brutes.

L'effet de la sécheresse a été testé par une analyse de variance sur les données du traitement sec pondérées à chaque campagne par la valeur moyenne du traitement témoin irrigué.

Pour chaque campagne, les traitements significativement différents sont repérés par des lettres majuscules différentes (test de Tukey, $P < 0.05$).

Pour le traitement irrigué, les campagnes significativement différentes sont repérées par des lettres minuscules différentes (test de Tukey, $P < 0.05$).

Pour le traitement sec, les campagnes significativement différentes (effet sécheresse) sont repérées par des lettres minuscules différentes (test de Tukey, $P < 0.05$).

La significativité de l'effet de la campagne et de la sécheresse est indiqué pour chaque ligne ; celle de l'effet du traitement, au sein d'une même campagne, est indiquée pour chaque colonne. *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$, ns non significatif.

Pour chaque traitement, $n = 12$ (C1, C2 et C3) ou $n = 6$ (C4).

	traitement	C1	C2	C3	C4	
Sucres solubles (g m ⁻²)	I	11.55 (0.24)	11.90 (0.44)	11.90 (0.32)	11.36 (0.64)	ns
	S	10.94 (0.48)	12.91 (0.52)	12.50 (0.51)	11.88 (0.27)	ns
		ns	ns	ns	ns	
Amidon (g m ⁻²)	I	7.30 (0.37) b B	10.00 (0.73) a A	8.50 (0.57) ab A	7.52 (0.82) ab	*
	S	10.20 (0.62) a A	0.69 (0.16) b B	0.56 (0.16) c B	8.92 (0.77) a	***
		***	***	***	ns	
hexose saccharose	I	0.75 (0.130) a	0.16 (0.011) b B	0.18 (0.022) b B	0.15 (0.016) b	***
	S	1.04 (0.200) a	0.68 (0.022) a A	0.69 (0.038) a A	0.20 (0.016) a	*
		ns	***	***	ns	

Tableau 11 : Pente de la courbe g_s-A_{net} observée sur les arbres des traitements irrigué (I) et sec (S), au cours des quatre campagnes de mesures (C1, C2, C3, C4). Les intervalles de confiance de la pente estimée sont indiqués entre crochets.

L'effet du traitement, à chaque campagne, et l'effet de la campagne, pour le traitement irrigué, ont été testés par une analyse de covariance sur les données brutes.

L'effet de la sécheresse a été testé par une analyse de covariance sur les données du traitement sec pondérées à chaque campagne par la valeur moyenne du traitement témoin irrigué.

Pour chaque campagne, les traitements significativement différents sont repérés par des lettres majuscules différentes (test de Tukey, $P < 0.05$).

Pour le traitement irrigué, les campagnes significativement différentes sont repérées par des lettres minuscules différentes (test de Tukey, $P < 0.05$).

Pour le traitement sec, les campagnes significativement différentes (effet sécheresse) sont repérées par des lettres minuscules différentes (test de Tukey, $P < 0.05$).

La significativité de l'effet de la campagne et de la sécheresse est indiqué pour chaque ligne ; celle de l'effet du traitement, au sein d'une même campagne, est indiquée pour chaque colonne. *** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$, ns non significatif.

traitement	C1	C2	C3	C4	
I	0.014 b [0.012 ; 0.016]	0.015 b [0.012 ; 0.018]	0.016 B A [0.014 ; 0.018]	0.022 a [0.019 ; 0.024]	***
S	0.016 b [0.014 ; 0.018]	0.008 c [0.006 ; 0.011]	0.008 c B [0.007 ; 0.009]	0.022 a [0.019 ; 0.024]	***
	ns	ns	***	ns	

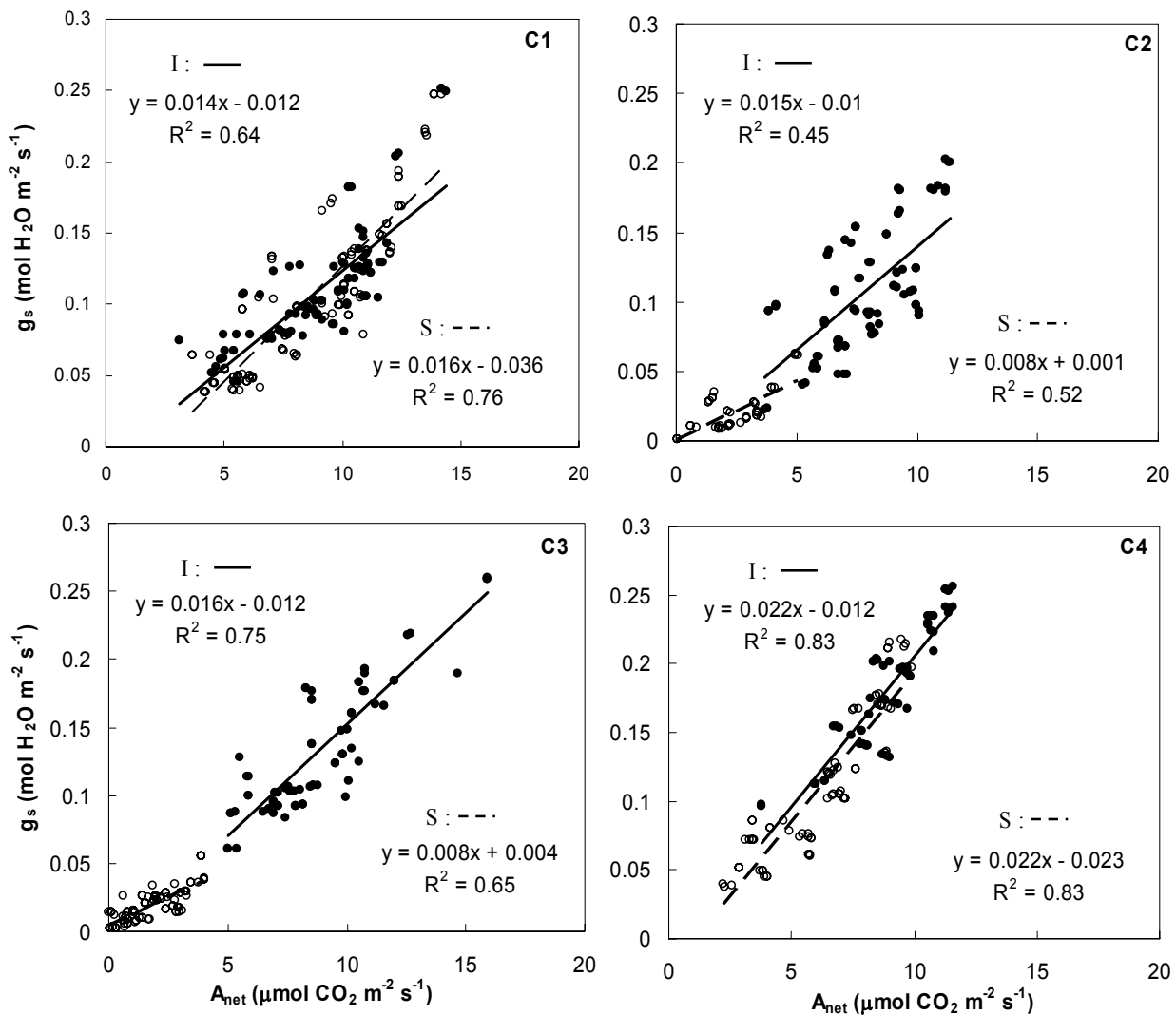


Figure 36 : Relation entre la conductance stomatique (g_s) et l'assimilation nette (A_{net}) au cours des quatre campagnes de mesures sur manguiers, dans les traitements irrigué (I, ●) et sec (S, ○). La campagne C1 correspond à la situation initiale où tous les arbres étaient parfaitement arrosés. Les campagnes C2 et C3 ont été menées après, respectivement, 11 et 15 semaines de dessèchement contrôlé du traitement sec. La campagne C4 a été faite une semaine après réarrosage du traitement sec. Les droites des régressions, ainsi que leur équation et coefficient de détermination sont indiqués.

B-2-3 Effet d'une sécheresse sur le long terme sur la pente de la relation entre g_s et A_{net} et sur C_i

Pour les arbres du traitement irrigué, g_s n'a que rarement dépassé $0.2 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ et est resté fréquemment compris entre 0.1 et $0.2 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (figure 36).

Les gammes de g_s et A_{net} sont restées similaires tout au long de l'expérimentation. La pente de la relation entre g_s et A_{net} est restée stable, aux environs de 0.015 lors des campagnes C1, C2 et C3 (figure 36 et tableau 11). Lors de campagne C4, la pente a légèrement augmenté jusqu'à 0.022 .

Pour les arbres du traitement sec, A_{net} et g_s ont diminué fortement entre les campagnes C1 et C2 (figures 36 et 37). Les deux variables ont alors exploré des gammes disjointes entre ces deux campagnes de mesures.

Cependant, la diminution de g_s a été plus importante que celle d' A_{net} et la pente de la relation entre g_s et A_{net} a diminué de 0.016 à 0.008 (figure 36 et tableau 11). Lorsque le dessèchement s'est poursuivi, entre C2 et C3, les gammes de g_s et A_{net} et la pente de leur relation sont restées inchangées. La restauration de l'état hydrique du sol a entraîné une réouverture rapide des stomates, une réaugmentation de l'assimilation nette et une remontée de la pente de la relation entre g_s et A_{net} à un niveau égal à celui du traitement irrigué : 0.022 . Pour cette dernière campagne de mesures, bien que les pentes étaient semblables, les gammes de g_s et A_{net} explorées par les arbres des deux traitements étaient décalées, avec des valeurs plus faibles pour le traitement sec.

Nous avons vu à la partie C, section I de la synthèse bibliographique, l'intérêt d'étudier le rapport g_s/A_{net} , qui permet de traduire l'effet du stress sur ces deux variables étroitement liées. Des variations de la pente entre g_s et A_{net} traduisent des variations de g_s/A_{net} .

Bien que les gammes de g_s et A_{net} aient été très différentes entre les campagnes de mesures et les traitements, la pente de la relation entre ces deux variables a alors été comparée. Les pentes des deux traitements ont été significativement différentes pour la campagne C3 uniquement (tableau 11). Lors de la campagne C2, la différence n'a pas été significative, probablement en raison de la forte dispersion des observations du traitement irrigué.

L'analyse des observations du traitement sec pondérées a montré un effet significatif de la sécheresse sur la pente de la relation g_s - A_{net} entre les campagnes C1 et C2, puis C3 et C4 (tableau 11).

La sécheresse s'est ainsi traduite par une diminution de la pente de la relation entre les campagnes C1 et C2, qui s'est maintenue lors de la campagne C3. La reprise de l'arrosage a permis sa remontée à un niveau comparable à celui d'arbres non-stressés.

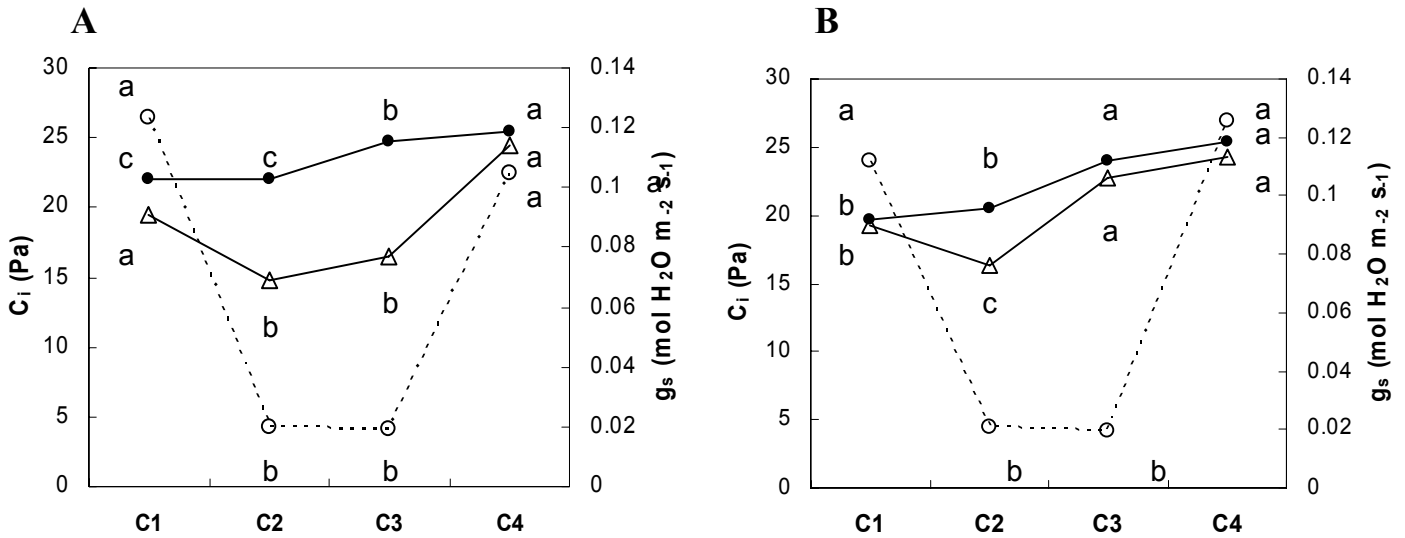


Figure 37 : Evolution de la concentration moyenne en CO₂ du milieu intercellulaire (C_i), chez le manguiier, au cours des quatre campagnes de mesures (C1, C2, C3, C4), pour le traitement sec (Δ) et le traitement irrigué (\bullet). L'évolution de la conductance stomatique (g_s) dans le traitement sec est également représentée (\circ).

La figure A regroupe les données obtenues lorsque l'intensité lumineuse était comprise entre 800 et 1200 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La figure B regroupe les données obtenues lorsque l'intensité lumineuse était supérieure à 1200 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

L'effet de la campagne, pour le traitement irrigué, a été testés par une analyse de variance sur les données brutes.

L'effet de la sécheresse a été testé par une analyse de variance sur les données du traitement sec pondérées à chaque campagne par la valeur moyenne du traitement témoin irrigué.

Pour le traitement irrigué, les campagnes significativement différentes sont repérées par des lettres minuscules différentes (test de Tukey, $P < 0.05$).

Pour le traitement sec, les campagnes significativement différentes (effet sécheresse) sont repérées par des lettres minuscules différentes (test de Tukey, $P < 0.05$).

Les variations de C_i sont un indicateur des causes de diminution de la photosynthèse (limitation par la diffusion du CO_2 ou limitations métaboliques). Afin de mieux étudier ces sources de limitations, les données d'échanges gazeux ont été regroupées par classe d'intensité lumineuse (Q) reçue par la feuille. Les gammes de Q les plus fréquemment rencontrées au cours d'une journée, 800-1200 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et supérieures à 1200 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ont plus particulièrement été étudiées.

Pour le traitement irrigué, C_i a augmenté entre les campagnes C2 et C3, quelle que soit la gamme de Q considérée (figure 37). Une faible augmentation s'est poursuivie pour les Q moyens (800-1200 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

La sécheresse a provoqué une diminution significative de C_i entre les campagnes C1 et C2 (analyse des observations du traitement sec pondérées, figure 37). Pour les Q élevés ($> 1200 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$), C_i a augmenté à nouveau lors de la campagne C3 et s'est maintenu après restauration de l'état hydrique du sol lors de la campagne C4.

Tableau 12 : Paramètres de la fluorescence mesurés sur des feuilles de manguiers des traitements irrigué (I) et sec (S), au cours des quatre campagnes de mesures (C1, C2, C3, C4). Les moyennes (erreurs standard) sont présentées.

Se reporter au tableau 10 pour le détail des tests effectués et la signification des lettres représentées. Pour chaque traitement, $n = 12$ (C1, C2 et C3) ou $n = 6$ (C4).

	traitement	C1	C2	C3	C4	
F_v/F_m	I	0.83 (0.005) a	0.78 (0.012) b	0.80 (0.014) b		*
	S	0.83 (0.007)	0.77 (0.013)	0.77 (0.009)		ns
		ns	ns	ns		
F_v'/F_m'	I	0.37 (0.006)	0.37 (0.007) A	0.38 (0.005) A	0.40 (0.006) A	ns
	S	0.37 (0.012) a	0.31 (0.011) b B	0.31 (0.008) b B	0.35 (0.005) ab B	***
		ns	***	***	***	
J_{\max} ($\mu\text{mol électrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	I	92.9 (4.82)	105.1 (5.84) A	106.5 (3.97) A	115.9 (6.58)	ns
	S	87.7 (5.80) a	55.6 (2.66) b B	62.5 (1.79) b B	108.5 (5.32) a	***
		ns	***	***	ns	
J_{\max}/N_a ($\mu\text{mol électrons (g N s)}^{-1}$)	I	35.2 (1.65)	36.0 (1.56) A	38.7 (1.07) A	40.4 (1.11)	ns
	S	34.0 (1.60) a	20.9 (0.55) b B	23.8 (1.04) b B	36.2 (1.69) a	***
		ns	***	***	ns	

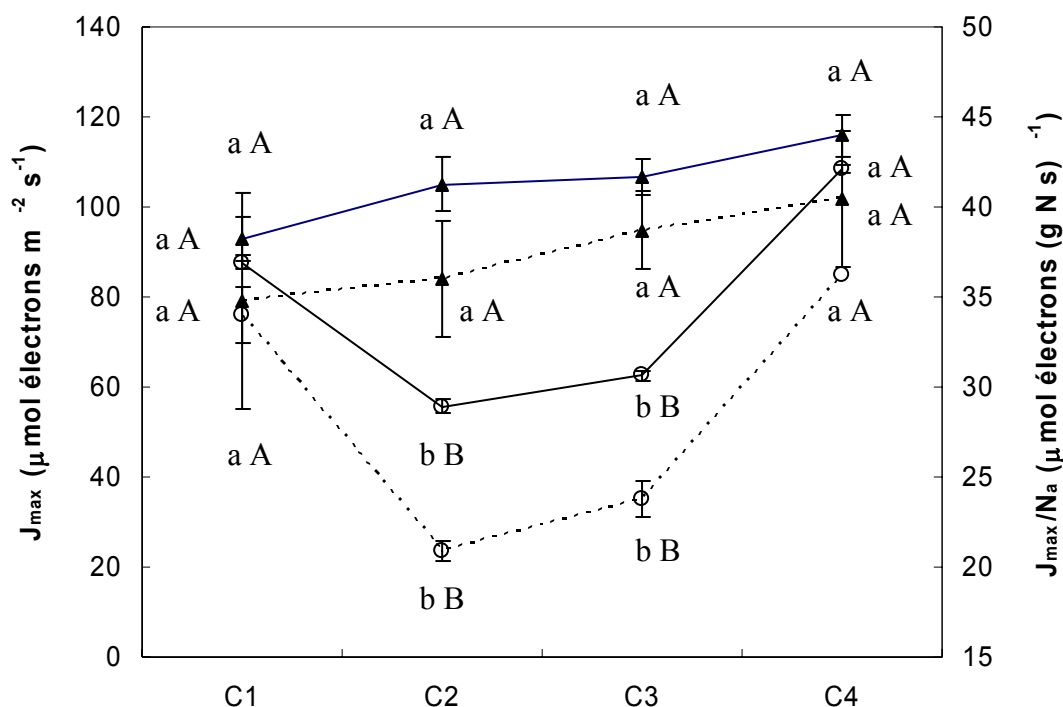


Figure 38 : Evolution du flux électronique en condition de lumière saturante (J_{max} , lignes continues) et du rapport J_{max}/N_a (lignes en pointillées) chez le manguiier, au cours des quatre campagnes de mesures (C1, C2, C3, C4), pour le traitement sec (○) et le traitement irrigué (▲). Les barres verticales représentent les erreurs standard.

Se reporter au tableau 10 pour le détail des tests effectués et la signification des lettres représentées. Pour chaque traitement, $n = 12$ (C1, C2 et C3) ou $n = 6$ (C4).

B-2-4 Effet d'une sécheresse sur le long terme sur les paramètres de la fluorescence

Lors des mesures de l'efficacité quantique des PSII (Φ_{PSII}) et de F_v'/F_m' au cours de la campagne C3, deux modalités de flash saturant ont été utilisées afin de s'assurer que le flash standard ($4800 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pendant 0.8 s) était suffisant pour saturer les PSII.

Dans le traitement irrigué, Φ_{PSII} et F_v'/F_m' , ont été significativement supérieurs lorsqu'un flash fort ($6000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pendant 2 s) a été utilisé ($P=0.03$ pour les deux paramètres), indiquant qu'un plus grand nombre de centres réactionnels étaient saturés. Les différences sont cependant restées très faibles. Pour les arbres du traitement sec, les mesures faites avec un flash fort ou standard étaient similaires. Ces résultats seront discutés plus loin.

Par la suite, et afin de comparer les campagnes entre elles, les résultats obtenus avec le flash standard uniquement seront présentés.

θ n'a varié ni entre les traitements, ni au cours des différentes campagnes (résultats non-présentés).

Au cours de l'expérimentation, J_{max} a légèrement augmenté dans le traitement irrigué, mais de manière non-significative (tableau 12 et figure 38). Les valeurs de J_{max} sont restées en moyenne assez faible ($104 \mu\text{mol électrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Dans le traitement sec, J_{max} et le rapport J_{max}/N_a ont diminué entre les campagnes C1 et C2, puis sont restés stables entre C2 et C3 (tableau 12 et figure 38).

Les valeurs moyennes observées dans le traitement sec ont alors été significativement inférieures à celles du traitement irrigué. L'analyse des observations du traitement sec pondérées a montré un effet hautement significatif de la sécheresse.

Lors de la campagne C4, après restauration de l'état hydrique du sol, J_{max} et J_{max}/N_a ont augmenté et ont retrouvé un niveau comparable à celui du traitement irrigué.

Le rapport F_v'/F_m' est resté stable dans le traitement irrigué, mais a diminué dans le traitement sec, entre les campagnes C1 et C2, indiquant une augmentation de la dissipation thermique d'énergie dans ce traitement (tableau 12).

Les valeurs de F_v'/F_m' sont restées stables dans le traitement sec entre les campagnes C2 et C3 et en moyenne significativement inférieures à celles du traitement irrigué. L'analyse des observations du traitement sec pondérées a ici montré un effet significatif de la sécheresse.

F_v'/F_m' a augmenté dans le traitement sec lors de la campagne C4, mais est resté inférieur aux valeurs mesurées dans le traitement irrigué. Ce résultat indique que, dans le traitement sec, un niveau plus élevé de dissipation thermique a été maintenu même après restauration de l'état hydrique du sol.

Le rapport F_v/F_m mesuré à l'aube a été similaire entre les traitements et est resté à un niveau relativement élevé (tableau 12). Aucun effet de la sécheresse n'a été mis en évidence.

Cependant, F_v/F_m a légèrement diminué entre les campagnes C1 et C2 (significativement pour le traitement irrigué uniquement), ce qui pourrait traduire les effets d'une faible photoinhibition couramment observée sur les manguiers durant l'hiver austral.

B-2-5 Effet d'une sécheresse sur le long terme sur la respiration mitochondriale et la conductance mésophyllienne

Pour le traitement sec, la respiration mitochondriale (R_d) estimée a diminué de $0.89 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ lors de la campagne C1, à $0.36 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ lors de la campagne C3. Pour le traitement irrigué, les moyennes par campagne sont restées élevées, à 0.87 et $0.85 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ pour les campagnes C1 et C3 respectivement.

Au cours de la campagne C3, la conductance mésophyllienne (g_m) estimée dans le traitement irrigué est resté entre 0.550 et $0.037 \text{ mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Pour le traitement sec, g_m n'a pas dépassé $0.024 \text{ mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ et a atteint des valeurs presque nulles.

Discussion

DISCUSSION

A- CARACTERISATION HYDRAULIQUE ET HYDRIQUE DU MANGUIER ET DU LITCHI ET COMPORTEMENT EN CONDITIONS DE STRESS HYDRIQUE

A-1 Construction des courbes de vulnérabilité

Les courbes de vulnérabilité permettent de déterminer la vulnérabilité à la cavitation de l'organe étudié. Deux méthodes de construction de ces courbes ont été employées dans cette étude : la déshydratation à la paillasse (Sperry *et al.*, 1988a) et la centrifugation (Cochard, 2002a).

A-1-1 Courbe de vulnérabilité du manguier

Les courbes de vulnérabilité des pétioles (et rameaux) déterminées par déshydratation et par centrifugation sont sigmoïdes, mais avec des paramètres très différents (figure 23A). En particulier, le potentiel de cavitation (Ψ_{cav}) a été estimé à -1.0 MPa par déshydratation et à -2.2 MPa par centrifugation.

En prenant pour référence la déshydratation à la paillasse, la centrifugation a sous-estimé le taux d'embolie pour les potentiels faiblement négatifs et a eu tendance à le surestimer pour les potentiels fortement négatifs.

La méthode par centrifugation permet de construire une courbe de vulnérabilité très rapidement et à partir d'un seul et même échantillon. Ce sont ses principaux avantages. Au contraire, la méthode par déshydratation nécessite des échantillons différents pour chaque observation, ce qui peut introduire de la variabilité dans les relations établies.

Le principe de la méthode par centrifugation étant d'évaluer les changements de conductance par rapport à un état initial, elle ne permet pas de prendre en compte l'embolie native du rameau (Cochard *et al.*, 2005).

Sur des manguiers n'ayant jamais connu d'importants stress hydriques, nous avons néanmoins estimé un taux d'embolie native, *in vivo*, de 16.5 %. Cette valeur, assez élevée, pourrait correspondre au vieillissement des rameaux.

Afin de pouvoir comparer les résultats des deux méthodes de détermination de la vulnérabilité, les courbes par déshydratation ont été corrigées du taux d'embolie native estimé *in vivo*. Avec cette correction, l'écart entre les deux méthodes a diminué, en particulier pour les potentiels faiblement négatifs. Cependant, les tendances observées sans la correction ont persistées.

Quatre caractéristiques de ces deux méthodes pourraient permettre d'expliquer les différences observées : (i) la taille des échantillons utilisés, (ii) l'écorçage ou non des échantillons (iii) le potentiel hydrique utilisé, (iv) la saturation en eau ou non des vaisseaux sectionnés.

▪ L'appareil utilisé pour estimer la vulnérabilité par centrifugation est constitué d'un rotor de 28 cm et nécessite ainsi des échantillons de 28 cm. Lorsque les vaisseaux de l'espèce étudiée sont beaucoup plus longs, les courbes construites peuvent être erronées (Cochard *et al.*, 2005, voir le cas du litchi).

La longueur maximale des vaisseaux du manguier a été estimée à 29 cm, et pour un rameau de 28 cm, 30 % des vaisseaux au milieu de l'échantillon avaient au moins une extrémité coupée (figures 18A et 19). Cette proportion est supérieure à ce qui est observé chez d'autres espèces étudiées par centrifugation (10 % chez *Juglans regia*, Cochard *et al.*, 2005). Les courbes de vulnérabilité obtenues sur manguier ont néanmoins été satisfaisantes, ce qui permet de conclure que cette espèce est compatible avec la technique.

Un rotor de 38 cm a maintenant été construit. De nouvelles mesures pourraient permettre de confirmer les résultats acquis.

▪ Les échantillons utilisés pour mesurer le taux d'embolie après déshydratation à la pailleuse ont été écorcés, alors que le segment de rameau utilisé pour la centrifugation est resté intact. On peut alors émettre l'hypothèse d'un flux (d'eau ou de latex) sous écorce qui biaiserait les résultats obtenus par déshydratation à la pailleuse. Nous avons alors montré que les relations entre la conductivité à saturation et le diamètre établies sur pétioles sont similaires, pour des pétioles écorcés ou non avant mesure (figure 21). Cette hypothèse, ainsi que celle de blessures occasionnées au moment de l'écorçage, sont donc exclues.

▪ Le potentiel hydrique mesuré pour quantifier la déshydratation à la pailleuse est le potentiel hydrique foliaire (Ψ_{fol}). Par centrifugation, les variations de pression sont directement appliquées au xylème, et c'est ainsi le potentiel hydrique xylémien (Ψ_{xyl}) qui est calculé. Ψ_{fol} d'une feuille transpirante est généralement inférieur *in vivo* à Ψ_{xyl} . Cependant, nous avons vérifié que lors de la déshydratation de rameaux coupés, Ψ_{fol} et Ψ_{xyl} étaient égaux (figure 24), vraisemblablement en raison de la fermeture précoce des stomates dans ces conditions. De plus, si ces potentiels étaient différents, les taux d'embolie déterminés par déshydratation à la pailleuse auraient été surestimés sur l'ensemble de la courbe, ce qui n'est pas le cas.

▪ Enfin, les rameaux utilisés pour la centrifugation ont été coupés à l'air et de gros vaisseaux étaient susceptibles de s'être ainsi embolisés avant la mesure. En effet, selon le principe de la méthode, les vaisseaux coupés à une extrémité, et embolisés avant la mesure, ne sont pas resaturés. Les vaisseaux les plus longs ont la plus forte probabilité d'avoir été sectionnés à l'une ou l'autre des extrémités du segment. Ils sont aussi les plus gros (Sperry *et al.*, 2005). Ces gros vaisseaux sont les premiers à caviter *in planta*. Ainsi, un certain nombre de gros vaisseaux ne contribueraient plus à la vulnérabilité mesurée qui serait alors sous-estimée (le taux d'embolie serait sous-estimé pour les potentiels faiblement négatifs). Cette hypothèse pourrait expliquer les écarts observés entre les courbes par déshydratation et par centrifugation, pour les potentiels faiblement négatifs.

A partir de nos résultats, il n'est pas possible de déterminer quelle méthode permet d'obtenir la courbe de vulnérabilité la plus fiable. Seule l'hypothèse d'une sous-estimation de la vulnérabilité par la centrifugation peut être avancée et expliquerait en partie les écarts observés pour les potentiels faiblement négatifs.

Des mesures de taux d'embolie *in planta* pourraient permettre de valider l'une ou l'autre des méthodes. Quelques mesures ont montré que lorsque Ψ_{fol} atteignait -1.7 MPa et que les stomates étaient totalement fermés, le taux d'embolie des pétioles était de 29 % (résultats non-présentés). En soustrayant le taux d'embolie native observé *in vivo*, on obtient un taux

d'embolie de 12.5 %. Cette valeur correspond aux observations faites pour construire la courbe par déshydratation. Cependant, ces quelques mesures faites *in planta* se sont révélées très variables, ce qui n'a pas permis de conclure avec certitude à la fiabilité de la courbe par déshydratation.

Ainsi, nous discuterons par la suite les courbes et les paramètres hydrauliques estimés par les deux méthodes.

A-1-2 Courbe de vulnérabilité du litchi

Pour le litchi, ni la courbe de vulnérabilité par centrifugation, ni celle obtenue par déshydratation n'apparaissent sigmoïdes (figure 23B).

Par centrifugation, les courbes de vulnérabilité n'ont pas été reproductibles. Des courbes d'allure similaire à celles du litchi et peu reproductibles, sont aussi observées chez un certain nombre d'espèces à vaisseaux très longs (en particulier chez *Fraxinus excelsior*, Cochard *et al.*, 2005). Il est courant d'observer de très long vaisseaux pour les espèces, dites à zone poreuse, chez qui le diamètre des vaisseaux varie selon leur période de formation au cours de l'année (Tyree et Zimmermann, 2002).

Les vaisseaux de litchi sont très longs. Pour des segments de rameau de 28 cm, identiques à ceux utilisés par centrifugation, environ 50 % des vaisseaux du milieu de l'échantillon ont au moins une extrémité coupée (figures 18B et 19). Cette valeur est forte, bien supérieure à celle obtenue pour les espèces à pores diffus (10 % chez *Juglans regia*) et comparable à celle obtenue pour les espèces à zone poreuse (40 % chez *Fraxinus excelsior*) (Cochard *et al.*, 2005). Le comportement du litchi donne donc à penser que le litchi est une espèce à zone poreuse.

Des observations de sections de rameaux âgés pourraient permettre de vérifier cette hypothèse.

Ainsi qu'il a été argumenté au paragraphe précédent, sur les rameaux utilisés pour la centrifugation, de gros vaisseaux sont susceptibles d'être sectionnés et embolisés à une extrémité, ce qui pourrait biaiser l'estimation de la vulnérabilité. En effet, ces vaisseaux ne contribuent alors plus à la vulnérabilité déterminée par centrifugation. Etant les premiers à caviter *in planta*, la vulnérabilité est sous-estimée par cette méthode. Ce biais pourrait expliquer l'allure inattendue des courbes de vulnérabilité construites par centrifugation.

De plus, selon le nombre de vaisseaux sectionnés et emplis d'air, la sous-estimation de la vulnérabilité serait plus ou moins grande. Pour les espèces à longs vaisseaux, le nombre de vaisseaux sectionnés par échantillon est variable et pourrait expliquer la non-reproductibilité des courbes de vulnérabilité par centrifugation.

Cochard *et al.* (2005) ont ainsi déconseillé d'utiliser la centrifugation pour déterminer la vulnérabilité des espèces aux vaisseaux d'une longueur moyenne supérieure à 28 cm, en particulier celle des espèces à zone poreuse.

Des travaux récents ont cependant montré que des segments de rameaux d'espèces à zone poreuse (et à longs vaisseaux), pouvaient être mesurés par centrifugation avec succès, de manière reproductible (Li *et al.*, 2008). Une étude précise de l'effet de la taille des échantillons sur les mesures de conductivité par centrifugation devrait permettre de trancher entre ces résultats contradictoires. De nouvelles mesures avec le rotor de 38 cm pourraient aussi permettre de revoir les résultats acquis.

Par déshydratation à la paillasse, la courbe de vulnérabilité est de tendance linéaire. Des courbes non sigmoïdes ont aussi été établies chez d'autres espèces, en particulier : *Citrus clementina* (Poggi *et al.*, 2007), *Cassipourea elliptica* (Sperry *et al.*, 1988b) et trois cultivars de *Coffea arabica* (Tausend *et al.*, 2000).

De telles courbes pourraient s'expliquer par des différences anatomiques (large gamme de diamètres de vaisseaux, large gamme de potentiels de cavitation selon la taille des vaisseaux). Cependant, ceci n'a jamais été démontré. L'hypothèse qu'une population particulière de vaisseaux cavite en premier a aussi été émise, sans toutefois être validée expérimentalement (Poggi *et al.*, 2007). Sur litchi, quelques colorations des vaisseaux fonctionnels d'un rameau embolisé à 50 %, n'a pas non plus permis de valider cette hypothèse (résultats non-présentés).

L'allure atypique de la courbe de vulnérabilité du litchi construite par déshydratation ne serait ainsi pas due à des artefacts de mesure, mais à des particularités anatomiques. Son allure sera discutée au paragraphe A-2-2.

- **Sur manguier**, les courbes de vulnérabilité construites par les méthodes par déshydratation à la paillasse et par centrifugation ont des paramètres différents.
- Ψ_{cav} a été estimé à -1.0 MPa par déshydratation et à -2.2 MPa par centrifugation.
- Il n'a pas été possible de déterminer laquelle de ces méthodes permet d'obtenir la courbe de vulnérabilité la plus fiable.
- **Sur litchi**, ni la courbe de vulnérabilité par centrifugation, ni celle obtenue par déshydratation n'est sigmoïde et Ψ_{cav} n'a pas pu être déterminé.
- Ces résultats seraient dus à des particularités anatomiques, en particulier à des vaisseaux de forte longueur.

A-2 Vulnérabilité à la cavitation

A-2-1 Différences de vulnérabilité à la cavitation entre les rameaux d'ombre et les rameaux de lumière, chez le manguier

Par centrifugation, les courbes de vulnérabilité des rameaux d'ombre et de lumière suivent une évolution parallèle, mais ont des paramètres différents (figure 22). Le potentiel de cavitation des rameaux d'ombre est moins négatif que celui des rameaux de lumière (-1.9 et -2.2 MPa respectivement).

Les rameaux d'ombre seraient ainsi plus vulnérables que ceux de lumière, en accord avec la tendance assez généralement observée (Cochard *et al.*, 1999 ; Lemoine *et al.*, 2002). En effet, une corrélation positive entre le taux de transpiration et la résistance à la cavitation a été

observée (Cochard *et al.*, 1999). La plus faible vulnérabilité des rameaux de lumière leur permettrait de résister à une plus forte demande climatique (Cochard *et al.*, 1999 ; Lemoine *et al.*, 2002). De façon générale, il semblerait que les conditions de croissance de la plante et des rameaux (lumière, nutrition, ...) conditionnent leur vulnérabilité (Tyree et Zimmermann, 2002).

Par déshydratation à la pailleasse, l'écart entre la courbe correspondant aux rameaux et pétioles d'ombre et celle relative aux rameaux et pétioles de lumière, est faible, mais va dans le sens d'une plus forte vulnérabilité des rameaux et pétioles de lumière (figure 22). Ce résultat est contraire à ce qui est observé par centrifugation et chez la plupart des espèces.

Cependant, la gamme de potentiels parcourue par les observations correspondant aux échantillons d'ombre a été faible et restreinte aux potentiels faiblement négatifs. La dispersion de ces observations a aussi été plus grande.

Les rameaux d'ombre sont en moyenne plus âgés que les rameaux de lumière et sont ainsi susceptibles d'avoir développé plus d'embolie. Les échantillons utilisés pour construire les courbes de vulnérabilité par déshydratation ont été prélevés sur des rameaux différents, pour lesquels les taux d'embolie native ont pu être différents. Ceci pourrait expliquer la plus forte variabilité de taux d'embolie observée sur ces rameaux.

Lors de la correction des courbes de vulnérabilité par déshydratation par le taux d'embolie native, nous avons fait l'hypothèse que ce taux d'embolie était identique pour des rameaux d'ombre et des rameaux de lumière. Le raisonnement précédent va à l'encontre de cette hypothèse et la correction effectuée pourrait ainsi être inadaptée aux échantillons d'ombre.

Dans ce cas, il aurait fallu corriger les observations relatives aux échantillons d'ombre par un taux d'embolie supérieur. Ces valeurs de taux d'embolie corrigées auraient alors été inférieures et la courbe aurait été déplacée vers la gauche. Ceci ne ferait que confirmer l'hypothèse d'une plus forte vulnérabilité des rameaux et pétioles de lumière.

Quoi qu'il en soit, la différence de gamme de potentiels explorée par les échantillons d'ombre et de lumière ne permet pas de comparer rigoureusement les courbes obtenues sur les deux types de rameaux. Par cette méthode, il n'a ainsi pas été possible de conclure à une différence de vulnérabilité.

A-2-2 Vulnérabilité à la cavitation du manguier et du litchi

Le manguier, avec un potentiel de cavitation de -1.0 ou -2.2 MPa (estimés par déshydratation et centrifugation respectivement, tableau 8), serait une espèce assez vulnérable à la cavitation. En effet, la gamme de Ψ_{cav} rencontrée pour des espèces d'habitat et de forme de croissance divers s'étend de -8 à -0.7 MPa (tableau 13). Les valeurs estimées du potentiel induisant 50 % d'embolie ($\Psi_{50} = -2.1$ et -2.7 MPa par déshydratation et centrifugation respectivement) correspondent aussi à une espèce vulnérable, que ce soit à l'échelle de différents types écologiques ou au sein des arbres de forêt tropicale (Maherali *et al.*, 2004).

Le litchi, au contraire, serait peu vulnérable à la cavitation. Sa conductivité hydraulique a diminué linéairement avec le potentiel hydrique et n'a été réduite que de 40 % à -3.2 MPa. De la même façon, chez *Cassipourea elliptica* et *Coffea arabica* cv. Typica, la perte de

Tableau 13 : Potentiel de cavitation (Ψ_{cav}) estimé sur des rameaux de différentes espèces d'habitats et de formes croissance variés. Ψ_{cav} (MPa) est estimé par le potentiel pour lequel on observe 10% d'embolie. ** indique que l'estimation de l'embolie a été faite par méthode acoustique.

Espèce	Ψ_{cav}	Référence
<i>Magnolia soulangeana</i>	-0.71	Nardini et Salleo (2000) **
<i>Myrtus communis</i>	-0.79	Nardini et Salleo (2000) **
<i>Populus deltoides</i>	-0.8	Tyree <i>et al.</i> (1994)
<i>Juglans regia</i>	-0.81	Nardini et Salleo (2000) **
<i>Hevea brasiliensis</i> RRIM600	-0.8	Sangsing <i>et al.</i> (2004)
RTIT251	-1.1	
<i>Corylus avellana</i>	-0.94	Nardini et Salleo (2000) **
<i>Calycanthus floridus</i>	-0.98	Nardini et Salleo (2000) **
<i>Prunus laurocerasus</i>	-1.01	Nardini et Salleo (2000) **
<i>Cercis siliquastrum</i>	-1.04	Nardini et Salleo (2000) **
<i>Malus domestica</i>	-1.07	Nardini et Salleo (2000) **
<i>Viburnum tinus</i>	-1.14	Nardini et Salleo (2000) **
<i>Castanea sativa</i>	-1.16	Nardini et Salleo (2000) **
<i>Laurus nobilis</i>	-1.23	Nardini et Salleo (2000) **
<i>Zea mays</i>	-1.5	Cochard (2002b)
<i>Juglans regia</i>	-1.8	Cochard <i>et al.</i> (2002)
<i>Betula pendula</i>	-1.9	Cochard <i>et al.</i> (2005)
<i>Quercus petraea</i>	-2.2	Cochard <i>et al.</i> (1996a)
<i>Thuja occidentalis</i>	-2.3	Tyree <i>et al.</i> (1994)
<i>Picea abies</i>	-2.8	Lu <i>et al.</i> (1996)
<i>Acer saccharum</i>	-3.0	Tyree <i>et al.</i> (1994)
<i>Juniperus virginiana</i>	-5.7	Tyree <i>et al.</i> (1994)
<i>Rhizophora mangle</i>	-5.7	Tyree <i>et al.</i> (1994)
<i>Ceanothus megacarpus</i>	-8.0	Tyree <i>et al.</i> (1994)

conductivité hydraulique est presque linéairement reliée à la chute de potentiel hydrique. La courbe de vulnérabilité de *Coffea arabica* cv. Typica est très proche de celle du litchi, avec un taux d'embolie n'atteignant que 60 % pour un potentiel de -6.8 MPa (Tausend *et al.*, 2000).

Hacke *et al.* (2001) ont montré que la rigidité des parois des vaisseaux est très bien corrélée à la vulnérabilité à la cavitation. En effet, chez les espèces peu vulnérables, le potentiel hydrique du xylème est susceptible de descendre assez bas. La rigidité mécanique des parois des vaisseaux permettrait alors de supporter ces fortes tensions.

Chez le manguier, nous avons estimé une rigidité très faible (tableau 7) comparée aux autres espèces végétales qui ont pu être étudiées (Hacke *et al.*, 2001 ; Cochard *et al.*, 2007). Elle est également plus faible chez le manguier que chez le litchi. Ces résultats confirment que le manguier est très vulnérable à la cavitation, et plus vulnérable que le litchi.

- La vulnérabilité des rameaux d'ombre et de lumière du manguier n'a pu être comparée que sur la base des courbes construites par centrifugation.
- Les rameaux d'ombre sont plus vulnérables que les rameaux de lumière, en accord avec ce qui est généralement observé
- Sur la base des courbes de vulnérabilité établies, le manguier apparaît comme une espèce vulnérable à la cavitation. Au contraire, le litchi serait peu vulnérable. L'étude de la rigidité mécanique des parois des vaisseaux confirme ces conclusions.

A-3 Comportement hydrique du manguier et du litchi face à un stress hydrique

A-3-1 Le manguier

➤ *Le manguier régule fortement son potentiel hydrique foliaire*

Le manguier régule fortement son potentiel hydrique foliaire au cours d'un dessèchement. Dans les conditions de notre expérimentation (arbres en conteneurs), Ψ_{fol} est resté constant à -1.8 MPa pour des valeurs de potentiel de base (Ψ_{base}) allant de -0.7 à -1.7 MPa (figure 25A). Parallèlement, les stomates se sont fermés brutalement avec la diminution du potentiel hydrique. Ce fort contrôle des stomates chez le manguier a été rapporté par ailleurs (Pongsomboon *et al.*, 1992).

La forte régulation des stomates que nous avons mis en évidence chez le manguier est similaire à ce qui a été observé sur *Zea mays* par exemple (Cochard, 2002b), et conduit au maintien de Ψ_{fol} . C'est une caractéristique des espèces isohydriques.

Tuzet *et al.* (2003) ont montré à l'aide d'un modèle complet du fonctionnement de la plante (couplant la conductance stomatique, la photosynthèse, les transferts radiatifs et le trajet d'eau

dans la plante), que les espèces au comportement isohydrique avaient de faibles conductances hydrauliques. En effet, dans ce cas, $\Psi_{\text{xy}}l$ est toujours proche de Ψ_{cav} , les risques d'embolie sont élevés, et la nécessité de contrôler étroitement les stomates est importante.

Un raisonnement similaire peut être tenu pour les espèces vulnérables à la cavitation. Pour ces espèces, $\Psi_{\text{xy}}l$ est susceptible d'atteindre rapidement Ψ_{cav} . Dans ce cas, un contrôle étroit de l'ouverture des stomates (et ainsi de la diminution de $\Psi_{\text{xy}}l$ et Ψ_{fol}) est nécessaire. Le comportement isohydrique du manguier pourrait ainsi s'expliquer par sa forte vulnérabilité.

➤ *Le manguier contrôle-t-il ses stomates afin de limiter les risques d'embolie ?*

On observe généralement une très bonne coordination entre les comportements hydraulique et stomatique. En particulier la diminution de conductance stomatique correspond à l'augmentation du taux d'embolie dans les pétioles ou rameaux, pour des espèces de types et de milieux agroécologiques variés (Sperry, 1986 ; Cochard *et al.*, 1996a ; Cochard *et al.*, 1996b ; Salleo *et al.*, 2000 ; Cochard, 2002b ; Cochard *et al.*, 2002 ; Lemoine *et al.*, 2002).

Cette coordination répond à l'hypothèse de Tyree et Sperry (1989), selon laquelle les stomates sont régulés de façon à limiter le développement de l'embolie. Cette hypothèse a été vérifiée sur plusieurs espèces (Cochard *et al.*, 1996a ; Cochard, 2002b ; Cochard *et al.*, 2002 ; Sangsing *et al.*, 2004). Dans ce cas, le potentiel hydrique correspondant à la fermeture des stomates est très proche de Ψ_{cav} des pétioles et rameaux (Tyree et Sperry, 1988 ; Cochard *et al.*, 1996a ; Lu *et al.*, 1996). Plus précisément, Sangsing *et al.* (2004) ont montré sur *Hevea brasiliensis* que le potentiel hydrique induisant 10 % d'embolie (Ψ_{cav}) correspond au potentiel pour lequel g_s n'atteignait plus que 10 % de sa valeur initiale.

Nous avons alors cherché à tester l'hypothèse de Tyree et Sperry (1989) chez le manguier, en se basant sur les résultats acquis par les deux méthodes d'estimation de la vulnérabilité utilisées : déshydratation à la paillasse et centrifugation.

Cas de la vulnérabilité établie par déshydratation à la paillasse

En considérant la courbe de vulnérabilité établie par déshydratation, g_s a diminué simultanément à l'augmentation du taux d'embolie dans les pétioles et rameaux (figure 27A). Cependant, pour un potentiel hydrique équivalent à Ψ_{cav} , les stomates étaient encore bien ouverts, g_s atteignait encore en moyenne 40 % de sa valeur initiale.

Les transpirations foliaires maximales, observées au cours du dessèchement, étaient supérieures aux transpirations critiques simulées, à partir de laquelle l'embolie peut apparaître (figure 29A). Les stomates n'ont ainsi pas été régulés de façon à limiter le développement de l'embolie, à l'encontre de l'hypothèse de Tyree et Sperry (1989).

Bien que cette hypothèse soit généralisable à un grand nombre d'espèces et à des environnements contrastés, on peut imaginer qu'elle ne le soit plus pour des espèces fruitières cultivées.

Il a été montré que l'amélioration du rendement de *Gossypium barbadense* (cotonier) a été associée à une augmentation de l'ouverture des stomates (Quinones *et al.*, 1998). On peut imaginer que la modification de ce caractère, bénéfique au rendement de la plante, ait pu conduire à la perte d'autres caractères comme la faculté des stomates à contrôler l'embolie. Bien que le manguier n'ait pas été soumis à la même pression de sélection que le cotonnier,

une modification de ces mêmes caractères aurait pu conduire, dans une moindre mesure, à la perte du contrôle de l'embolie par les stomates suggérée par nos observations.

De plus, les manguiers utilisés dans cette étude étaient greffés. Porte-greffe et greffon étant deux génotypes différents, leur vulnérabilité, en particulier celle des pétioles et rameaux, pourrait être différente.

Il a été montré que les stomates répondaient à des variations de concentration en acide abscissique (Zhang et Outlaw, 2001 ; Christmann *et al.*, 2007) ou de pression hydrostatique du xylème (Cochard, 1992b ; Saliendra *et al.*, 1995), localisées au niveau de la feuille. Cependant, ces variations sont en partie induites par des signaux de longue distance provenant des racines, vraisemblablement hydrauliques (Christmann *et al.*, 2007).

L'hypothèse peut alors être émise que la variété porte-greffe ait des pétioles moins vulnérables que ceux de la variété greffon. En conséquent, les signaux racinaires de fermeture stomatique pourraient être émis par le porte-greffe trop tard au cours du dessèchement pour permettre un contrôle efficace de l'embolie des pétioles du greffon.

Cependant, si les stomates du manguier ne contrôlent pas l'embolie, les risques d'emballement de l'embolie (Tyree et Sperry, 1988) sont grands. Ce phénomène repose sur l'idée qu'une diminution du potentiel hydrique crée de l'embolie, qui à son tour diminue le potentiel hydrique, etc... Dans ce cas, les potentiels hydriques ne devraient pas être maintenus constants.

Or, nous avons vu que le manguier contrôle Ψ_{fol} , mais à un niveau où un taux d'embolie non négligeable est déjà atteint. Afin de pouvoir considérer comme valable ces simulations de transpiration, réalisées sur la base de Ψ_{cav} déterminé par déshydratation, il serait important de s'assurer que la plante se trouve dans un état stable d'embolie. Des mesures *in planta* permettraient de confirmer que les taux d'embolie observés sont stables et qu'il n'y a pas emballement de l'embolie.

Cas de la vulnérabilité établie par centrifugation

La diminution de g_s avec le potentiel hydrique montre que la fermeture des stomates précède l'apparition d'embolie lorsqu'on considère la courbe de vulnérabilité établie par centrifugation (figure 27B). Ψ_{fol} a atteint au minimum -1.8 MPa et par conséquent Ψ_{xyl} au niveau de la feuille n'a jamais atteint Ψ_{cav} (-2.2 MPa).

Il a été montré sur différentes espèces que le potentiel hydrique correspondant à la fermeture des stomates est très proche de Ψ_{cav} des pétioles et rameaux (Tyree et Sperry, 1988 ; Cochard *et al.*, 1996a ; Lu *et al.*, 1996). Cependant, dans ces cas-là, la diminution de g_s et l'apparition d'embolie étaient coordonnées de façon à permettre un faible taux d'embolie dans les rameaux ou les pétioles, ce qui ne semble pas être vérifié chez le manguier. Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ces résultats.

- Tout d'abord, l'évitement de toute embolie chez le manguier pourrait correspondre à une stratégie de protection forte vis-à-vis de la cavitation, où le manguier éviterait l'apparition d'un taux d'embolie même très faible.
- Mais on peut aussi imaginer que les stomates se ferment afin d'éviter la cavitation dans un autre organe, plus vulnérable que les pétioles et les jeunes rameaux.

Une segmentation de la vulnérabilité est fréquemment observée, et la plupart du temps, les parties distales de la plante (feuilles, rameaux périphériques et racines) sont les plus vulnérables (Tyree et Zimmermann, 2002). Sur plusieurs espèces, une plus grande vulnérabilité des pétioles comparée aux tiges a été observée (Salleo *et al.*, 2000 ; Cochard *et al.*, 2002). Lors d'un stress hydrique fort, elle entraînerait la chute des feuilles, une diminution du taux de transpiration, contribuant ainsi à préserver l'état hydrique de l'arbre. Cependant pour un certain nombre d'autres espèces, les racines sont plus vulnérables que les tiges (Alder *et al.*, 1996 ; Froux *et al.*, 2005).

Le manguier pourrait de la même façon avoir des racines plus vulnérables que les pétioles et les jeunes rameaux, et les stomates pourraient se fermer afin d'y limiter l'embolie.

Néanmoins, Froux *et al.* (2005) ont montré que même lorsque les racines étaient les organes les plus vulnérables, la fermeture des stomates était corrélée à l'embolie des tiges.

Par ailleurs, la comparaison des transpirations maximales et des transpirations critiques simulées suggère que le manguier régule sa transpiration (par g_s , Ψ_{fol} et Ψ_{xyl}) afin d'éviter la cavitation dans les pétioles et les rameaux, en accord avec l'hypothèse de Tyree et Sperry (1989). L'hypothèse d'un contrôle de l'embolie dans les racines, plus vulnérables, n'est donc pas vérifiée.

Nous avons montré que la transpiration maximale n'a pas dépassé la transpiration critique quel que soit le degré de dessèchement (figure 29B).

Pour de faibles degrés de dessèchement ($\Psi_{base} > -0.5$ MPa), les variables hydriques étudiées (transpiration, potentiels hydriques) n'ont pas été contrôlées et c'est la demande climatique qui a déterminé le flux transpiratoire. La transpiration maximale observée est restée en-deçà de la transpiration critique.

Lorsque le dessèchement s'est poursuivi ($\Psi_{base} \leq -0.5$ MPa), la transpiration observée a suivi parfaitement la diminution de la transpiration critique simulée. Le manguier fonctionnait alors proche du seuil de cavitation, point de dysfonctionnement du xylème. Ce comportement est en accord avec ce qui est fréquemment observé (Tyree et Sperry, 1988 ; Cochard *et al.*, 1996a ; Lu *et al.*, 1996), ou simulé (Sperry *et al.*, 1998). A ce niveau de dessèchement, le contrôle stomatique est étroit et performant.

Pour un dessèchement encore plus fort, le contrôle de la transpiration devient plus difficile. L'ouverture stomatique, la transpiration et la conductivité hydraulique du xylème sont devenues très faibles, vers $\Psi_{base} = -1.3$ MPa. La transpiration maximale pourrait alors dépasser la transpiration critique. La gamme de Ψ_{fol} observée s'est rétrécie jusqu'à devenir très faible autour de -1.7 MPa, pour $\Psi_{base} = -1.6$ MPa. A ces niveaux de dessèchement, le contrôle des stomates est maximal, mais peut rester insuffisant pour éviter la cavitation. Un dessèchement plus poussé aurait peut être pu mettre en évidence une telle situation.

Les résultats de cette simulation suggèrent que dans la gamme de dessèchement correspondant à des Ψ_{base} compris entre -1.2 MPa et -0.5 MPa, Ψ_{xyl} est égal à Ψ_{cav} . Ce n'est pas ce qui est observé puisque nous avons montré que Ψ_{fol} était maintenu au-dessus de -1.8 MPa chez le manguier. On aurait ainsi pu s'attendre à ce que la transpiration maximale observée reste inférieure à la transpiration critique simulée. Il est cependant raisonnable de penser que l'écart entre Ψ_{xyl} et Ψ_{cav} est trop faible pour se traduire par cette différence de transpiration.

Courbe de vulnérabilité par déshydratation vs. courbe de vulnérabilité par centrifugation

Les conclusions établies ci-dessus, à partir de Ψ_{cav} déterminés par déshydratation et par centrifugation, peuvent contribuer à préférer l'une ou l'autre des deux courbes de vulnérabilité, sans toutefois représenter une validation d'une de ces méthodes.

Nous avons montré que la courbe de vulnérabilité par déshydratation à la pailasse était en accord avec des mesures de taux d'embolie *in planta*. Cependant, ces mesures ont été faites avec la même technique d'évaluation du taux d'embolie et ne représentent ainsi pas une réelle validation de la courbe.

Par ailleurs, les simulations de transpiration basées sur Ψ_{cav} déduit de cette courbe remettent en cause l'hypothèse de Tyree et Sperry (1989) selon laquelle les stomates se ferment afin de contrôler l'embolie. Cette hypothèse a largement été vérifiée pour de nombreuses espèces de milieux et de formes de vie très différents et il semble surprenant, bien que quelques explications aient été avancées, que le manguier ne se comporte pas ainsi.

Au contraire, la courbe de vulnérabilité par centrifugation conduit à des résultats cohérents avec cette littérature : (i) les simulations de transpiration montrent qu'elle ne dépasse jamais la transpiration critique à partir de laquelle l'embolie apparaît, et (ii) les évolutions du taux d'embolie et de la conductance stomatique en fonction du potentiel hydrique montrent que les stomates se ferment avant que la cavitation n'apparaisse. Ce dernier résultat (ii) a de plus été acquis à partir de mesures indépendantes, ce qui irait dans le sens de la validité des courbes de vulnérabilité par centrifugation.

Bien que nos résultats ne permettent pas de conclure avec certitude à la validité de l'une ou de l'autre des courbes de vulnérabilité et des paramètres associés, la courbe par centrifugation semble être celle à préférer.

A-3-2 Le litchi

Chez le litchi, la régulation de Ψ_{fol} est moins importante que chez le manguier. Dans la gamme de dessèchement, relativement faible, imposée dans l'expérimentation, Ψ_{fol} a diminué très rapidement, et g_s plus lentement (figure 27B).

Nous avons aussi montré que des rameaux coupés de litchi atteignent des potentiels hydriques plus faibles que des rameaux coupés de manguier, dès le début du dessèchement (figure 24). Ce résultat suggère que les stomates se ferment plus tardivement chez le litchi que chez le manguier.

La vulnérabilité du litchi étant assez faible, la nécessité de contrôler l'ouverture des stomates serait moins grande que pour le manguier.

- **Le manguier** régule fortement g_s et Ψ_{fol} . Ce comportement isohydrique pourrait s'expliquer par sa forte vulnérabilité à la cavitation.
- L'hypothèse selon laquelle les stomates sont contrôlés afin de limiter l'embolie n'a pas pu être réellement vérifiée sur manguier. Selon la méthode utilisée pour déterminer Ψ_{cav} (centrifugation ou déshydratation), cette hypothèse peut, ou non, être validée. ...

...

- Compte tenu de la généralité du contrôle de l'embolie par les stomates pour de très nombreuses plantes, ainsi que de mesures faites indépendamment, il semblerait que la courbe de vulnérabilité par centrifugation soit à préférer. Ces arguments ne constituent cependant pas une validation de la méthode.
- **Le litchi** semble contrôler beaucoup moins l'ouverture des stomates que le manguier, probablement en relation avec sa plus faible vulnérabilité à la cavitation.

A-4 Simulation de la transpiration en conditions de stress hydrique

Avec l'hypothèse que les stomates sont régulés afin de limiter le développement de l'embolie dans les pétioles et les rameaux, la transpiration peut être simulée par la transpiration critique à partir de laquelle l'embolie peut se développer. Mais n'ayant pas pu établir avec certitude une valeur du potentiel de cavitation pour le manguier, cette hypothèse n'a pas pu être validée.

Cependant, estimer la transpiration critique à partir de Ψ_{cav} déterminé par centrifugation a permis de bien simuler la transpiration maximale du manguier lors d'un dessèchement du sol (figure 29B).

Le modèle hydraulique utilisé (Cochard *et al.*, 2002) pourrait alors permettre de simuler, de façon empirique, la transpiration foliaire (E) lorsque l'état hydrique devient limitant.

En utilisant la relation entre E, g_s et le déficit en saturation de vapeur d'eau de l'air (Vpd), il devient possible de simuler la conductance stomatique maximale lors d'un stress hydrique :

	$E = g_s \cdot Vpd$	<i>éq. 3</i>
et	$E = (\Psi_{base} - \Psi_{cav}) K_{tot,spé}$	<i>éq. 124</i>
où	$K_{tot,spé}$ est la conductance hydraulique totale du xylème spécifique de feuille.	

Dans notre étude, $K_{tot,spé}$ a été estimé sur la base de Ψ_{xyl} , lui-même estimé à partir de mesures de Ψ_{fol} et d'une conductance hydraulique de la feuille moyenne pour les arbres tropicaux. Une mesure directe de Ψ_{xyl} ou une estimation la conductance hydraulique foliaire, spécifique au manguier, permettrait d'améliorer les simulations du modèle.

Une originalité de la démarche adoptée ici a été d'introduire une transpiration cuticulaire dans le calcul de la transpiration critique. Nous avons cependant montré que l'introduction d'une valeur fixe de transpiration cuticulaire modifiait très peu les résultats obtenus.

Cavender-Bares *et al.* (2007) ont montré que cette transpiration cuticulaire, dite transpiration de nuit, correspondait à une perte d'eau par l'épiderme et à une transpiration résiduelle, due à la fermeture incomplète des stomates. Les auteurs ont alors montré que cette dernière composante pouvait être régulée par les stomates, notamment lorsque Vpd ou l'état hydrique du sol variaient. Dans d'autres situations expérimentales, ou pour d'autres espèces, introduire une transpiration de nuit, fonction des conditions environnementales, dans le calcul de la transpiration critique, pourrait s'avérer intéressant.

- Le calcul d'une transpiration critique à partir de Ψ_{cav} déterminé par centrifugation (-2.2 MPa) permet de bien simuler la transpiration maximale du manguiier en condition des stress hydrique.
- Dans ces conditions, la conductance stomatique maximale au cours d'une journée (g_{smax}) peut être correctement simulée selon :

$$g_{smax} = \frac{(\Psi_{base} - \Psi_{cav})K_{tot,spé}}{Vpd} \quad \text{éq. 125}$$

A-5 Conclusions

La vulnérabilité à la cavitation du manguiier et du litchi n'a pas pu être déterminée précisément. En effet, les deux méthodes que nous avons utilisées pour l'estimer, déshydratation à la paillasse et centrifugation, ont conduit à des résultats différents, et atypiques pour le litchi.

Pour le litchi, la centrifugation semble inadaptée, probablement en raison une longueur importante des vaisseaux du xylème. Son potentiel de cavitation n'a pas pu être déterminé, mais les courbes par déshydratation et l'analyse de l'épaisseur des parois des vaisseaux suggèrent que sa vulnérable à la cavitation est faible.

Pour le manguiier, les deux méthodes d'estimation de la vulnérabilité à la cavitation ont montré que cette espèce était très vulnérable à la cavitation.

L'hypothèse selon laquelle les stomates contrôlent le développement de l'embolie n'a ainsi pas pu être testée chez le litchi. Chez le manguiier, les cas des vulnérabilités déterminées par centrifugation et par déshydratation ont été testés tous les deux. L'hypothèse du contrôle de l'embolie est validée lorsqu'on considère la vulnérabilité déterminée par centrifugation, mais elle est mise en défaut lorsqu'on considère cette déterminée par déshydratation.

Ces résultats, ainsi que d'autres acquis indépendamment, ont conduit à préférer, pour le manguiier, la courbe de vulnérabilité par centrifugation.

Des travaux supplémentaires, en particulier en utilisant un rotor de 38 cm pour la centrifugation pourraient permettre d'approfondir les résultats obtenus et de déterminer la vulnérabilité exacte de ces deux espèces. En particulier, l'hypothèse selon laquelle les stomates contrôlent le développement de l'embolie mérite d'être testée plus en détail sur des arbres cultivés et greffés.

Les résultats obtenus ont clairement montré que le manguiier est assez vulnérable à la cavitation. La vulnérabilité à la cavitation est généralement associée à une faible résistance à la sécheresse (Tyree *et al.*, 2003 ; Maherali *et al.*, 2004). Cependant, nous avons montré que la fermeture des stomates du manguiier était très précoce au cours du dessèchement, ce qui lui permettrait d'éviter les dégâts occasionnés par la sécheresse.

Le litchi au contraire, est une espèce moins vulnérable. Il serait ainsi plus tolérant à la sécheresse et le contrôle des stomates serait moins important.

Ainsi, le manguier et le litchi semblent avoir adopté des stratégies différentes face à la sécheresse. Le manguier maintient un potentiel hydrique xylème à un niveau assez élevé pour ne pas atteindre le potentiel de cavitation. Chez le litchi, au contraire, le potentiel hydrique du xylème peut descendre relativement bas, mais reste sans conséquence quant à la formation d'embolie. La stratégie du litchi serait alors plus une stratégie de tolérance à la sécheresse, et celle du manguier, une stratégie d'évitement. Ces deux stratégies peuvent tout aussi bien conduire à une bonne résistance à la sécheresse. Cette résistance est reconnue pour le manguier (Whiley et Schaffer, 1997) comme pour le litchi (Batten *et al.*, 1994 ; Menzel, 2005).

Sur un plan très pratique, nous avons montré que la transpiration et la conductance stomatique maximales du manguier au cours d'un dessèchement pouvait être simulées par la transpiration critique (à partir de laquelle de l'embolie peut se former), en considérant Ψ_{cav} déterminé par centrifugation.

B- EFFET DU STRESS HYDRIQUE SUR LA CAPACITE PHOTOSYNTHETIQUE ET LA RELATION ENTRE g_s ET A_{net} CHEZ LE LITCHI ET LE MANGUIER

Les effets du stress hydrique sur les échanges gazeux et certains paramètres de la capacité photosynthétique ont été étudiés chez le litchi et chez le manguiier. Chez le litchi, une gamme d'état hydrique des arbres résultant d'une privation totale en eau de 5.5 mois a été étudiée. Chez le manguiier, la dynamique d'un dessèchement de 3.5 mois, résultant d'une privation contrôlée en eau, a été comparée à trois dates (campagnes de mesures) à un traitement témoin irrigué. Une dernière campagne de mesures, après reprise de l'arrosage de ces manguiiers, a permis d'étudier la restauration des paramètres étudiés.

Ces expérimentations reposent toutes deux sur un **stress hydrique imposé sur le long terme**. Quelques études se sont intéressées aux variations saisonnières des paramètres de la capacité photosynthétique (en particulier : Wilson *et al.*, 2000 ; Xu et Baldocchi, 2003). Mais de façon générale, peu ont étudié des stress hydriques à long terme, c'est-à-dire imposés sur plusieurs mois (Pankovic *et al.*, 1999).

B-1 Effet du stress hydrique sur la teneur foliaire en azote

Au cours d'une sécheresse, différentes études ont montré une diminution (Heckathorn *et al.*, 1997 ; Llorens *et al.*, 2003) ou une augmentation (Llorens *et al.*, 2003) de la concentration massique en azote (N_m). Que ce soit chez le litchi ou chez le manguiier, N_m est au contraire resté stable quel que soit l'état hydrique des arbres ou la durée du stress (figure 30B et tableau 9). La taille du pool total d'azote foliaire n'a ainsi pas été affectée par ces stress imposés sur le long terme.

Chez le litchi, la masse surfacique (M_a) a augmenté avec l'intensité du stress hydrique (figure 30A). Des augmentations similaires ont été observées chez de nombreuses espèces (Waring, 1991 ; Bacelar *et al.*, 2006) et ont été interprétées comme un mécanisme adaptatif permettant de limiter l'évaporation en conditions de sécheresse (Givnish, 1979).

Chez le manguiier, M_a est resté stable (tableau 9). Pour cette espèce, la période de stress imposée a été moins longue et l'on pourrait envisager que ces mécanismes adaptatifs n'aient pas eu le temps de se mettre en place. Cependant, les feuilles de manguiier possèdent une cuticule épaisse qui limite déjà l'évaporation. Quelques mesures de transpiration cuticulaire ont en effet suggéré que ces pertes en eau étaient plus importantes pour le litchi que pour le manguiier. La présence de cette épaisse cuticule chez le manguiier pourrait expliquer qu'une adaptation morphologique supplémentaire n'ait pas été nécessaire.

La concentration surfacique en azote (N_a) étant par définition le produit de N_m et M_a , elle est restée stable chez le manguiier au cours du stress hydrique, mais a augmenté chez le litchi en raison de l'augmentation de M_a (figure 30C et tableau 9). Des résultats contradictoires concernant les variations de N_a avec le stress hydrique, et leurs causes (variations de N_m ou de M_a) ont été rapportés. Chez *Olea europea*, M_a et N_a ont diminué (Diaz-Espejo *et al.*, 2006), alors que chez *Quercus suber*, N_m et N_a ont augmenté (Aranda *et al.*, 2005). Cependant, aucun de ces résultats n'a été acquis lors d'un stress hydrique imposé sur le long terme.

De nombreuses études ont montré que M_a et N_a étaient déterminés par l'accès à la lumière de la feuille (Abrams et Mostoller, 1995 ; Niinemets et Tenhunen, 1997 ; Niinemets *et al.*, 2004). Cette relation va dans le sens de l'hypothèse selon laquelle la plante alloue ses ressources azotées au sein de la canopée afin de maximiser la photosynthèse à l'échelle de l'arbre. Ainsi, selon cette hypothèse, la plante alloue plus d'azote aux feuilles les mieux exposées à la lumière et moins d'azote aux feuilles les moins bien exposées.

Les feuilles de litchi étudiées étaient similairement exposées. Si M_a et N_a ne dépendaient que de l'accès à la lumière, ces deux variables auraient du rester stable malgré le dessèchement du sol. M_a et N_a ont néanmoins augmenté avec le stress hydrique.

Ces résultats montrent que la relation entre la teneur en azote des feuilles et leur exposition n'a pas été maintenue au cours d'un stress hydrique, chez cette espèce.

Afin d'étendre les simulations des modèles biochimiques de photosynthèse de l'échelle foliaire à l'échelle de la canopée, il est nécessaire de les coupler à un modèle de transfert radiatif (Harley *et al.*, 1985 ; Harley et Tenhunen, 1991 ; Harley et Baldocchi, 1995). La relation entre N_a et l'exposition de la feuille est l'élément clé de ce couplage et devrait alors, selon l'espèce étudiée, être adaptée aux conditions de stress hydrique.

- Chez le litchi comme chez le manguier, la taille du pool total d'azote foliaire (N_m) n'a pas été affectée par le stress hydrique.
- Chez le litchi uniquement, la masse surfacique (M_a) et ainsi la concentration surfacique en azote (N_a) ont augmenté avec l'intensité du stress hydrique, même pour des feuilles similairement exposées.
- La relation entre N_a et l'exposition des feuilles n'a ainsi pas été maintenue chez le litchi au cours d'un stress hydrique.

B-2 Effet du stress hydrique sur la capacité photosynthétique

B-2-1 Validité des estimations du flux électronique en condition de lumière saturante J_{max}

Chez le litchi, J_{max} a été mesuré en imposant une pression partielle de CO_2 de 200 Pa. Ce niveau de CO_2 pourrait être insuffisant pour s'affranchir des limitations diffusives au CO_2 , à la fois à travers les stomates mais aussi à travers le mésophylle, vers les sites de carboxylation. Dans ce cas, l'efficacité quantique de PSII (Φ_{PSII}) serait sous-estimée et les estimations de J_{max} à partir des courbes $\Phi_{PSII} = f(Q)$ seraient erronées.

Cependant, les limitations diffusives dues à la conductance mésophyllienne sont au plus de même intensité que celles dues à la conductance stomatique (Escalona *et al.*, 1999 ; Flexas *et al.*, 2002 ; Grassi et Magnani, 2005). Même en considérant ce cas, le plus défavorable, la pression partielle en CO_2 aux sites de carboxylation (C_c) n'a jamais été inférieure à 180 Pa. Un tel C_c est bien supérieur à ce qui est nécessaire pour saturer les sites de carboxylation. Les valeurs de J_{max} estimées sur litchi ne devraient ainsi pas être biaisées.

Chez le manguier, J_{\max} a été mesuré en imposant une pression partielle de CO_2 de 500 Pa, afin de s'affranchir de toute limitation diffusive. L'hypothèse que le flash lumineux utilisé couramment pour ces mesures (flash standard : $4800 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pendant 0.8 secondes) ne soit pas saturant a néanmoins été envisagée.

Pour des arbres irrigués, un flash de $6000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ appliqué pendant 2 secondes a saturé plus de centres réactionnels que le flash standard. Les différences ont néanmoins été très faibles. Les feuilles des arbres stressés ont un seuil de saturation lumineux plus bas que celui des feuilles des arbres irrigués. Un flash d'intensité ou de durée inférieures peut ainsi être suffisant, ce qui explique qu'aucune différence de J_{\max} n'ait été observée entre les mesures faites avec un flash standard et un flash fort.

Les très faibles différences obtenues pour les arbres irrigués et l'absence de différence pour les arbres stressés indiquent que l'utilisation d'un flash standard est valable pour étudier les effets d'un stress hydrique.

B-2-2 Diminution de J_{\max} au cours du stress hydrique et modification de la relation entre J_{\max} et la concentration foliaire en azote

Une diminution de J_{\max} et des valeurs maximales de A_{net} est observée lorsque la disponibilité en eau devient limitante, dans différentes conditions environnementales et pour différentes espèces : diverses espèces méditerranéennes (Nogues et Baker, 2000 ; Diaz-Espejo *et al.*, 2006), *Oriza sativa* (Zhou *et al.*, 2007), *Quercus douglasii* (Xu et Baldocchi, 2003), ...

De la même façon, J_{\max} a clairement diminué, chez le litchi et le manguier, au cours de ces stress hydriques imposés sur le long terme (figures 33-38 et tableau 12), indiquant que la capacité photosynthétique a été affectée.

Une diminution de J_{\max} est associée à une baisse de régénération du RuBP. De nombreuses études montrent que la limitation de la régénération du RuBP est une réponse précoce de la photosynthèse au stress hydrique (Pankovic *et al.*, 1999 ; Tezara *et al.*, 1999 ; Medrano *et al.*, 2002 ; Flexas *et al.*, 2004a). Plus précisément, les activités des enzymes solubles du stroma, autres que la Rubisco, seraient les premières à diminuer, même pour des intensités de stress faibles (Flexas *et al.*, 2004a). En particulier, la sedoheptulose-1,7-bisphosphatase et la fructose-1,6-bisphosphatase sont fortement affectées par le stress hydrique, et pourraient être les éléments clés de cette régulation (Allen *et al.*, 1998).

En conséquence des variations de J_{\max} et N_a , le rapport J_{\max}/N_a a lui aussi diminué au cours du stress hydrique, chez le manguier et le litchi (figures 33-38 et tableau 12). J_{\max} et N_a sont tous deux exprimés par unité de surface de feuille. Une diminution de leur rapport indique alors que la capacité de transport du flux photosynthétique d'électrons a diminué par unité de surface, mais aussi par unité de masse d'azote foliaire total.

Plus de 75 % de l'azote foliaire est investi dans les molécules (protéines et pigments) impliquées dans la photosynthèse (Field et Mooney, 1986 ; Evans, 1989). On observe ainsi couramment une relation linéaire entre la teneur en azote foliaire et la capacité photosynthétique (Field et Mooney, 1986 ; Evans, 1989 ; Harley *et al.*, 1992 ; Niinemets et Tenhunen, 1997 ; Walcroft *et al.*, 1997 ; Wilson *et al.*, 2000 ; Urban *et al.*, 2003 ; Diaz-Espejo *et al.*, 2006). Cette relation est à la base des modèles biochimiques de photosynthèse (en particulier celui de Farquhar *et al.*, 1980b) puisqu'elle permet non seulement de les utiliser avec un paramètre d'entrée plus facilement mesurable, mais surtout de les coupler aux modèles de transferts radiatifs cités au paragraphe B-1.

Dans notre étude, la diminution du rapport J_{\max}/N_a indique que cette relation n'est pas maintenue lors d'un stress hydrique imposé sur le long terme. Simuler les modifications de la relation entre J_{\max} et N_a se révèle alors être un enjeu important. Chez le litchi, dans notre expérimentations, nous avons pu établir une relation empirique entre N_a , J_{\max} et Ψ_{base} :

$$J_{\max} = 50.9 N_a \cdot \exp(0.61 \Psi_{\text{base}})$$

éq. 123

Les valeurs moyennes de J_{\max} et J_{\max}/N_a estimées dans cette étude sur des feuilles de manguiers irrigués sont respectivement comprises entre 88 et 116 $\mu\text{mol électrons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ et entre 34 et 40 $\mu\text{mol électrons (g N s)}^{-1}$, selon la période de mesure. Ces valeurs sont assez faibles en comparaison de ce qui a pu être observé dans d'autres études sur la même espèce et dans des conditions environnementales similaires. Des valeurs de l'ordre de 150 $\mu\text{mol électrons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ pour J_{\max} (Urban *et al.*, 2003 ; Urban *et al.*, 2008) et de 46 ou 50 $\mu\text{mol électrons (g N s)}^{-1}$ pour J_{\max}/N_a (Urban *et al.*, 2004a ; Urban *et al.*, 2008) ont été observées pour des feuilles standards. Le jeune âge des manguiers utilisés dans notre expérimentation pourrait expliquer les différences observées.

B-2-3 Effet du stress hydrique sur la respiration de nuit et la conductance mésophyllienne

Chez le litchi la respiration mitochondriale (R_d , estimée par la respiration de nuit) est restée stable au cours du dessèchement, alors qu'elle a diminué chez le manguiers. Des évolutions contrastées ont également été observées dans d'autres études (Flexas *et al.*, 2005 ; Ribas-Carbo *et al.*, 2005 ; Galmes *et al.*, 2007) : au cours d'une sécheresse, R_d a diminué, augmenté ou est resté stable. Ces résultats pourraient être le fait de différences entre espèces. En effet, Galmes *et al.* (2007) ont montré que R_d variait de différentes façons chez des plantes ayant eu les mêmes conditions de croissance et la même intensité de stress, mais appartenant à des espèces distinctes.

Niinemets et Tenhunen (1997) ont par ailleurs montré que R_d était positivement lié à la photosynthèse maximale. Dans ces conditions, la diminution de R_d observée chez le manguiers est cohérente avec la diminution de la capacité photosynthétique.

Chez le manguiers, la conductance mésophyllienne (g_m) a pu être estimée après 3.5 mois de dessèchement (campagne C3). Elle s'est révélée assez variable au sein de chaque traitement. Cependant, les valeurs de g_m estimées sur les arbres stressés ont toujours été inférieures à celles estimées sur les arbres irrigués. Nous pouvons ainsi conclure à une diminution de g_m avec le stress, conformément à ce qui a été observé dans un certain nombre d'autres études (Lawlor et Cornic, 2002 ; Flexas *et al.*, 2004b ; Warren *et al.*, 2004 ; Grassi et Magnani, 2005). L'apport en CO_2 par diffusion aux sites de carboxylation a ainsi été doublement limité lors d'un stress hydrique imposé sur le long terme : par une diminution de la conductance stomatique et par une diminution de la conductance mésophyllienne.

- La capacité photosynthétique a diminué avec le stress hydrique. Plus précisément, le flux électronique en condition de lumière saturante (J_{\max}), ainsi que le rapport J_{\max}/N_a ont diminué, chez le litchi et chez le manguiier.
- La relation entre N_a et la capacité photosynthétique, à la base des modèles biochimiques de photosynthèse et de leur extension à la canopée toute entière, a ainsi été modifiée par le stress hydrique.

B-3 Causes possibles de la diminution de la capacité photosynthétique

Afin d'expliquer la diminution de la capacité photosynthétique observée chez le litchi et chez le manguiier, nous avons envisagé deux causes possibles et non exclusives : une diminution de l'activité puit et la photoprotection. Elles sont discutées ci-dessous.

B-3-1 Accumulation de sucres et diminution de l'activité puit

La concentration en amidon des feuilles a diminué très fortement au cours du stress hydrique chez le manguiier et le litchi (figure 31 et tableau 10). La concentration en sucres solubles a augmenté chez le litchi et est restée stable chez le manguiier.

Des variations similaires de ces concentrations en sucres lors d'une sécheresse ont été observées chez de nombreuses espèces (par exemple, Quick *et al.*, 1992 ; Chaves *et al.*, 2002 ; Bacelar *et al.*, 2006). Le stress hydrique est reconnu pour altérer la répartition des assimilats entre les synthèses d'amidon et de saccharose, au profit du saccharose (Quick *et al.*, 1992 ; Bacelar *et al.*, 2006). Il s'accompagne également fréquemment d'une dégradation de l'amidon stocké. Ainsi, en conditions de stress hydrique, le pool d'amidon diminue et celui des sucres solubles augmente ou reste stable, en fonction de ce qui est consommé par la plante. Ces variations de concentration pourraient être liées au rôle osmoprotecteur des sucres solubles pendant la déshydratation des feuilles (Morgan, 1984 ; Chaves *et al.*, 2002), ou comme source de carbone, en particulier pour permettre la croissance lorsque l'état hydrique est restauré (Chaves *et al.*, 2002).

L'effet de l'accumulation de sucres sur la photosynthèse a été largement étudié (voir la revue de Paul et Foyer, 2001). Alors que beaucoup d'études s'attachent aux variations des concentrations en sucres en elle-même, il semble que les modifications de l'activité puit soient un meilleur indicateur de l'inhibition de la photosynthèse (Chapin et Wardlaw, 1988 ; Moore *et al.*, 1999 ; Paul et Foyer, 2001).

Lorsque la production d'assimilats dépasse la demande par les puits, certains gènes de la photosynthèse sont réprimés de façon à maintenir la balance entre l'activité source et l'activité puit. En particulier, un certain nombre de travaux ont montré que ce sont principalement les gènes codant pour la petite sous-unité de la Rubisco, *rbcS*, qui sont réprimés (voir la revue de Moore *et al.*, 1999). Sage (1994) suggère également que les gènes associés à la régénération du RuBP sont réprimés.

En conditions d'apports en eau limitants, le métabolisme est ralenti, l'activité puit diminue et le rapport source/puit augmente. Une diminution de l'activité puit serait alors perçue *via* le

métabolisme des hexoses et se traduirait par une augmentation du rapport hexose/saccharose (Moore *et al.*, 1999 ; Rogers *et al.*, 2004). Une augmentation de ce rapport est fréquemment associée à une diminution de la capacité photosynthétique (Moore *et al.*, 1999).

Chez le manguier, le rapport hexose/saccharose n'a en apparence pas augmenté après le début de la privation d'eau (tableau 10). Cependant, au début de l'expérimentation (campagne C1), ce rapport était très élevé chez tous les arbres et a ensuite diminué chez les arbres irrigués après différenciation des traitements.

Ces résultats laissent supposer que l'activité puit était limitée chez tous les arbres avant que l'expérimentation ne débute et qu'elle a ensuite été restaurée chez les arbres irrigués. Rien dans la phénologie des arbres ni dans les conditions climatiques ne peut expliquer cette limitation. Cependant, les modalités d'arrosage ont différencié avant et après le début de l'expérimentation. Jusqu'au début de l'expérimentation, tous les arbres étaient irrigués automatiquement par goutte-à-goutte. Par la suite, l'arrosage des arbres du traitement irrigué a au contraire été manuel. Une couverture imparfaite des besoins en eau par l'irrigation au goutte-à-goutte pourrait alors expliquer la faible activité puit et le fort rapport hexose/saccharose observé à la campagne C1.

La comparaison du rapport hexose/saccharose entre les deux traitements pendant les périodes de dessèchement (campagne C2 et C3) a néanmoins montré un effet significatif de la sécheresse. Ainsi, même si une augmentation du rapport hexose/saccharose n'a pas pu être observée en raison des problèmes exposés ci-dessus, nos résultats suggèrent une diminution de l'activité puit.

La diminution de la capacité photosynthétique observée chez le manguier lors d'un stress hydrique sur le long terme serait alors associée à cette diminution de l'activité puit.

Cette diminution de l'activité puit, mise en évidence chez le manguier, pourrait ainsi contribuer à la diminution de la capacité photosynthétique au cours d'un stress hydrique imposé sur le long terme.

B-3-2 Photoprotection et dégradations de la machinerie photosynthétique

Le stress hydrique résulte en une fermeture des stomates et ainsi une diminution de l'apport en CO₂ et de la photosynthèse. Lorsque la photosynthèse diminue et que moins d'énergie absorbée est utilisée par la photochimie, les risques de formation d'espèces actives de l'oxygène augmentent. En particulier, (i) les électrons produits lors de la désexcitation de la chlorophylle peuvent conduire à la formation d'oxygène singulet ¹O₂ et (ii) la diminution du flux électronique favorise les risques de réduction des O₂ en [•]O₂⁻ par les électrons produits dans les antennes collectrices. Ces molécules peuvent être à l'origine d'un stress photooxydatif et conduire à l'altération des protéines clés de la photosynthèse.

Des mécanismes de protection de la plante vis-à-vis de l'excès d'énergie, principalement des mécanismes antioxydants et la dissipation thermique d'énergie par le cycle des xanthophylles, se mettent alors en place, généralement tôt dans le dessèchement. Ces mécanismes sont définis sous le terme de photoprotection (Adams *et al.*, 2005).

Certaines études rapportent, à la suite d'un stress hydrique, une dégradation des principales enzymes et protéines de la photosynthèse : chlorophylle, ATP synthases, protéine D1 des PSII, Rubisco et autres enzymes solubles du stroma (Melis, 1999 ; Tezara *et al.*, 1999 ; Lawlor et Cornic, 2002 ; Parry *et al.*, 2002 ; Munné-Bosch et Peñuelas, 2004). Néanmoins,

dans d'autres travaux, la machinerie photosynthétique semble très résistante au stress hydrique au champ (Cornic, 2000 ; Flexas *et al.*, 2004b ; Warren *et al.*, 2004).

Ces résultats contradictoires pourraient être liés aux différentes espèces étudiées, aux conditions expérimentales, ou à la combinaison durée/intensité du stress imposé. Aucune de ces études ne décrit une sécheresse sur le long terme comme celle que nous avons imposée.

Chez le litchi comme chez le manguier, plusieurs éléments suggèrent que la machinerie photosynthétique a été préservée des stress photooxydatifs.

- Pour les deux espèces étudiées, N_m , l'absorbance et la concentration en chlorophylles n'ont pas diminué avec le stress hydrique (figure 30B et tableau 9), indiquant que ni le pool d'azote total, ni le pool d'azote alloué à la capture de lumière n'ont été atteints. Chez le manguier, le flux électronique a été rapidement restauré après la reprise de l'arrosage (après une semaine au plus) (figure 38 et tableau 12).

- Chez le litchi, les diminutions de F_v/F_m , (figure 34) du flux électronique et par conséquent de A_{net} observées sont typiques de la photoinhibition et peuvent être interprétées en terme de photoprotection (Adams *et al.*, 2005).

Une diminution modérée de F_v/F_m pour les feuilles des arbres stressés pourrait refléter un engagement de la zéaxanthine dans la dissipation thermique d'énergie. L'énergie d'excitation de la chlorophylle est alors dissipée sous forme de chaleur grâce à la zéaxanthine, sans formation d'oxygène singulet 1O_2 (Adams *et al.*, 2005). L'activation du cycle des xanthophylles est la source la plus importante de dissipation d'énergie excédentaire chez les plantes (Chaves *et al.*, 2002 ; Flexas et Medrano, 2002).

Chez le manguier, la diminution de l'efficacité de capture de l'énergie d'excitation des centres réactionnels PSII ouverts, F_v'/F_m' (tableau 12) indique effectivement une augmentation de la dissipation thermique d'énergie. Même après restauration de l'état hydrique du sol, F_v'/F_m' n'a pas retrouvé un niveau comparable à celui des arbres non stressés. Un certain degré de photoprotection a alors été maintenu et pourrait expliquer que la gamme de A_{net} observée chez les arbres du traitement sec à cette période soit inférieure à celle observée chez les arbres irrigués.

Ces éléments convergent vers l'idée que la machinerie photosynthétique a été maintenue dans un état de photoprotection élevé, chez le manguier comme chez le litchi. Cette situation pourrait expliquer la diminution de J_{max} observée chez les deux espèces, puisqu'une partie de l'énergie lumineuse est alors détournée de la photosynthèse.

Nos observations n'ont pas permis de mettre en évidence une chronologie d'apparition des mécanismes inhibant et protégeant la photosynthèse, ni leurs liens de causalité. Cette chronologie est de façon générale encore mal connue.

Nous avons proposé que la diminution de J_{max} observée chez le manguier et le litchi pouvait être une conséquence de la photoprotection de la machinerie photosynthétique. Cependant, la diminution du flux électronique et de J_{max} , en conséquence d'une baisse de l'activité puit par exemple, nécessiterait aussi de renforcer les mécanismes photoprotecteurs afin de limiter la production d'espèces actives de l'oxygène. Limitation de l'activité puit et photoprotection pourraient enfin et très certainement contribuer toutes deux à la diminution de J_{max} .

B-3-3 Réallocation éventuelle de l'azote

Bien que le stress hydrique imposé au litchi et au manguier n'ait altéré ni le pool d'azote total, ni le pool d'azote alloué à la capture de lumière, l'hypothèse d'une redistribution de l'azote à l'échelle foliaire ne peut pas être écartée.

En effet, la diminution de J_{\max} suggère que l'azote foliaire a pu être réalloué au détriment du pool bioénergétique.

Des réallocations, des pools d'azote investis dans la photosynthèse les moins limitants, vers les pools les plus limitants sont courantes, en particulier en fonction de l'accès à la lumière et de l'âge des feuilles (Evans, 1989 ; Niinemets et Tenhunen, 1997 ; Niinemets, 2007). En conditions de stress hydrique, de telles réallocations ont aussi été observées (Pankovic *et al.* 1999).

L'azote mobilisé au niveau du pool bioénergétique a tout aussi bien pu être réalloué à un pool non photosynthétique. La proline, dont le rôle osmoprotecteur et antioxydant a été démontré, pourrait être un bon candidat (Bray, 1997 ; Maggio *et al.*, 2002 ; Sircelj *et al.*, 2007). En effet, la concentration en proline augmente généralement lors d'un stress hydrique, et la transcription du gène codant pour l'enzyme P5CS impliquée dans sa synthèse serait activée en présence d'ABA (Maggio *et al.*, 2002).

- La diminution de la capacité photosynthétique observée chez le manguier pourrait être due à une diminution de l'activité puit et à son effet répresseur sur certains gènes codant pour des protéines engagées dans la photosynthèse.
- Chez le litchi comme chez le manguier, la machinerie photosynthétique a été maintenue dans un état de photoprotection, en particulier grâce à une augmentation de la dissipation thermique d'énergie. Elle a ainsi pu être préservée des stress photooxydatifs.
- Des réallocations d'azote au niveau foliaire ont pu se mettre en place, au détriment du pool bioénergétique. Des redistributions vers les autres pools d'azote investis dans la photosynthèse, ou vers des pools non photosynthétiques peuvent être envisagées.

B-4 Modification de la relation entre g_s et A_{net} et variations de la concentration intercellulaire en CO_2 au cours d'un stress hydrique

De nombreux auteurs utilisent la concentration intercellulaire en CO_2 (C_i) afin de décrire les limitations qui s'appliquent à la photosynthèse (en particulier Lawlor et Cornic, 2002 ; Medrano *et al.*, 2002 ; en particulier MacFarlane *et al.*, 2004). Par ailleurs, la relation entre g_s et A_{net} est fréquemment étudiée dans une optique de modélisation de la conductance stomatique couplée à la photosynthèse. Les modèles de g_s les plus utilisés se basent sur la relation linéaire généralement observée entre ces deux variables (en particulier Ball *et al.*, 1987 ; Leuning, 1995).

C_i et la pente de la relation entre g_s et A_{net} , assimilée au rapport g_s/A_{net} , varient dans le même sens et traduisent les mêmes phénomènes :

$$A_{net} = g_{s,c} (C_s - C_i) \quad \text{et} \quad \frac{A_{net}}{g_{s,c}} = C_s \left(1 - \frac{C_i}{C_s} \right) \quad \text{éqs. 6 et 126}$$

où $g_{s,c}$ représente la conductance stomatique g_s , lorsqu'on s'intéresse au flux de CO_2 ;
 C_s est la concentration en CO_2 à la surface des feuilles, considérée constante dans nos conditions expérimentales.

Les études des variations de g_s/A_{net} et de C_i lors d'un stress hydrique sont donc ici regroupées.

B-4-1 Variations de la pente de la relation g_s - A_{net} et de C_i

Lorsque l'état hydrique du sol était constant, nous avons observé chez le manguiers une relation linéaire entre g_s et A_{net} (figure 36). De nombreuses études ont de la même façon mis en évidence une relation linéaire entre g_s et A_{net} (Wong *et al.*, 1979 ; Mott, 1988 ; Aphalo et Jarvis, 1991 ; Buckley *et al.*, 2003) ou une stabilité de C_i (Aphalo et Jarvis, 1993 ; Leuning, 1995 ; Tuzet *et al.*, 2003) en l'absence de variations d'état hydrique du sol et d'humidité de l'air.

Cependant, lors du stress hydrique imposé au manguiers, g_s a diminué plus que A_{net} , conduisant à une diminution de la pente de la relation linéaire entre g_s et A_{net} (figure 36 et tableau 11). Par conséquent, C_i a également varié (figure 37).

Ces modifications de la pente de la relation g_s - A_{net} ou de C_i sont courantes en conditions de stress hydrique (Wong *et al.*, 1979 ; Escalona *et al.*, 1999 ; Flexas *et al.*, 2002 ; Tuzet *et al.*, 2003 ; Misson *et al.*, 2004 ; Rouhi *et al.*, 2007).

Les valeurs de C_i estimées à partir des mesures d'échanges gazeux peuvent être biaisées par la fermeture hétérogène des stomates (Tezara *et al.*, 1999) et la présence d'une transpiration cuticulaire non nulle (Lawlor et Cornic, 2002 ; Flexas *et al.*, 2006). Lors de stress hydriques imposés sur le long terme, comme ceux que nous avons étudiés, l'hétérogénéité de fermeture des stomates est négligeable (Gimenez *et al.*, 1992 ; Gunasekera et Berkowitz, 1992a). La transpiration cuticulaire estimée précédemment sur manguiers, cv. Cogshall, est faible (Urban et Jannoyer, 2004). Il est ainsi peu probable qu'elle ait pu biaiser les calculs de C_i . De rapides estimations sur litchi ont conduit aux mêmes conclusions.

Les valeurs de C_i acquises sur manguiers et sur litchi sont ainsi considérées comme exemptes des deux biais cités.

Lorsque les stomates se ferment, l'entrée de CO_2 dans la cavité sous-stomatique est réduite. Lorsque la capacité photosynthétique diminue (limitations métaboliques), la consommation de CO_2 décroît, et sa concentration dans la cavité sous-stomatique est susceptible d'augmenter. Schématiquement, il est donc courant d'expliquer une diminution de C_i par des limitations diffusives stomatiques (Escalona *et al.*, 1999 ; Lawlor et Cornic, 2002 ; Medrano *et al.*, 2002 ; MacFarlane *et al.*, 2004), et une augmentation de C_i par des limitations métaboliques (Luo, 1991 ; Brodribb, 1996 ; Lawlor et Cornic, 2002 ; Medrano *et al.*, 2002 ; MacFarlane *et al.*, 2004).

Cependant, l'apparition des limitations stomatiques et des limitations métaboliques est progressive et l'on observe plus fréquemment une combinaison de leurs effets qui se traduit par des variations de C_i moins tranchées.

Chez le litchi, C_i n'a pas diminué lorsque l'intensité de la sécheresse a augmenté. Ceci montre que les limitations diffusives stomatiques n'ont pas été les seules à limiter la photosynthèse, en accord avec la diminution de J_{max} observée.

Chez le manguier, C_i a diminué entre les campagnes C1 et C2 (figure 37). g_s et J_{max} , qui ont des effets antagonistes sur les variations de C_i , ont aussi diminué entre ces deux campagnes de mesures. Ces résultats suggèrent que les limitations métaboliques sont minoritaires et que la photosynthèse est principalement limitée par la diffusion du CO_2 à travers les stomates.

Lorsque le dessèchement a été maintenu, entre les campagnes C2 et C3, C_i est resté stable pour les feuilles soumises à une intensité lumineuse moyenne (comprise entre 800 et 1200 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) mais a augmenté pour celles soumises à une intensité lumineuse forte (supérieure à 1200 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). g_s n'ayant pas varié entre ces deux campagnes, quelle que soit l'intensité lumineuse reçue par les feuilles, l'augmentation de C_i observée n'était pas due à une réouverture des stomates. Ces fortes intensités lumineuses ont du accroître la photoinhibition (photoprotection), conduisant à des limitations métaboliques de la photosynthèse accrues.

Lorsque le déficit de saturation en vapeur d'eau de l'air est constant, la pente de la relation g_s - A_{net} est proportionnelle à l'inverse de l'efficacité photosynthétique de l'eau (A_{net}/E). La diminution de C_i et de la pente de la relation g_s - A_{net} que nous avons mis en évidence indique alors que A_{net}/E augmente dans les gammes de dessèchement explorées. Un tel comportement incite à penser que les pertes en eau sont plus limitées que la photosynthèse. Cette stratégie pourrait permettre de limiter le développement de l'embolie et de préserver l'intégrité du xylème, tout en maintenant l'assimilation de carbone.

B-4-2 Hypothèses à la base de la relation entre g_s et A_{net} et implication pour sa modélisation

La linéarité de la relation entre g_s et A_{net} (Wong *et al.*, 1979 ; Mott, 1988 ; Aphalo et Jarvis, 1991 ; Buckley *et al.*, 2003) et la stabilité de C_i (Aphalo et Jarvis, 1993 ; Leuning, 1995 ; Tuzet *et al.*, 2003) observées en conditions hydriques non limitantes vérifient deux hypothèses formulées dans les années 70-80 :

- (i) g_s et A_{net} seraient étroitement coordonnés afin de maximiser le gain de carbone, tout en minimisant les pertes en eau (théorie de l'optimisation, Cowan, 1977 ; Cowan et Farquhar, 1977) ;
- (ii) les stomates seraient régulés afin de maintenir C_i constant (Norman, 1982).

Cependant, les variations de C_i et de la pente de la relation entre g_s et A_{net} indiquent que ces hypothèses ne sont plus vérifiées en conditions de stress hydrique. La relation linéaire observée entre g_s et A_{net} en conditions hydriques non-limitantes n'est donc pas maintenue lors d'un stress hydrique.

Comme nous l'avons montré chez le manguier, la régulation de g_s lors d'un stress hydrique est dans un premier temps plus importante que celle de A_{net} . Elle pourrait permettre de limiter les pertes en eau, et de préserver l'intégrité du xylème.

Ces résultats suggèrent fortement que l'efficacité photosynthétique de l'eau (A_{net}/E) augmente dans les gammes de dessèchement explorées. Un tel comportement suggère que les pertes en eau sont plus limitées que la photosynthèse, stratégie qui pourrait permettre de maîtriser le développement de l'embolie et de préserver l'intégrité du xylème, tout en maintenant l'assimilation de carbone.

Les bases moléculaires du contrôle des mouvements stomatiques et de la photosynthèse ne sont encore que partiellement connues et ne permettent pas de conclure quant à une interaction ou à une régulation indépendante de g_s et A_{net} . Il a été montré que les stomates répondaient à la concentration en CO_2 au niveau des cellules de garde (Vavasseur et Raghavendra, 2005). Les modifications de la concentration en CO_2 pourraient ainsi permettre de relier les variations de g_s à celles d' A_{net} . Cependant beaucoup d'autres molécules concourent aux mouvements des stomates et pourraient entrer en interaction avec la réponse au CO_2 . En particulier, des résultats récents ont montré que la voie de signalisation de l'ABA est, tout au moins en partie, commune à celle du CO_2 (Vavasseur et Raghavendra, 2005).

Quoiqu'il en soit, la modification de la pente de la relation g_s - A_{net} lors d'un stress hydrique rend les modèles de g_s les plus couramment utilisés (Ball *et al.*, 1987 ; Leuning, 1995) inadéquats aux situations de déficit hydrique du sol. Des adaptations de ces modèles, où la pente de la relation g_s - A_{net} est fonction de l'état hydrique de la plante ou du sol, ont été proposées (Tenhunen *et al.*, 1990 ; Baldocchi, 1997 ; Wang et Leuning, 1998 ; Van Wijk *et al.*, 2000 ; Misson *et al.*, 2004 ; Uddling *et al.*, 2005)

- Les gammes de g_s et A_{net} et la pente de leur relation, ainsi que C_i , ont diminué chez le manguier au cours du stress hydrique. Chez le litchi, C_i n'a pas diminué. Ces résultats, ainsi que la diminution de capacité photosynthétique observée, montrent que les limitations diffusives stomatiques et métaboliques à la photosynthèse étaient mêlées au cours de ces stress hydrique à long terme.
- Ces modifications de la pente de la relation g_s - A_{net} confirment que les modèles de g_s les plus couramment utilisés (Ball *et al.*, 1987 ; Leuning, 1995), basé sur une relation linéaire entre ces deux variables, sont inadaptés aux situations où l'apport en eau est limitant.

B-5 Conclusions

Nos observations ont clairement montré qu'un stress hydrique imposé sur le long terme résultait en une diminution de la capacité photosynthétique, en particulier du flux électronique maximal en conditions de lumière saturante. J_{max} a été fortement régulé, indiquant que la régénération du RuBP a limité la photosynthèse. Une première cause de cette diminution de J_{max} , mise en évidence chez le manguier, semble être une limitation de l'activité puit et son effet inhibiteur sur certains gènes codant pour des enzymes de la photosynthèse. Des mécanismes de photoprotection, en particulier une dissipation thermique d'énergie, se sont

aussi mis en place et ont permis de préserver la machinerie photosynthétique des dommages dus à un stress photooxydatif.

Ces résultats ont été acquis sur deux espèces tropicales différentes. On peut donc espérer une certaine fiabilité des conclusions formulées, lors d'un stress hydrique imposé sur le long terme. De tels stress ont été peu étudiés (Pankovic *et al.*, 1999).

Dans le cas d'un stress hydrique très intense, ces conclusions pourraient cependant être modifiées.

De nombreux travaux ont montré des relations linéaires fortes entre N_a et l'exposition des feuilles (Abrams et Mostoller, 1995 ; Niinemets *et al.*, 2004) et N_a et la capacité photosynthétique (Field et Mooney, 1986 ; Evans, 1989 ; Walcroft *et al.*, 1997 ; Niinemets *et al.*, 2004). Ces relations sont à la base de l'extension des modèles biochimiques de photosynthèse de la feuille à la canopée. La relation entre N_a et l'exposition des feuilles permet, à l'aide de modèles de transferts radiatifs, de simuler la teneur en azote de chaque feuille à partir de la description de la canopée. La relation entre N_a et la capacité photosynthétique permet alors d'estimer leur capacité photosynthétique et d'utiliser le modèle biochimique à l'échelle foliaire, puis de l'intégrer à l'échelle de la canopée.

Des facteurs comme la proximité des inflorescence ou la charge en fruits peuvent cependant modifier ces relations (Urban *et al.*, 2004a ; Urban *et al.*, 2004b).

Dans nos deux expérimentations, la diminution de J_{max} observée a entraîné une modification de la relation fondamentale entre J_{max} et N_a . Chez le litchi, le stress imposé a aussi causé une augmentation de M_a , et en conséquence, de N_a , indépendante de l'exposition.

Ainsi, les deux relations à la base de l'utilisation des modèles biochimiques de photosynthèse à l'échelle de l'arbre ont été modifiées au cours d'un stress hydrique imposé sur le long terme.

Afin de modéliser correctement le fonctionnement de la plante en conditions hydriques limitantes sur le long terme comme cela peut être le cas lors d'une saison sèche ou d'une irrigation imparfaite, il est nécessaire d'adapter ces relations et/ou le modèle biochimique de photosynthèse utilisés.

Selon les espèces et afin de tenir compte d'une éventuelle augmentation de M_a et N_a avec le stress hydrique, nous proposons, dans un premier temps, d'utiliser des relations empiriques entre M_a , N_a , J_{max} et Ψ_{base} , telles celles établies chez le litchi, en particulier :

$$J_{max} = 50.9 N_a \cdot \exp(0.61 \Psi_{base}) \quad \text{éq. 125}$$

L'effet d'une diminution de l'activité puit sur J_{max} , qui a ici été mis en évidence chez le manguier, pourrait être intégré empiriquement, en corrigeant la valeur théorique de J_{max} ($J_{max,nonstress}$) par un facteur correctif dépendant du rapport hexose/saccharose ($C_{hex/sacc}$). La valeur de J_{max} corrigée ($J_{max,stress}$) s'exprimerait alors :

$$J_{max,stress} = C_{hex/sacc} \cdot J_{max,nonstress} \quad \text{éq. 127}$$

Ce type de correction a par ailleurs été proposé sur manguier afin de tenir compte de l'effet de l'accumulation d'amidon, à la suite d'annélations, sur le flux électronique J (Urban et Alphonsout, 2007).

Nous avons pu ici dégager des conclusions importantes concernant l'effet d'un stress hydrique à long terme sur la capacité photosynthétique, en s'intéressant à J_{max} . Il reste à mieux comprendre l'effet de ce stress sur l'ensemble des processus de la photosynthèse, en particulier la vitesse de carboxylation, ainsi que la description et le rôle des réallocations d'azote foliaire dans la diminution de la capacité photosynthétique. Pour cela, des analyses biochimiques plus

finances seront nécessaires, pour étudier en particulier (i) les variations d'activité et de teneur des enzymes de la photosynthèse (principalement la Rubisco), (ii) les niveaux de transcrits associés, (iii) ainsi que les teneurs en certaines protéines non impliquées dans la photosynthèse comme la proline.

Par ailleurs, nous avons montré que la pente de la relation entre g_s et A_{net} est modifiée lors d'un stress hydrique, conformément à ce qui est généralement observé. Ce résultat nécessite d'adapter empiriquement les modèles de conductance stomatique les plus couramment utilisés, et basés sur une relation linéaire entre g_s et A_{net} .

Conclusion

CONCLUSION

1- Bilan des connaissances acquises

Un certain nombre de résultats ont permis de répondre en partie aux trois objectifs qui ont été annoncés afin de guider la démarche expérimentale :

1. Comprendre et simuler l'évolution de la conductance stomatique lors d'un déficit hydrique du sol, en mettant l'accent sur les aspects hydrauliques.
2. Etudier l'effet d'un stress hydrique imposé sur le long terme sur la photosynthèse et la capacité photosynthétique.
3. Décrire et discuter les modifications de la relation entre g_s et A_{net} lors d'un stress hydrique.

En accord avec les enjeux généraux de la thèse exposés en introduction, une partie de ces résultats relève d'objectifs purement cognitifs, alors que d'autres relèvent davantage d'objectifs appliqués (la construction d'un modèle de conductance couplé à la photosynthèse, fonctionnant en conditions d'apports en eau limitants).

1-1 Résultats en rapport avec la compréhension du déterminisme de l'ouverture des stomates et des modifications de la photosynthèse lors d'un stress hydrique

▪ *Objectif 1. Comprendre l'évolution de la conductance stomatique*

Nous avons montré, au travers de cette étude, que les comportements du manguier et du litchi face à un stress hydrique, en terme de régulation de l'ouverture des stomates et de Ψ_{fol} , étaient très différents.

Le manguier régule fortement l'ouverture des stomates, dès les premières phases du dessèchement. En effet, pour des potentiels de base faiblement négatifs (Ψ_{base} entre -1.2 et -1.0 MPa), les stomates sont presque totalement fermés. En conséquence, le potentiel hydrique foliaire (Ψ_{fol}) est maintenu constant chez cette espèce, comportement caractéristique d'une espèce isohydrique.

Le litchi, au contraire, ferme ses stomates moins rapidement, contrôle moins fortement ses pertes en eau et Ψ_{fol} diminue progressivement.

L'étude de la vulnérabilité à la cavitation des pétioles et rameaux de ces deux espèces a également souligné des différences entre ces deux espèces : le manguier serait plus vulnérable à la cavitation que le litchi.

Face à un stress hydrique, le manguier aurait alors tout intérêt à fermer rapidement ses stomates afin de limiter la chute de Ψ_{fol} et d'éviter ainsi les dégâts occasionnés par la sécheresse. Pour le litchi, moins vulnérable et ainsi plus tolérant à la sécheresse, il serait au

contraire moins nécessaire de fermer ses stomates précocement. Ces deux stratégies (évitement et tolérance) pourraient conférer une résistance égale à la sécheresse.

Sur un plan très pratique, ces comportements permettent de formuler quelques préconisations en matière d'irrigation. Le manguier fermant ses stomates précocement, il est important que l'apport en eau soit régulier, journalier. Pour le litchi, résistant à la cavitation, la fréquence d'irrigation peut être plus espacée.

Cependant, la détermination du seuil de vulnérabilité de ces deux espèces a été gênée par des problèmes méthodologiques. Les deux méthodes de construction de courbes de vulnérabilité que nous avons utilisées, déshydratation à la paillasse (Sperry *et al.*, 1988a) et centrifugation (Cochard, 2002a), ont conduit à des résultats différents.

Pour le litchi, les courbes par centrifugation se sont révélées inexploitablement, vraisemblablement en raison de la trop grande longueur des vaisseaux du xylème chez cette espèce. Les courbes par déshydratation présentent de leur côté une allure atypique, non sigmoïde. Cette allure de courbe se retrouve chez d'autres espèces et témoignerait d'une faible vulnérabilité à la cavitation.

Pour le manguier, les deux méthodes ont conduit à des courbes sigmoïdes d'allure habituelle, mais aux paramètres bien différents. Les causes de ces différences n'ont pas pu être établies.

L'hypothèse d'un contrôle de l'embolie par les stomates (Tyree et Sperry, 1989) a été testée chez le manguier en confrontant la transpiration critique estimée, à partir de laquelle l'embolie peut apparaître, à la transpiration maximale mesurée. Cependant, la simulation de la transpiration critique nécessite d'utiliser le potentiel de cavitation (Ψ_{cav}) pour lequel nous avons obtenu deux estimations différentes selon la méthode utilisée pour construire la courbe de vulnérabilité. L'hypothèse a alors été testée pour les deux Ψ_{cav} .

En considérant la vulnérabilité déterminée par déshydratation ($\Psi_{cav} = -1.0$ MPa), l'apparition d'embolie dans les pétioles et les rameaux n'est pas évitée malgré un fort contrôle des stomates. Ce comportement apparaît surprenant au regard de ce qui a pu être observé chez un grand nombre d'autres espèces. Il pourrait néanmoins s'expliquer du fait que le manguier est une espèce fruitière cultivée et sélectionnée et qui aurait alors pu perdre certaines caractéristiques d'adaptation au milieu. L'utilisation de manguiers de production, greffés, et ainsi la présence de génotypes différents sur la même plante, pourrait aussi expliquer ce comportement.

En revanche, en considérant la vulnérabilité déterminée par centrifugation ($\Psi_{cav} = -2.2$ MPa), la transpiration et les stomates apparaissent alors clairement régulés de manière à limiter l'embolie dans les pétioles et les rameaux périphériques. Ces observations sont cohérentes avec ce qui est observé chez la plupart des espèces étudiées.

Ce dernier résultat ainsi que d'autres acquis indépendamment, conduisent à préférer, pour le manguier, la courbe de vulnérabilité déterminée par centrifugation. Sa validité reste tout de même à établir.

▪ *Objectif 2. Etudier l'effet d'un stress hydrique imposé sur le long terme sur la photosynthèse et la capacité photosynthétique*

En ce qui concerne la photosynthèse, nous avons montré que la capacité photosynthétique et en particulier le flux électronique en conditions de lumière saturante (J_{max}) est réduit sous l'effet d'un stress hydrique imposé sur le long terme. Cette diminution de la photosynthèse a été attribuée à des mécanismes de photoprotection, en particulier à un accroissement de la

dissipation thermique d'énergie, et à une réduction de l'activité puit, qui a pu être mise en évidence chez le manguier.

La dissipation thermique d'énergie détourne une partie de l'énergie reçue en excès sous forme de chaleur et évite ainsi la formation d'espèces actives de l'oxygène à l'origine du stress photooxydatif. En ce sens, et au regard des résultats obtenus, il semble peu probable que la machinerie photosynthétique ait subi des dommages importants et irréversibles ("photodamage").

La diminution de l'activité puit, qui se traduit par une augmentation du rapport hexose/saccharose, serait, quant à elle, à l'origine de l'inhibition de gènes codant pour la synthèse d'enzymes impliquées dans la photosynthèse.

Le pool d'azote foliaire n'a été atteint chez aucune des deux espèces. Cependant, la concentration surfacique en azote (N_a) a augmenté chez le litchi après un stress hydrique imposé sur le long terme. Cette augmentation a résulté d'un accroissement de la masse surfacique, qui est interprété comme une adaptation morphologique aux conditions de stress, afin de limiter la transpiration.

Des réallocations d'azote ont alors probablement eu lieu entre les différents pool d'azote alloués à la photosynthèse, ou même au profit de pools non photosynthétiques, au détriment du pool bioénergétique. L'ampleur et le rôle de ces réallocations restent à étudier.

▪ *Objectif 3. Décrire et discuter les modifications de la relation entre g_s et A_{net}*

Enfin, nous avons souligné que les gammes de g_s et A_{net} ainsi que la pente de leur relation étaient modifiées lors d'un stress hydrique, en particulier chez le manguier. Plus précisément, la relation entre ces deux variables reste linéaire, mais sa pente diminue. Ces résultats indiquent que, dans le cas du manguier, les limitations diffusives stomatiques à la photosynthèse sont restées supérieures aux limitations métaboliques dans les gammes de dessèchement explorées. Ceci montre que l'efficacité photosynthétique de l'eau (A_{net}/E) a alors augmenté. Cette stratégie pourrait permettre de maintenir un certain taux d'assimilation de carbone tout en maîtrisant le développement de l'embolie et en préservant ainsi l'intégrité du xylème.

1-2 Simulation de la conductance stomatique, couplée à la photosynthèse, lors d'un stress hydrique

La modélisation de la conductance stomatique couplée à la photosynthèse, en conditions hydriques limitantes, représentait un enjeu important du travail effectué dans le cadre de cette thèse. Bien que nous n'ayons pas réussi à atteindre cet objectif, un certain nombre de résultats permettent néanmoins d'ouvrir la voie à la construction ultérieure d'un tel modèle.

Nous rappelons ici que la conductance stomatique décroît rapidement après l'apparition du stress hydrique. A ce stade, la photosynthèse diminue elle aussi, en raison de la réduction d'apport en CO_2 dans le mésophylle (limitations stomatiques). Ce n'est que plus tard au cours du dessèchement, et pour des stress plus poussés, que la photosynthèse est atteinte en elle-même, se traduisant par une diminution de la capacité photosynthétique (limitations métaboliques).

Sur le court terme, nous avons pu simuler la transpiration maximale du manguier (et ainsi g_s). Sur le plus long terme, des pistes de modélisation de J_{\max} , élément clé de la capacité photosynthétique, ont été proposées.

▪ *Objectif 1. Simuler l'évolution de la conductance stomatique*

La transpiration critique (à partir de laquelle l'embolie peut se former), calculée sur la base du potentiel de cavitation déterminé par centrifugation ($\Psi_{\text{cav}} = -2.2$ MPa), a permis de simuler correctement la transpiration maximale du manguier au cours du stress hydrique. Cette simulation n'apparaît valable que pour des dessèchements déjà installés (Ψ_{base} inférieur à -0.5 MPa). Au-dessus de ce seuil, ce serait la demande climatique qui contrôlerait la transpiration.

Cette simulation restera néanmoins empirique, tant que la vulnérabilité réelle du manguier n'aura pas pu être établie.

▪ *Objectif 2. Etudier l'effet d'un stress hydrique imposé sur le long terme sur la photosynthèse et la capacité photosynthétique*

Nous avons vu que sur le long terme, bien que le pool total d'azote foliaire soit resté stable, N_a mesuré sur des feuilles similairement exposées a augmenté chez le litchi. La capacité photosynthétique (J_{\max}) a quant à elle diminué chez les deux espèces en raison, tout au moins en partie, d'une diminution de l'activité puit.

De ce fait, nous avons montré que les relations entre N_a et l'accès à la lumière ou la capacité photosynthétique étaient modifiées lors d'un stress hydrique imposé sur le long terme. Ces deux relations sont à la base des modèles biochimiques de photosynthèse (en particulier celui de Farquhar *et al.*, 1980b) et de leur extension à la canopée toute entière.

Cette conclusion remet en cause la capacité des modèles courants, c'est-à-dire des modèles non corrigés de l'effet de la sécheresse sur la capacité photosynthétique, à simuler correctement la photosynthèse en conditions hydriques limitantes. L'adaptation des relations entre N_a et la capacité photosynthétique et entre N_a et l'exposition à la lumière apparaît alors comme un enjeu important.

Avant de pouvoir modifier de façon mécaniste ces relations et les modèles de photosynthèse, nous proposons de traduire empiriquement (i) les effets du stress sur la relation entre J_{\max} et N_a chez le litchi, et (ii) l'effet d'une diminution de l'activité puit sur J_{\max} .

Dans nos conditions, chez le litchi, nous proposons d'exploiter la relation exponentielle décroissante mise en évidence entre J_{\max} et N_a chez le litchi. L'effet d'une diminution de l'activité puit sur J_{\max} pourrait, de manière générale, être intégré en corrigeant les valeurs de J_{\max} théoriques par un facteur dépendant du rapport hexose/saccharose.

▪ *Objectif 3. Décrire et discuter les modifications de la relation entre g_s et A_{net}*

Cependant, modéliser g_s et A_{net} de façon indépendante, ne permettrait pas de simuler leur relation tout au long d'un stress hydrique. Alors que g_s est la cause principale de diminution de la photosynthèse dans les premières phases du dessèchement, nous avons montré que les

décroissances de g_s et A_{net} ne sont pas proportionnelles. En conséquent, la pente de la relation g_s - A_{net} est réduite au cours du stress hydrique.

Les modèles couplés de g_s et de A_{net} fonctionnels quel que soit l'état hydrique du sol doivent tenir compte d'une modification de la relation entre ces deux variables. Les mécanismes à l'origine des variations de g_s et de A_{net} et de leur interaction éventuelle ne sont pas élucidés. De ce fait, cette relation, ne peut pour le moment être modélisée que de manière empirique ou semi-empirique (Tenhunen *et al.*, 1990 ; Baldocchi, 1997 ; Wang et Leuning, 1998 ; Van Wijk *et al.*, 2000 ; Misson *et al.*, 2004 ; Uddling *et al.*, 2005).

2- Perspectives de recherches

Dans la perspective de répondre aux enjeux généraux ayant guidé ce travail de thèse, un certain nombre de points restent à éclaircir et à compléter, tant en ce qui concerne la compréhension des modifications de g_s et de A_{net} au cours d'un stress hydrique, que dans l'objectif de simuler g_s tout au long de l'année et quelles que soient les pratiques culturales.

2-1 Par rapport à l'enjeu d'acquisition de connaissances scientifiques

- Afin d'avancer dans la compréhension du déterminisme de la conductance stomatique du manguier et du litchi, **les problèmes méthodologiques** relatifs à la détermination de Ψ_{cav} **doivent être résolus.**

A cet effet, la construction d'un rotor de 38 cm pour la méthode par centrifugation devrait permettre de mieux étudier l'effet de la longueur des vaisseaux sur les courbes de vulnérabilité. Ainsi, l'allure atypique des courbes obtenues sur litchi avec la méthode de déshydratation à la pailleuse pourrait être confirmée.

Pour le manguier, les conséquences de la présence de quelques canaux laticifères dans le bois seraient à étudier. Ceci pourrait être une voie pour comprendre les différences obtenues entre les deux méthodes de détermination de la vulnérabilité.

- Si ces nouveaux résultats montrent que Ψ_{cav} déterminé par déshydratation, chez le manguier, est le plus vraisemblable, il faudrait **comprendre pourquoi l'hypothèse selon laquelle les stomates se ferment afin de limiter la cavitation n'est pas vérifiée.** Il serait alors intéressant d'étudier, (i) à la fois des variétés de manguiers commerciales sélectionnées, et des variétés locales et *a priori* mieux adaptées à leur milieu, et (ii) au sein des manguiers cultivés, des manguiers greffé et de semis. Une étude précise de l'architecture hydraulique de l'arbre et de la vulnérabilité des différents organes pourrait aussi permettre de mieux comprendre ce comportement.

Pour le litchi, cette l'hypothèse du contrôle des stomates afin de limiter l'embolie serait à tester.

Le **rôle de l'ABA** dans le déterminisme de l'ouverture des stomates n'a pas été envisagé dans ce travail. Un certain nombre de connaissances seraient à acquérir sur ce point, en particulier en découplant les effets d'une augmentation de la concentration en ABA et ceux des modifications des variables hydrauliques. L'idée selon laquelle des signaux hydrauliques de longue distance permettraient de percevoir le déficit hydrique du sol, alors que l'ABA n'aurait

qu'un rôle subordonné et localisé au niveau des feuilles (Christmann *et al.*, 2007), serait particulièrement intéressante à étudier.

- En ce qui concerne l'effet d'un stress hydrique imposé sur le long terme sur la capacité photosynthétique, il serait important d'étudier les modifications de la vitesse de carboxylation au cours du stress. Ceci permettrait de mieux comprendre **dans quel ordre les processus de la photosynthèse sont affectés**.

A cet effet, des **analyses plus fines, à l'échelle moléculaire**, seraient à envisager. Nous proposons en particulier d'étudier de façon dynamique les variations de concentration et d'activité de la Rubisco et des principales enzymes impliquées dans la régénération du RuBP (sedoheptulose-1,7-bisphosphatase et fructose-1,6-bisphosphatase). L'analyse de niveaux de transcrits, entre autres, permettrait de déterminer à quel niveau la synthèse ou l'activité des enzymes sont atteints.

- Toujours dans l'objectif de comprendre dans quel ordre les processus de la photosynthèse sont affectés, l'étude de **réallocations éventuelles d'azote au niveau foliaire** pourrait apporter des éléments intéressants. L'idée d'une redistribution de l'azote investi dans la machinerie photosynthétique vers la proline, protéine aux propriétés antioxydante et osmoprotectrice, serait en particulier à envisager.
- Enfin, comprendre comment la relation entre g_s et A_{net} est régulée, et en particulier de quelle manière les deux variables interagissent est un enjeu majeur. Une **meilleure connaissance des mécanismes à l'origine des mouvements des cellules de garde, et des modifications de la photosynthèse, à l'échelle moléculaire**, apparaît alors fondamentale.

Pour ce faire, le **rôle de l'ABA** serait encore une fois à préciser. Certains auteurs ont émis l'hypothèse que l'ABA participerait, avec les sucres, à la répression des gènes codant pour des enzymes de la photosynthèse initiée par les sucres (Arenas-Huertero *et al.*, 2000 ; Rook *et al.*, 2006). Elucider le rôle de l'ABA dans ces mécanismes permettrait éventuellement de faire ressortir un lien entre l'inhibition de la photosynthèse par la diminution de l'activité puit, et la régulation de l'ouverture des stomates.

Les **cytokinines** pourraient également être à l'origine d'une régulation indépendante de g_s et d' A_{net} .

Les variations de la **conductance mésophyllienne** au cours du stress hydrique, qui découple en quelque sorte les variations de g_s de celles d' A_{net} , seraient aussi à préciser.

Les **aquaporines** sont impliquées les transferts d'eau entre les cellules et jouent probablement un rôle dans la diffusion du CO_2 (Tyerman *et al.*, 1999). Elles représentent ainsi une voie complémentaire d'étude des relations entre les variations de la conductance stomatique et celles de la photosynthèse.

2-2 Par rapport à l'enjeu de simulation de la conductance stomatique couplée à la photosynthèse

- Nous avons vu que la transpiration maximale du manguier pouvait être simulée, au cours d'un stress hydrique, en utilisant un modèle hydraulique (Cochard *et al.*, 2002) et un potentiel de

cavitation de -2.2 MPa. Cette démarche serait à valider dans d'autres conditions expérimentales.

Elle serait également à tester sur litchi.

- Cependant, modéliser la conductance stomatique couplée à la photosynthèse nécessite de modéliser la relation entre ces deux variables, relation qui varie au cours du dessèchement. Dans un premier temps, nous proposons de tester quelques modèles semi-empiriques basés sur les modèles de Ball *et al.* (1987) ou Leuning (1995) et pour lesquels la pente de la relation g_s - A_{net} est modifiée afin de tenir compte de modifications de l'état hydrique du sol. Deux semblent en particulier simples d'utilisation et adaptés à nos dispositifs expérimentaux : le modèle de Baldocchi (1997) qui utilise un index de stress hydrique (somme des précipitations sur somme des ETP), et celui de Misson *et al.* (2004) où la relation entre g_s et A_{net} est une fonction de Ψ_{base} .
- Lorsque le stress hydrique s'intensifie, les modifications de la capacité photosynthétique doivent être modélisées. Nous avons proposé de simuler J_{max} en utilisant un facteur correctif, fonction de la diminution de l'activité puit (qui se traduit par une augmentation du rapport hexose/saccharose). Cette piste devrait être poursuivie en y ajoutant par exemple une fonction de l'ABA, si le rôle de cette hormone dans la régulation de la capacité photosynthétique était confirmé. Une simulation de la vitesse de carboxylation (V_{cmax}), intégrant éventuellement les mêmes éléments, serait alors également nécessaire. La mesure de V_{cmax} en condition de fermeture des stomates, même partielle, est cependant très délicate.
- Dans l'objectif de simuler la conductance stomatique couplée à la photosynthèse tout au long de l'année, la phénologie doit aussi être prise en compte. Il a été montré que la phénologie du manguier avait un effet sur sa photosynthèse et sa capacité photosynthétique. Ces effets ont été en partie étudiés en conditions hydriques non-limitantes (Urban *et al.*, 2003 ; Urban *et al.*, 2004a ; Urban *et al.*, 2004b ; Urban et Léchaudel, 2005 ; Urban *et al.*, 2006). Connaître les interactions entre le stress hydrique et la phénologie permettrait de modéliser correctement la photosynthèse, tout au long du cycle phénologique, et quels que soient les aléas du climat et les pratiques culturales.
- Enfin, une littérature abondante montre que les limitations stomatiques à la photosynthèse apparaissent avant les limitations métaboliques (voir en particulier : Escalona *et al.*, 1999 ; Flexas *et al.*, 2002 ; Grassi et Magnani, 2005). De la même façon, il est vraisemblable que les processus de la photosynthèse ne soient pas atteints tous ensemble mais successivement. L'utilisation d'une somme de stress, comme il a pu être envisagé afin de modéliser g_s (White *et al.*, 1999 ; MacFarlane *et al.*, 2004), pourrait alors être intéressante afin de simuler cette succession d'événements.

Annexes

ANNEXES

Annexe 1 : Le potentiel hydrique

Définition

Le potentiel hydrique (Ψ) est une mesure de l'état énergétique de l'eau.

Plus précisément, Ψ se définit comme le potentiel chimique de l'eau (μ_{eau}) divisé par le volume molaire de l'eau (V_{eau}) :

$$\Psi = \frac{\mu_{\text{eau}}}{V_{\text{eau}}}$$

éq. A1-1

où V_{eau} est le volume d'une mole d'eau ($18 \cdot 10^{-6} \text{ m}^3$).

Par définition, Ψ est ainsi un potentiel chimique ramené à l'unité de volume d'eau et s'exprime en unité de pression (mégapascals MPa). Il est défini par rapport à un niveau de référence qui, pour l'eau, est l'eau pure libre à pression atmosphérique.

Le potentiel chimique d'un système correspond à son énergie libre, qui représente sa capacité à effectuer un travail. Il caractérise ainsi les variations de l'état énergétique de ce système et constitue le critère d'équilibre (i) entre deux phases d'un même élément (ii) ou entre deux compartiments pour une même phase.

Ainsi, Ψ correspond au travail à effectuer pour déplacer une mole d'eau par unité de distance, et détermine les mouvements d'eau entre compartiments. Dans la plante Ψ s'exprime par des valeurs négatives (voir ci-dessous) et **l'eau circule des potentiels les moins négatifs vers les plus négatifs**.

En ce sens, **Ψ est une mesure de l'avidité en eau d'un compartiment**.

Le potentiel hydrique se définit dans les trois états de la matière. Nous nous plaçons ici dans le cas de l'étude de l'état hydrique d'une plante et des mouvements d'eau, et nous intéressons donc au potentiel hydrique en phase liquide, c'est-à-dire au potentiel hydrique d'une solution.

Potentiel hydrique d'une solution

Le potentiel hydrique d'une solution se décompose en trois composantes principales, le potentiel osmotique (π), la pression hydrostatique (P) et le potentiel gravitationnel (Ψ_{grav}). Ils

traduisent respectivement l'effet des solutés, de la pression et de la gravité sur l'énergie libre de l'eau :

$$\Psi = \pi + P + \Psi_{\text{grav}} \quad \text{éq. A1-2}$$

Le potentiel osmotique est une mesure de la diminution d'énergie libre qui résulte de la présence de solutés (et ainsi de l'augmentation du désordre du système). Pour cela, π est généralement exprimé par des valeurs négatives.

Dans notre domaine, π est calculé en appliquant la loi de van't Hoff :

$$\pi = - R.T.c_s \quad \text{éq. A1-3}$$

où
 R est la constante des gaz parfaits ($8.32 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) ;
 T la température ;
 c_s la concentration volumique du soluté.

La pression hydrostatique est parfois appelée potentiel de pression ("pressure potential"). Une pression hydrostatique positive, comme celle que l'on observe dans une cellule, est appelée "pression de turgescence". Une pression hydrostatique négative, comme c'est le cas dans le xylème ou dans les parois cellulaires, est appelée "tension".

P est défini comme la différence de pression entre l'état énergétique étudié et un état de référence. L'état de référence de l'eau étant par convention l'eau pure libre à la pression atmosphérique, P y est égal à 0 MPa (alors que sa pression absolue est d'environ 0.1 MPa). Par suite, dans la plante, le potentiel étant toujours négatif et la pression hydrostatique l'étant fréquemment, Ψ est très généralement négatif.

Le potentiel gravitationnel dépend de la hauteur d'eau au-dessus de l'état de référence (h), de la densité de l'eau (ρ_{eau}) et de la constante gravitationnelle (g) :

$$\Psi_{\text{grav}} = \rho_{\text{eau}} \cdot g \cdot h \quad \text{éq. A1-4}$$

$\rho_{\text{eau}} \cdot g$ est égal à 0.01 MPa m^{-1} . Ainsi, une hauteur de 10 mètres entraîne une modification de Ψ de 0.1 MPa. Lorsqu'on s'intéresse aux mouvements d'eau à l'échelle des cellules ou même des organes végétaux, Ψ_{grav} est négligeable comparé à π et P.

Mesures du potentiel hydrique d'une solution

Différentes méthodes permettent de mesurer le potentiel hydrique ou ses composantes. La psychrométrie permet de mesurer Ψ directement, les osmomètres mesurent π , la chambre à pression et les sondes à pression mesurent P.

Psychrométrie (mesure de Ψ)

La psychrométrie est basée sur deux principes physiques :

- (i) la pression partielle de vapeur d'eau diminue avec le potentiel hydrique ;
- (ii) l'évaporation d'eau sur une surface refroidit cette surface.

Dans les psychromètres, une chambre close enferme un thermocouple et le tissu végétal à mesurer. Une goutte d'eau de concentration connue (et donc $\pi = \Psi$ connu) est fixée sur le thermocouple.

Si Ψ du tissu est inférieur à celui de la goutte, de l'eau s'évapore de la goutte vers le tissu, le thermocouple se refroidit.

Si Ψ du tissu est supérieur à celui de la goutte, de l'eau s'évapore du tissu vers la goutte et le thermocouple se réchauffe.

La variation de température dans la chambre est mesurée et permet de calculer la différence de potentiel hydrique après calibration avec des solutions de concentration différente.

L'inconvénient principal de cette technique est qu'elle est très sensible à la température (une variation de 0.01 °C entraîne une variation de 1 MPa). Il est donc conseillé de ne l'utiliser qu'avec une température constante, en laboratoire.

Osmomètres (mesure de π)

Les solutés abaissent le point de congélation de la solution. Un osmomètre mesure alors la température du point de congélation des solutions aqueuses, qui permet d'estimer la concentration en solutés et π .

Chambre à pression (mesure de P)

Avant l'excision d'un rameau, la colonne d'eau dans le xylème est sous tension. Quand cette colonne est rompue par excision de l'organe, la tension est relâchée et l'eau est poussée rapidement hors du xylème, vers les cellules avoisinantes. La surface de la coupe du rameau est sèche.

La méthode consiste alors à enfermer le rameau dans une chambre hermétique et à pressuriser la chambre avec un gaz comprimé jusqu'à ce que la distribution de l'eau entre les cellules vivantes et les conduits du xylème retourne à l'état initial (avant excision). De l'eau arrive alors au niveau de la coupe. La pression nécessaire pour arriver à cette distribution initiale est appelée "pression d'équilibre" ("balance pressure").

La quantité de soluté dans le xylème étant très faible, π est négligeable. La pression d'équilibre mesurée correspond donc à $-\Psi$.

La méthode est couramment utilisée pour mesurer le potentiel hydrique du xylème ou d'une feuille. Pour une feuille qui ne transpire pas (ensachée), les cellules vivantes et le xylème sont en équilibre. Il est alors possible de mesurer le potentiel hydrique du xylème. Pour une feuille qui transpire, l'équilibre n'est plus vérifié du fait du flux d'eau transpiratoire dans le xylème. On mesure alors le potentiel hydrique foliaire.

L'avantage de cette technique est qu'elle est rapide, précise et ne nécessite pas d'instrumentation délicate. Pour cela, elle est beaucoup utilisée au champ.

Sonde à pression (mesure de P)

La sonde à pression permet de mesurer la pression de turgescence directement à l'intérieur de la cellule. Selon la taille de la cellule, on utilise deux types d'appareils.

Pour les grosses cellules, un tube rempli d'air est inséré à l'intérieur de la cellule. L'extrémité qui n'est pas insérée dans la cellule est fermée. La forte pression dans la cellule compresse le

gaz dans le tube. La mesure du changement de volume de l'air dans le tube permet de calculer la pression appliquée par la loi des gaz parfaits.

Pour des cellules plus petites, une seringue munie d'un microcapillaire rempli d'huile de silicone (relativement incompressible et distinguable de la sève sous microscope) est insérée dans la cellule. Lors de l'insertion de la microseringue, la sève monte dans le capillaire. Il s'agit alors de d'appliquer une pression à l'aide de la seringue jusqu'à ce que la sève retourne à la pointe du capillaire. Un manomètre permet alors de déterminer la pression à l'intérieur du capillaire et ainsi la pression de turgescence de la cellule.

Annexe 2 :

Trajet de l'eau dans le xylème et conductance hydraulique

Le moteur du trajet de l'eau dans la plante est la différence de potentiel hydrique entre les lieux d'évaporation (les feuilles) et le lieu d'extraction (le sol). Selon la **théorie de la cohésion-tension** (Dixon et Joly, 1894), la tension de surface s'exprimant au niveau des surfaces évaporantes de la feuille se transmet le long de la colonne d'eau. La cohésion du système est maintenue par la cohésion entre les molécules d'eau et par l'adhésion de l'eau aux parois des conduits du xylème (par des ponts hydrogène).

- Par analogie à la loi de Fick, on exprime le flux de sève brute dans les vaisseaux du xylème entre un point de départ A et un point d'arrivée B (F_{A-B}) en fonction de la différence de potentiel hydrique entre ces deux points ($\Psi_A - \Psi_B$) et la **conductance hydraulique** du trajet (K_{A-B}) :

$$F_{A-B} = K_{A-B} (\Psi_A - \Psi_B) \quad \text{éq. A2-1}$$

Cette relation s'applique en tout point du trajet de la sève dans la plante. On considère généralement que ce flux est conservatif et qu'ainsi, tout au long du trajet, F_{A-B} est égal au flux transpiratoire (E ici en $\text{mol H}_2\text{O s}^{-1}$). La circulation de la sève à l'échelle de la plante entière s'exprime alors selon :

$$E = K_{\text{tot}} (\Psi_{\text{sol}} - \Psi_{\text{fol}}) \quad \text{éq. A2-2}$$

où K_{tot} est la conductance hydraulique du xylème totale sur le trajet sol-feuille ;
 Ψ_{sol} et Ψ_{fol} sont respectivement les potentiels hydriques du sol et de la feuille.

La conductance hydraulique s'exprime ainsi en $\text{mol H}_2\text{O s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ (ou $\text{kg H}_2\text{O s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$).

- Cependant, afin de comparer, par exemple, les conductances mesurées sur des échantillons de taille différente, ces relations peuvent être ramenées à l'unité de distance, ce qui permet d'écrire une relation entre la densité de flux (f), le gradient de potentiel ($\text{grad}(\Psi)$) et la conductivité hydraulique ($K_{\text{té}}$) :

$$f = K_{\text{té}} \cdot \text{grad}(\Psi) \quad \text{éq. A2-3}$$

La conductivité hydraulique s'exprime ainsi en $\text{mol H}_2\text{O m s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$.

- La conductance et la conductivité hydraulique d'un échantillon de longueur L sont donc liées selon :

$$\text{conductivité} = L \cdot \text{conductance} \quad \text{éq. A2-4}$$

- Par ailleurs, on rapporte souvent la conductance (ou la conductivité) à une surface : section des vaisseaux conducteurs, surface foliaire, surface racinaire, etc... On parle dans ce cas de **conductance (ou conductivité) spécifique**, exprimée en $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ (ou $\text{mol H}_2\text{O m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$).

Annexe 3 :

Fluorescence et photosynthèse

Les mesures de fluorescence permettent de décrire le fonctionnement de la machinerie photosynthétique.

Globalement, il existe trois voies de dissipation d'énergie au niveau des PSII : (i) la voie photochimique (flux d'électrons), (ii) la dissipation thermique (iii) et la fluorescence de la chlorophylle.

Le rendement de fluorescence correspond à la dissipation d'énergie par fluorescence divisée par la somme des énergies dissipées par les trois voies. Il varie ainsi en fonction du taux de désactivation de la photochimie et des variations de dissipation thermique.

On mesure généralement le rendement de fluorescence :

- à l'équilibre (F_s), lorsque la feuille est adaptée aux conditions d'éclairement fixées.
- minimal (F_0 et F_0'), après passage à l'obscurité. Dans ces conditions, les centres réactionnels sont oxydés ("ouverts"). La photochimie est maximale et le rendement de **fluorescence minimal**.
- après flash saturant qui excite tous les sites possibles (F_m et F_m'). Tous les centres réactionnels deviennent non réceptifs ("fermés"), la photochimie est impossible et le rendement de **fluorescence maximal**.

Lorsqu'une feuille est **préalablement adaptée à l'obscurité**, on mesure F_0 , la fluorescence minimale de référence. La photosynthèse est nulle et tous les accepteurs d'électrons sont réoxydés. L'imposition d'un flash saturant permet alors de mesurer F_m , la fluorescence maximale de la feuille adaptée à l'obscurité.

Lorsqu'une feuille est **adaptée à des conditions d'éclairement définies**, on mesure F_s , la fluorescence à l'équilibre. Dans ce cas, une fraction seulement des centres réactionnels sont ouverts, la photochimie est intermédiaire et la dissipation thermique est accrue. L'exposition à un flash saturant permet d'atteindre à nouveau une photochimie maximale, mais la dissipation thermique est maintenue. La fluorescence maximale de la feuille adaptée à la lumière, F_m' , est mesurée. En plaçant cette feuille quelques instants à l'obscurité, on mesure F_0' , la fluorescence minimale d'une feuille adaptée à la lumière. La photochimie est minimale mais la dissipation thermique est maintenue.

Par conséquent, F_m et F_0 sont respectivement toujours supérieurs à F_m' et F_0' .

L'**efficacité quantique du transport d'électron par les PSII** (Φ_{PSII}) est utilisée pour calculer le flux d'électrons vers la photosynthèse dans les conditions environnementales d'éclairement définies :

$$\Phi_{\text{PSII}} = \frac{F_m' - F_s}{F_m'}$$

éq. A3-1

On utilise aussi fréquemment les rapports de référence F_v/F_m et F_v'/F_m' afin de caractériser respectivement **l'efficacité quantique maximale des PSII** et **l'efficacité de capture de l'énergie d'excitation des centres réactionnels PSII ouverts**. En d'autres termes, ces rapports correspondent à l'efficacité quantique maximale d'une feuille adaptée à l'obscurité et à celle d'une feuille adaptée à la lumière pour laquelle la dissipation thermique est accrue.

$$\frac{F_v}{F_m} = \frac{F_m - F_0}{F_m} \quad \text{éq. A3-2} \qquad \frac{F_v'}{F_m'} = \frac{F_m' - F_0'}{F_m'} \quad \text{éq. A3-3}$$

Une diminution de F_v/F_m est associée à la photoinhibition de façon générale. Une diminution de F_v'/F_m' traduit plus précisément une augmentation de la dissipation thermique d'énergie.

On appelle "quenching" (= atténuation) une diminution de fluorescence mesurée.

Le "quenching" photochimique (q_p) permet d'estimer la proportion de centres ouverts :

$$q_p = \frac{F_m' - F_s'}{F_m' - F_0'} \quad \text{éq. A3-4}$$

ainsi $\Phi_{PSII} = q_p \cdot F_v'/F_m'$ éq. A3-5

Le "quenching" non photochimique (NPQ) décrit l'utilisation d'énergie par des mécanismes autres que photosynthétiques :

$$NPQ = \frac{F_m - F_m'}{F_m'} \quad \text{éq. A3-6}$$

NPQ est très fortement et linéairement corrélé à la concentration en zéaxanthine + anthéaxanthine (Adams *et al.*, 2005).

Cependant, NPQ n'est pas valable en conditions de stress hydrique (Adams *et al.*, 2005). En effet, dans ce cas, la valeur F_m n'est plus une valeur de référence car F_m peut varier indépendamment de la dissipation thermique. Ceci peut s'expliquer par :

- (i) une diminution de la quantité de chlorophylle qui entraîne une augmentation apparente de la fluorescence (augmentation de F_m' due à une moindre réabsorption) qui masquerait l'augmentation réelle de NPQ,
- (ii) une modification de l'orientation des chloroplastes afin de recevoir moins de lumière,
- (iii) un épaissement de la cuticule qui limite les pertes d'eau et diminue l'émission de fluorescence (Adams, communication personnelle).

Ainsi, on préfère regarder le rapport F_v'/F_m' dont la diminution indique une augmentation de la dissipation thermique d'énergie.

Annexe 4 :

Couplage de modèles de conductance stomatique à des modèles de photosynthèse

Beaucoup de modèles de conductance stomatique présentés dans la synthèse bibliographique se basent explicitement sur une relation entre g_s et l'assimilation nette, A_{net} . Les mesures de photosynthèse requièrent une certaine précision. De plus, ces modèles de g_s ont été construits avec pour objectif d'élaborer des modèles globaux du fonctionnement de la feuille soumise aux contraintes environnementales.

La photosynthèse doit alors être modélisée à son tour, à partir de facteurs environnementaux, principalement la lumière. Les modèles de g_s peuvent alors être couplés à ces modèles de photosynthèse, afin d'obtenir des modèles couplés photosynthèse / conductance stomatique.

A4-1 Le modèle biochimique de Farquhar *et al.* (1980) et son couplage au modèle de g_s

A4-1-1 Le modèle biochimique

Beaucoup de modèles de g_s ont été couplés au modèle biochimique de Farquhar *et al.* (1980b), que ce soit en conditions hydriques non limitantes ou en présence de stress hydrique (en particulier, Leuning, 1995 ; Wang et Leuning, 1998 ; Urban *et al.*, 2003 ; Misson *et al.*, 2004).

De façon simple, l'assimilation nette est fonction du taux de carboxylation (V_c), du taux d'oxygénation (V_o) et de la respiration mitochondriale (R_d) :

$$A_{net} = V_c - 0.5V_o - R_d = V_c \left(1 - \frac{0.5O}{\tau C_i} \right) \quad \text{éq. A4-1}$$

où O est la pression partielle en oxygène dans l'espace intercellulaire ;
 τ est le facteur de spécificité de la Rubisco.

Farquhar *et al.* (1980b) proposent alors que l'assimilation des plantes en C_3 soit limitée par l'activité de la Rubisco et/ou la régénération du RuBP. Par la suite, Harley *et al.* (1992), incluent une troisième forme de limitation, par l'utilisation des trioses-phosphates pour la production de sucres.

Dans ce cadre, l'assimilation nette s'exprime :

$$A_{\text{net}} = \left(1 - \frac{0.5 \cdot O}{\tau \cdot C_i}\right) \cdot \min\{W_c, W_j, W_p\} - R_d \quad \text{éq. A4-2}$$

où

le taux de carboxylation est limité seulement par :

- la quantité, l'état d'activation et les propriétés cinétiques de la Rubisco (W_c),
- le taux de régénération du RuBP dans le cycle de Calvin résultant du flux d'électrons (W_j),
- le taux de libération de phosphates lors de l'utilisation des trioses-phosphates (W_p).

W_c s'exprime en fonction du taux de carboxylation maximal ($V_{c\text{max}}$) et des constantes de Michaelis pour la carboxylation et l'oxygénation (K_c et K_o respectivement) :

$$W_c = \frac{V_{c\text{max}} \cdot C_i}{C_i + K_c \left(1 + \frac{O}{K_o}\right)} \quad \text{éq. A4-3}$$

W_c s'exprime en fonction du flux électronique (J) et du facteur de spécificité de la Rubisco (τ) :

$$W_j = \frac{J \cdot C_i}{4 \left(C_i + \frac{O}{\tau}\right)} \quad \text{éq. A4-4}$$

J est exprimé en fonction de l'efficacité de conversion de l'énergie lumineuse (α), de l'absorbance (θ) et du flux d'électrons en conditions de lumières saturantes (J_{max}) selon la relation de Smith (1937) :

$$J = \frac{\alpha \cdot \theta \cdot Q}{\sqrt{1 + \frac{\alpha^2 Q^2}{J_{\text{max}}^2}}} \quad \text{éq. A4-5}$$

W_p s'exprime en fonction du taux de libération de phosphates lors de l'utilisation des trioses-phosphates (TPU) :

$$W_p = 3 \cdot \text{TPU} + \frac{V_o}{2} = \frac{0.5 \cdot O \cdot V_c}{\tau \cdot C_i} \quad \text{éq. A4-6}$$

La plupart de ces paramètres sont dépendant de la température selon :

$$\text{paramètre} = \exp\left(c - \frac{\Delta H_a}{R \cdot T_f}\right) \quad \text{pour } K_c, K_o, R_d \text{ et } \tau \quad \text{éq. A4-7}$$

$$\text{paramètre} = \exp \left(\frac{c - \frac{\Delta H_a}{R.T_f}}{1 + \exp \left(\frac{\Delta S.T_f - \Delta H_d}{R.T_f} \right)} \right) \quad \text{pour } V_{\text{cmax}}, J_{\text{max}} \text{ et TPU} \quad \text{éq. A4-8}$$

où ΔH_a représente l'énergie d'activation ;
 ΔH_d l'énergie de désactivation ;
 ΔS est un terme d'entropie ;
 T_f la température à la surface de la feuille ;
 R la constante des gaz parfaits ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$).

Bien qu'ici présenté par souci de rigueur, W_p est en pratique rarement considéré. Cette limitation est la moins fréquemment rencontrée et alourdit le modèle qui est déjà complexe et comporte un nombre important de paramètres.

Ainsi, connaissant (i) τ , K_c , K_o , (ii) J_{max} , V_{cmax} et R_d , (iii) ainsi que ΔH_a , ΔH_d et ΔS pour les différentes variables et pour l'espèce considérée, on obtient une relation entre A_{net} et C_i .

La courbe $A_{\text{net}}-C_i$ est alors bien expliquée par ces trois limitations (voir présentation des processus de la photosynthèse paragraphe B-1-2, section I) : la première partie de la courbe (pour les faibles C_i) correspond à une limitation par W_c , la seconde par W_j et l'asymptote correspond à la limitation par W_p .

La difficulté d'utilisation d'un tel modèle réside alors dans son paramétrage, puisque beaucoup de paramètres, dont la mesure est délicate, sont requis. Dans la pratique, J_{max} , V_{cmax} et R_d sont mesurés, mais τ , K_c , K_o , et les ΔH_a , ΔH_d et ΔS correspondant aux différentes variables sont empruntés à la littérature (généralement à Harley *et al.*, 1992 ; Bernacchi *et al.*, 2001)

A4-1-2 Résolution du modèle couplé

Coupler un modèle de conductance au modèle de photosynthèse fait apparaître trois inconnues : A_{net} , C_i et $g_{s,w}$ ($g_{s,w} = 1.6 g_{s,c}$). Il est donc nécessaire de disposer de trois équations :

- le **modèle empirique** de conductance choisi $g_{s,w} = f(A_{\text{net}})$
- le modèle biochimique de photosynthèse (**fonction de demande**) $A_{\text{net}} = f(C_i)$
- l'équation de diffusion du CO_2 par les stomates (**fonction d'apport en CO_2**), qui permet de boucler le système $A_{\text{net}} = g_{s,c} (C_a - C_i)$

Ce système de trois équations a trois inconnues et peut se résoudre :

- analytiquement (Baldocchi, 1994) lorsque le modèle de conductance est de formulation assez simple (couramment employé avec les modèles de Ball *et al.*, 1987 ; Leuning, 1995),
- itérativement en utilisant l'algorithme de Newton lorsque le modèle de conductance est de formulation plus complexe (contenant une exponentielle par exemple).

Dans le cas du manguiier, le modèle de conductance de Leuning a été couplé au modèle biochimique de Farquhar *et al.* (1980b) et le système d'équations a été résolu de façon analytique (Urban *et al.*, 2003).

A4-2 Modèles de photosynthèse alternatifs utilisés dans les couplages

Le modèle biochimique de Farquhar *et al.* (1980b) comporte un nombre de paramètres importants et sa formulation est relativement complexe. Certains auteurs ont alors préféré utiliser des formulations plus simples, plus ou moins empiriques. Nous ne présenterons ici que les modèles de photosynthèse ayant été utilisés à des fins de couplage avec un modèle de conductance stomatique.

Les notations utilisées par les auteurs de ces différents modèles peuvent différer de celles utilisées par Farquhar *et al.* (1980b), que nous avons conservées dans l'ensemble de ce document. En dehors des variables les plus simples (g_s , A_{net} , R_d , C_i), nous garderons par souci de rigueur les dénominations originales, tout en prenant soin de préciser l'abréviation correspondante dans notre système de notation.

➤ Ogle *et al.* (2002) simulent en conditions de très forte sécheresse, la conductance stomatique couplée au modèle de photosynthèse développé par Katul *et al.* (2000). Ce choix est justifié par la **simplicité de la formulation retenue**. Les auteurs se placent dans des conditions où la photosynthèse est limitée par le CO_2 (limitation par la vitesse de carboxylation, RuBP saturant). Le modèle de photosynthèse peut alors se baser sur une linéarisation empirique de la courbe $A_{net}-C_i$:

$$A_{net} = a.C_i.\Gamma^* - R_d \quad \text{éq. A4-9}$$

où a correspond à l'efficacité de carboxylation, fonction de V_{cmax} ;
 Γ^* est le point de compensation en CO_2 en l'absence de R_d .

➤ Uddling *et al.* (2005), de leur côté, expriment A_{net} en fonction de C_i , Q , de deux fonctions de la température à paramétrer et de deux autres paramètres :

$$A_{net} = f(T_f)_A \left(\frac{\phi.Q.C_i.C_e}{\phi.Q + cC_i.C_e} \right) - R_d(T_f) \quad \text{éq. A4-10}$$

où ε est l'efficacité de carboxylation (fonction de V_{cmax}), estimée par la valeur de la pente de la courbe $A_{net}-C_i$ à faible C_i ;
 ϕ est l'efficacité quantique maximale apparente de la photosynthèse (α dans notre système de notation) estimée en prenant la valeur de la pente de la courbe $A_{net}-Q$ pour les faibles Q ;
 $R_d(T_f)$ est une fonction linéaire de R_d et de la température à la surface de la feuille, à paramétrer ;
 $f(T_f)_A$ est une fonction linéaire décrivant la dépendance de la photosynthèse à la température à la surface de la feuille, à paramétrer en fonction, en particulier, de la photosynthèse maximale en conditions de CO_2 et Q saturants.

Ici encore, les auteurs considèrent que **dans le cadre de leur étude, le modèle choisi est plus simple** que celui de Farquhar *et al.* (1980b).

➤ Noe et Giersch (2004) reprochent au modèle de Farquhar *et al.* (1980b) son aspect statique et élaborent un **modèle empirique dynamique** de photosynthèse dans le but de le coupler à un modèle de conductance. Leur démarche consiste à exprimer l'évolution de la

pression partielle en CO₂ à l'intérieur de la feuille (dp_i/dt) comme la différence entre ce qui entre ($v_{c,in}$) et ce qui sort ($v_{c,out}$) :

$$\frac{dp_i}{dt} = v_{c,in} - v_{c,out} \quad \text{éq. A4-11}$$

L'assimilation nette peut s'identifier à $v_{c,in}$ (Noe et Giersch, 2004) et s'exprime selon l'équation d'apport analogue à la loi de Fick :

$$v_{c,in} = q \left(g_{s,c} \frac{p_a - p_i}{P_{atm}} + R_d \right) \quad \text{éq. A4-12}$$

où q est un paramètre de calage entre A_{net} et $v_{c,in}$.

$v_{c,out}$ est exprimé par une relation biochimique :

$$v_{c,out} = q \cdot r_c(Q, T_f) \cdot f_c \frac{p_i}{P_{atm}} \quad \text{éq. A4-13}$$

La fonction f_c représente l'inhibition du taux de carboxylation par les produits de la photosynthèse :

$$f_c = 1 - \rho \cdot a_{ps} \quad \text{éq. A4-14}$$

où a_{ps} est le pool d'assimilats de photosynthèse ;
 ρ est un paramètre qui estime la force d'inhibition du taux de carboxylation.

La réponse des stomates à l'intensité lumineuse et à la température, $r_c(Q, T_f)$, suppose que les réponses à ces deux facteurs sont indépendantes :

$$r_c(Q, T_f) = r(Q) \cdot p(T_f) \quad \text{éq. A4-15}$$

$r(Q)$ correspond à la réponse des stomates à la lumière décrite par une hyperbole non-rectangulaire (fonction de saturation) :

$$r(Q) = \frac{\alpha_2 \cdot Q + V_{c,max} - \sqrt{(\alpha_2 \cdot Q + V_{c,max})^2 - 4\alpha_2 \cdot \theta_2 \cdot V_{c,max} \cdot Q}}{2\theta_2} \quad \text{éq. A4-16}$$

où α_2 et θ_2 sont deux paramètres empiriques ;
 $p(T_f)$ est une fonction du troisième degré de la température à la surface de la feuille.

La résolution de ce modèle passe par un système de trois équations différentielles complexes.

Bien que le choix de ces modèles soit justifié dans le cadre des études spécifiquement menées, il faut rester précautionneux quant à leur généralisation.

Tout d'abord, le modèle utilisé par Ogle *et al.* (2002) est bien plus simple que le modèle biochimique de Farquhar *et al.* (1980b), mais il ne peut être appliqué que lorsque la carboxylation est limitante. Cette situation est cependant la plus fréquemment rencontrée en conditions naturelles.

Le modèle de Uddling *et al.* (2005) se veut plus simple que le modèle biochimique. Cependant, il nécessite toujours un bon nombre de paramètres et demande de paramétrer deux fonctions de réponse, pour chaque situation étudiée.

L'utilisation d'un modèle dynamique, comme celui de Noe et Giersch (2004), peut être intéressante pour décrire des processus fins et en comprendre les déterminismes. Néanmoins, dans le modèle proposé, cet intérêt est contre-balançé par la complexité du modèle final.

En résumé, le modèle biochimique de Farquhar *et al.* (1980b) est le modèle à privilégier pour l'analyse de la conductance stomatique et de la photosynthèse en champs, malgré son apparente complexité. Les paramètres utilisés sont considérés comme stables pour une espèce donnée, facilitant son utilisation dans des situations contrastées. Il présente l'immense avantage d'être un modèle mécaniste, permettant d'appréhender de façon correcte le fonctionnement de la photosynthèse et éventuellement d'en envisager des modifications spécifiques. Enfin, ce modèle est couramment utilisé par beaucoup de chercheurs, ce qui permet des comparaisons entre études.

A4-3 Importance de l'échelle de modélisation

Les modèles présentés ici se placent tous à l'échelle de la feuille. Cette échelle est pertinente lorsqu'il s'agit d'étudier les mécanismes et le déterminisme de l'ouverture et de la fermeture des stomates. C'est aussi un préalable à toute étude du fonctionnement de la canopée toute entière, celui-ci intégrant les réponses de chaque feuille individuelle. Ainsi, connaître les facteurs qui contrôlent les changements à l'échelle foliaire est important à la fois sur un plan cognitif et pour la modélisation (Nikolov *et al.*, 1995).

Pour ces raisons, l'ensemble de ce travail et des modèles présentés se place à l'échelle foliaire, nous ne dirons que quelques mots des changements d'échelle à effectuer.

Lorsqu'on utilise les modèles couplés photosynthèse / conductance à des fins de prédictions de l'assimilation de CO₂ à l'échelle d'une canopée, il est nécessaire de faire un changement d'échelle par couplage à un modèle de transfert radiatif (Harley *et al.*, 1985 ; Harley et Tenhunen, 1991 ; Harley et Baldocchi, 1995).

La position de chaque feuille détermine sa capacité photosynthétique (acclimatation à la lumière, relation entre la capacité photosynthétique et Q). Cette idée est basée sur l'hypothèse que la plante alloue ses ressources en azote au sein de la canopée de façon à augmenter la photosynthèse là où l'environnement lumineux est le plus favorable au détriment des emplacements où il est le moins favorable.

Ainsi, connaissant la position d'une feuille et son environnement instantané, on peut simuler son taux d'assimilation de CO₂ par un modèle couplé photosynthèse / conductance stomatique. En répétant cette simulation pour chaque feuille, et par intégration à la canopée toute entière, on peut alors simuler la photosynthèse à l'échelle de l'arbre.

Références

REFERENCES

- Abrams MD, Mostoller SA** (1995) Gas exchange, leaf structure and nitrogen in contrasting successional tree species growing in open and understorey sites during a drought. *Tree Physiology* **15**: 361-371
- Adams WWI, Zarter CR, Mueh KE, Amiard VSE, Demmig-Adams B** (2005) Energy dissipation and photoinhibition: a continuum of photoprotection. *In* B Demmig-Adams, WW Adams, AK Mattoo, eds, *Photoprotection, Photoinhibition, Gene Regulation and Environment*. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 49-64
- Ainsworth EA, Rogers A** (2007) The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO₂]: mechanisms and environmental interactions. *Plant Cell and Environment* **30**: 258-270
- Alder NN, Sperry JS, Pockman WT** (1996) Root and stem xylem embolism, stomatal conductance, and leaf turgor in *Acer grandidentatum* populations along a soil moisture gradient. *Oecologia* **105**: 293-301
- Allen DJ, Nogues S, Baker NR** (1998) Ozone depletion and increased UV-B radiation: is there a real threat to photosynthesis? *Journal of Experimental Botany* **49**: 1775-1788
- Aphalo PJ, Jarvis PG** (1991) Do stomata respond to relative humidity? *Plant Cell and Environment* **14**: 127-132
- Aphalo PJ, Jarvis PG** (1993) An analysis of Ball's empirical model of stomatal conductance. *Annals of Botany* **72**: 321-327
- Aranda I, Castro L, Pardos M, Gil L, Pardos JA** (2005) Effects of the interaction between drought and shade on water relations, gas exchange and morphological traits in cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings. *Forest Ecology and Management* **210**: 117-129
- Arenas-Huertero F, Arroyo A, Zhou L, Sheen J, Leon P** (2000) Analysis of *Arabidopsis* glucose insensitive mutants, *gin5* and *gin6*, reveals a central role of the plant hormone ABA in the regulation of plant vegetative development by sugar. *In* *Genes and development*, Vol 14, pp 2085-2096
- Bacelar EA, Santos DL, Moutinho-Pereira JM, Gonçalves BC, Ferreira HF, Correia CM** (2006) Immediate responses and adaptive strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: Changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. *Plant Science* **170**: 596-605
- Baldocchi D** (1994) An analytical solution for coupled leaf photosynthesis and stomatal conductance models. *Tree Physiology* **14**: 1069-1079
- Baldocchi D** (1997) Measuring and modelling carbon dioxide and water vapour exchange over a temperate broad-leaved forest during the 1995 summer drought. *Plant Cell and Environment* **20**: 1108-1122
- Ball MC, Woodrow IE, Berry JA** (1987) A model predicting stomatal conductance and its contribution to the control of photosynthesis under different environmental conditions. *In* *Progress in Photosynthesis Research*, Ed I. Biggins. Martinus Nijhoff Publishers, Netherlands, pp 221-224
- Batten DJ, Mc Conchie CA, Lloyd J** (1994) Effects of soil water deficit on gas exchange characteristics and water relations of orchard lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) trees. *Tree Physiology* **14**: 1177-1189

- Bernacchi CJ, Singaas EL, Pimentel C, Portis AR, Long SP** (2001) Improved temperature response functions for models of Rubisco-limited photosynthesis. *Plant Cell and Environment* **24**: 253-259
- Boehringer SA** (1984) Methods of enzymatic food analysis using single reagents. Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Germany
- Boonman A, Prinsen E, Gilmer F, Schurr U, Peeters AJM, Voeselek L, Pons TL** (2007) Cytokinin import rate as a signal for photosynthetic acclimation to canopy light gradients. *Plant Physiology* **143**: 1841-1852
- Bray EA** (1997) Plant responses to water deficit. *Trends in Plant Science* **2**: 48-54
- Brodribb T** (1996) Dynamics of changing intercellular CO₂ concentration (C_i) during drought and determination of minimum functional C_i. *Plant Physiology* **11**: 179-185
- Brodribb TJ, Feild TS** (2000) Stem hydraulic supply is linked to leaf photosynthetic capacity: evidence from New Caledonian and Tasmanian rainforests. *Plant Cell and Environment* **23**: 1381-1388
- Brooks A, Farquhar GD** (1985) Effect of temperature on the CO₂/O₂ specificity of ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase and the rate of respiration in the light. *Planta* **165**: 397-406
- Buckley TN** (2005) The control of stomata by water balance. *New Phytologist* **168**: 275-291
- Buckley TN, Farquhar GD, Mott KA** (1997) Qualitative effects of patchy stomatal conductance distribution features on gas-exchange calculations. *Plant Cell and Environment* **20**: 867-880
- Buckley TN, Miller JM, Farquhar GD** (2002) The mathematics of linked optimisation for water and nitrogen use in a canopy. *Silva Fennica* **36**: 639-669
- Buckley TN, Mott KA, Farquhar GD** (2003) A hydromechanical and biochemical model of stomatal conductance. *Plant Cell and Environment* **26**: 1767-1785
- Butler WL** (1978) Energy distribution in the photochemical apparatus of photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* **29**: 345-378
- Cavender-Bares J, Sack L, Savage J** (2007) Atmospheric and soil drought reduce nocturnal conductance in live oaks. *Tree Physiology* **27**: 611-620
- Centritto M, Loreto F, Chartzoulakis K** (2003) The use of low [CO₂] to estimate diffusional and non-diffusional limitations of photosynthetic capacity of salt-stressed olive saplings. *Plant Cell and Environment* **26**: 585-594
- Chacko EK** (1991) Mango flowering – still an enigma. *Acta Horticulturae* **291**: 12-21
- Chackos EK, Ananthanarayanan TV** (1982) Accumulation of reserves substances in *Mangifera indica* L. during flower initiation. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* **106**: 281-285
- Chaikiattiyos S, Menzel CM, Rasmussen TS** (1994) Floral induction in tropical fruit trees: effects of temperature and water supply. *Journal of Horticultural Science* **69**: 397-415
- Chapin FS, Wardlaw IF** (1988) Effect of phosphorus deficiency on source-sink interactions between the flag leaf and developing grain in barley. *Journal of Experimental Botany* **39**
- Chaves MM, Pereira JS, Maroco J, Rodrigues ML, Ricardo CPP, Osorio ML, Carvalho I, Faria T, Pinheiro C** (2002) How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. *Annals of Botany* **89**: 907-916
- Chen Z, Gallie DR** (2004) The ascorbic acid redox state controls guard cell signalling and stomatal movement. *Plant Cell* **16**: 1143-1162
- Christmann A, Weiler EW, Steudle E, Grill E** (2007) A hydraulic signal in root-to-shoot signalling of water shortage. *The Plant Journal* **52**: 167-174
- Cochard H** (1992a) Use of positive pressures to establish vulnerability curves. *Plant Physiology* **100**: 205-209

- Cochard H** (1992b) Vulnerability of several conifers to air embolism. *Tree Physiology* **11**: 73-83
- Cochard H** (2002a) A technique for measuring xylem hydraulic conductance under high negative pressures. *Plant Cell and Environment* **25**: 815-819
- Cochard H** (2002b) Xylem embolism and drought-induced stomatal closure in maize. *Planta* **215**: 466-471
- Cochard H, Breda N, Granier A** (1996a) Whole tree hydraulic conductance and water loss regulation in *Quercus* during drought: evidence for stomatal control of embolism. *Annals of Forest Science* **53**: 197-206
- Cochard H, Casella E, Mencuccini M** (2007) Xylem vulnerability to cavitation varies among poplar and willow clones and correlates with yield. *Tree Physiol* **27**: 1761-1767
- Cochard H, Coll L, Le Roux X, Ameglio T** (2002) Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal closure during water stress in walnut. *Plant Physiology* **128**: 282-290
- Cochard H, Damour G, Bodet C, Tharwat I, Poirier M, Ameglio T** (2005) Evaluation of a new centrifuge technique for rapide generation of xylem vulnerability curves. *Physiologia Plantarum* **124**: 410-418
- Cochard H, Lemoine D, Dreyer E** (1999) The effects of acclimation to sunlight on the xylem vulnerability to embolism in *Fagus sylvatica* L. *Plant Cell and Environment* **22**: 101-108
- Cochard H, Nardini A, Coll L** (2004) Hydraulic architecture of leaf blades: where is the main resistance? *Plant Cell and Environment* **27**: 1257-1267
- Cochard H, Ridolfi M, Dreyer E** (1996b) Response to water stress in an ABA-unresponsive hybrid poplar (*Populus koreana* X *trichocarpa* cv. Peace). *New Phytologist* **134**: 455-461
- Colombo B, Baccanti M, Theobald J** (1988) The simultaneous determination of carbon, hydrogen, nitrogen and sulphur using the new elementar analyser. *Internationale Labmate* **13**
- Comstock J, Menuccini M** (1998) Control of stomatal conductance by leaf water potential in *Hymenoclea salsola* (T. &G.), a desert subshrub. *Plant Cell and Environment* **21**: 1029-1038
- Cornic G** (2000) Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture - not by affecting ATP synthesis. *Trends in Plant Science* **5**: 187-188
- Cornic G, Fresneau C** (2002) Photosynthetic carbon reduction and carbon oxidation cycles are the main electron sinks for photosystem II activity during mild drought. *Annals of Botany* **89**: 887-894
- Cowan IR** (1977) Stomatal behaviour and environment. *In* *Advances in Botanical Research*, Vol 4, pp 117-228
- Cowan IR, Farquhar GD** (1977) Stomatal function in relation to leaf metabolism and environment: Stomatal function in the regulation of gas exchange. *In* DH Jennings, ed, *Integration of Activity in the Higher Plant*, Ed Cambridge University Press, pp 471-505
- Davenport TL, Nunez-Elisea R** (1997) Reproductive physiology. *In* RE Litz, ed, *The Mango. Botany, production and uses*. CABI International, Wallingford, UK.
- Davenport TL, Stern RA** (2005) Flowering. *In* CM Menzel, GK Waite, eds, *Ltchi and longan. Botany, production and uses*. CABI Publishing, Wallingford, UK., pp 87-113
- Desikan R, Hancock JT, Bright J, Harrison J, Weir L, Hooley R, Neill SJ** (2005) A role for ETR1 in hydrogen peroxide signalling in stomatal guard cells. *Plant Physiology* **137**: 831-834

- Dewar RC** (1995) Interpretation of an empirical model for stomatal conductance in terms of guard cell function. *Plant Cell and Environment* **18**: 365-372
- Dewar RC** (2002) The Ball-Berry-Leuning and Tardieu-Davies stomatal models: synthesis and extension within a spatially aggregated picture of guard cell function. *Plant Cell and Environment* **25**: 1383-1398
- Diaz-Espejo A, Walcroft AS, Fernandez JE, Hafidi B, Palomo MJ, Giron IF** (2006) Modelling photosynthesis in olive leaves under drought conditions. *Tree Physiology* **26**: 1445-1456
- Dixon HH, Joly J** (1894) On the ascent of sap. . *Annals of Botany* **8**: 468-470
- Dreyer E, Sculler I** (1989) Effects of endogenous ABA on photosynthesis and stomatal conductance of cut twigs from oak seedlings. *Annals of Science Forestry* **46 suppl.:** 406s-410s
- Epron D, Godard D, Cornic G, Genty B** (1995) Limitation of net CO₂ assimilation rate by internal resistances to CO₂ transfer in the leaves of two tree species (*Fagus sylvatica* L. and *Castanea sativa* Mill.). *Plant Cell and Environment* **18**: 43-51
- Escalona JM, Flexas J, Medrano H** (1999) Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis under water stress in field-grown grapevines. *Australian Journal of Plant Physiology* **26**: 421-433
- Ethier GJ, Livingston NJ** (2004) On the need to incorporate sensitivity to CO₂ transfer conductance into Farquhar-von Caemmerer-Berry leaf photosynthesis model. *Plant Cell and Environment* **27**: 137-153
- Evans JR** (1989) Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. *Oecologia* **78**: 9-19
- Farquhar GD, Schulze ED, Küppers M** (1980a) Responses to Humidity by Stomata of *Nicotiana glauca* L. and *Corylus avellana* L. are Consistent with the Optimization of Carbon Dioxide Uptake with respect to Water loss. *Australian Journal of Plant Physiology* **7**: 315-327
- Farquhar GD, von Caemmerer S, Berry JA** (1980b) A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* **149**: 78-90
- Farquhar GD, Wong SC** (1984) An empirical model of stomatal conductance. *Australian Journal of Plant Physiology* **11**: 191-210
- Field C, Mooney HA** (1986) The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants. In TJ Givnish, ed, *On the economy of plant form and function*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 25-55
- Flexas J, Bota J, Cifre J, Escalona JM, Galmes J, Gulias J, Lefi EK, Martinez-Canellas SF, Moreno MT, Ribas-Carbo M, Riera D, Sampol B, Medrano H** (2004a) Understanding down-regulation of photosynthesis under water stress: future prospects and searching for physiological tools for irrigation management. *Annals of Applied Biology* **144**: 273-283
- Flexas J, Bota J, Escalona JM, Sampol B, Medrano H** (2002) Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: an evaluation of stomatal and mesophyll limitations. *Functional Plant Biology* **29**: 461-471
- Flexas J, Bota J, Galmes J, Medrano H, Ribas-Carbo M** (2006) Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum* **127**: 343-352
- Flexas J, Bota J, Loreto F, Cornic G, Sharkey T** (2004b) Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants. *Plant Biology* **6**: 1-11
- Flexas J, Galmes J, Ribas-Carbo M, Medrano H** (2005) The effects of drought in plant respiration. In H Lambers, M Ribas-Carbo, eds, *Advances in Photosynthesis and*

- Respiration. *Plant Respiration: from Cell to Ecosystem*, Vol 18. Springer, Dordrecht, pp 177-194
- Flexas J, Medrano H** (2002) Energy dissipation in C₃ plants under drought. *Functional Plant Biology* **29**: 1209-1215
- Foyer CH, Noctor G** (2003) Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum* **119**: 355-364
- Foyer CH, Noctor G** (2005) Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell and Environment* **28**: 1056-1071
- Franco AC, Lüttge U** (2002) Midday depression in savanna trees: coordinated adjustments in photochemical efficiency, photorespiration, CO₂ assimilation and water use efficiency. *Oecologia* **131**: 356-365
- Froux F, Ducrey M, Dreyer E, Huc R** (2005) Vulnerability to embolism differs in roots and shoots and among three Mediterranean conifers: consequences for stomatal regulation of water loss? *Trees-Structure and Function* **19**: 137-144
- Galmes J, Ribas-Carbo M, Medrano H, Flexas J** (2007) Response of leaf respiration to water stress in Mediterranean species with different growth forms. *Journal of Arid Environments* **68**: 206-222
- Gao Q, Zhao P, Zeng X, Cai X, Shen W** (2002) A model of stomatal conductance to quantify the relationship between leaf transpiration, microclimate and soil water stress. *Plant Cell and Environment* **25**: 1373-1381
- Genty B, Briantais J, Baker N** (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* **990**: 87-92
- Gimenez C, Mitchell VJ, Lawlor DW** (1992) Regulation of photosynthesis rate of two sunflower hybrids under water stress. *Plant Physiology* **98**: 516-524
- Givnish GT** (1986) Optimal stomatal conductance, allocation of energy between leaves and roots, and the marginal cost of transpiration. *In* TJ Givnish, ed, *On the economy of plant form and function*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 171-213
- Givnish T** (1979) On the adaptive significance of leaf form. *In* OT Solbrig, S Jain, GB Johnson, PH Raven, eds, *Topics plant population biology*. Macmillan Press Ltd., London, UK, pp 375-407
- Grassi G, Magnani F** (2005) Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. *Plant Cell and Environment* **28**: 834-849
- Gunasekera D, Berkowitz GA** (1992a) Heterogeneous stomatal closure in response to leaf water deficits is not a universal phenomenon. *Plant Physiology* **98**: 660-665
- Gunasekera D, Berkowitz GA** (1992b) Use of transgenic plants with Rubisco antisense DNA to evaluate the rate limitation of photosynthesis under water stress. *Plant Physiology* **103**: 629-635
- Gutschick VP, Simonneau T** (2002) Modelling stomatal conductance of field-grown sunflower under varying soil water content and leaf environment: comparison of three models of stomatal response to leaf environment and coupling with an abscisic acid-based model of stomatal response to soil drying. *Plant Cell and Environment* **25**: 1423-1434
- Hacke UG, Sperry SS, Pockman WT, Davis SD, Mc Culloh KA** (2001) Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia* **126**: 457-461
- Hamilton DWA, Hills A, Kohler B, Blatt MR** (2000) Ca²⁺ channels at the plasma membrane of stomatal guard cells are activated by hyperpolarization and abscisic acid.

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **97**: 4967-4972
- Hari P, Mäkelä A, Berninger F, Pohja T** (1999) Field evidence for the optimality hypothesis of gas exchange in plants. *Australian Journal of Plant Physiology* **26**: 239-244
- Hari P, Mäkelä A, Korpilahti E, Holmberg M** (1986) Optimal control of gas exchange. *Tree Physiology* **2**: 169-175
- Harley PC, Baldocchi DD** (1995) Scaling carbon dioxide and water vapour exchange from leaf to canopy in a deciduous forest. I. Leaf model parameterization. *Plant Cell and Environment* **19**: 1146-1156
- Harley PC, Tenhunen JD** (1991) Modeling the photosynthetic response of C₃ leaves to environmental factors. *In* Modeling Crop Photosynthesis – From Biochemistry to Canopy. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, Madison, USA, pp 17-39
- Harley PC, Thomas RB, Reynolds JF, Strain BR** (1992) Modelling photosynthesis of cotton grown in elevated CO₂. *Plant Cell and Environment* **15**: 271-282
- Harley PC, Weber JA, Gates DM** (1985) Interactive effects of light, leaf temperature, carbon dioxide and oxygen on photosynthesis in soybean. *Planta* **165**: 249-263
- Heckathorn SA, De Lucia EH, Zielinski RE** (1997) The contribution of drought-related decreases in foliar nitrogen concentration to decreases in photosynthetic capacity during and after drought in prairie grasses. *Physiologia Plantarum* **101**: 173-182
- Hubbard RM, Ryan MG, Stiller V, Sperry JS** (2001) Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in ponderosa pine. *Plant Cell and Environment* **24**: 113-121
- IPCC** (2001) *Climate Change 2001: The Scientific Basis - Impacts, Adaptation and Vulnerability*. Cambridge University Press, Cambridge
- Ishida H, S. S, Makino A, Mae T** (1998) Light-dependent fragmentation of the large subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in chloroplast isolated from wheat leaves *Planta* **204**: 305-309
- Jacob-Wilk D, Holland D, Goldschmidt EE, Riov J, Eyal Y** (1999) Chlorophyll breakdown by chlorophyllase: isolation and functional expression of the Chlase1 gen from ethylene-treated *Citrus* fruit and its regulation during development. *The Plant Journal* **20**: 653-661
- Jarvis AJ, Davies WJ** (1998) The coupled response of stomatal conductance to photosynthesis and transpiration. *Journal of Experimental Botany* **49**: 399-406
- Jarvis PG** (1976) The interpretation of the variations in leaf water potential and stomatal conductance found in canopies in the field. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Serie B* **273**: 593-610
- Johansson I, Karlsson M, Johanson U, Larsson C, Kjellbom P** (2000) The role of aquaporins in cellular and whole plant water balance. *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes* **1465**: 324-342
- Jones HG** (1992a) Photosynthesis and respiration. *In* HG Jones, ed, *Plants and microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology*, Ed 2nd. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 163-214
- Jones HG** (1992b) Stomata. *In* HG Jones, ed, *Plants and microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 131-162
- Jones HG, Sutherland RA** (1991) Stomatal control of xylem embolism. *Plant Cell and Environment* **14**: 607-612

- Kaiser WK, Speer M, Menzel E** (1995) Response of leaf cells to rapidly or slowly developing water deficits. In AJ Roy J., Di Castri F., ed, Time scales of biological responses to water constraints. SPB Academic Publishing, Amsterdam, pp 7-16
- Katul G, Ellsworth DS, Lai CT** (2000) Modelling assimilation and intercellular CO₂ from measured conductance: a synthesis of approaches. *Plant Cell and Environment* **23**: 1313-1328
- Katul G, Leuning R, Oren R** (2003) Relationship between plant hydraulic and biochemical properties derived from a steady-state coupled water and carbon transport model. *Plant Cell and Environment* **26**: 339-350
- Knorr W** (2000) Annual and interannual CO₂ exchanges of the terrestrial biosphere: process-based simulations and uncertainties. *Global Ecology and Biogeography* **9**: 225-252
- Kohler B, Blatt MR** (2002) Protein phosphorylation activates the guard cell Ca²⁺ channel and is a prerequisite for gating by abscisic acid. *Plant Journal* **32**: 185-194
- Kranner I, Beckett RP, Wornik S, Zorn M, Pfeifhofer HW** (2002) Revival of a resurrection plant correlates with its antioxidant status. *The Plant Journal* **31**: 13-24
- Krause GH** (1988) Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiologia Plantarum* **74**: 566-574
- Kwak JM, Nguyen V, Schroeder JI** (2006) The role of reactive oxygen species in hormonal responses. *Plant Physiology* **141**: 323-329
- Lawlor DW, Cornic G** (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell and Environment* **25**: 275-294
- Lawson T, Morison J** (2006) Visualising patterns of CO₂ diffusion in leaves. *New Phytologist* **169**: 641-643
- Le Roux X, Grand S, Dreyer E, Daudet FA** (1999) Parameterization and testing of a biochemically based photosynthesis model for walnut (*Juglans regia*) trees and seedlings. *Tree Physiology* **19**: 481-492
- Lemoine D, Cochard H, Granier A** (2002) Within crown variation in hydraulic architecture in beech (*Fagus sylvatica* L.): evidence for a stomatal control of xylem embolism. *Annals of Forest Science* **59**: 19-27
- Leuning R** (1990) Modelling stomatal behaviour and photosynthesis of *Eucalyptus grandis*. *Australian Journal of Plant Physiology* **17**: 159-175
- Leuning R** (1995) A critical appraisal of a combined stomatal-photosynthesis model for C₃ plants. *Plant Cell and Environment* **18**: 339-355
- Li Y, Sperry JS, Taneda H, Bush SE, Hacke UG** (2008) Evaluation of centrifugal methods for measuring xylem cavitation in conifers, diffuse- and ring-porous angiosperms. *New Phytologist* doi:10.1111/j.1469-8137.2007.02272.x
- Llorens L, Peñuelas J, Estiarte M** (2003) Ecophysiological responses of two Mediterranean shrubs, *Erica multiflora* and *Globularia alypum*, to experimentally drier and warmer conditions. *Physiologia Plantarum* **119**: 231-243
- Lohammer T, Larsson S, Linder S, Falk SO** (1980) FAST_ Simulation models of gaseous exchange in Scots Pine. *Ecological Bulletin* **32**: 505-523
- Lu P, Biron P, Granier A, Cochard H** (1996) Water relations of adult Norway spruce (*Picea abies* (L) Karst) under soil drought in the Vosges mountains: whole-tree hydraulic conductance, xylem embolism and water loss regulation. *Annals of Forest Science* **53**: 113-121
- Luo Y** (1991) Changes of C_i/C_a in association with stomatal and non-stomatal limitation to photosynthesis in water stresses *Abutilon theophrasti*. *Photosynthetica* **25**: 273-279
- MacFarlane C, White DA, Adams MA** (2004) The apparent feed-forward response to vapour pressure deficit of stomata in droughted, field-grown *Eucalyptus globulus* Labill. *Plant Cell and Environment* **27**: 1268-1280

- Maggio A, McCully MG, Kerdnaimongkol K, Bressan RA, Hasegawa PM, Joly RJ** (2002) The ascorbic acid cycle mediates signal transduction leading to stress-induced stomatal closure. *Functional Plant Biology* **29**: 845-852
- Maherali H, Moura CF, Caldeira MC, Willson CJ, Jackson RB** (2006) Functional coordination between leaf gas exchange and vulnerability to xylem cavitation in temperate forest trees. *Plant Cell and Environment* **29**: 571-583
- Maherali H, Pockman WT, Jackson RB** (2004) Adaptive variation in the vulnerability of woody plants to xylem cavitation. *Ecology* **85**: 2184-2199
- Martin B, Ruiz-Torres NA** (1992) Effects of water-deficit stress on photosynthesis, its components and component limitations, and on water use efficiency on wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology* **100**: 733-739
- Medrano H, Escalona JM, Bota J, Gulias J, Flexas J** (2002) Regulation of photosynthesis of C₃ plants in response to progressive drought: stomatal conductance as reference parameter. *Annals of Botany* **89**: 895-905
- Meinzer FC, Grantz DA** (1990) Stomatal and hydraulic conductance in growing sugarcane: stomatal adjustment to water transport capacity. *Plant Cell and Environment* **13**: 383-388
- Melis A** (1999) Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: what modulates the rate of photodamage in vivo? *Trends in Plant Science* **4**: 130-135
- Menzel CM** (2005) Plant Water Relations and Irrigation. *In* CM Menzel, GK Waite, eds, Litchi and Longan: Botany, Production and Uses. CABI International, Wallingford, UK, pp 183-207
- Meyer S, Cerovic ZG, Goulas Y, Montpied P, Demotes-Mainard S, Bidel LPR, Moya I, Dreyer E** (2006) Relationships between optically assessed polyphenols and chlorophyll contents, and leaf mass per area ratio in woody plants: a signature of the carbon-nitrogen balance within leaves? *Plant Cell and Environment* **29**: 1338-1348
- Meyer S, Genty B** (1999) Heterogeneous inhibition of photosynthesis over the leaf surface of *Rosa rubiginosa* L. during water stress and abscisic acid treatment: induction of a metabolic component by limitation of CO₂ diffusion. *Planta* **210**: 126-131
- Misson L, Panek JA, Goldstein AH** (2004) A comparison of three approaches to modeling leaf gas exchange in annually drought-stressed ponderosa pine forest. *Tree Physiology* **24**: 529-541
- Mitchell AK, Hinckley TM** (1993) Effects of foliar nitrogen concentration on photosynthesis and water use efficiency in Douglas-fir. *Tree Physiology* **12**: 403-410
- Monteith JL** (1995) A reinterpretation of stomatal responses to humidity. *Plant Cell and Environment* **18**: 357-364
- Moore BD, Cheng SH, Sims D, Seemann JR** (1999) The biochemical and molecular basis for photosynthetic acclimation to elevated atmospheric CO₂. *Plant Cell and Environment* **22**: 567-582
- Morales P, Sykes MT, Prentice C, Smith P, Smith B, Bugmanns H, Ziel B, Friedlingstein P, Viovy N, Sabate S, Sanchez A, Pla E, Gracia CA, Sitch S, Arneth A, Ogee J** (2005) Comparing and evaluating process-based ecosystem model predictions of carbon and water fluxes in major European forest biomes. *Global Change Biology* **11**: 2211-2233
- Morgan JM** (1984) Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* **35**: 299-319
- Morison JLL, Gallouët E, Lawson T, Cornic G, Herbin R, Baker NR** (2005) Lateral diffusion of CO₂ in leaves is not sufficient to support photosynthesis. *Plant Physiology* **139**: 254-266

- Mott KA** (1988) Do stomata respond to CO₂ concentrations other than intercellular? *Plant Physiology* **86**: 200-203
- Mott KA** (1995) Effects of patchy stomatal closure on gas exchange measurements following abscisic acid treatment. *Plant Cell and Environment* **18**: 1291-1300
- Mott KA, Buckley TN** (2000) Patchy stomatal conductance: emergent collective behaviour of stomata. *Trends in Plant Science* **5**: 258-262
- Mott KA, Parkhurst DF** (1991) Stomatal responses to humidity in air and helox. *Plant Cell and Environment* **14**: 509-515
- Munné-Bosch S, Peñuelas J** (2004) Drought-induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions. *Plant Science* **166**: 1105-1110
- Nardini A, Salleo S** (2000) Limitation of stomatal conductance by hydraulic traits: sensing or preventing xylem cavitation? *Trees* **15**: 14-24
- Nardini A, Salleo S** (2005) Water stress-induced modifications of leaf hydraulic architecture in sunflower: co-ordination with gas exchange. *Journal of Experimental Botany* **56**: 3093-3101
- Nardini A, Salleo S, Andri S** (2005) Circadian regulation of leaf hydraulic conductance in sunflower (*Helianthus annuus* L. cv Margot). *Plant Cell and Environment* **28**: 750-759
- Niinemets U** (2007) Photosynthesis and resource distribution through plant canopies. *Plant Cell and Environment* **30**: 1052-1071
- Niinemets Ü, Kull O, Tenhunen JD** (2004) Within-canopy variation in the rate of development of photosynthetic capacity is proportional to integrated quantum flux density in temperate deciduous trees. *Plant Cell and Environment* **27**: 293-313
- Niinemets Ü, Tenhunen JD** (1997) A model separating leaf structural and physiological effects on carbon gain along light gradients for the shade-tolerant species *Acer saccharum*. *Plant Cell and Environment* **20**: 845-866
- Nikolov NT, Massman WJ, Schoettle AW** (1995) Coupling biochemical and biophysical processes at the leaf level: an equilibrium photosynthesis model for leaves of C₃ plants. *Ecological Modelling* **80**: 205-235
- Niyogi KK, Li X-P, Rosenberg V, Jung H-S** (2004) Is PsbS the site of non-photochemical quenching in photosynthesis? *Journal of Experimental Botany* **56**: 375-382
- Noe SM, Giersch C** (2004) A simple dynamic model of photosynthesis in oak leaves: coupling leaf conductance and photosynthetic carbon fixation by a variable intracellular CO₂ pool. *Functional Plant Biology* **31**: 1196-1204
- Nogues S, Baker NR** (2000) Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. *Journal of Experimental Botany* **51**: 1309-1317
- Norman JM** (1982) Simulation of microclimates. In JL Hatfield, I Thompson, eds, *Biometeorology in Integrated Pest Management*. Academic Press, New York, pp 65-99
- Ogle K, Reynolds JF** (2002) Desert dogma revisited: coupling of stomatal conductance and photosynthesis in the desert shrub, *Larrea tridentata*. *Plant Cell and Environment* **25**: 909-921
- Oren R, Sperry JS, Katul GG, Pataki DE, Ewers FW, Phillips N, Schäfer KVR** (1999) Survey and synthesis of intra- and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. *Plant Cell and Environment* **22**: 1515-1526
- Pammenter NW, Vander Willigen C** (1998) A mathematical and statistical analysis of the curves illustrating vulnerability of xylem to cavitation. *Tree Physiology* **18**: 589-593

- Pankovic D, Sakac Z, Kevresan S, Plesnicar M** (1999) Acclimation to long-term water deficit in the leaves of two sunflower hybrids: photosynthesis, electron transport and carbon metabolism. *Journal of Experimental Botany* **50**: 127-138
- Parry MAJ, Andralojc PJ, Khan S, Lea PJ, Keys AJ** (2002) Rubisco activity: Effects of drought stress. *Annals of Botany* **89**: 833-839
- Paul MJ, Foyer CH** (2001) Sink regulation of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* **52**: 1383-1400
- Pei ZM, Murata Y, Benning G, Thomine S, Klusener B, Allen GJ, Grill E, Schroeder JI** (2000) Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. *Nature* **406**: 731-734
- Peterson AG, Ball JT, Luo YQ, Field CB, Reich PB, Curtis PS, Griffin KL, Gunderson CA, Norby RJ, Tissue DT, Forstreuter M, Rey A, Vogel CS** (1999) The photosynthesis leaf nitrogen relationship at ambient and elevated atmospheric carbon dioxide: a meta-analysis. *Global Change Biology* **5**: 331-346
- Pfannschmidt T** (2003) Chloroplast redox signals: how photosynthesis controls its own genes. *Trends in Plant Science* **8**: 33-41
- Poggi I, Polidori JJ, Gandoin JM, Paolacci V, Battini M, Albertini M, Améglia T, Cochard H** (2007) Stomatal regulation and xylem cavitation in Clementine (*Citrus clementina* Hort) under drought conditions. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* **82**: 845-848
- Pongsomboon W, Whiley AW, Stephenson RA, Subhadrabandhu S** (1992) Development of water stress and stomatal closure in juvenile mango (*Mangifera indica* L.) stress. *Acta Horticulturae* **321**: 496-503
- Pons TL, Bergkotte M** (1996) Nitrogen allocation in response to partial shading of a plant: possible mechanisms. *Physiologia Plantarum* **98**: 571-577
- Popp M, Lied W, Bierbaum U, Gross M, Grosse-Schulte T, Hams S, Oldenettel J, Schueler S, Wiese J** (1997) Cyclitols-stable osmotica in trees. In H Rennenberg, W Eschrich, H Ziegler, eds, *Trees-contribution to modern Tree Physiology*. Backhuys, Leiden, The Netherlands, pp 257-270
- Pospisilova J, Synkova H, Rulcova J** (2000) Cytokinins and water stress. *Biologia plantarum* **43**: 321-328
- Praexedes SC, DaMatta FM, Loureiro ME, Ferrão MAG, Cordeiro AT** (2006) Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*) leaves. *Environmental and Experimental Botany* **56**: 263-273
- Quick WP, Chaves MM, Wendler R, David M, Rodrigues ML, Passaharinho JA, Pereira JS, Adcock MD, Leegood RC, Stitt M** (1992) The effect of water stress on photosynthetic carbon metabolism in four species grown under field conditions. *Plant Cell and Environment* **15**: 25-35
- Quinones MA, Lu Z, Zeiger E** (1998) Genetic variation of stomatal conductance, blue light sensitivity and zeaxanthin content in guard cells of Pima cotton (*Gossypium barbadense*) *Physiologia Plantarum* **103**: 560-566
- R Development Core Team** (2005) *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria
- Reichstein M, Tenhunen JD, Rouspard O, Ourcival J-M, Rambal S, Miglietta F, Peressotti A, Pecchiariis M, Tirone G, Valentini R** (2002) Severe drought effects on ecosystem CO₂ and H₂O fluxes at three mediterranean evergreen sites: revision of current hypotheses? *Global Change Biology*: 999-1017

- Ribas-Carbo M, Taylor NL, Giles L, Busquets S, Finnegan PM, Day DA, Lambers H, Medrano H, Berry JA, Flexas J** (2005) Effects of water stress on respiration in soybean leaves. *Plant Physiology* **139**: 466-473
- Roelfsema MRG, Hedrich R** (2005) In the light of stomatal opening: new insights into 'the Watergate'. *New Phytologist* **167**: 665-691
- Rogers A, Allen DJ, Davey PA, Morgan PB, Ainsworth EA, Bernacchi CJ, Cornic G, Dermody O, Dohleman FG, Heaton EA, Mahoney J, Zhu XG, Delucia EH, Ort DR, Long SP** (2004) Leaf photosynthesis and carbohydrate dynamics of soybeans grown throughout their life-cycle under Free-Air Carbon dioxide Enrichment. *Plant Cell and Environment* **27**: 449-458
- Rook F, Hadingham SA, Li Y, Bevan MW** (2006) Sugar and ABA response pathways and the control of gene expression. *Plant Cell and Environment* **29**: 426-434
- Rouhi V, Samson R, Lemeur R, Van Damme P** (2007) Photosynthetic gas exchange characteristics in three different almond species during drought stress and subsequent recovery. *Environmental and Experimental Botany* **59**: 117-129
- Sack L, Holbrook NM** (2006) Leaf hydraulics. *Annual Review of Plant Biology* **57**: 361-381
- Sage RF** (1994) Acclimation of photosynthesis to increasing atmospheric CO₂: the gas exchange perspective. *Photosynthesis Research* **39**: 351-368
- Sala A, Tenhunen JD** (1996) Simulations of canopy net photosynthesis and transpiration in *Quercus ilex* L. under influence of seasonal drought. *Agricultural and Forest Meteorology* **78**: 203-222
- Saliendra NZ, Sperry JS, Comstock JP** (1995) Influence of leaf water status on stomatal response to humidity, hydraulic conductance, and soil drought in *Betula occidentalis* Planta **196**: 357-366
- Salleo S, Nardini A, Pitt F, Lo Gullo MA** (2000) Xylem cavitation and hydraulic control of stomatal conductance in laurel (*Laurus nobilis* L.). *Plant Cell and Environment* **23**: 71-79
- Sangsing K, Kasemsap P, Thanisawanyangkura S, Sangkhasila K, Gohet E, Thaler P, Cochard H** (2004) Xylem embolism and stomatal regulation in two rubber clones (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *Trees* **18**: 109-114
- Schroeder JI, Allen GJ, Hugouvieux V, Kwak JM, Waner D** (2001) Guard cell signal transduction. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **52**: 627-658
- Shimazaki KI, Doi M, Assmann SM, Kinoshita T** (2007) Light regulation of stomatal movement. *Annual Review of Plant Biology* **58**: 219-247
- Sircelj H, Tausz M, Grill D, Batic F** (2007) Detecting different levels of drought stress in apple trees (*Malus domestica* Borkh.) with selected biochemical and physiological parameters. *Scientia Horticulturae* doi: 10.1016/j.scientia.2007.04.012
- Smith E** (1937) The influence of light and carbon dioxide on photosynthesis. *Journal of General Physiology* **20**: 289-411
- Song XG, She XP, He JM, Huang C, Song TS** (2006) Cytokinin- and auxin-induced stomatal opening involves a decrease in levels of hydrogen peroxide in guard cells of *Vicia faba*. *Functional Plant Biology* **33**: 573-583
- Sperry JS** (1986) Relationship of xylem embolism to xylem pressure potential, stomatal closure, and shoot morphology in the palm *Rhapis excelsa*. *Plant Physiology* **80**: 110-116
- Sperry JS, Adler FR, Campbell GS, Comstock JP** (1998) Limitation of plant water use by rhizosphere and xylem conductance: results from a model. *Plant Cell and Environment* **21**: 347-359

- Sperry JS, Donnelly JR, Tyree MT** (1988a) A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant Cell and Environment* **11**: 35-40
- Sperry JS, Hacke UG, Oren R, Comstock J** (2002) Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. *Plant Cell and Environment* **25**: 251-263
- Sperry JS, Hacke UG, Wheeler JK** (2005) Comparative analysis of end wall resistivity in xylem conduits. *Plant Cell and Environment* **28**: 456-465
- Sperry JS, Tyree MT** (1988) Mechanism of water stress-induced xylem embolism. *Plant Physiology* **88**: 581-587
- Sperry JS, Tyree MT, Donnelly JR** (1988b) Vulnerability of xylem to embolism in a mangrove vs. an inland species of Rhizophoraceae. *Physiologia Plantarum* **74**: 276-283
- Stewart JB** (1988) Modelling surface conductance of pine forest. *Agricultural and Forest Meteorology* **43**: 19-35
- Taiz L, Zeiger E** (2002) *Plant Physiology*, Ed 3rd. Sinauer, Sunderland, Massachusetts
- Tanaka Y, Sano T, Tamaoki M, Nakajima N, Kondo N, Hasezawa S** (2005) Ethylene inhibits abscisic acid-induced stomatal closure in Arabidopsis. *Plant Physiology* **138**: 2337-2343
- Tanaka Y, Sano T, Tamaoki M, Nakajima N, Kondo N, Hasezawa S** (2006) Cytokinin and auxin inhibit abscisic acid-induced stomatal closure by enhancing ethylene production in Arabidopsis. *Journal of Experimental Botany* **57**: 2259-2266
- Tardieu F, Davies WJ** (1993) Integration of hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and water status of droughted plants. *Plant Cell and Environment* **16**: 341-349
- Tardieu F, Lafarge T, Simonneau T** (1996) Stomatal control by fed or endogenous xylem ABA in sunflower: interpretation of correlation between leaf water potential and stomatal conductance in anisohydric species. *Plant Cell and Environment* **19**: 75-84
- Tardieu F, Simonneau T** (1998) Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. *Journal of Experimental Botany* **49**: 419-432
- Tausend PC, Goldstein G, Meinzer FC** (2000) Water utilization, plant hydraulic properties and xylem vulnerability in three contrasting coffee (*Coffea arabica*) cultivars. *Tree Physiology* **20**: 159-168
- Tenhunen JD, Sala A, Harley PC, Dougherty RL, Reynolds JF** (1990) Factors influencing carbon fixation and water use by mediterranean sclerophyll shrubs during summer drought. *Oecologia* **82**: 381-393
- Terashima I** (1992) Anatomy of non-uniform leaf photosynthesis. *Photosynthesis Research* **31**: 195-212
- Tezara W, Mitchell VJ, Driscoll SD, Lawlor DW** (1999) Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature* **401**: 914-917
- Thiévend P, Mercier C, Guilbot A** (1972) Determination of starch with glucoamylase. In R Whistler, ed, *Methods in carbohydrate chemistry*, Vol 6. Academic Press, New York, USA, pp 100-105
- Thomas DS, Eamus D, Bell D** (1999a) Optimization theory of stomatal behaviour. I. A critical evaluation of five methods of calculation. *Journal of Experimental Botany* **50**: 385-392
- Thomas DS, Eamus D, Bell D** (1999b) Optimization theory of stomatal behaviour. II. Stomatal responses of several tree species of north Australia to changes in light, soil and atmospheric water content and temperature. *Journal of Experimental Botany* **50**: 393-400

- Tuzet A, Perrier A, Leuning R** (2003) A coupled model of stomatal conductance, photosynthesis and transpiration. *Plant Cell and Environment* **26**: 1097-1116
- Tyerman SD, Bohnert HJ, Maurel C, Steudle E, Smith JAC** (1999) Plant aquaporins: their molecular biology, biophysics and significance for plant water relations. *Journal of Experimental Botany* **50**: 1055-1071
- Tyree MT, Engelbrecht BMJ, Vargas G, Kursar TA** (2003) Desiccation tolerance of five tropical seedlings in Panama. Relationship to a field assessment of drought performance. *Plant Physiology* **132**: 1439-1447
- Tyree MT, Sperry JS** (1988) Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction caused by dynamic water stress? *Plant Physiology* **88**: 574-580
- Tyree MT, Sperry JS** (1989) Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**: 19-38
- Tyree MT, Zimmermann MH** (2002) *Xylem Structure and the Ascent of sap*, 2nd edition. Springer, Berlin, Germany
- Uddling J, Hall M, Wallin G, Karlsson PE** (2005) Measuring and modelling stomatal conductance and photosynthesis in mature birch in Sweden. *Agricultural and Forest Meteorology* **132**: 115-131
- Urban L, Alphonsout L** (2007) Girdling decreases photosynthetic electron fluxes and induces sustained photoprotection in mango leaves. *Tree Physiology* **27**: 345-352
- Urban L, Jannoyer M** (2004) Functioning and role of stomata in mango leaves. *Acta Horticulturae* **645**: 441-446
- Urban L, Jegouzo L, Damour G, Vandame M, François C** (2008) The effect of flowering on some parameters of the mango leaf photosynthesis model. *Tree Physiology* **in press**
- Urban L, Le Roux X, Sinoquet H, Jaffuel S, Jannoyer M** (2003) A biochemical model of photosynthesis for mango leaves: evidence for the effect of fruit on photosynthetic capacity of nearby leaves. *Tree Physiology* **23**: 289-300
- Urban L, Léchaudel M** (2005) Effect of leaf-to-fruit ratio on leaf nitrogen content and net photosynthesis in girdled branches of *Mangifera indica* L. *Trees* **19**: 564-571
- Urban L, Léchaudel M, Lu P** (2004a) Effect of fruit load and girdling on leaf photosynthesis in *Mangifera indica* L. *Journal of Experimental Botany* **55**: 2075-2085
- Urban L, Lu P, Thibaud R** (2004b) Inhibitory effect of flowering and early fruit growth on leaf photosynthesis in mango. *Tree Physiology* **24**: 387-399
- Urban L, Montpied P, Normand F** (2006) Season effects on leaf nitrogen partitioning and photosynthetic water use efficiency in mango. *Journal of Plant Physiology* **163**: 48-57
- Valentini R, Epron D, De Angelis P, Mateucci G, Dreyer E** (1995) In situ estimation of net CO₂ assimilation, photosynthetic electron flow and photorespiration in Turkey oak (*Q. cerris* L.) leaves: diurnal cycles under different levels of water supply. *Plant Cell and Environment* **18**: 631-640
- Van Wijk MT, Dekker SC, Bouten W, Bosveld FC, Kohsiek W, Kramer K, Mohren GMJ** (2000) Modeling daily gas exchange of a Douglas-fir forest: comparison of three stomatal conductance models with and without a soil water stress function. *Tree Physiology* **20**: 115-122
- Vavasseur A, Raghavendra AS** (2005) Guard cell metabolism and CO₂ sensing. *New Phytologist* **165**: 665-682
- Venables WN, Ripley BD** (2002) *Modern Applied Statistics with S*, 4th Ed. Springer, Berlin, Heidelberg, New York
- Veselova SV, Farhutdinov RG, Veselov SY, Kudoyarova GR, Veselov DS, Hartung W** (2005) The effect of root cooling on hormone content, leaf conductance and root

- hydraulic conductivity of durum wheat seedlings (*Triticum durum* L.). *Journal of Plant Physiology* **162**: 21-26
- von Caemmerer S** (2000) Modeling C₃ photosynthesis. In CSIRO, ed, *Biochemical models of leaf photosynthesis*. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia
- von Caemmerer S, Farquhar GD** (1981) Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* **153**: 376-387
- Walcroft AS, Whitehead D, Silvester WB, Kelliher FM** (1997) The response of photosynthetic model parameters to temperature and nitrogen concentration in *Pinus radiata* D. Don. *Plant Cell and Environment* **20**: 1338-1348
- Wang YP, Leuning R** (1998) A two-leaf model for canopy conductance, photosynthesis and partitioning of available energy I. Model description and comparison with a multi-layered model. *Agricultural and Forest Meteorology* **91**: 89-111
- Waring RH** (1991) Responses of evergreen trees to multiple stresses. In HA Mooney, WE Winner, EJ Pell, eds, *Response of Plants to Multiple Stresses*. Academic Press, Inc., New York, USA, pp 371-390
- Warren CR, Adams MA** (2006) Internal conductance does not scale with photosynthetic capacity: implications for carbon isotope discrimination and the economics of water and nitrogen use in photosynthesis. *Plant Cell and Environment* **29**: 192-201
- Warren CR, Livingston NJ, Turpin DH** (2004) Water stress decreases the transfer conductance of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) seedlings. *Tree Physiology* **24**: 971-979
- Webb RA** (1972) Use of the boundary Line in the analysis of biological data. *Journal of Horticultural Science* **47**: 309-319
- Whiley AW, Schaffer B** (1997) Stress physiology. In RE Litz, ed, *The Mango*. Botany, production and uses. CABI International, Wallingford, UK.
- White DA, Beadle C, Sands PJ, Worledge D, Honeysett JL** (1999) Quantifying the effect of cumulative water stress on stomatal conductance of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus nitens*: a phenomenological approach. *Australian Journal of Plant Physiology* **26**: 17-27
- Wilkinson S, Corlett JE, Oger L, Davies WJ** (1998) Effects of xylem pH on transpiration from wild-type and *flacca* tomato leaves. *Plant Physiology* **117**: 703-709
- Wilson KB, Baldocchi D, Hanson PJ** (2000) Spatial and seasonal variability of photosynthetic parameters and their relationship to leaf nitrogen in a deciduous forest. *Tree Physiology* **20**: 565-578
- Wingler A, Lea PJ, Quick WP, Leegood RC** (2000) Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **355**: 1517-1529
- Wong SC, Cowan IR, Farquhar GD** (1978) Leaf conductance to assimilation in *Eucalyptus pauciflora* Sieb. ex Spreng. *Plant Physiology* **62**: 670-674
- Wong SC, Cowan IR, Farquhar GD** (1979) Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature* **282**: 424-426
- Xu L, Baldocchi D** (2003) Seasonal trends in photosynthetic parameters and stomatal conductance of blue oak (*Quercus douglasii*) under prolonged summer drought and high temperature. *Tree Physiology* **23**: 865-877
- Yamamoto HY** (1979) Biochemistry of the violaxanthin cycle in higher plants. *Pure Applied Chemistry* **51**: 639-648
- Zeiger E, Talbott LD, Frechilla S, Srivastava A, Zhu JX** (2002) The guard cell chloroplast: a perspective for the twenty-first century. *New Phytologist* **153**: 415-424
- Zhang SQ, Outlaw WH** (2001) The guard-cell apoplast as a site of abscisic acid accumulation in *Vicia faba* L. *Plant Cell and Environment* **24**: 347-355

- Zhou Y, Lam HM, Zhang J** (2007) Inhibition of photosynthesis and energy dissipation induced by water and high light stresses in rice. *Journal of Experimental Botany* **58**: 1207-1217
- Zwieniecki MA, Melcher PJ, Boyce CK, Sack L, Holbrook NM** (2002) Hydraulic architecture of leaf venation in *Laurus nobilis* L. *Plant Cell and Environment* **25**: 1445-1450

Theoretical basis and experimental approaches of foliar gas exchanges modelling on mango and lychee tree

Gaëlle Damour, 2008

Abstract

Mango and lychee are among the three main fruit crops of Réunion Island. To improve these crops, a model of photosynthesis and carbon distribution would be useful, assuming that this model works throughout the year and for a large range of cropping practices. Especially water stress, which is frequent in field conditions, appears as a major factor to take into account. However, most existing photosynthesis and stomatal conductance models do not provide satisfactory simulations when water availability is limiting. Improving our knowledge of the effects of water stress on stomatal conductance (including hydraulic and hormonal controls) and on photosynthesis, is therefore essential.

After carrying out a up-to-date review of the determinism of stomatal conductance and photosynthesis, especially during water stress, we dealt experimentally with some of the issues raised, with the objective of simulating gas exchanges.

We showed that mango and lychee trees have two distinct strategies allowing them to cope with drought. Mango trees are vulnerable to cavitation and they close stomata early during drought (avoidance). On the contrary, lychee trees are less vulnerable and they close stomata latter (tolerance). However, vulnerability could not be assessed precisely for these two species. The two methods used – bench dehydration and the centrifuge technique – led to different results. For mango tree, vulnerability to cavitation determined by the centrifuge technique (threshold potential of -2.2 MPa) is apparently consistent with the widely accepted idea that stomata function to control xylem embolism. Considering the determined threshold potential, maximal water loss was simulated by an hydraulic model.

Photosynthetic capacity decreased during long-term drought in mango and lychee trees. This decrease was attributed to photoprotection, more specifically to an increase in thermal energy dissipation, and to reduced sink activity. The total leaf nitrogen pool was maintained in the two species. However, leaf nitrogen concentration expressed on a leaf area basis (N_a) increased in lychee trees as a consequence of an increase in the mass-to-area ratio. Since results were obtained on similarly exposed leaves, they show that the fundamental relationships between (i) N_a and leaf exposure to light, and (ii) N_a and photosynthetic capacity (J_{max}), are not maintained during long-term drought. Considering that most existing models of whole plants' photosynthesis are based on these two fundamental relationships, we conclude that these relationships need to be adapted to long-term water stress conditions. In the scope of our experimental conditions, corrections for J_{max} and the relationship between N_a and J_{max} were proposed.

Finally, the ranges of g_s and of A_{net} , and the slope of their relationship, decreased during water stress in mango trees. Thus, water photosynthetic efficiency (A_{net}/E) increased. This strategy could help plants to maintain to a certain extent the rate of carbon assimilation, while preventing the development of embolism and preserving the integrity of the xylem.

Key words : cavitation / drought / *Mangifera indica* / *Litchi chinensis* / photoprotection / photosynthesis / photosynthetic capacity / stomatal conductance / water relationships.

Résumé

Le manguiier et le litchi sont parmi les trois productions fruitières les plus importantes de la Réunion. L'amélioration de la production bénéficierait de la réalisation d'un modèle d'acquisition et de gestion du carbone en admettant que celui-ci soit fonctionnel tout au long de l'année et quelles que soient les pratiques culturales. En particulier, la prise en compte de contraintes hydriques, fréquentes en situations réelles en champ, se révèle être un élément majeur. Cependant, les modèles de photosynthèse et de conductance stomatique couramment utilisés ne sont pas fonctionnels en conditions hydriques limitantes. Acquérir une meilleure connaissance des effets du stress hydrique sur le fonctionnement des stomates - au travers d'aspects hydriques, hydrauliques, et hormonaux - et sur la photosynthèse est alors indispensable.

Après avoir dressé un état des lieux des connaissances actuelles autour du déterminisme du fonctionnement des stomates et de la photosynthèse, lors d'un stress hydrique en particulier, nous avons traité expérimentalement, chez le manguiier et le litchi, quelques unes des questions soulevées, dans une optique de simulation des échanges gazeux.

Nous avons montré que le manguiier et le litchi adoptaient deux stratégies différentes face à la sécheresse. Le manguiier est une espèce assez vulnérable à la cavitation, qui ferme ses stomates très précocement au cours du dessèchement (évitement). Le litchi est au contraire moins vulnérable et ne ferme ses stomates que plus tard (tolérance). Cependant, la vulnérabilité exacte de ces deux espèces n'a pas pu être déterminée. Les deux méthodes utilisées - déshydratation à la pailleasse et centrifugation - ont conduit à des résultats différents. Chez le manguiier, la vulnérabilité déterminée par centrifugation (potentiel de cavitation de -2.2 MPa) permet de vérifier l'hypothèse validée chez un grand nombre d'espèces, selon laquelle la fermeture des stomates est contrôlée afin de limiter l'embolie des vaisseaux du xylème. Sur la base de ce potentiel de cavitation, la transpiration maximale du manguiier a pu être simulée au cours du stress hydrique, selon un modèle purement hydraulique.

La capacité photosynthétique a diminué au cours d'un stress hydrique à long terme, chez le manguiier et le litchi. Cette diminution a été attribuée à des mécanismes de photoprotection, en particulier une augmentation de la dissipation thermique d'énergie, et à une réduction de l'activité puit. Alors que le pool d'azote foliaire n'a été atteint chez aucune des deux espèces, la concentration surfacique en azote (N_a) a augmenté chez le litchi, en conséquence d'un accroissement de la masse surfacique. Les résultats, acquis sur des feuilles similairement exposées, montrent qu'au cours d'un stress hydrique à long terme, les relations entre (i) N_a et l'accès à la lumière, chez certaines espèces, et (ii) N_a et la capacité photosynthétique (J_{max}), ne sont pas maintenues. Ces deux relations, à la base des modèles biochimiques de photosynthèse et de leur extension à toute la canopée, doivent donc être adaptées aux conditions de stress hydrique imposé à long terme. Des corrections, adaptées à nos conditions expérimentales, ont été proposées.

Enfin, les gammes de g_s et A_{net} ainsi que la pente de leur relation ont diminué lors du stress hydrique appliqué au manguiier. L'efficacité photosynthétique de l'eau (A_{net}/E) a ainsi augmenté, stratégie qui pourrait permettre de maintenir un certain taux d'assimilation de carbone tout en maîtrisant le développement de l'embolie et en préservant ainsi l'intégrité du xylème.

ANNEXES

Annexe 1 : Le potentiel hydrique	209
Annexe 2 : Trajet de l'eau dans le xylème et conductance hydraulique	213
Annexe 3 : Fluorescence et photosynthèse	215
Annexe 4 : Couplage de modèles de conductance stomatique à des modèles de photosynthèse	217

ANNEXES

Annexe 1 : Le potentiel hydrique

Définition

Le potentiel hydrique (Ψ) est une mesure de l'état énergétique de l'eau.

Plus précisément, Ψ se définit comme le potentiel chimique de l'eau (μ_{eau}) divisé par le volume molaire de l'eau (V_{eau}) :

$$\Psi = \frac{\mu_{\text{eau}}}{V_{\text{eau}}}$$

éq. A1-1

où V_{eau} est le volume d'une mole d'eau ($18 \cdot 10^{-6} \text{ m}^3$).

Par définition, Ψ est ainsi un potentiel chimique ramené à l'unité de volume d'eau et s'exprime en unité de pression (mégapascals MPa). Il est défini par rapport à un niveau de référence qui, pour l'eau, est l'eau pure libre à pression atmosphérique.

Le potentiel chimique d'un système correspond à son énergie libre, qui représente sa capacité à effectuer un travail. Il caractérise ainsi les variations de l'état énergétique de ce système et constitue le critère d'équilibre (i) entre deux phases d'un même élément (ii) ou entre deux compartiments pour une même phase.

Ainsi, Ψ correspond au travail à effectuer pour déplacer une mole d'eau par unité de distance, et détermine les mouvements d'eau entre compartiments. Dans la plante Ψ s'exprime par des valeurs négatives (voir ci-dessous) et **l'eau circule des potentiels les moins négatifs vers les plus négatifs**.

En ce sens, **Ψ est une mesure de l'avidité en eau d'un compartiment**.

Le potentiel hydrique se définit dans les trois états de la matière. Nous nous plaçons ici dans le cas de l'étude de l'état hydrique d'une plante et des mouvements d'eau, et nous intéressons donc au potentiel hydrique en phase liquide, c'est-à-dire au potentiel hydrique d'une solution.

Potentiel hydrique d'une solution

Le potentiel hydrique d'une solution se décompose en trois composantes principales, le potentiel osmotique (π), la pression hydrostatique (P) et le potentiel gravitationnel (Ψ_{grav}). Ils

traduisent respectivement l'effet des solutés, de la pression et de la gravité sur l'énergie libre de l'eau :

$$\Psi = \pi + P + \Psi_{\text{grav}} \quad \text{éq. A1-2}$$

Le potentiel osmotique est une mesure de la diminution d'énergie libre qui résulte de la présence de solutés (et ainsi de l'augmentation du désordre du système). Pour cela, π est généralement exprimé par des valeurs négatives.

Dans notre domaine, π est calculé en appliquant la loi de van't Hoff :

$$\pi = - R.T.c_s \quad \text{éq. A1-3}$$

où
 R est la constante des gaz parfaits ($8.32 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) ;
 T la température ;
 c_s la concentration volumique du soluté.

La pression hydrostatique est parfois appelée potentiel de pression ("pressure potential"). Une pression hydrostatique positive, comme celle que l'on observe dans une cellule, est appelée "pression de turgescence". Une pression hydrostatique négative, comme c'est le cas dans le xylème ou dans les parois cellulaires, est appelée "tension".

P est défini comme la différence de pression entre l'état énergétique étudié et un état de référence. L'état de référence de l'eau étant par convention l'eau pure libre à la pression atmosphérique, P y est égal à 0 MPa (alors que sa pression absolue est d'environ 0.1 MPa). Par suite, dans la plante, le potentiel étant toujours négatif et la pression hydrostatique l'étant fréquemment, Ψ est très généralement négatif.

Le potentiel gravitationnel dépend de la hauteur d'eau au-dessus de l'état de référence (h), de la densité de l'eau (ρ_{eau}) et de la constante gravitationnelle (g) :

$$\Psi_{\text{grav}} = \rho_{\text{eau}} \cdot g \cdot h \quad \text{éq. A1-4}$$

$\rho_{\text{eau}} \cdot g$ est égal à 0.01 MPa m^{-1} . Ainsi, une hauteur de 10 mètres entraîne une modification de Ψ de 0.1 MPa. Lorsqu'on s'intéresse aux mouvements d'eau à l'échelle des cellules ou même des organes végétaux, Ψ_{grav} est négligeable comparé à π et P.

Mesures du potentiel hydrique d'une solution

Différentes méthodes permettent de mesurer le potentiel hydrique ou ses composantes. La psychrométrie permet de mesurer Ψ directement, les osmomètres mesurent π , la chambre à pression et les sondes à pression mesurent P.

Psychrométrie (mesure de Ψ)

La psychrométrie est basée sur deux principes physiques :

- (i) la pression partielle de vapeur d'eau diminue avec le potentiel hydrique ;
- (ii) l'évaporation d'eau sur une surface refroidit cette surface.

Dans les psychromètres, une chambre close enferme un thermocouple et le tissu végétal à mesurer. Une goutte d'eau de concentration connue (et donc $\pi = \Psi$ connu) est fixée sur le thermocouple.

Si Ψ du tissu est inférieur à celui de la goutte, de l'eau s'évapore de la goutte vers le tissu, le thermocouple se refroidit.

Si Ψ du tissu est supérieur à celui de la goutte, de l'eau s'évapore du tissu vers la goutte et le thermocouple se réchauffe.

La variation de température dans la chambre est mesurée et permet de calculer la différence de potentiel hydrique après calibration avec des solutions de concentration différente.

L'inconvénient principal de cette technique est qu'elle est très sensible à la température (une variation de 0.01 °C entraîne une variation de 1 MPa). Il est donc conseillé de ne l'utiliser qu'avec une température constante, en laboratoire.

Osmomètres (mesure de π)

Les solutés abaissent le point de congélation de la solution. Un osmomètre mesure alors la température du point de congélation des solutions aqueuses, qui permet d'estimer la concentration en solutés et π .

Chambre à pression (mesure de P)

Avant l'excision d'un rameau, la colonne d'eau dans le xylème est sous tension. Quand cette colonne est rompue par excision de l'organe, la tension est relâchée et l'eau est poussée rapidement hors du xylème, vers les cellules avoisinantes. La surface de la coupe du rameau est sèche.

La méthode consiste alors à enfermer le rameau dans une chambre hermétique et à pressuriser la chambre avec un gaz comprimé jusqu'à ce que la distribution de l'eau entre les cellules vivantes et les conduits du xylème retourne à l'état initial (avant excision). De l'eau arrive alors au niveau de la coupe. La pression nécessaire pour arriver à cette distribution initiale est appelée "pression d'équilibre" ("balance pressure").

La quantité de soluté dans le xylème étant très faible, π est négligeable. La pression d'équilibre mesurée correspond donc à $-\Psi$.

La méthode est couramment utilisée pour mesurer le potentiel hydrique du xylème ou d'une feuille. Pour une feuille qui ne transpire pas (ensachée), les cellules vivantes et le xylème sont en équilibre. Il est alors possible de mesurer le potentiel hydrique du xylème. Pour une feuille qui transpire, l'équilibre n'est plus vérifié du fait du flux d'eau transpiratoire dans le xylème. On mesure alors le potentiel hydrique foliaire.

L'avantage de cette technique est qu'elle est rapide, précise et ne nécessite pas d'instrumentation délicate. Pour cela, elle est beaucoup utilisée au champ.

Sonde à pression (mesure de P)

La sonde à pression permet de mesurer la pression de turgescence directement à l'intérieur de la cellule. Selon la taille de la cellule, on utilise deux types d'appareils.

Pour les grosses cellules, un tube rempli d'air est inséré à l'intérieur de la cellule. L'extrémité qui n'est pas insérée dans la cellule est fermée. La forte pression dans la cellule compresse le

gaz dans le tube. La mesure du changement de volume de l'air dans le tube permet de calculer la pression appliquée par la loi des gaz parfaits.

Pour des cellules plus petites, une seringue munie d'un microcapillaire rempli d'huile de silicone (relativement incompressible et distinguable de la sève sous microscope) est insérée dans la cellule. Lors de l'insertion de la microseringue, la sève monte dans le capillaire. Il s'agit alors de d'appliquer une pression à l'aide de la seringue jusqu'à ce que la sève retourne à la pointe du capillaire. Un manomètre permet alors de déterminer la pression à l'intérieur du capillaire et ainsi la pression de turgescence de la cellule.

Annexe 2 :

Trajet de l'eau dans le xylème et conductance hydraulique

Le moteur du trajet de l'eau dans la plante est la différence de potentiel hydrique entre les lieux d'évaporation (les feuilles) et le lieu d'extraction (le sol). Selon la **théorie de la cohésion-tension** (Dixon et Joly, 1894), la tension de surface s'exprimant au niveau des surfaces évaporantes de la feuille se transmet le long de la colonne d'eau. La cohésion du système est maintenue par la cohésion entre les molécules d'eau et par l'adhésion de l'eau aux parois des conduits du xylème (par des ponts hydrogène).

- Par analogie à la loi de Fick, on exprime le flux de sève brute dans les vaisseaux du xylème entre un point de départ A et un point d'arrivée B (F_{A-B}) en fonction de la différence de potentiel hydrique entre ces deux points ($\Psi_A - \Psi_B$) et la **conductance hydraulique** du trajet (K_{A-B}) :

$$F_{A-B} = K_{A-B} (\Psi_A - \Psi_B) \quad \text{éq. A2-1}$$

Cette relation s'applique en tout point du trajet de la sève dans la plante. On considère généralement que ce flux est conservatif et qu'ainsi, tout au long du trajet, F_{A-B} est égal au flux transpiratoire (E ici en $\text{mol H}_2\text{O s}^{-1}$). La circulation de la sève à l'échelle de la plante entière s'exprime alors selon :

$$E = K_{\text{tot}} (\Psi_{\text{sol}} - \Psi_{\text{fol}}) \quad \text{éq. A2-2}$$

où K_{tot} est la conductance hydraulique du xylème totale sur le trajet sol-feuille ;
 Ψ_{sol} et Ψ_{fol} sont respectivement les potentiels hydriques du sol et de la feuille.

La conductance hydraulique s'exprime ainsi en $\text{mol H}_2\text{O s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ (ou $\text{kg H}_2\text{O s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$).

- Cependant, afin de comparer, par exemple, les conductances mesurées sur des échantillons de taille différente, ces relations peuvent être ramenées à l'unité de distance, ce qui permet d'écrire une relation entre la densité de flux (f), le gradient de potentiel ($\text{grad}(\Psi)$) et la conductivité hydraulique ($K_{\text{té}}$) :

$$f = K_{\text{té}} \cdot \text{grad}(\Psi) \quad \text{éq. A2-3}$$

La conductivité hydraulique s'exprime ainsi en $\text{mol H}_2\text{O m s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$.

- La conductance et la conductivité hydraulique d'un échantillon de longueur L sont donc liées selon :

$$\text{conductivité} = L \cdot \text{conductance} \quad \text{éq. A2-4}$$

- Par ailleurs, on rapporte souvent la conductance (ou la conductivité) à une surface : section des vaisseaux conducteurs, surface foliaire, surface racinaire, etc... On parle dans ce cas de **conductance (ou conductivité) spécifique**, exprimée en $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ (ou $\text{mol H}_2\text{O m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$).

Annexe 3 :

Fluorescence et photosynthèse

Les mesures de fluorescence permettent de décrire le fonctionnement de la machinerie photosynthétique.

Globalement, il existe trois voies de dissipation d'énergie au niveau des PSII : (i) la voie photochimique (flux d'électrons), (ii) la dissipation thermique (iii) et la fluorescence de la chlorophylle.

Le rendement de fluorescence correspond à la dissipation d'énergie par fluorescence divisée par la somme des énergies dissipées par les trois voies. Il varie ainsi en fonction du taux de désactivation de la photochimie et des variations de dissipation thermique.

On mesure généralement le rendement de fluorescence :

- à l'équilibre (F_s), lorsque la feuille est adaptée aux conditions d'éclairement fixées.
- minimal (F_0 et F_0'), après passage à l'obscurité. Dans ces conditions, les centres réactionnels sont oxydés ("ouverts"). La photochimie est maximale et le rendement de **fluorescence minimal**.
- après flash saturant qui excite tous les sites possibles (F_m et F_m'). Tous les centres réactionnels deviennent non réceptifs ("fermés"), la photochimie est impossible et le rendement de **fluorescence maximal**.

Lorsqu'une feuille est **préalablement adaptée à l'obscurité**, on mesure F_0 , la fluorescence minimale de référence. La photosynthèse est nulle et tous les accepteurs d'électrons sont réoxydés. L'imposition d'un flash saturant permet alors de mesurer F_m , la fluorescence maximale de la feuille adaptée à l'obscurité.

Lorsqu'une feuille est **adaptée à des conditions d'éclairement définies**, on mesure F_s , la fluorescence à l'équilibre. Dans ce cas, une fraction seulement des centres réactionnels sont ouverts, la photochimie est intermédiaire et la dissipation thermique est accrue. L'exposition à un flash saturant permet d'atteindre à nouveau une photochimie maximale, mais la dissipation thermique est maintenue. La fluorescence maximale de la feuille adaptée à la lumière, F_m' , est mesurée. En plaçant cette feuille quelques instants à l'obscurité, on mesure F_0' , la fluorescence minimale d'une feuille adaptée à la lumière. La photochimie est minimale mais la dissipation thermique est maintenue.

Par conséquent, F_m et F_0 sont respectivement toujours supérieurs à F_m' et F_0' .

L'**efficacité quantique du transport d'électron par les PSII** (Φ_{PSII}) est utilisée pour calculer le flux d'électrons vers la photosynthèse dans les conditions environnementales d'éclairement définies :

$$\Phi_{\text{PSII}} = \frac{F_m' - F_s}{F_m'}$$

éq. A3-1

On utilise aussi fréquemment les rapports de référence F_v/F_m et F_v'/F_m' afin de caractériser respectivement **l'efficacité quantique maximale des PSII** et **l'efficacité de capture de l'énergie d'excitation des centres réactionnels PSII ouverts**. En d'autres termes, ces rapports correspondent à l'efficacité quantique maximale d'une feuille adaptée à l'obscurité et à celle d'une feuille adaptée à la lumière pour laquelle la dissipation thermique est accrue.

$$\frac{F_v}{F_m} = \frac{F_m - F_0}{F_m} \quad \text{éq. A3-2} \qquad \frac{F_v'}{F_m'} = \frac{F_m' - F_0'}{F_m'} \quad \text{éq. A3-3}$$

Une diminution de F_v/F_m est associée à la photoinhibition de façon générale. Une diminution de F_v'/F_m' traduit plus précisément une augmentation de la dissipation thermique d'énergie.

On appelle "quenching" (= atténuation) une diminution de fluorescence mesurée.

Le "quenching" photochimique (q_p) permet d'estimer la proportion de centres ouverts :

$$q_p = \frac{F_m' - F_s'}{F_m' - F_0'} \quad \text{éq. A3-4}$$

ainsi $\Phi_{PSII} = q_p \cdot F_v'/F_m'$ éq. A3-5

Le "quenching" non photochimique (NPQ) décrit l'utilisation d'énergie par des mécanismes autres que photosynthétiques :

$$NPQ = \frac{F_m - F_m'}{F_m'} \quad \text{éq. A3-6}$$

NPQ est très fortement et linéairement corrélé à la concentration en zéaxanthine + anthéaxanthine (Adams *et al.*, 2005).

Cependant, NPQ n'est pas valable en conditions de stress hydrique (Adams *et al.*, 2005). En effet, dans ce cas, la valeur F_m n'est plus une valeur de référence car F_m peut varier indépendamment de la dissipation thermique. Ceci peut s'expliquer par :

- (i) une diminution de la quantité de chlorophylle qui entraîne une augmentation apparente de la fluorescence (augmentation de F_m' due à une moindre réabsorption) qui masquerait l'augmentation réelle de NPQ,
- (ii) une modification de l'orientation des chloroplastes afin de recevoir moins de lumière,
- (iii) un épaissement de la cuticule qui limite les pertes d'eau et diminue l'émission de fluorescence (Adams, communication personnelle).

Ainsi, on préfère regarder le rapport F_v'/F_m' dont la diminution indique une augmentation de la dissipation thermique d'énergie.

Annexe 4 :

Couplage de modèles de conductance stomatique à des modèles de photosynthèse

Beaucoup de modèles de conductance stomatique présentés dans la synthèse bibliographique se basent explicitement sur une relation entre g_s et l'assimilation nette, A_{net} . Les mesures de photosynthèse requièrent une certaine précision. De plus, ces modèles de g_s ont été construits avec pour objectif d'élaborer des modèles globaux du fonctionnement de la feuille soumise aux contraintes environnementales.

La photosynthèse doit alors être modélisée à son tour, à partir de facteurs environnementaux, principalement la lumière. Les modèles de g_s peuvent alors être couplés à ces modèles de photosynthèse, afin d'obtenir des modèles couplés photosynthèse / conductance stomatique.

A4-1 Le modèle biochimique de Farquhar *et al.* (1980) et son couplage au modèle de g_s

A4-1-1 Le modèle biochimique

Beaucoup de modèles de g_s ont été couplés au modèle biochimique de Farquhar *et al.* (1980b), que ce soit en conditions hydriques non limitantes ou en présence de stress hydrique (en particulier, Leuning, 1995 ; Wang et Leuning, 1998 ; Urban *et al.*, 2003 ; Misson *et al.*, 2004).

De façon simple, l'assimilation nette est fonction du taux de carboxylation (V_c), du taux d'oxygénation (V_o) et de la respiration mitochondriale (R_d) :

$$A_{net} = V_c - 0.5V_o - R_d = V_c \left(1 - \frac{0.5O}{\tau C_i} \right) \quad \text{éq. A4-1}$$

où O est la pression partielle en oxygène dans l'espace intercellulaire ;
 τ est le facteur de spécificité de la Rubisco.

Farquhar *et al.* (1980b) proposent alors que l'assimilation des plantes en C_3 soit limitée par l'activité de la Rubisco et/ou la régénération du RuBP. Par la suite, Harley *et al.* (1992), incluent une troisième forme de limitation, par l'utilisation des trioses-phosphates pour la production de sucres.

Dans ce cadre, l'assimilation nette s'exprime :

$$A_{\text{net}} = \left(1 - \frac{0.5 \cdot O}{\tau \cdot C_i}\right) \cdot \min\{W_c, W_j, W_p\} - R_d \quad \text{éq. A4-2}$$

où

le taux de carboxylation est limité seulement par :

- la quantité, l'état d'activation et les propriétés cinétiques de la Rubisco (W_c),
- le taux de régénération du RuBP dans le cycle de Calvin résultant du flux d'électrons (W_j),
- le taux de libération de phosphates lors de l'utilisation des trioses-phosphates (W_p).

W_c s'exprime en fonction du taux de carboxylation maximal ($V_{c\text{max}}$) et des constantes de Michaelis pour la carboxylation et l'oxygénation (K_c et K_o respectivement) :

$$W_c = \frac{V_{c\text{max}} \cdot C_i}{C_i + K_c \left(1 + \frac{O}{K_o}\right)} \quad \text{éq. A4-3}$$

W_c s'exprime en fonction du flux électronique (J) et du facteur de spécificité de la Rubisco (τ) :

$$W_j = \frac{J \cdot C_i}{4 \left(C_i + \frac{O}{\tau}\right)} \quad \text{éq. A4-4}$$

J est exprimé en fonction de l'efficacité de conversion de l'énergie lumineuse (α), de l'absorbance (θ) et du flux d'électrons en conditions de lumières saturantes (J_{max}) selon la relation de Smith (1937) :

$$J = \frac{\alpha \cdot \theta \cdot Q}{\sqrt{1 + \frac{\alpha^2 Q^2}{J_{\text{max}}^2}}} \quad \text{éq. A4-5}$$

W_p s'exprime en fonction du taux de libération de phosphates lors de l'utilisation des trioses-phosphates (TPU) :

$$W_p = 3 \cdot \text{TPU} + \frac{V_o}{2} = \frac{0.5 \cdot O \cdot V_c}{\tau \cdot C_i} \quad \text{éq. A4-6}$$

La plupart de ces paramètres sont dépendant de la température selon :

$$\text{paramètre} = \exp\left(c - \frac{\Delta H_a}{R \cdot T_f}\right) \quad \text{pour } K_c, K_o, R_d \text{ et } \tau \quad \text{éq. A4-7}$$

$$\text{paramètre} = \exp \left(\frac{c - \frac{\Delta H_a}{R.T_f}}{1 + \exp \left(\frac{\Delta S.T_f - \Delta H_d}{R.T_f} \right)} \right) \quad \text{pour } V_{\text{cmax}}, J_{\text{max}} \text{ et TPU} \quad \text{éq. A4-8}$$

où ΔH_a représente l'énergie d'activation ;
 ΔH_d l'énergie de désactivation ;
 ΔS est un terme d'entropie ;
 T_f la température à la surface de la feuille ;
 R la constante des gaz parfaits ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$).

Bien qu'ici présenté par souci de rigueur, W_p est en pratique rarement considéré. Cette limitation est la moins fréquemment rencontrée et alourdit le modèle qui est déjà complexe et comporte un nombre important de paramètres.

Ainsi, connaissant (i) τ , K_c , K_o , (ii) J_{max} , V_{cmax} et R_d , (iii) ainsi que ΔH_a , ΔH_d et ΔS pour les différentes variables et pour l'espèce considérée, on obtient une relation entre A_{net} et C_i .

La courbe $A_{\text{net}}-C_i$ est alors bien expliquée par ces trois limitations (voir présentation des processus de la photosynthèse paragraphe B-1-2, section I) : la première partie de la courbe (pour les faibles C_i) correspond à une limitation par W_c , la seconde par W_j et l'asymptote correspond à la limitation par W_p .

La difficulté d'utilisation d'un tel modèle réside alors dans son paramétrage, puisque beaucoup de paramètres, dont la mesure est délicate, sont requis. Dans la pratique, J_{max} , V_{cmax} et R_d sont mesurés, mais τ , K_c , K_o , et les ΔH_a , ΔH_d et ΔS correspondant aux différentes variables sont empruntés à la littérature (généralement à Harley *et al.*, 1992 ; Bernacchi *et al.*, 2001)

A4-1-2 Résolution du modèle couplé

Coupler un modèle de conductance au modèle de photosynthèse fait apparaître trois inconnues : A_{net} , C_i et $g_{s,w}$ ($g_{s,w} = 1.6 g_{s,c}$). Il est donc nécessaire de disposer de trois équations :

- le **modèle empirique** de conductance choisi $g_{s,w} = f(A_{\text{net}})$
- le modèle biochimique de photosynthèse (**fonction de demande**) $A_{\text{net}} = f(C_i)$
- l'équation de diffusion du CO_2 par les stomates (**fonction d'apport en CO_2**), qui permet de boucler le système $A_{\text{net}} = g_{s,c} (C_a - C_i)$

Ce système de trois équations a trois inconnues et peut se résoudre :

- analytiquement (Baldocchi, 1994) lorsque le modèle de conductance est de formulation assez simple (couramment employé avec les modèles de Ball *et al.*, 1987 ; Leuning, 1995),
- itérativement en utilisant l'algorithme de Newton lorsque le modèle de conductance est de formulation plus complexe (contenant une exponentielle par exemple).

Dans le cas du manguiier, le modèle de conductance de Leuning a été couplé au modèle biochimique de Farquhar *et al.* (1980b) et le système d'équations a été résolu de façon analytique (Urban *et al.*, 2003).

A4-2 Modèles de photosynthèse alternatifs utilisés dans les couplages

Le modèle biochimique de Farquhar *et al.* (1980b) comporte un nombre de paramètres importants et sa formulation est relativement complexe. Certains auteurs ont alors préféré utiliser des formulations plus simples, plus ou moins empiriques. Nous ne présenterons ici que les modèles de photosynthèse ayant été utilisés à des fins de couplage avec un modèle de conductance stomatique.

Les notations utilisées par les auteurs de ces différents modèles peuvent différer de celles utilisées par Farquhar *et al.* (1980b), que nous avons conservées dans l'ensemble de ce document. En dehors des variables les plus simples (g_s , A_{net} , R_d , C_i), nous garderons par souci de rigueur les dénominations originales, tout en prenant soin de préciser l'abréviation correspondante dans notre système de notation.

➤ Ogle *et al.* (2002) simulent en conditions de très forte sécheresse, la conductance stomatique couplée au modèle de photosynthèse développé par Katul *et al.* (2000). Ce choix est justifié par la **simplicité de la formulation retenue**. Les auteurs se placent dans des conditions où la photosynthèse est limitée par le CO_2 (limitation par la vitesse de carboxylation, RuBP saturant). Le modèle de photosynthèse peut alors se baser sur une linéarisation empirique de la courbe $A_{net}-C_i$:

$$A_{net} = a.C_i.\Gamma^* - R_d \quad \text{éq. A4-9}$$

où a correspond à l'efficacité de carboxylation, fonction de V_{cmax} ;
 Γ^* est le point de compensation en CO_2 en l'absence de R_d .

➤ Uddling *et al.* (2005), de leur côté, expriment A_{net} en fonction de C_i , Q , de deux fonctions de la température à paramétrer et de deux autres paramètres :

$$A_{net} = f(T_f)_A \left(\frac{\phi.Q.C_i.C_e}{\phi.Q + cC_i.C_e} \right) - R_d(T_f) \quad \text{éq. A4-10}$$

où ε est l'efficacité de carboxylation (fonction de V_{cmax}), estimée par la valeur de la pente de la courbe $A_{net}-C_i$ à faible C_i ;
 ϕ est l'efficacité quantique maximale apparente de la photosynthèse (α dans notre système de notation) estimée en prenant la valeur de la pente de la courbe $A_{net}-Q$ pour les faibles Q ;
 $R_d(T_f)$ est une fonction linéaire de R_d et de la température à la surface de la feuille, à paramétrer ;
 $f(T_f)_A$ est une fonction linéaire décrivant la dépendance de la photosynthèse à la température à la surface de la feuille, à paramétrer en fonction, en particulier, de la photosynthèse maximale en conditions de CO_2 et Q saturants.

Ici encore, les auteurs considèrent que **dans le cadre de leur étude, le modèle choisi est plus simple** que celui de Farquhar *et al.* (1980b).

➤ Noe et Giersch (2004) reprochent au modèle de Farquhar *et al.* (1980b) son aspect statique et élaborent un **modèle empirique dynamique** de photosynthèse dans le but de le coupler à un modèle de conductance. Leur démarche consiste à exprimer l'évolution de la

pression partielle en CO₂ à l'intérieur de la feuille (dp_i/dt) comme la différence entre ce qui entre (v_{c,in}) et ce qui sort (v_{c,out}) :

$$\frac{dp_i}{dt} = v_{c,in} - v_{c,out} \quad \text{éq. A4-11}$$

L'assimilation nette peut s'identifier à v_{c,in} (Noe et Giersch, 2004) et s'exprime selon l'équation d'apport analogue à la loi de Fick :

$$v_{c,in} = q \left(g_{s,c} \frac{p_a - p_i}{P_{atm}} + R_d \right) \quad \text{éq. A4-12}$$

où q est un paramètre de calage entre A_{net} et v_{c,in}.

v_{c,out} est exprimé par une relation biochimique :

$$v_{c,out} = q \cdot r_c(Q, T_f) \cdot f_c \frac{p_i}{P_{atm}} \quad \text{éq. A4-13}$$

La fonction f_c représente l'inhibition du taux de carboxylation par les produits de la photosynthèse :

$$f_c = 1 - \rho \cdot a_{ps} \quad \text{éq. A4-14}$$

où a_{ps} est le pool d'assimilats de photosynthèse ;
ρ est un paramètre qui estime la force d'inhibition du taux de carboxylation.

La réponse des stomates à l'intensité lumineuse et à la température, r_c(Q, T_f), suppose que les réponses à ces deux facteurs sont indépendantes :

$$r_c(Q, T_f) = r(Q) \cdot p(T_f) \quad \text{éq. A4-15}$$

r(Q) correspond à la réponse des stomates à la lumière décrite par une hyperbole non-rectangulaire (fonction de saturation) :

$$r(Q) = \frac{\alpha_2 \cdot Q + V_{c,max} - \sqrt{(\alpha_2 \cdot Q + V_{c,max})^2 - 4\alpha_2 \cdot \theta_2 \cdot V_{c,max} \cdot Q}}{2\theta_2} \quad \text{éq. A4-16}$$

où α₂ et θ₂ sont deux paramètres empiriques ;
p(T_f) est une fonction du troisième degré de la température à la surface de la feuille.

La résolution de ce modèle passe par un système de trois équations différentielles complexes.

Bien que le choix de ces modèles soit justifié dans le cadre des études spécifiquement menées, il faut rester précautionneux quant à leur généralisation.

Tout d'abord, le modèle utilisé par Ogle *et al.* (2002) est bien plus simple que le modèle biochimique de Farquhar *et al.* (1980b), mais il ne peut être appliqué que lorsque la carboxylation est limitante. Cette situation est cependant la plus fréquemment rencontrée en conditions naturelles.

Le modèle de Uddling *et al.* (2005) se veut plus simple que le modèle biochimique. Cependant, il nécessite toujours un bon nombre de paramètres et demande de paramétrer deux fonctions de réponse, pour chaque situation étudiée.

L'utilisation d'un modèle dynamique, comme celui de Noe et Giersch (2004), peut être intéressante pour décrire des processus fins et en comprendre les déterminismes. Néanmoins, dans le modèle proposé, cet intérêt est contre-balançé par la complexité du modèle final.

En résumé, le modèle biochimique de Farquhar *et al.* (1980b) est le modèle à privilégier pour l'analyse de la conductance stomatique et de la photosynthèse en champs, malgré son apparente complexité. Les paramètres utilisés sont considérés comme stables pour une espèce donnée, facilitant son utilisation dans des situations contrastées. Il présente l'immense avantage d'être un modèle mécaniste, permettant d'appréhender de façon correcte le fonctionnement de la photosynthèse et éventuellement d'en envisager des modifications spécifiques. Enfin, ce modèle est couramment utilisé par beaucoup de chercheurs, ce qui permet des comparaisons entre études.

A4-3 Importance de l'échelle de modélisation

Les modèles présentés ici se placent tous à l'échelle de la feuille. Cette échelle est pertinente lorsqu'il s'agit d'étudier les mécanismes et le déterminisme de l'ouverture et de la fermeture des stomates. C'est aussi un préalable à toute étude du fonctionnement de la canopée toute entière, celui-ci intégrant les réponses de chaque feuille individuelle. Ainsi, connaître les facteurs qui contrôlent les changements à l'échelle foliaire est important à la fois sur un plan cognitif et pour la modélisation (Nikolov *et al.*, 1995).

Pour ces raisons, l'ensemble de ce travail et des modèles présentés se place à l'échelle foliaire, nous ne dirons que quelques mots des changements d'échelle à effectuer.

Lorsqu'on utilise les modèles couplés photosynthèse / conductance à des fins de prédictions de l'assimilation de CO₂ à l'échelle d'une canopée, il est nécessaire de faire un changement d'échelle par couplage à un modèle de transfert radiatif (Harley *et al.*, 1985 ; Harley et Tenhunen, 1991 ; Harley et Baldocchi, 1995).

La position de chaque feuille détermine sa capacité photosynthétique (acclimatation à la lumière, relation entre la capacité photosynthétique et Q). Cette idée est basée sur l'hypothèse que la plante alloue ses ressources en azote au sein de la canopée de façon à augmenter la photosynthèse là où l'environnement lumineux est le plus favorable au détriment des emplacements où il est le moins favorable.

Ainsi, connaissant la position d'une feuille et son environnement instantané, on peut simuler son taux d'assimilation de CO₂ par un modèle couplé photosynthèse / conductance stomatique. En répétant cette simulation pour chaque feuille, et par intégration à la canopée toute entière, on peut alors simuler la photosynthèse à l'échelle de l'arbre.

REFERENCES

- Abrams MD, Mostoller SA** (1995) Gas exchange, leaf structure and nitrogen in contrasting successional tree species growing in open and understorey sites during a drought. *Tree Physiology* **15**: 361-371
- Adams WWI, Zarter CR, Mueh KE, Amiard VSE, Demmig-Adams B** (2005) Energy dissipation and photoinhibition: a continuum of photoprotection. *In* B Demmig-Adams, WW Adams, AK Mattoo, eds, *Photoprotection, Photoinhibition, Gene Regulation and Environment*. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 49-64
- Ainsworth EA, Rogers A** (2007) The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO₂]: mechanisms and environmental interactions. *Plant Cell and Environment* **30**: 258-270
- Alder NN, Sperry JS, Pockman WT** (1996) Root and stem xylem embolism, stomatal conductance, and leaf turgor in *Acer grandidentatum* populations along a soil moisture gradient. *Oecologia* **105**: 293-301
- Allen DJ, Nogues S, Baker NR** (1998) Ozone depletion and increased UV-B radiation: is there a real threat to photosynthesis? *Journal of Experimental Botany* **49**: 1775-1788
- Aphalo PJ, Jarvis PG** (1991) Do stomata respond to relative humidity? *Plant Cell and Environment* **14**: 127-132
- Aphalo PJ, Jarvis PG** (1993) An analysis of Ball's empirical model of stomatal conductance. *Annals of Botany* **72**: 321-327
- Aranda I, Castro L, Pardos M, Gil L, Pardos JA** (2005) Effects of the interaction between drought and shade on water relations, gas exchange and morphological traits in cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings. *Forest Ecology and Management* **210**: 117-129
- Arenas-Huertero F, Arroyo A, Zhou L, Sheen J, Leon P** (2000) Analysis of *Arabidopsis* glucose insensitive mutants, *gin5* and *gin6*, reveals a central role of the plant hormone ABA in the regulation of plant vegetative development by sugar. *In* *Genes and development*, Vol 14, pp 2085-2096
- Bacelar EA, Santos DL, Moutinho-Pereira JM, Gonçalves BC, Ferreira HF, Correia CM** (2006) Immediate responses and adaptive strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: Changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. *Plant Science* **170**: 596-605
- Baldocchi D** (1994) An analytical solution for coupled leaf photosynthesis and stomatal conductance models. *Tree Physiology* **14**: 1069-1079
- Baldocchi D** (1997) Measuring and modelling carbon dioxide and water vapour exchange over a temperate broad-leaved forest during the 1995 summer drought. *Plant Cell and Environment* **20**: 1108-1122
- Ball MC, Woodrow IE, Berry JA** (1987) A model predicting stomatal conductance and its contribution to the control of photosynthesis under different environmental conditions. *In* *Progress in Photosynthesis Research*, Ed I. Biggins. Martinus Nijhoff Publishers, Netherlands, pp 221-224
- Batten DJ, Mc Conchie CA, Lloyd J** (1994) Effects of soil water deficit on gas exchange characteristics and water relations of orchard lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) trees. *Tree Physiology* **14**: 1177-1189

- Bernacchi CJ, Singaas EL, Pimentel C, Portis AR, Long SP** (2001) Improved temperature response functions for models of Rubisco-limited photosynthesis. *Plant Cell and Environment* **24**: 253-259
- Boehringer SA** (1984) Methods of enzymatic food analysis using single reagents. Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Germany
- Boonman A, Prinsen E, Gilmer F, Schurr U, Peeters AJM, Voeselek L, Pons TL** (2007) Cytokinin import rate as a signal for photosynthetic acclimation to canopy light gradients. *Plant Physiology* **143**: 1841-1852
- Bray EA** (1997) Plant responses to water deficit. *Trends in Plant Science* **2**: 48-54
- Brodribb T** (1996) Dynamics of changing intercellular CO₂ concentration (C_i) during drought and determination of minimum functional C_i. *Plant Physiology* **11**: 179-185
- Brodribb TJ, Feild TS** (2000) Stem hydraulic supply is linked to leaf photosynthetic capacity: evidence from New Caledonian and Tasmanian rainforests. *Plant Cell and Environment* **23**: 1381-1388
- Brooks A, Farquhar GD** (1985) Effect of temperature on the CO₂/O₂ specificity of ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase and the rate of respiration in the light. *Planta* **165**: 397-406
- Buckley TN** (2005) The control of stomata by water balance. *New Phytologist* **168**: 275-291
- Buckley TN, Farquhar GD, Mott KA** (1997) Qualitative effects of patchy stomatal conductance distribution features on gas-exchange calculations. *Plant Cell and Environment* **20**: 867-880
- Buckley TN, Miller JM, Farquhar GD** (2002) The mathematics of linked optimisation for water and nitrogen use in a canopy. *Silva Fennica* **36**: 639-669
- Buckley TN, Mott KA, Farquhar GD** (2003) A hydromechanical and biochemical model of stomatal conductance. *Plant Cell and Environment* **26**: 1767-1785
- Butler WL** (1978) Energy distribution in the photochemical apparatus of photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* **29**: 345-378
- Cavender-Bares J, Sack L, Savage J** (2007) Atmospheric and soil drought reduce nocturnal conductance in live oaks. *Tree Physiology* **27**: 611-620
- Centritto M, Loreto F, Chartzoulakis K** (2003) The use of low [CO₂] to estimate diffusional and non-diffusional limitations of photosynthetic capacity of salt-stressed olive saplings. *Plant Cell and Environment* **26**: 585-594
- Chacko EK** (1991) Mango flowering – still an enigma. *Acta Horticulturae* **291**: 12-21
- Chackos EK, Ananthanarayanan TV** (1982) Accumulation of reserves substances in *Mangifera indica* L. during flower initiation. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* **106**: 281-285
- Chaikiattiyos S, Menzel CM, Rasmussen TS** (1994) Floral induction in tropical fruit trees: effects of temperature and water supply. *Journal of Horticultural Science* **69**: 397-415
- Chapin FS, Wardlaw IF** (1988) Effect of phosphorus deficiency on source-sink interactions between the flag leaf and developing grain in barley. *Journal of Experimental Botany* **39**
- Chaves MM, Pereira JS, Maroco J, Rodrigues ML, Ricardo CPP, Osorio ML, Carvalho I, Faria T, Pinheiro C** (2002) How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. *Annals of Botany* **89**: 907-916
- Chen Z, Gallie DR** (2004) The ascorbic acid redox state controls guard cell signalling and stomatal movement. *Plant Cell* **16**: 1143-1162
- Christmann A, Weiler EW, Steudle E, Grill E** (2007) A hydraulic signal in root-to-shoot signalling of water shortage. *The Plant Journal* **52**: 167-174
- Cochard H** (1992a) Use of positive pressures to establish vulnerability curves. *Plant Physiology* **100**: 205-209

- Cochard H** (1992b) Vulnerability of several conifers to air embolism. *Tree Physiology* **11**: 73-83
- Cochard H** (2002a) A technique for measuring xylem hydraulic conductance under high negative pressures. *Plant Cell and Environment* **25**: 815-819
- Cochard H** (2002b) Xylem embolism and drought-induced stomatal closure in maize. *Planta* **215**: 466-471
- Cochard H, Breda N, Granier A** (1996a) Whole tree hydraulic conductance and water loss regulation in *Quercus* during drought: evidence for stomatal control of embolism. *Annals of Forest Science* **53**: 197-206
- Cochard H, Casella E, Mencuccini M** (2007) Xylem vulnerability to cavitation varies among poplar and willow clones and correlates with yield. *Tree Physiol* **27**: 1761-1767
- Cochard H, Coll L, Le Roux X, Ameglio T** (2002) Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal closure during water stress in walnut. *Plant Physiology* **128**: 282-290
- Cochard H, Damour G, Bodet C, Tharwat I, Poirier M, Ameglio T** (2005) Evaluation of a new centrifuge technique for rapide generation of xylem vulnerability curves. *Physiologia Plantarum* **124**: 410-418
- Cochard H, Lemoine D, Dreyer E** (1999) The effects of acclimation to sunlight on the xylem vulnerability to embolism in *Fagus sylvatica* L. *Plant Cell and Environment* **22**: 101-108
- Cochard H, Nardini A, Coll L** (2004) Hydraulic architecture of leaf blades: where is the main resistance? *Plant Cell and Environment* **27**: 1257-1267
- Cochard H, Ridolfi M, Dreyer E** (1996b) Response to water stress in an ABA-unresponsive hybrid poplar (*Populus koreana* X *trichocarpa* cv. Peace). *New Phytologist* **134**: 455-461
- Colombo B, Baccanti M, Theobald J** (1988) The simultaneous determination of carbon, hydrogen, nitrogen and sulphur using the new elementar analyser. *Internationale Labmate* **13**
- Comstock J, Menuccini M** (1998) Control of stomatal conductance by leaf water potential in *Hymenoclea salsola* (T. &G.), a desert subshrub. *Plant Cell and Environment* **21**: 1029-1038
- Cornic G** (2000) Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture - not by affecting ATP synthesis. *Trends in Plant Science* **5**: 187-188
- Cornic G, Fresneau C** (2002) Photosynthetic carbon reduction and carbon oxidation cycles are the main electron sinks for photosystem II activity during mild drought. *Annals of Botany* **89**: 887-894
- Cowan IR** (1977) Stomatal behaviour and environment. *In* *Advances in Botanical Research*, Vol 4, pp 117-228
- Cowan IR, Farquhar GD** (1977) Stomatal function in relation to leaf metabolism and environment: Stomatal function in the regulation of gas exchange. *In* DH Jennings, ed, *Integration of Activity in the Higher Plant*, Ed Cambridge University Press, pp 471-505
- Davenport TL, Nunez-Elisea R** (1997) Reproductive physiology. *In* RE Litz, ed, *The Mango. Botany, production and uses*. CABI International, Wallingford, UK.
- Davenport TL, Stern RA** (2005) Flowering. *In* CM Menzel, GK Waite, eds, *Ltchi and longan. Botany, production and uses*. CABI Publishing, Wallingford, UK., pp 87-113
- Desikan R, Hancock JT, Bright J, Harrison J, Weir L, Hooley R, Neill SJ** (2005) A role for ETR1 in hydrogen peroxide signalling in stomatal guard cells. *Plant Physiology* **137**: 831-834

- Dewar RC** (1995) Interpretation of an empirical model for stomatal conductance in terms of guard cell function. *Plant Cell and Environment* **18**: 365-372
- Dewar RC** (2002) The Ball-Berry-Leuning and Tardieu-Davies stomatal models: synthesis and extension within a spatially aggregated picture of guard cell function. *Plant Cell and Environment* **25**: 1383-1398
- Diaz-Espejo A, Walcroft AS, Fernandez JE, Hafidi B, Palomo MJ, Giron IF** (2006) Modelling photosynthesis in olive leaves under drought conditions. *Tree Physiology* **26**: 1445-1456
- Dixon HH, Joly J** (1894) On the ascent of sap. . *Annals of Botany* **8**: 468-470
- Dreyer E, Sculler I** (1989) Effects of endogenous ABA on photosynthesis and stomatal conductance of cut twigs from oak seedlings. *Annals of Science Forestry* **46 suppl.:** 406s-410s
- Epron D, Godard D, Cornic G, Genty B** (1995) Limitation of net CO₂ assimilation rate by internal resistances to CO₂ transfer in the leaves of two tree species (*Fagus sylvatica* L. and *Castanea sativa* Mill.). *Plant Cell and Environment* **18**: 43-51
- Escalona JM, Flexas J, Medrano H** (1999) Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis under water stress in field-grown grapevines. *Australian Journal of Plant Physiology* **26**: 421-433
- Ethier GJ, Livingston NJ** (2004) On the need to incorporate sensitivity to CO₂ transfer conductance into Farquhar-von Caemmerer-Berry leaf photosynthesis model. *Plant Cell and Environment* **27**: 137-153
- Evans JR** (1989) Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. *Oecologia* **78**: 9-19
- Farquhar GD, Schulze ED, Küppers M** (1980a) Responses to Humidity by Stomata of *Nicotiana glauca* L. and *Corylus avellana* L. are Consistent with the Optimization of Carbon Dioxide Uptake with respect to Water loss. *Australian Journal of Plant Physiology* **7**: 315-327
- Farquhar GD, von Caemmerer S, Berry JA** (1980b) A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* **149**: 78-90
- Farquhar GD, Wong SC** (1984) An empirical model of stomatal conductance. *Australian Journal of Plant Physiology* **11**: 191-210
- Field C, Mooney HA** (1986) The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants. In TJ Givnish, ed, *On the economy of plant form and function*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 25-55
- Flexas J, Bota J, Cifre J, Escalona JM, Galmes J, Gulias J, Lefi EK, Martinez-Canellas SF, Moreno MT, Ribas-Carbo M, Riera D, Sampol B, Medrano H** (2004a) Understanding down-regulation of photosynthesis under water stress: future prospects and searching for physiological tools for irrigation management. *Annals of Applied Biology* **144**: 273-283
- Flexas J, Bota J, Escalona JM, Sampol B, Medrano H** (2002) Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: an evaluation of stomatal and mesophyll limitations. *Functional Plant Biology* **29**: 461-471
- Flexas J, Bota J, Galmes J, Medrano H, Ribas-Carbo M** (2006) Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum* **127**: 343-352
- Flexas J, Bota J, Loreto F, Cornic G, Sharkey T** (2004b) Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants. *Plant Biology* **6**: 1-11
- Flexas J, Galmes J, Ribas-Carbo M, Medrano H** (2005) The effects of drought in plant respiration. In H Lambers, M Ribas-Carbo, eds, *Advances in Photosynthesis and*

- Respiration. *Plant Respiration: from Cell to Ecosystem*, Vol 18. Springer, Dordrecht, pp 177-194
- Flexas J, Medrano H** (2002) Energy dissipation in C₃ plants under drought. *Functional Plant Biology* **29**: 1209-1215
- Foyer CH, Noctor G** (2003) Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum* **119**: 355-364
- Foyer CH, Noctor G** (2005) Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell and Environment* **28**: 1056-1071
- Franco AC, Lüttge U** (2002) Midday depression in savanna trees: coordinated adjustments in photochemical efficiency, photorespiration, CO₂ assimilation and water use efficiency. *Oecologia* **131**: 356-365
- Froux F, Ducrey M, Dreyer E, Huc R** (2005) Vulnerability to embolism differs in roots and shoots and among three Mediterranean conifers: consequences for stomatal regulation of water loss? *Trees-Structure and Function* **19**: 137-144
- Galmes J, Ribas-Carbo M, Medrano H, Flexas J** (2007) Response of leaf respiration to water stress in Mediterranean species with different growth forms. *Journal of Arid Environments* **68**: 206-222
- Gao Q, Zhao P, Zeng X, Cai X, Shen W** (2002) A model of stomatal conductance to quantify the relationship between leaf transpiration, microclimate and soil water stress. *Plant Cell and Environment* **25**: 1373-1381
- Genty B, Briantais J, Baker N** (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* **990**: 87-92
- Gimenez C, Mitchell VJ, Lawlor DW** (1992) Regulation of photosynthesis rate of two sunflower hybrids under water stress. *Plant Physiology* **98**: 516-524
- Givnish GT** (1986) Optimal stomatal conductance, allocation of energy between leaves and roots, and the marginal cost of transpiration. *In* TJ Givnish, ed, *On the economy of plant form and function*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 171-213
- Givnish T** (1979) On the adaptive significance of leaf form. *In* OT Solbrig, S Jain, GB Johnson, PH Raven, eds, *Topics plant population biology*. Macmillan Press Ltd., London, UK, pp 375-407
- Grassi G, Magnani F** (2005) Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. *Plant Cell and Environment* **28**: 834-849
- Gunasekera D, Berkowitz GA** (1992a) Heterogeneous stomatal closure in response to leaf water deficits is not a universal phenomenon. *Plant Physiology* **98**: 660-665
- Gunasekera D, Berkowitz GA** (1992b) Use of transgenic plants with Rubisco antisense DNA to evaluate the rate limitation of photosynthesis under water stress. *Plant Physiology* **103**: 629-635
- Gutschick VP, Simonneau T** (2002) Modelling stomatal conductance of field-grown sunflower under varying soil water content and leaf environment: comparison of three models of stomatal response to leaf environment and coupling with an abscisic acid-based model of stomatal response to soil drying. *Plant Cell and Environment* **25**: 1423-1434
- Hacke UG, Sperry SS, Pockman WT, Davis SD, Mc Culloh KA** (2001) Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia* **126**: 457-461
- Hamilton DWA, Hills A, Kohler B, Blatt MR** (2000) Ca²⁺ channels at the plasma membrane of stomatal guard cells are activated by hyperpolarization and abscisic acid.

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **97**: 4967-4972
- Hari P, Mäkelä A, Berninger F, Pohja T** (1999) Field evidence for the optimality hypothesis of gas exchange in plants. *Australian Journal of Plant Physiology* **26**: 239-244
- Hari P, Mäkelä A, Korpilahti E, Holmberg M** (1986) Optimal control of gas exchange. *Tree Physiology* **2**: 169-175
- Harley PC, Baldocchi DD** (1995) Scaling carbon dioxide and water vapour exchange from leaf to canopy in a deciduous forest. I. Leaf model parameterization. *Plant Cell and Environment* **19**: 1146-1156
- Harley PC, Tenhunen JD** (1991) Modeling the photosynthetic response of C₃ leaves to environmental factors. *In* Modeling Crop Photosynthesis – From Biochemistry to Canopy. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, Madison, USA, pp 17-39
- Harley PC, Thomas RB, Reynolds JF, Strain BR** (1992) Modelling photosynthesis of cotton grown in elevated CO₂. *Plant Cell and Environment* **15**: 271-282
- Harley PC, Weber JA, Gates DM** (1985) Interactive effects of light, leaf temperature, carbon dioxide and oxygen on photosynthesis in soybean. *Planta* **165**: 249-263
- Heckathorn SA, De Lucia EH, Zielinski RE** (1997) The contribution of drought-related decreases in foliar nitrogen concentration to decreases in photosynthetic capacity during and after drought in prairie grasses. *Physiologia Plantarum* **101**: 173-182
- Hubbard RM, Ryan MG, Stiller V, Sperry JS** (2001) Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in ponderosa pine. *Plant Cell and Environment* **24**: 113-121
- IPCC** (2001) *Climate Change 2001: The Scientific Basis - Impacts, Adaptation and Vulnerability*. Cambridge University Press, Cambridge
- Ishida H, S. S, Makino A, Mae T** (1998) Light-dependent fragmentation of the large subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in chloroplast isolated from wheat leaves *Planta* **204**: 305-309
- Jacob-Wilk D, Holland D, Goldschmidt EE, Riov J, Eyal Y** (1999) Chlorophyll breakdown by chlorophyllase: isolation and functional expression of the Chlase1 gen from ethylene-treated *Citrus* fruit and its regulation during development. *The Plant Journal* **20**: 653-661
- Jarvis AJ, Davies WJ** (1998) The coupled response of stomatal conductance to photosynthesis and transpiration. *Journal of Experimental Botany* **49**: 399-406
- Jarvis PG** (1976) The interpretation of the variations in leaf water potential and stomatal conductance found in canopies in the field. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Serie B* **273**: 593-610
- Johansson I, Karlsson M, Johanson U, Larsson C, Kjellbom P** (2000) The role of aquaporins in cellular and whole plant water balance. *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes* **1465**: 324-342
- Jones HG** (1992a) Photosynthesis and respiration. *In* HG Jones, ed, *Plants and microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology*, Ed 2nd. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 163-214
- Jones HG** (1992b) Stomata. *In* HG Jones, ed, *Plants and microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 131-162
- Jones HG, Sutherland RA** (1991) Stomatal control of xylem embolism. *Plant Cell and Environment* **14**: 607-612

- Kaiser WK, Speer M, Menzel E** (1995) Response of leaf cells to rapidly or slowly developing water deficits. In AJ Roy J., Di Castri F., ed, Time scales of biological responses to water constraints. SPB Academic Publishing, Amsterdam, pp 7-16
- Katul G, Ellsworth DS, Lai CT** (2000) Modelling assimilation and intercellular CO₂ from measured conductance: a synthesis of approaches. *Plant Cell and Environment* **23**: 1313-1328
- Katul G, Leuning R, Oren R** (2003) Relationship between plant hydraulic and biochemical properties derived from a steady-state coupled water and carbon transport model. *Plant Cell and Environment* **26**: 339-350
- Knorr W** (2000) Annual and interannual CO₂ exchanges of the terrestrial biosphere: process-based simulations and uncertainties. *Global Ecology and Biogeography* **9**: 225-252
- Kohler B, Blatt MR** (2002) Protein phosphorylation activates the guard cell Ca²⁺ channel and is a prerequisite for gating by abscisic acid. *Plant Journal* **32**: 185-194
- Kranner I, Beckett RP, Wornik S, Zorn M, Pfeifhofer HW** (2002) Revival of a resurrection plant correlates with its antioxidant status. *The Plant Journal* **31**: 13-24
- Krause GH** (1988) Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiologia Plantarum* **74**: 566-574
- Kwak JM, Nguyen V, Schroeder JI** (2006) The role of reactive oxygen species in hormonal responses. *Plant Physiology* **141**: 323-329
- Lawlor DW, Cornic G** (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell and Environment* **25**: 275-294
- Lawson T, Morison J** (2006) Visualising patterns of CO₂ diffusion in leaves. *New Phytologist* **169**: 641-643
- Le Roux X, Grand S, Dreyer E, Daudet FA** (1999) Parameterization and testing of a biochemically based photosynthesis model for walnut (*Juglans regia*) trees and seedlings. *Tree Physiology* **19**: 481-492
- Lemoine D, Cochard H, Granier A** (2002) Within crown variation in hydraulic architecture in beech (*Fagus sylvatica* L.): evidence for a stomatal control of xylem embolism. *Annals of Forest Science* **59**: 19-27
- Leuning R** (1990) Modelling stomatal behaviour and photosynthesis of *Eucalyptus grandis*. *Australian Journal of Plant Physiology* **17**: 159-175
- Leuning R** (1995) A critical appraisal of a combined stomatal-photosynthesis model for C₃ plants. *Plant Cell and Environment* **18**: 339-355
- Li Y, Sperry JS, Taneda H, Bush SE, Hacke UG** (2008) Evaluation of centrifugal methods for measuring xylem cavitation in conifers, diffuse- and ring-porous angiosperms. *New Phytologist* doi:10.1111/j.1469-8137.2007.02272.x
- Llorens L, Peñuelas J, Estiarte M** (2003) Ecophysiological responses of two Mediterranean shrubs, *Erica multiflora* and *Globularia alypum*, to experimentally drier and warmer conditions. *Physiologia Plantarum* **119**: 231-243
- Lohammer T, Larsson S, Linder S, Falk SO** (1980) FAST_ Simulation models of gaseous exchange in Scots Pine. *Ecological Bulletin* **32**: 505-523
- Lu P, Biron P, Granier A, Cochard H** (1996) Water relations of adult Norway spruce (*Picea abies* (L) Karst) under soil drought in the Vosges mountains: whole-tree hydraulic conductance, xylem embolism and water loss regulation. *Annals of Forest Science* **53**: 113-121
- Luo Y** (1991) Changes of C_i/C_a in association with stomatal and non-stomatal limitation to photosynthesis in water stresses *Abutilon theophrasti*. *Photosynthetica* **25**: 273-279
- MacFarlane C, White DA, Adams MA** (2004) The apparent feed-forward response to vapour pressure deficit of stomata in droughted, field-grown *Eucalyptus globulus* Labill. *Plant Cell and Environment* **27**: 1268-1280

- Maggio A, McCully MG, Kerdnaimongkol K, Bressan RA, Hasegawa PM, Joly RJ** (2002) The ascorbic acid cycle mediates signal transduction leading to stress-induced stomatal closure. *Functional Plant Biology* **29**: 845-852
- Maherali H, Moura CF, Caldeira MC, Willson CJ, Jackson RB** (2006) Functional coordination between leaf gas exchange and vulnerability to xylem cavitation in temperate forest trees. *Plant Cell and Environment* **29**: 571-583
- Maherali H, Pockman WT, Jackson RB** (2004) Adaptive variation in the vulnerability of woody plants to xylem cavitation. *Ecology* **85**: 2184-2199
- Martin B, Ruiz-Torres NA** (1992) Effects of water-deficit stress on photosynthesis, its components and component limitations, and on water use efficiency on wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology* **100**: 733-739
- Medrano H, Escalona JM, Bota J, Gulias J, Flexas J** (2002) Regulation of photosynthesis of C₃ plants in response to progressive drought: stomatal conductance as reference parameter. *Annals of Botany* **89**: 895-905
- Meinzer FC, Grantz DA** (1990) Stomatal and hydraulic conductance in growing sugarcane: stomatal adjustment to water transport capacity. *Plant Cell and Environment* **13**: 383-388
- Melis A** (1999) Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: what modulates the rate of photodamage in vivo? *Trends in Plant Science* **4**: 130-135
- Menzel CM** (2005) Plant Water Relations and Irrigation. *In* CM Menzel, GK Waite, eds, Litchi and Longan: Botany, Production and Uses. CABI International, Wallingford, UK, pp 183-207
- Meyer S, Cerovic ZG, Goulas Y, Montpied P, Demotes-Mainard S, Bidet LPR, Moya I, Dreyer E** (2006) Relationships between optically assessed polyphenols and chlorophyll contents, and leaf mass per area ratio in woody plants: a signature of the carbon-nitrogen balance within leaves? *Plant Cell and Environment* **29**: 1338-1348
- Meyer S, Genty B** (1999) Heterogeneous inhibition of photosynthesis over the leaf surface of *Rosa rubiginosa* L. during water stress and abscisic acid treatment: induction of a metabolic component by limitation of CO₂ diffusion. *Planta* **210**: 126-131
- Misson L, Panek JA, Goldstein AH** (2004) A comparison of three approaches to modeling leaf gas exchange in annually drought-stressed ponderosa pine forest. *Tree Physiology* **24**: 529-541
- Mitchell AK, Hinckley TM** (1993) Effects of foliar nitrogen concentration on photosynthesis and water use efficiency in Douglas-fir. *Tree Physiology* **12**: 403-410
- Monteith JL** (1995) A reinterpretation of stomatal responses to humidity. *Plant Cell and Environment* **18**: 357-364
- Moore BD, Cheng SH, Sims D, Seemann JR** (1999) The biochemical and molecular basis for photosynthetic acclimation to elevated atmospheric CO₂. *Plant Cell and Environment* **22**: 567-582
- Morales P, Sykes MT, Prentice C, Smith P, Smith B, Bugmanns H, Ziel B, Friedlingstein P, Viovy N, Sabate S, Sanchez A, Pla E, Gracia CA, Sitch S, Arneth A, Ogee J** (2005) Comparing and evaluating process-based ecosystem model predictions of carbon and water fluxes in major European forest biomes. *Global Change Biology* **11**: 2211-2233
- Morgan JM** (1984) Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* **35**: 299-319
- Morison JLL, Gallouët E, Lawson T, Cornic G, Herbin R, Baker NR** (2005) Lateral diffusion of CO₂ in leaves is not sufficient to support photosynthesis. *Plant Physiology* **139**: 254-266

- Mott KA** (1988) Do stomata respond to CO₂ concentrations other than intercellular? *Plant Physiology* **86**: 200-203
- Mott KA** (1995) Effects of patchy stomatal closure on gas exchange measurements following abscisic acid treatment. *Plant Cell and Environment* **18**: 1291-1300
- Mott KA, Buckley TN** (2000) Patchy stomatal conductance: emergent collective behaviour of stomata. *Trends in Plant Science* **5**: 258-262
- Mott KA, Parkhurst DF** (1991) Stomatal responses to humidity in air and helox. *Plant Cell and Environment* **14**: 509-515
- Munné-Bosch S, Peñuelas J** (2004) Drought-induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions. *Plant Science* **166**: 1105-1110
- Nardini A, Salleo S** (2000) Limitation of stomatal conductance by hydraulic traits: sensing or preventing xylem cavitation? *Trees* **15**: 14-24
- Nardini A, Salleo S** (2005) Water stress-induced modifications of leaf hydraulic architecture in sunflower: co-ordination with gas exchange. *Journal of Experimental Botany* **56**: 3093-3101
- Nardini A, Salleo S, Andri S** (2005) Circadian regulation of leaf hydraulic conductance in sunflower (*Helianthus annuus* L. cv Margot). *Plant Cell and Environment* **28**: 750-759
- Niinemets U** (2007) Photosynthesis and resource distribution through plant canopies. *Plant Cell and Environment* **30**: 1052-1071
- Niinemets Ü, Kull O, Tenhunen JD** (2004) Within-canopy variation in the rate of development of photosynthetic capacity is proportional to integrated quantum flux density in temperate deciduous trees. *Plant Cell and Environment* **27**: 293-313
- Niinemets Ü, Tenhunen JD** (1997) A model separating leaf structural and physiological effects on carbon gain along light gradients for the shade-tolerant species *Acer saccharum*. *Plant Cell and Environment* **20**: 845-866
- Nikolov NT, Massman WJ, Schoettle AW** (1995) Coupling biochemical and biophysical processes at the leaf level: an equilibrium photosynthesis model for leaves of C₃ plants. *Ecological Modelling* **80**: 205-235
- Niyogi KK, Li X-P, Rosenberg V, Jung H-S** (2004) Is PsbS the site of non-photochemical quenching in photosynthesis? *Journal of Experimental Botany* **56**: 375-382
- Noe SM, Giersch C** (2004) A simple dynamic model of photosynthesis in oak leaves: coupling leaf conductance and photosynthetic carbon fixation by a variable intracellular CO₂ pool. *Functional Plant Biology* **31**: 1196-1204
- Nogues S, Baker NR** (2000) Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. *Journal of Experimental Botany* **51**: 1309-1317
- Norman JM** (1982) Simulation of microclimates. In JL Hatfield, I Thompson, eds, *Biometeorology in Integrated Pest Management*. Academic Press, New York, pp 65-99
- Ogle K, Reynolds JF** (2002) Desert dogma revisited: coupling of stomatal conductance and photosynthesis in the desert shrub, *Larrea tridentata*. *Plant Cell and Environment* **25**: 909-921
- Oren R, Sperry JS, Katul GG, Pataki DE, Ewers FW, Phillips N, Schäfer KVR** (1999) Survey and synthesis of intra- and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. *Plant Cell and Environment* **22**: 1515-1526
- Pammenter NW, Vander Willigen C** (1998) A mathematical and statistical analysis of the curves illustrating vulnerability of xylem to cavitation. *Tree Physiology* **18**: 589-593

- Pankovic D, Sakac Z, Kevresan S, Plesnicar M** (1999) Acclimation to long-term water deficit in the leaves of two sunflower hybrids: photosynthesis, electron transport and carbon metabolism. *Journal of Experimental Botany* **50**: 127-138
- Parry MAJ, Andralojc PJ, Khan S, Lea PJ, Keys AJ** (2002) Rubisco activity: Effects of drought stress. *Annals of Botany* **89**: 833-839
- Paul MJ, Foyer CH** (2001) Sink regulation of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* **52**: 1383-1400
- Pei ZM, Murata Y, Benning G, Thomine S, Klusener B, Allen GJ, Grill E, Schroeder JI** (2000) Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. *Nature* **406**: 731-734
- Peterson AG, Ball JT, Luo YQ, Field CB, Reich PB, Curtis PS, Griffin KL, Gunderson CA, Norby RJ, Tissue DT, Forstreuter M, Rey A, Vogel CS** (1999) The photosynthesis leaf nitrogen relationship at ambient and elevated atmospheric carbon dioxide: a meta-analysis. *Global Change Biology* **5**: 331-346
- Pfannschmidt T** (2003) Chloroplast redox signals: how photosynthesis controls its own genes. *Trends in Plant Science* **8**: 33-41
- Poggi I, Polidori JJ, Gandoin JM, Paolacci V, Battini M, Albertini M, Améglio T, Cochard H** (2007) Stomatal regulation and xylem cavitation in Clementine (*Citrus clementina* Hort) under drought conditions. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* **82**: 845-848
- Pongsomboon W, Whiley AW, Stephenson RA, Subhadrabandhu S** (1992) Development of water stress and stomatal closure in juvenile mango (*Mangifera indica* L.) stress. *Acta Horticulturae* **321**: 496-503
- Pons TL, Bergkotte M** (1996) Nitrogen allocation in response to partial shading of a plant: possible mechanisms. *Physiologia Plantarum* **98**: 571-577
- Popp M, Lied W, Bierbaum U, Gross M, Grosse-Schulte T, Hams S, Oldenettel J, Schueler S, Wiese J** (1997) Cyclitols-stable osmotica in trees. In H Rennenberg, W Eschrich, H Ziegler, eds, *Trees-contribution to modern Tree Physiology*. Backhuys, Leiden, The Netherlands, pp 257-270
- Pospisilova J, Synkova H, Rulcova J** (2000) Cytokinins and water stress. *Biologia plantarum* **43**: 321-328
- Praexedes SC, DaMatta FM, Loureiro ME, Ferrão MAG, Cordeiro AT** (2006) Effects of long-term soil drought on photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*) leaves. *Environmental and Experimental Botany* **56**: 263-273
- Quick WP, Chaves MM, Wendler R, David M, Rodrigues ML, Passaharinho JA, Pereira JS, Adcock MD, Leegood RC, Stitt M** (1992) The effect of water stress on photosynthetic carbon metabolism in four species grown under field conditions. *Plant Cell and Environment* **15**: 25-35
- Quinones MA, Lu Z, Zeiger E** (1998) Genetic variation of stomatal conductance, blue light sensitivity and zeaxanthin content in guard cells of Pima cotton (*Gossypium barbadense*) *Physiologia Plantarum* **103**: 560-566
- R Development Core Team** (2005) *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria
- Reichstein M, Tenhunen JD, Rouspard O, Ourcival J-M, Rambal S, Miglietta F, Peressotti A, Pecchiariis M, Tirone G, Valentini R** (2002) Severe drought effects on ecosystem CO₂ and H₂O fluxes at three mediterranean evergreen sites: revision of current hypotheses? *Global Change Biology*: 999-1017

- Ribas-Carbo M, Taylor NL, Giles L, Busquets S, Finnegan PM, Day DA, Lambers H, Medrano H, Berry JA, Flexas J** (2005) Effects of water stress on respiration in soybean leaves. *Plant Physiology* **139**: 466-473
- Roelfsema MRG, Hedrich R** (2005) In the light of stomatal opening: new insights into 'the Watergate'. *New Phytologist* **167**: 665-691
- Rogers A, Allen DJ, Davey PA, Morgan PB, Ainsworth EA, Bernacchi CJ, Cornic G, Dermody O, Dohleman FG, Heaton EA, Mahoney J, Zhu XG, Delucia EH, Ort DR, Long SP** (2004) Leaf photosynthesis and carbohydrate dynamics of soybeans grown throughout their life-cycle under Free-Air Carbon dioxide Enrichment. *Plant Cell and Environment* **27**: 449-458
- Rook F, Hadingham SA, Li Y, Bevan MW** (2006) Sugar and ABA response pathways and the control of gene expression. *Plant Cell and Environment* **29**: 426-434
- Rouhi V, Samson R, Lemeur R, Van Damme P** (2007) Photosynthetic gas exchange characteristics in three different almond species during drought stress and subsequent recovery. *Environmental and Experimental Botany* **59**: 117-129
- Sack L, Holbrook NM** (2006) Leaf hydraulics. *Annual Review of Plant Biology* **57**: 361-381
- Sage RF** (1994) Acclimation of photosynthesis to increasing atmospheric CO₂: the gas exchange perspective. *Photosynthesis Research* **39**: 351-368
- Sala A, Tenhunen JD** (1996) Simulations of canopy net photosynthesis and transpiration in *Quercus ilex* L. under influence of seasonal drought. *Agricultural and Forest Meteorology* **78**: 203-222
- Saliendra NZ, Sperry JS, Comstock JP** (1995) Influence of leaf water status on stomatal response to humidity, hydraulic conductance, and soil drought in *Betula occidentalis* Planta **196**: 357-366
- Salleo S, Nardini A, Pitt F, Lo Gullo MA** (2000) Xylem cavitation and hydraulic control of stomatal conductance in laurel (*Laurus nobilis* L.). *Plant Cell and Environment* **23**: 71-79
- Sangsing K, Kasemsap P, Thanisawanyangkura S, Sangkhasila K, Gohet E, Thaler P, Cochard H** (2004) Xylem embolism and stomatal regulation in two rubber clones (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *Trees* **18**: 109-114
- Schroeder JI, Allen GJ, Hugouvieux V, Kwak JM, Waner D** (2001) Guard cell signal transduction. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **52**: 627-658
- Shimazaki KI, Doi M, Assmann SM, Kinoshita T** (2007) Light regulation of stomatal movement. *Annual Review of Plant Biology* **58**: 219-247
- Sircelj H, Tausz M, Grill D, Batic F** (2007) Detecting different levels of drought stress in apple trees (*Malus domestica* Borkh.) with selected biochemical and physiological parameters. *Scientia Horticulturae* doi: 10.1016/j.scientia.2007.04.012
- Smith E** (1937) The influence of light and carbon dioxide on photosynthesis. *Journal of General Physiology* **20**: 289-411
- Song XG, She XP, He JM, Huang C, Song TS** (2006) Cytokinin- and auxin-induced stomatal opening involves a decrease in levels of hydrogen peroxide in guard cells of *Vicia faba*. *Functional Plant Biology* **33**: 573-583
- Sperry JS** (1986) Relationship of xylem embolism to xylem pressure potential, stomatal closure, and shoot morphology in the palm *Rhapis excelsa*. *Plant Physiology* **80**: 110-116
- Sperry JS, Adler FR, Campbell GS, Comstock JP** (1998) Limitation of plant water use by rhizosphere and xylem conductance: results from a model. *Plant Cell and Environment* **21**: 347-359

- Sperry JS, Donnelly JR, Tyree MT** (1988a) A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant Cell and Environment* **11**: 35-40
- Sperry JS, Hacke UG, Oren R, Comstock J** (2002) Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. *Plant Cell and Environment* **25**: 251-263
- Sperry JS, Hacke UG, Wheeler JK** (2005) Comparative analysis of end wall resistivity in xylem conduits. *Plant Cell and Environment* **28**: 456-465
- Sperry JS, Tyree MT** (1988) Mechanism of water stress-induced xylem embolism. *Plant Physiology* **88**: 581-587
- Sperry JS, Tyree MT, Donnelly JR** (1988b) Vulnerability of xylem to embolism in a mangrove vs. an inland species of Rhizophoraceae. *Physiologia Plantarum* **74**: 276-283
- Stewart JB** (1988) Modelling surface conductance of pine forest. *Agricultural and Forest Meteorology* **43**: 19-35
- Taiz L, Zeiger E** (2002) *Plant Physiology*, Ed 3rd. Sinauer, Sunderland, Massachusetts
- Tanaka Y, Sano T, Tamaoki M, Nakajima N, Kondo N, Hasezawa S** (2005) Ethylene inhibits abscisic acid-induced stomatal closure in Arabidopsis. *Plant Physiology* **138**: 2337-2343
- Tanaka Y, Sano T, Tamaoki M, Nakajima N, Kondo N, Hasezawa S** (2006) Cytokinin and auxin inhibit abscisic acid-induced stomatal closure by enhancing ethylene production in Arabidopsis. *Journal of Experimental Botany* **57**: 2259-2266
- Tardieu F, Davies WJ** (1993) Integration of hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and water status of droughted plants. *Plant Cell and Environment* **16**: 341-349
- Tardieu F, Lafarge T, Simonneau T** (1996) Stomatal control by fed or endogenous xylem ABA in sunflower: interpretation of correlation between leaf water potential and stomatal conductance in anisohydric species. *Plant Cell and Environment* **19**: 75-84
- Tardieu F, Simonneau T** (1998) Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. *Journal of Experimental Botany* **49**: 419-432
- Tausend PC, Goldstein G, Meinzer FC** (2000) Water utilization, plant hydraulic properties and xylem vulnerability in three contrasting coffee (*Coffea arabica*) cultivars. *Tree Physiology* **20**: 159-168
- Tenhunen JD, Sala A, Harley PC, Dougherty RL, Reynolds JF** (1990) Factors influencing carbon fixation and water use by mediterranean sclerophyll shrubs during summer drought. *Oecologia* **82**: 381-393
- Terashima I** (1992) Anatomy of non-uniform leaf photosynthesis. *Photosynthesis Research* **31**: 195-212
- Tezara W, Mitchell VJ, Driscoll SD, Lawlor DW** (1999) Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature* **401**: 914-917
- Thiévend P, Mercier C, Guilbot A** (1972) Determination of starch with glucoamylase. In R Whistler, ed, *Methods in carbohydrate chemistry*, Vol 6. Academic Press, New York, USA, pp 100-105
- Thomas DS, Eamus D, Bell D** (1999a) Optimization theory of stomatal behaviour. I. A critical evaluation of five methods of calculation. *Journal of Experimental Botany* **50**: 385-392
- Thomas DS, Eamus D, Bell D** (1999b) Optimization theory of stomatal behaviour. II. Stomatal responses of several tree species of north Australia to changes in light, soil and atmospheric water content and temperature. *Journal of Experimental Botany* **50**: 393-400

- Tuzet A, Perrier A, Leuning R** (2003) A coupled model of stomatal conductance, photosynthesis and transpiration. *Plant Cell and Environment* **26**: 1097-1116
- Tyerman SD, Bohnert HJ, Maurel C, Steudle E, Smith JAC** (1999) Plant aquaporins: their molecular biology, biophysics and significance for plant water relations. *Journal of Experimental Botany* **50**: 1055-1071
- Tyree MT, Engelbrecht BMJ, Vargas G, Kursar TA** (2003) Desiccation tolerance of five tropical seedlings in Panama. Relationship to a field assessment of drought performance. *Plant Physiology* **132**: 1439-1447
- Tyree MT, Sperry JS** (1988) Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction caused by dynamic water stress? *Plant Physiology* **88**: 574-580
- Tyree MT, Sperry JS** (1989) Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**: 19-38
- Tyree MT, Zimmermann MH** (2002) *Xylem Structure and the Ascent of sap*, 2nd edition. Springer, Berlin, Germany
- Uddling J, Hall M, Wallin G, Karlsson PE** (2005) Measuring and modelling stomatal conductance and photosynthesis in mature birch in Sweden. *Agricultural and Forest Meteorology* **132**: 115-131
- Urban L, Alphonsout L** (2007) Girdling decreases photosynthetic electron fluxes and induces sustained photoprotection in mango leaves. *Tree Physiology* **27**: 345-352
- Urban L, Jannoyer M** (2004) Functioning and role of stomata in mango leaves. *Acta Horticulturae* **645**: 441-446
- Urban L, Jegouzo L, Damour G, Vandame M, François C** (2008) The effect of flowering on some parameters of the mango leaf photosynthesis model. *Tree Physiology* **in press**
- Urban L, Le Roux X, Sinoquet H, Jaffuel S, Jannoyer M** (2003) A biochemical model of photosynthesis for mango leaves: evidence for the effect of fruit on photosynthetic capacity of nearby leaves. *Tree Physiology* **23**: 289-300
- Urban L, Léchaudel M** (2005) Effect of leaf-to-fruit ratio on leaf nitrogen content and net photosynthesis in girdled branches of *Mangifera indica* L. *Trees* **19**: 564-571
- Urban L, Léchaudel M, Lu P** (2004a) Effect of fruit load and girdling on leaf photosynthesis in *Mangifera indica* L. *Journal of Experimental Botany* **55**: 2075-2085
- Urban L, Lu P, Thibaud R** (2004b) Inhibitory effect of flowering and early fruit growth on leaf photosynthesis in mango. *Tree Physiology* **24**: 387-399
- Urban L, Montpied P, Normand F** (2006) Season effects on leaf nitrogen partitioning and photosynthetic water use efficiency in mango. *Journal of Plant Physiology* **163**: 48-57
- Valentini R, Epron D, De Angelis P, Mateucci G, Dreyer E** (1995) In situ estimation of net CO₂ assimilation, photosynthetic electron flow and photorespiration in Turkey oak (*Q. cerris* L.) leaves: diurnal cycles under different levels of water supply. *Plant Cell and Environment* **18**: 631-640
- Van Wijk MT, Dekker SC, Bouten W, Bosveld FC, Kohsiek W, Kramer K, Mohren GMJ** (2000) Modeling daily gas exchange of a Douglas-fir forest: comparison of three stomatal conductance models with and without a soil water stress function. *Tree Physiology* **20**: 115-122
- Vavasseur A, Raghavendra AS** (2005) Guard cell metabolism and CO₂ sensing. *New Phytologist* **165**: 665-682
- Venables WN, Ripley BD** (2002) *Modern Applied Statistics with S*, 4th Ed. Springer, Berlin, Heidelberg, New York
- Veselova SV, Farhutdinov RG, Veselov SY, Kudoyarova GR, Veselov DS, Hartung W** (2005) The effect of root cooling on hormone content, leaf conductance and root

- hydraulic conductivity of durum wheat seedlings (*Triticum durum* L.). *Journal of Plant Physiology* **162**: 21-26
- von Caemmerer S** (2000) Modeling C₃ photosynthesis. In CSIRO, ed, *Biochemical models of leaf photosynthesis*. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia
- von Caemmerer S, Farquhar GD** (1981) Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* **153**: 376-387
- Walcroft AS, Whitehead D, Silvester WB, Kelliher FM** (1997) The response of photosynthetic model parameters to temperature and nitrogen concentration in *Pinus radiata* D. Don. *Plant Cell and Environment* **20**: 1338-1348
- Wang YP, Leuning R** (1998) A two-leaf model for canopy conductance, photosynthesis and partitioning of available energy I. Model description and comparison with a multi-layered model. *Agricultural and Forest Meteorology* **91**: 89-111
- Waring RH** (1991) Responses of evergreen trees to multiple stresses. In HA Mooney, WE Winner, EJ Pell, eds, *Response of Plants to Multiple Stresses*. Academic Press, Inc., New York, USA, pp 371-390
- Warren CR, Adams MA** (2006) Internal conductance does not scale with photosynthetic capacity: implications for carbon isotope discrimination and the economics of water and nitrogen use in photosynthesis. *Plant Cell and Environment* **29**: 192-201
- Warren CR, Livingston NJ, Turpin DH** (2004) Water stress decreases the transfer conductance of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) seedlings. *Tree Physiology* **24**: 971-979
- Webb RA** (1972) Use of the boundary Line in the analysis of biological data. *Journal of Horticultural Science* **47**: 309-319
- Whiley AW, Schaffer B** (1997) Stress physiology. In RE Litz, ed, *The Mango*. Botany, production and uses. CABI International, Wallingford, UK.
- White DA, Beadle C, Sands PJ, Worledge D, Honeysett JL** (1999) Quantifying the effect of cumulative water stress on stomatal conductance of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus nitens*: a phenomenological approach. *Australian Journal of Plant Physiology* **26**: 17-27
- Wilkinson S, Corlett JE, Oger L, Davies WJ** (1998) Effects of xylem pH on transpiration from wild-type and *flacca* tomato leaves. *Plant Physiology* **117**: 703-709
- Wilson KB, Baldocchi D, Hanson PJ** (2000) Spatial and seasonal variability of photosynthetic parameters and their relationship to leaf nitrogen in a deciduous forest. *Tree Physiology* **20**: 565-578
- Wingler A, Lea PJ, Quick WP, Leegood RC** (2000) Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* **355**: 1517-1529
- Wong SC, Cowan IR, Farquhar GD** (1978) Leaf conductance to assimilation in *Eucalyptus pauciflora* Sieb. ex Spreng. *Plant Physiology* **62**: 670-674
- Wong SC, Cowan IR, Farquhar GD** (1979) Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature* **282**: 424-426
- Xu L, Baldocchi D** (2003) Seasonal trends in photosynthetic parameters and stomatal conductance of blue oak (*Quercus douglasii*) under prolonged summer drought and high temperature. *Tree Physiology* **23**: 865-877
- Yamamoto HY** (1979) Biochemistry of the violaxanthin cycle in higher plants. *Pure Applied Chemistry* **51**: 639-648
- Zeiger E, Talbott LD, Frechilla S, Srivastava A, Zhu JX** (2002) The guard cell chloroplast: a perspective for the twenty-first century. *New Phytologist* **153**: 415-424
- Zhang SQ, Outlaw WH** (2001) The guard-cell apoplast as a site of abscisic acid accumulation in *Vicia faba* L. *Plant Cell and Environment* **24**: 347-355

- Zhou Y, Lam HM, Zhang J** (2007) Inhibition of photosynthesis and energy dissipation induced by water and high light stresses in rice. *Journal of Experimental Botany* **58**: 1207-1217
- Zwieniecki MA, Melcher PJ, Boyce CK, Sack L, Holbrook NM** (2002) Hydraulic architecture of leaf venation in *Laurus nobilis* L. *Plant Cell and Environment* **25**: 1445-1450