



HAL
open science

Croissance et $\delta^{13}\text{C}$ des cernes de trois essences forestières tempérées (*Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* et *Pinus sylvestris*) face aux variations climatiques à l'échelle interannuelle et saisonnière

Alice Michelot

► **To cite this version:**

Alice Michelot. Croissance et $\delta^{13}\text{C}$ des cernes de trois essences forestières tempérées (*Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* et *Pinus sylvestris*) face aux variations climatiques à l'échelle interannuelle et saisonnière. Sciences agricoles. Université Paris Sud - Paris XI, 2011. Français. NNT : 2011PA112103 . tel-00652599

HAL Id: tel-00652599

<https://theses.hal.science/tel-00652599>

Submitted on 15 Dec 2011

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.

Université Paris-sud 11 – UFR Sciences d'Orsay
Année universitaire 2010-2011

THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Ecophysiologie végétale

Présentée par
Alice MICHELOT

Pour obtenir le grade de :
Docteur en Sciences de l'Université Paris-sud 11 – Orsay

Préparée au :
Laboratoire Ecologie, Systématique et Evolution UMR 8079

Croissance et $\delta^{13}\text{C}$ des cernes de trois essences forestières tempérées
(*Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* et *Pinus sylvestris*) face aux
variations climatiques à l'échelle interannuelle et saisonnière

Soutenue le 1^{er} Juillet 2011 devant la commission d'examen :

Daniel Epron, Professeur, Nancy-Université - Université Henri Poincaré	rapporteur
Rolf Siegwolf, Directeur de recherche, Paul Scherrer Institut	rapporteur
Paul Leadley, Professeur, Université Paris-sud 11	examineur
Stéphane Ponton, Chargé de recherche, INRA-Nancy	examineur
Claire Damesin, Professeure, Université Paris-sud 11	co-directrice de thèse
Eric Dufrêne, Directeur de recherche CNRS	co-directeur de thèse

Résumé

Il est probable que les changements climatiques futurs diminuent la croissance forestière en région tempérée. Cette vulnérabilité des espèces face aux contraintes du climat peut être étudiée via les cernes des arbres. Ces derniers sont en effet des archives du carbone utilisé par les arbres pour leur croissance, en lien avec les caractéristiques spécifiques de gestion du carbone et de réponse au climat. L'objectif principal de cette thèse est de déterminer, à partir des cernes, les réponses fonctionnelles de trois essences forestières tempérées (*Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* et *Pinus sylvestris*) aux variations climatiques. Pour cela, nous avons réalisé une approche expérimentale en étudiant deux proxys (ou indices climatiques) : la croissance et la composition isotopique en ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$) des cernes, à deux échelles temporelles : interannuelle et saisonnière. A l'échelle interannuelle, sur la période 1960-2007, une étude dendrochronologique a été réalisée sur les trois essences et a été complétée par l'analyse du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes (en relation avec le climat). A l'échelle saisonnière, nous avons déterminé précisément, sur une année (2009), les dynamiques de croissance du cerne et les variations de $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne. Nos résultats mettent en évidence une sensibilité de la croissance et du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes des trois essences aux sécheresses estivales. Grâce à la complémentarité des proxys et des échelles temporelles, nous avons également trouvé des réponses climatiques contrastées entre espèces. La croissance du Hêtre est la plus réactive au climat d'une année à l'autre. Cette croissance ainsi que le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes sont fortement sensibles aux températures de juillet, en plus des précipitations printanières et estivales. Cette réponse immédiate au climat peut être expliquée par une forte dépendance de la croissance au fonctionnement foliaire et une faible utilisation des réserves carbonées pour assurer le début de la croissance. Le Chêne présente lui des arrières-effets climatiques sur sa croissance, via une forte sensibilité aux sécheresses de l'automne précédent, contrairement aux deux autres espèces. Ce résultat est à mettre en relation avec l'utilisation importante de réserves carbonées par rapport aux assimilats pour la croissance du bois initial, cette dernière étant très rapide, comme nous l'avons observé grâce à l'analyse saisonnière de la croissance. Concernant le Pin, la croissance, parce qu'elle dure plus longtemps que celle des décidues, est influencée par les températures et les précipitations de juin jusqu'à août. Le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes de pins est celui qui enregistre le plus la réponse au VPD, aussi bien à l'échelle saisonnière qu'interannuelle, probablement du fait d'une forte sensibilité de la conductance stomatique à ce paramètre. Les informations fournies par les cernes permettent d'appréhender la survie des espèces face aux changements climatiques futurs et peuvent être utilisées pour comprendre le dépérissement lié à ces changements.

Mots-clés : Climat, cerne, croissance, isotope stable du carbone, variations interannuelles et saisonnières, forêt tempérée, *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea*, *Pinus sylvestris*.

Abstract

Climate change will probably alter the tree growth in temperate forests. The species vulnerability to climatic constraints can be studied using tree rings. The latter's are natural archives of carbon used for tree growth and are linked to species carbon transfer and response to climate. The main thesis objective was to determine the functional response of three temperate species (*Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* et *Pinus sylvestris*) under climatic variations using tree rings. For this, an experimental approach was conducted using two proxies (or climatic indices): the radial growth and the carbon isotope composition in ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$) of rings at two time scales: interannual and intra-annual (or seasonal). At interannual scale, over the period 1960-2007, a dendrological study was done for three species and was completed by analysis of ring $\delta^{13}\text{C}$ (in relation to climate). Over one year (2009) at seasonal scale, we precisely determined the radial growth dynamics and the variations in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$. Our results highlighted growth and ring $\delta^{13}\text{C}$ sensitivities to summer droughts. Because of proxy and time-scale complementarities, we have also found contrasted climatic responses among species. The beech growth is the most year-to-year responsive to climate. This growth and ring $\delta^{13}\text{C}$ were highly sensitive to temperature in July in addition to spring and summer precipitation. This quick response of beech growth to climate could be explained by strong growth dependence to leaf functioning and low carbon reserve use to ensure the growth beginning. Contrary to the two others species, long-term consequences of climate on oak growth were found, via a high sensitivity to previous autumnal droughts. This result could be related to the high use of carbon reserves compared to assimilates for earlywood growth, which was very quick as observed by seasonal growth analysis. Concerning pine, the growth was influenced by temperatures and precipitation from June to August because the growth lasted longer for pine than that of the deciduous species. At both seasonal and interannual scales, the ring $\delta^{13}\text{C}$ of pine trees was the best recorder of the VPD response, probably because of strong sensitivity of stomatal conductance to VPD. The information provided by tree rings allow to anticipate the species survival under future climate change and could be used to understand the declining due to these changes.

Key-words: Climate, tree ring, growth, stable carbon isotope, interannual and seasonal variations, temperate forest, *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea*, *Pinus sylvestris*.

Remerciements

Je retiendrais de ces années de thèse avant tout une aventure humaine riche en échanges et en rencontres inoubliables qui m'ont permis de mener à bien cette étude scientifique.

Un grand merci tout d'abord à ma directrice de thèse, Claire, pour son encadrement attentif depuis mon premier stage en 2004 (7 ans déjà !) jusqu'à aujourd'hui. Merci pour tout ce que tu m'as appris scientifiquement et pour la confiance et le soutien que tu m'as toujours accordés. Tes qualités humaines exceptionnelles m'ont beaucoup apporté tout au long de cette thèse et je ne t'en remercierai jamais assez. Je remercie également Eric, en tant que co-directeur de cette thèse. Merci pour les nombreux conseils que tu m'as donnés pour la construire et la finaliser, les manips de terrain où tu m'as accompagné et de m'avoir appris à défendre mes idées.

Je remercie toutes les personnes de l'équipe "Ecophysiologie végétale" du laboratoire ESE. En particulier :

- Chantal, pour tes encouragements de tous les instants, ta générosité, ton écoute, ton aide en biochimie et nos nombreux échanges que je n'oublierai pas...
- Angélique (RP the best !) pour ta bonne humeur et toutes nos discussions, plus ou moins sérieuses, qui m'ont si souvent donné le sourire pendant ma dernière année. Je te souhaite une bonne réussite pour ta thèse.
- Laurent pour ton aide précieuse sur le terrain, Stéphane pour le carottage sous la neige et les fous rires associés, Jean-Yves pour ta bonne humeur et les fameuses rillettes, Daniel mon "coloc" de bureau, Nico D. pour tes conseils, tes encouragements et ton efficacité dans de nombreux domaines, Christophe pour ton aide sur *Castanea* toujours avec sympathie, Kamel pour tes conseils et ta franchise, Touhami pour notre soutien mutuel, les repas tunisiens et les cours d'arabe ("chokrane"), Constance ma nouvelle "coloc" à qui je souhaite bon courage pour la dernière ligne droite et Ambre, la star du salto, pour toutes nos discussions très agréables.

Je remercie ceux qui ont été docteurs avant moi et m'ont montré la voie...

- Thomas, pour tout ce que tu m'as appris scientifiquement, pour les manips qu'on a faites ensemble, ta gentillesse et toutes nos discussions qui m'ont manqué par la suite.
- Nico CPB, Florence, Alissar et Naïma pour tous nos échanges au labo ou en dehors.
- Claire M. pour tes conseils, tes relectures et toute la bonne humeur que tu as apportée pendant ton "séjour" à Orsay.

Je tiens également à remercier Michelle et Patricia pour leur aide aux broyages et leurs encouragements. Merci à mes stagiaires : Fabien Spicher, Sophie Monsarrat et Lucie Rupil et aux étudiants qui m'ont permis de transmettre ce que j'ai appris avec grand plaisir et passion. Merci à JC, pour sa sympathie et sa bonne humeur, notamment lors des enseignements à Paimpont.

Je remercie toutes les personnes et équipes avec qui j'ai collaboré et qui m'ont toujours si bien accueillie :

- Toute l'équipe "Phytoécologie forestière" de l'INRA-Nancy. En particulier, François Géréma qui m'a énormément aidée dans mes manips de terrain toujours avec gentillesse et bonne humeur. Merci pour toutes nos discussions autres que scientifiques et le chocolat blanc ! Nathalie Bréda pour ses nombreux conseils et son accompagnement tout au long de ma thèse, Stéphane Ponton pour ses encouragements, Nicolas Métral pour les conseils techniques et Anne-Sophie (promo EBE !).
- Toute l'équipe GLACCIOS du LSCE. Monique Pierre pour son aide dans toutes les manips toujours avec bienveillance et nos discussions ainsi que Valérie Daux, Nathalie Etien, Valérie Masson-Delmotte et Michel Stievenard pour leur accueil et leurs conseils.

- Toute l'équipe CPQB du LERFoB. En particulier, Cyrille Rathgeber pour son accueil et tous ses précieux conseils, Alain Mercanti pour l'affutage des tarières et Henri.

- L'équipe de la plateforme métabolisme-métabolome à l'IBP. Merci à Caroline M. pour sa gentillesse ainsi que son aide à l'HPLC, à Marlène, Florence et Caroline L. pour toutes les analyses isotopiques notamment celles de mes mini-lamelles de cernes !

- Sonia Simard, arrivée tout droit de Chicoutimi. Merci pour ton aide tout au long de ces six mois de manip saisonnière, tes relectures, l'apprentissage du vocabulaire québécois et le cours de sushis.

Je remercie les membres de mon comité de thèse : Franz Badeck, Nathalie Bréda, Valérie Daux et Stéphane Ponton pour leurs suggestions et l'apport de leurs connaissances scientifiques.

Je remercie tous les membres de mon jury d'avoir accepté si rapidement d'en faire partie.

Et maintenant, je remercie bien sûr toute ma famille et mes amis qui m'ont soutenu pendant ces années de thèse.

Merci à ma mère, mon beau-père, mon père et ma belle-mère pour l'éducation que j'ai reçue, à mes 5 frères et sœurs : Juju, Alexis, Armand, Vali et Lulu, mes grands-parents, mes oncles et tantes et mes cousins pour leur soutien.

Merci à tous mes amis avec qui j'ai partagé tellement de bons moments : Aude, les princesses : Cam, ma soce, Clem et Steph, les Cabotins pour leur amitié de toujours : PE, Manotte, Amélie, Alban, Fred, Sabine, HBA, Marie, Lud & co..., le "groupe" : Raphou, Audrey, Caro, Steph, et aussi Sandrine, Alan et baby Jérémy, Aurélie, busard, Luck, Nawak, David, Titi & Ludo, Mag & Nico, Flo, tous les amis du foot, les doctorants rencontrés aux doctoriales pour les tennis et autres ainsi que les secouristes de la CRR.

Merci à Michel, qui m'a toujours soutenu et qui m'apporte énormément de bonheur chaque jour.

Mes pensées vont aussi à mon amie Aurore, partie bien trop vite...

Je tiens enfin à dédier cette thèse à ma mère pour tout ce qu'elle a fait pour moi et toutes les valeurs qu'elle m'a transmises, en particulier sa combativité.

Sommaire

Introduction	7
1. Les écosystèmes forestiers face aux changements climatiques.....	8
1.1. Les changements climatiques	8
1.2. Le rôle global des forêts dans le bilan de carbone	9
1.3. Impacts des changements climatiques sur les forêts tempérées	10
2. Les cernes : archives du fonctionnement de l'arbre face aux variations climatiques.....	11
2.1. Utilisation des cernes en écologie et climatologie	11
2.2. Mesures des largeurs de cerne à l'échelle interannuelle	12
2.3. Suivis de la croissance à l'échelle saisonnière	13
2.4. Le $\delta^{13}\text{C}$: un indicateur du fonctionnement de l'arbre	14
2.5. Le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes à l'échelle interannuelle	16
2.6. A l'échelle saisonnière : le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne.....	17
3. Une approche comparative de trois espèces en forêt tempérée	19
3.1. Site d'étude	19
3.2. Le Hêtre : une espèce décidue à pores diffus	20
3.3. Le Chêne : une espèce décidue à zone poreuse.....	22
3.4. Le Pin : une espèce sempervirente à bois homoxylé.....	23
4. Objectifs de la thèse et expérimentations principales.....	23
Chapitre I. Réponse climatique interannuelle de la croissance et du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes sur la période 1960-2007.....	28
I.1. Réponse climatique interannuelle de la croissance des trois essences	29
I.1.1. Présentation	29
I.1.2. Principaux résultats et discussion	29
I.1.3. Article.....	32
I.2. Réponse climatique interannuelle du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes des trois essences	60
I.2.1. Présentation	60
I.2.2. Matériels et méthodes.....	61
I.2.3. Principaux résultats	63
I.2.4. Discussion	70
Chapitre II : Analyse saisonnière de la croissance des trois essences	75
II.1. Présentation.....	76
II.2. Principaux résultats et discussion.....	77
II.3. Article.....	79
Chapitre III : Variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne des trois essences	106
III.1. Liens entre la WUE et le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne du Chêne	107
III.1.1. Présentation.....	107
III.1.2. Principaux résultats et discussion	108
III.1.3. Article	110
III.2. Variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne	140
III.2.1. Présentation.....	140
III.2.2. Principaux résultats et discussion	141
III.2.3. Article	143
Conclusion et perspectives.....	169
1. Les cernes : indicateurs de la réponse climatique et fonctionnelle des espèces	170
1.1. Le Hêtre	170
1.2. Le Chêne	172
1.3. Le Pin.....	173
2. Méthodologies utilisées pour l'étude saisonnière	175
2.1. L'utilisation des micro-carottes	175
2.2. Matière organique ou cellulose pour le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne ?.....	176
3. La vulnérabilité des espèces aux changements climatiques	178
4. Le dépérissement.....	179
Conclusion générale.....	181
Références	184
Annexes	197

Introduction

1. Les écosystèmes forestiers face aux changements climatiques

1.1. Les changements climatiques

Depuis le début du XX^e siècle, les températures globales ont augmenté de l'ordre de 0.9°C et le réchauffement s'est accéléré depuis 1980 (**Fig. 1**). Parmi les 10 années les plus chaudes depuis 131 ans, 9 font partie de la dernière décennie 2000-2010 (NOAA, 2011). Une des causes de ce réchauffement climatique est l'effet de serre additionnel dû à l'homme, notamment via l'accroissement du CO₂ atmosphérique (de 336 à 385 ppm de 1980 à 2010). Le CO₂ représentait 77 % des émissions anthropiques de gaz à effet de serre en 2004 (IPCC, 2007). La plupart des prédictions climatiques prévoient une augmentation de la fréquence et de l'intensité des sécheresses dans les années à venir. Ainsi, dans la région sud de l'Europe, intégrant la majeure partie de la France, il est prévu un accroissement de la température moyenne annuelle de + 3.5 °C et une diminution des précipitations annuelles de -12 % en 2080-2099 comparée à 1980-1999 (estimations moyennes utilisant les simulations de 21 modèles climatiques et un scénario moyen d'émissions de gaz à effet de serre : A1B, IPCC 2007, Christensen et al., 2007). Concernant notre site d'étude (la forêt de Fontainebleau), une partie de ces modèles (ceux qui sont paramétrés pour cette région), prévoient une plus forte augmentation des températures estivales (de 3.5 à 4.0°C) que des températures hivernales (de 2.0 à 2.5 °C) avec une légère augmentation des précipitations hivernales (de 5 à 10 %) et inversement une nette diminution des précipitations estivales (de 20 à 30 %, **Fig. 2**). Ces estimations sont très variables spatialement et les incertitudes sont grandes notamment sur le scénario futur des émissions de gaz à effet de serre.

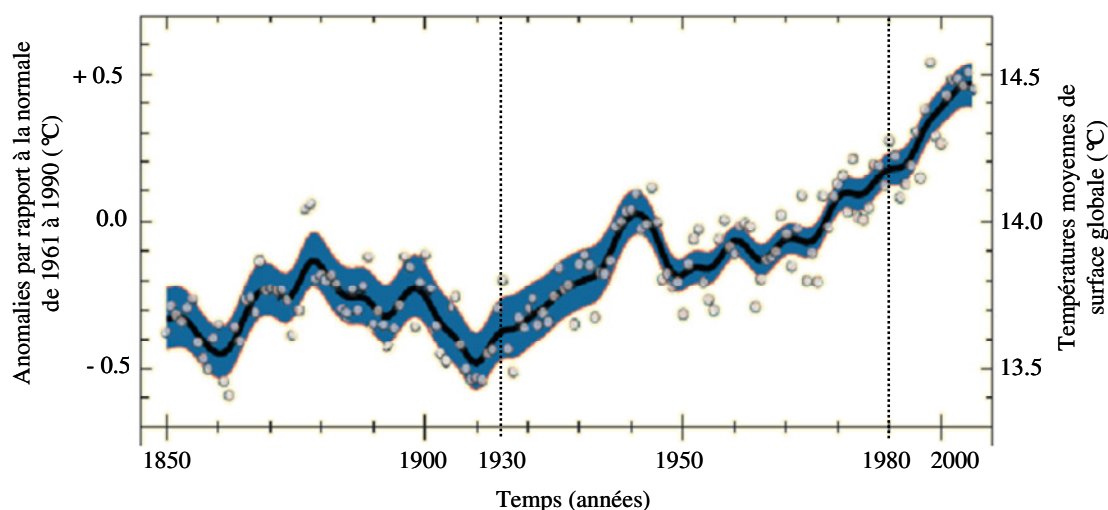


Figure 1. Evolution des températures moyennes de surface globale de 1850 à 2005. Les points représentent les valeurs annuelles et la courbe représente la moyenne mobile sur 10 ans. La zone bleue indique l'intervalle des incertitudes estimées (source IPCC, 2007).

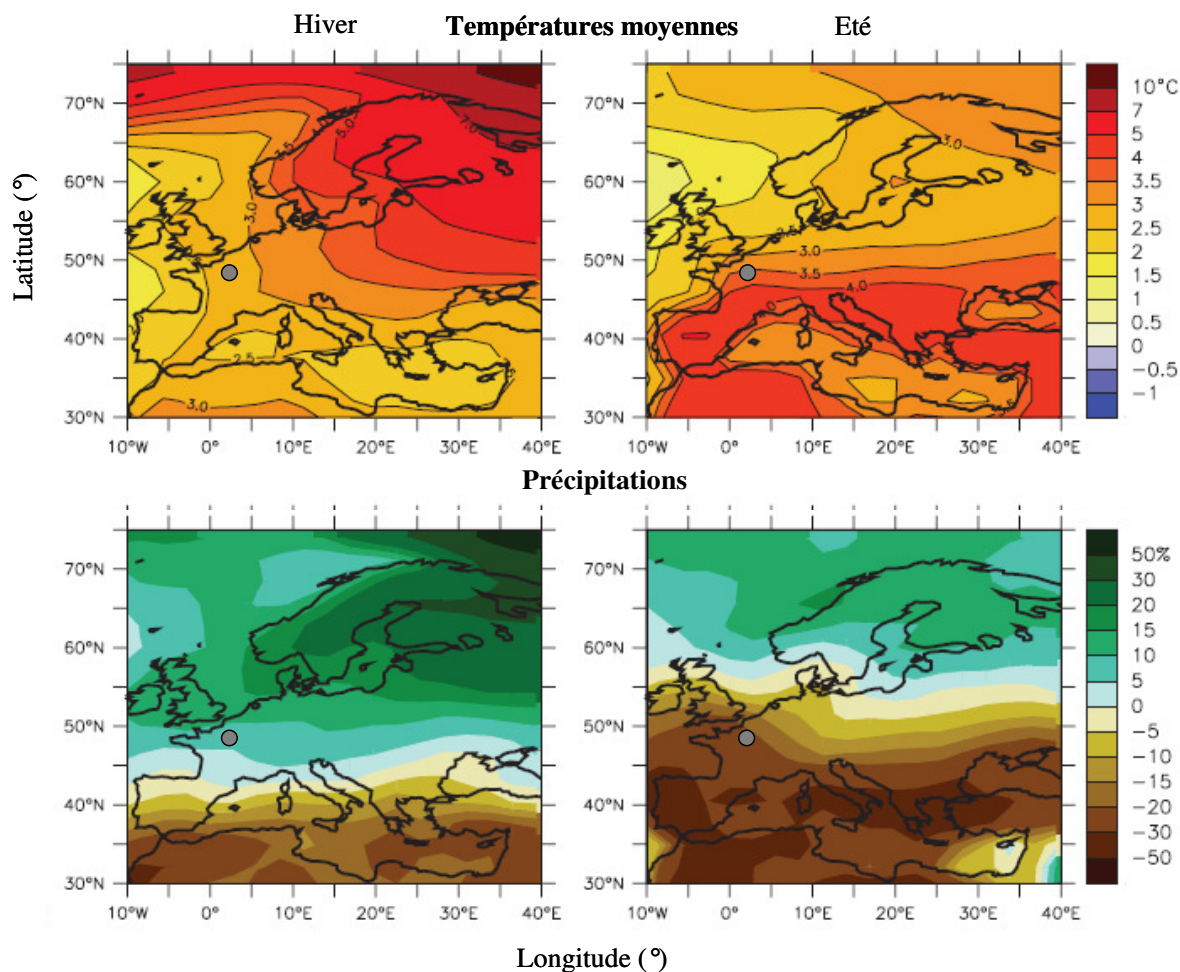


Figure 2. Prédications des changements de températures moyennes et de précipitations estivales et hivernales entre 1980-1999 et 2080-2099 avec le scénario d'émissions de gaz à effet de serre A1B. Les points gris représentent la localisation de notre site d'étude, la forêt de Fontainebleau : 48°25 N, 2°40 E. (source Christensen et al., 2007, IPCC).

1.2. Le rôle global des forêts dans le bilan de carbone

Les émissions de CO₂ actuelles sont principalement liées à la combustion de carbone (C) fossile ($7,2 \pm 0,3$ GtC/an) et à la déforestation ($1,6 \pm 0,8$ GtC/an). Cependant, seulement $4,1 \pm 0,1$ GtC/an sont stockés dans l'atmosphère, les 53 % restants étant fixés, en quantité à peu près égale, par les écosystèmes océaniques et terrestres (Robert & Saugier, 2003, IPCC, 2007). Les forêts occupent 4.2 milliards d'hectares (ha) à la surface du globe, et renferment 40 % du stock de C de la biosphère continentale (Saugier & Roy, 2001, Sabine et al., 2004, FAO, 2007). Les forêts tempérées représentent 24 % de la surface forestière mondiale et un stock de carbone d'environ 300 GtC, également réparti entre la biomasse et le sol (seulement pris en compte à 1 m de profondeur dans l'estimation, **Fig. 3**). Depuis 1850, leur productivité s'est fortement accrue. En France, Pignard & Dupouey (2002) estiment entre 10 et 20 MtC/an le stockage de carbone dans la biomasse forestière. Les causes possibles de cet accroissement sont multiples : augmentation de la surface forestière, augmentation de la teneur en CO₂

atmosphérique, augmentation des dépôts azotés et réchauffement climatique (Thimonier et al., 1994). Cependant, depuis quelques années, cette tendance semble peu à peu s'inverser sous l'effet d'une augmentation des contraintes liées aux changements climatiques. Ainsi l'augmentation des sécheresses notamment, tant en fréquence qu'en intensité, pourrait fortement diminuer la production forestière. Lors de la forte sécheresse de 2003 (associée à des températures élevées), les forêts tempérées européennes ont nettement limité leur entrée de carbone durant l'été et sont même devenues temporairement des sources de carbone (Ciais et al., 2005, Granier et al., 2007).

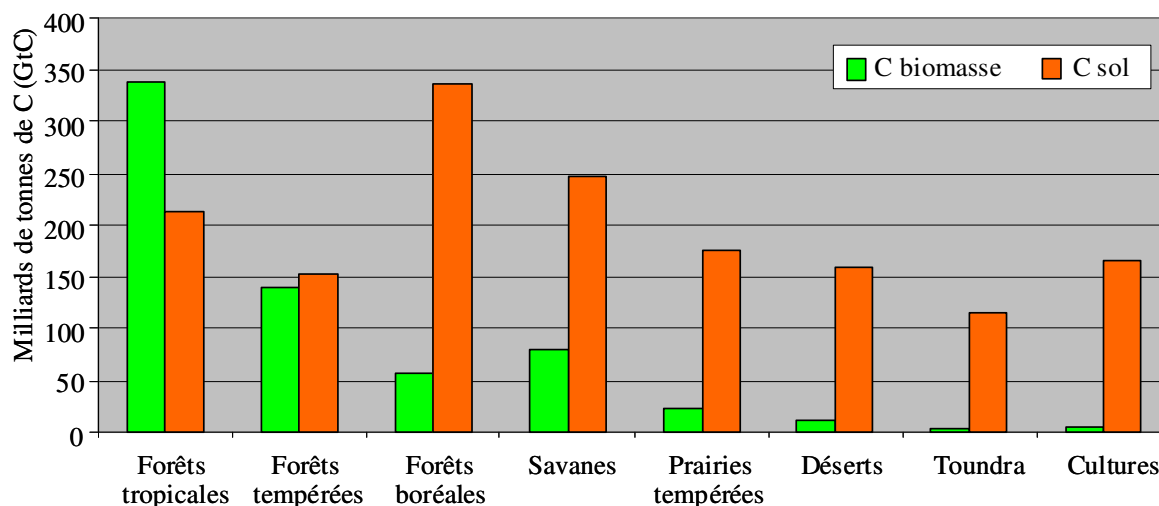


Figure 3. Stocks de carbone dans les biomes terrestres. Le stockage total du carbone dans la biomasse représente 654 GtC et 1567 GtC dans le sol, à 1 m de profondeur (source Robert & Saugier, 2003).

1.3. Impacts des changements climatiques sur les forêts tempérées

L'impact des changements climatiques sur les bilans de carbone repose sur les variations d'un ensemble de mécanismes assurant les flux de carbone dans l'arbre et le sol. Le réchauffement climatique peut avoir des conséquences positives sur la production via son impact sur la phénologie foliaire (Davi et al., 2006, Cleland et al., 2007), en particulier au printemps. Les augmentations de température tendent à avancer la date de débourrement (Sarvas, 1972, Chuine, 2000, Schaber & Badeck, 2003) et accélérer le développement foliaire et la maturation des feuilles (Davi et al., 2008). Il influence également la phénologie de croissance puisque la réactivation du cambium est liée à l'augmentation saisonnière des températures (e.g. Oribe et al., 2001, Begum et al., 2007, Rossi et al., 2007, Deslauriers et al., 2008).

Néanmoins, les sécheresses peuvent diminuer à la fois la productivité primaire brute (PPB) mais également la respiration écosystémique des forêts. En Europe, les forêts décidues ont en moyenne diminué leur stockage de carbone (productivité primaire nette ou PPN), en 2003 par rapport à 2002, de $61,5 \pm 83,2$ (ET) gC m^{-2} et les forêts de conifères de $44,5 \pm 96,9$ gC m^{-2} (moyennes

calculées sur 4 forêts décidues et 6 forêts de conifères à partir de Granier et al., 2007 qui synthétisent les données obtenues par les tours à flux du réseau CarboEurope). Ainsi, la réponse des forêts à la sécheresse en termes de stockage de C est très variable selon les sites : plus l'intensité du stress hydrique sur le site est élevée moins les peuplements stockent de carbone (Granier et al., 2007).

Lors d'une forte sécheresse, différents processus (synthétisés par Bréda et al., 2006) peuvent avoir un impact négatif sur le stockage du C et donc sur l'allocation de C à la croissance radiale des arbres notamment. Les sécheresses limitent ainsi la division et l'élongation cellulaire, puis la conductance stomatique et la photosynthèse (synthétisé par Saxe et al., 2001). Dans le sol, un fort déficit hydrique peut conduire à une plus forte mortalité racinaire, en particulier celle des racines fines, et ralentir l'activité mycorhizienne (Jany et al., 2003), ce qui diminue les capacités d'absorption d'eau de l'arbre. La conductance hydraulique peut également être considérablement réduite (de 50 %) lors d'une sécheresse surtout si elle conduit à une cavitation des vaisseaux du xylème (Cochard, 1992, Cochard et al., 1992). A l'échelle du houppier, les sécheresses peuvent générer d'importantes défoliations et donc une diminution de l'indice de surface foliaire (LAI). La diminution du LAI diminue l'assimilation du CO₂, donc à la fois l'allocation du carbone à la croissance et aux réserves. Par conséquent, une chute du LAI en été peut avoir des conséquences négatives sur la croissance radiale de l'année suivante, via une diminution des réserves ; on parle dans ce cas d'arrière-effets (Bréda et al., 2006).

2. Les cernes : archives du fonctionnement de l'arbre face aux variations climatiques

2.1. Utilisation des cernes en écologie et climatologie

Comme nous venons de l'évoquer, la croissance radiale du xylème est fortement influencée par les variations climatiques et les déficits hydriques du sol (**DHS**). Cette croissance commence chaque année lorsque les cellules du cambium se divisent puis s'élargissent pour former un cerne (de xylème, **Fig. 4**). La période de formation du cerne est plus ou moins longue et sa durée dépend de l'espèce, de sa situation géographique (latitude, altitude) et du climat. De façon générale, en climat tempéré, elle se déroule au printemps et en été. Le cerne est constitué de deux parties, plus ou moins distinguables suivant le type de bois. La première partie, qui est généralement formée au printemps, s'appelle le bois initial. La deuxième partie formée en été s'appelle le bois final. Les cernes sont formés à partir des sucres solubles qui sont transportés par le phloème. Ces sucres sont un mélange, en proportion variable, des assimilats foliaires nouvellement synthétisés via la photosynthèse et des réserves carbonées qui sont mobilisées pour la croissance. Les cernes sont donc des archives du

carbone utilisé par l'arbre pour sa croissance en réponse à des variations climatiques (Douglass, 1920). Ainsi, ils sont étudiés dans des domaines scientifiques variés : en écologie (pour comprendre le fonctionnement des arbres), en paléoclimatologie (pour reconstituer les variations climatiques passées) ou encore en anthropologie (pour dater des monuments historiques). Plusieurs caractéristiques peuvent être mesurées sur les cernes. Lorsqu'ils apportent des informations climatiques et fonctionnelles, on les désigne sous le terme de "proxy". Ces proxys peuvent être, entre autres : la largeur de cerne, la composition isotopique en ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$), en ^{18}O ($\delta^{18}\text{O}$) ou en ^{15}N ($\delta^{15}\text{N}$), la densité ou encore la largeur des vaisseaux. Ils peuvent être mesurés à différentes échelles de temps : par décennie (en regroupant les cernes), par année (échelle interannuelle, en découpant cerne par cerne) ou même à l'échelle intra-annuelle, c'est-à-dire saisonnière (en découpant des lamelles au sein d'un même cerne).

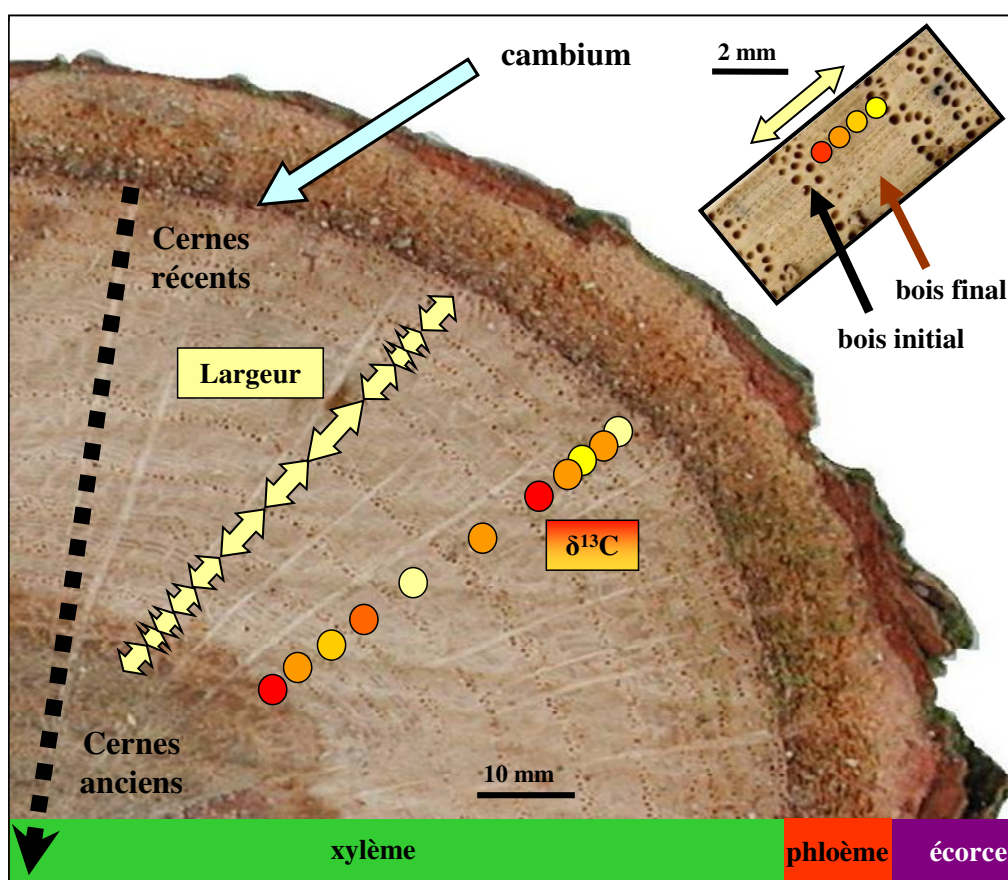


Figure 4. Coupe transversale d'un tronc de Chêne. Les cernes sont visibles à partir du cambium, des plus récents aux plus anciens. La largeur et le $\delta^{13}\text{C}$ sont deux proxys mesurables sur les cernes. Un cerne est composé de deux parties : le bois initial et le bois final.

2.2. Mesures des largeurs de cerne à l'échelle interannuelle

À l'échelle interannuelle, la dendrochronologie consiste à mesurer chaque largeur de cerne et lui associer son année d'élaboration. Les mesures de largeur de cerne sont réalisées soit à partir de

carottes extraites du tronc à hauteur de 1.30 m à l'aide d'une tarière de Pressler (méthode non destructive), soit sur des rondelles après avoir abattu l'arbre. On peut également mesurer la largeur du bois initial et du bois final indépendamment. Une fois les chronologies individuelles de largeur de cerne acquises, une étape essentielle est l'interdatation. Elle consiste à vérifier et éventuellement corriger la datation des cernes de chaque chronologie individuelle en comparant son synchronisme avec la chronologie moyenne des arbres étudiés. Après l'interdatation, il est nécessaire de standardiser les données mesurées. La standardisation consiste à éliminer le plus possible les bruits de fond non liés à l'effet que l'on souhaite étudier (généralement l'effet du climat) sur la croissance (Lebourgeois et al., 2010). On élimine ainsi l'effet de l'âge des chronologies individuelles car le vieillissement des arbres entraîne une diminution de la largeur des cernes dans le temps. Les indices de croissance obtenus après standardisation (indices sans unité) sont calculés pour chaque arbre puis moyennés sur l'ensemble du peuplement. Les études dendroclimatiques mettent en évidence les corrélations entre les variables climatiques mensuelles (température et précipitations) et les indices de croissance (Fritts, 1976). Ces corrélations sont variables en fonction de l'espèce et du site étudié. Des indices bioclimatiques, comme l'intensité du DHS peuvent être également utilisés pour permettre une meilleure interprétation fonctionnelle de la réponse des arbres au climat (Zahner & Stage, 1966). Les études dendroclimatiques s'intéressent généralement aux espèces soumises à des conditions climatiques extrêmes où les relations climat/largeur de cerne sont fortes (e.g. Rigling et al., 2001, Wang et al., 2006), mais sont plus rares en forêt tempérée de plaine.

2.3. Suivis de la croissance à l'échelle saisonnière

Pour mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la réponse de la croissance au climat, il est nécessaire de s'intéresser aux variations de croissance à une échelle temporelle plus fine, intra-annuelle ou saisonnière. Cette approche peut d'ailleurs permettre une meilleure interprétation des relations croissance/climat trouvées à l'échelle interannuelle (Cufar et al., 2008). L'évolution de la croissance radiale peut être suivie à l'échelle saisonnière par différentes méthodes. Les dendromètres à bande ou à pointe sont utilisés pour mesurer l'accroissement en circonférence, c'est-à-dire celui du xylème, du phloème et de l'écorce. Les données sont soit relevées manuellement, soit elles peuvent être mesurées à intervalles de 15 minutes, à l'aide d'un capteur de déplacement électromagnétique, puis enregistrées (e.g. Zweifel & Häslér, 2000, Deslauriers et al., 2003b). La formation du cerne peut être aussi suivie par la technique du "pinning" (Wolter, 1968) ou plus récemment du "microcoring" (e.g. Forster et al., 2000, Rossi et al., 2006a). Le pinning consiste à insérer toutes les semaines une aiguille dans le xylème pour le léser puis, à la fin de la croissance, sur une rondelle de l'arbre, mesurer l'accroissement ou le nombre de cellules produites entre chaque date de lésion. Le microcoring consiste à prélever des micro-carottes (2 mm de diamètre et 20 mm de longueur) une fois par semaine

à l'aide d'un outil spécifique qui évite d'endommager le cambium. Elles sont ensuite conservées dans de l'éthanol puis préparées au laboratoire pour obtenir de fines sections colorées à observer au microscope. La technique du microcoring permet d'observer toutes les phases de la croissance cellulaire du cerne : la division, l'élargissement, la formation de la paroi secondaire et la lignification et la maturation. Elle permet aussi de repérer précisément (à l'intervalle d'échantillonnage près), la phénologie de croissance comme la date de début, la date de fin et la durée de croissance. Les études menées sur la formation saisonnière du cerne ont surtout été développées sur les conifères qui ont des bois homoxylés dont on peut facilement suivre l'accroissement d'une file cellulaire (**Fig. 5**). Elles sont aussi généralement conduites dans les forêts boréales ou d'altitude, là où les conifères sont les plus nombreux (e.g. Deslauriers et al., 2003a, Rossi et al., 2006b). Elles montrent que la dynamique saisonnière de la croissance des conifères peut être modélisée par une fonction de Gompertz (Rossi et al., 2003). Réalisé sur plusieurs années, le suivi de la croissance saisonnière par prélèvements de micro-carottes révèle aussi les influences du climat sur la phénologie de croissance. Par exemple, Rossi et al. (2006c) ont montré la synchronisation du taux maximal de croissance avec la durée maximale du jour pour les conifères poussant en climat froid.

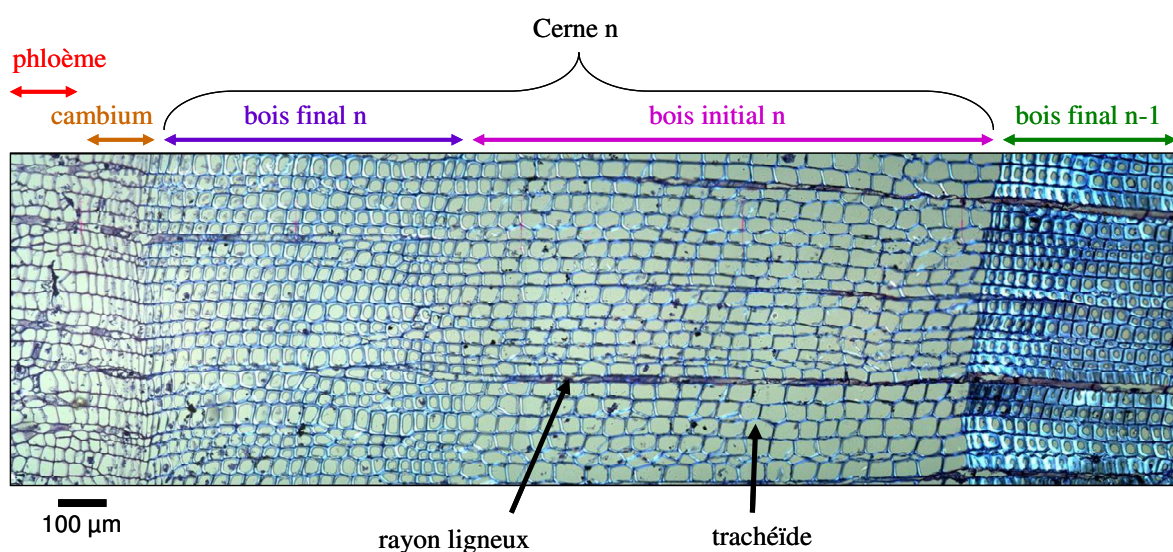


Figure 5. Observation d'une section longitudinale de micro-carotte de Pin sylvestre au microscope optique (x100). Cette micro-carotte a été prélevée le 7 septembre 2009 en forêt de Fontainebleau (© Alice Michelot).

2.4. Le $\delta^{13}\text{C}$: un indicateur du fonctionnement de l'arbre

Un autre proxy qui peut être mesuré dans les cernes est la composition isotopique en ^{13}C ou $\delta^{13}\text{C}$. Il existe des formes isotopiques naturelles stables du carbone. Elles possèdent le même nombre de protons mais diffèrent par leur nombre de neutrons. Pour le carbone, l'isotope "léger" ^{12}C est le plus

abondant. L'isotope "lourd" ^{13}C est sous forme de traces (1,1 % du $^{12}\text{C} + ^{13}\text{C}$) mais sa quantité peut être mesurée précisément. On définit le $\delta^{13}\text{C}$ (‰) tel que :

$$\delta^{13}\text{C} = \frac{R_{\text{échantillon}}}{R_{\text{standard}}} - 1 \quad \text{avec} \quad R = \frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \quad (1)$$

où R est le rapport isotopique entre la quantité de ^{13}C et celle de ^{12}C . Le standard international pour le carbone est un fossile calcaire, un rostre de Bélemnite, issu de la formation rocheuse Pee Dee en Caroline du Sud, il est appelé PDB. Il est naturellement riche en ^{13}C . Le $\delta^{13}\text{C}$ est toujours négatif et s'exprime en ‰. Plus le $\delta^{13}\text{C}$ augmente, plus le composé est riche en ^{13}C .

Le $\delta^{13}\text{C}$ est utilisé en écophysiologie végétale comme indicateur du fonctionnement de l'arbre car il varie en fonction des différents compartiments organiques et inorganiques de la biosphère (air, matière organique végétale), des types de plantes (C_3 et C_4), des organes de la plante et des processus physiologiques (Ghashghaie et al., 2001). Ces variations naturelles sont dues à des effets isotopiques (α) qui se produisent lors de la transformation d'un substrat (source) en un produit :

$$\alpha = \frac{R_{\text{source}}}{R_{\text{produit}}} - 1 \quad (2)$$

On distingue deux types d'effets isotopiques :

- les effets isotopiques cinétiques qui traduisent des vitesses de réactions différentes entre les isotopes liées à leur différence de masse (i.e. la diffusion) ;
- les effets isotopiques thermodynamiques relatifs à des processus à l'équilibre (i.e. l'équilibre entre deux phases d'un même composé).

En pratique, on n'utilise pas l'effet isotopique mais le fractionnement ou discrimination isotopique (Δ_g , ‰) :

$$\Delta_g = \alpha - 1 = \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{source}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{produit}}}{1 + \delta^{13}\text{C}_{\text{produit}}} \approx \delta^{13}\text{C}_{\text{source}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{produit}} \quad (3)$$

La plupart des processus biochimiques et physiques discriminent contre les isotopes les plus lourds (O'Leary et al., 1992).

Dans les cernes, le $\delta^{13}\text{C}$ de la matière organique dépend en partie du $\delta^{13}\text{C}$ des assimilats foliaires qui sont transportés des feuilles jusqu'au cerne via le phloème. Les assimilats foliaires sont appauvris en ^{13}C comparé au CO_2 atmosphérique qui est la source de carbone utilisée pour la photosynthèse. Ainsi, le $\delta^{13}\text{C}$ du CO_2 atmosphérique est actuellement de -8.2 ‰ environ tandis que celui de la matière organique des plantes en C_3 varie entre -20 et -35 ‰ (Griffiths, 1992). Cet appauvrissement est en grande partie dû à la discrimination lors de la photosynthèse (Δ , ‰) contre le ^{13}C à l'échelle foliaire. Pour les plantes en C_3 , d'après la version simplifiée du modèle de Farquhar et al. (1982), Δ peut s'exprimer sous la forme suivante :

$$\Delta = a + (b - a) \frac{p_i}{p_a} \quad (4)$$

où a est la discrimination contre le $^{13}\text{CO}_2$ lors de la diffusion à travers les stomates ($\approx -4,4\text{‰}$ O'Leary, 1981), b est la discrimination contre le $^{13}\text{CO}_2$ due à la carboxylation par la RuBisCO ($\approx 27\text{‰}$ Farquhar & Richards, 1984), p_i est la pression partielle en CO_2 dans les espaces intercellulaires de la feuille ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et p_a est la pression partielle en CO_2 dans l'atmosphère ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Par ailleurs, l'un des paramètres utilisés pour intégrer simultanément le bilan carboné et hydrique de la plante est l'efficacité d'utilisation de l'eau (WUE) qui est le rapport entre l'assimilation et la transpiration. A l'échelle foliaire, la WUE intrinsèque (W_g , rapport entre assimilation et conductance stomatique pour l'eau, g_s) peut être indirectement estimée par le $\delta^{13}\text{C}$ des feuilles grâce à la relation linéaire entre p_i/p_a et Δ . Généralement, lors d'une sécheresse ou d'une augmentation du déficit en pression de vapeur saturante de l'air (VPD), la fermeture des stomates entraîne une diminution de p_i/p_a et la discrimination contre le ^{13}C lors de la carboxylation s'exprime moins. Par conséquent, le $\delta^{13}\text{C}$ augmente dans la matière organique foliaire mais également dans la sève phloémienne (e.g. Keitel et al., 2003) et dans les cernes (e.g. Korol et al., 1999). Il semble donc que le cerne intègre (au moins en partie) les variations isotopiques en $\delta^{13}\text{C}$ des assimilats foliaires, eux même intégrés dans le phloème, mais les liens et les différences fonctionnelles interspécifiques restent encore peu étudiés.

2.5. Le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes à l'échelle interannuelle

Le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes peut être analysé à l'échelle interannuelle, en écologie comme indicateur fonctionnel de la réponse des arbres au climat. En effet, il est souvent relié aux variations interannuelles des variables climatiques de la saison de croissance telles que : les températures (e.g. Liu et al., 1996, Porte & Loustau, 2001, Levanic et al., 2009), les précipitations (e.g. Saurer et al., 1995, Anderson et al., 1998), l'humidité relative de l'air (e.g. Panek & Waring, 1997, Hemming et al., 1998) ou le DHS (e.g. Dupouey et al., 1993). Les relations statistiquement significatives entre $\delta^{13}\text{C}$ et variables climatiques sont aussi utilisées en paléoclimatologie et le $\delta^{13}\text{C}$ est souvent combiné avec d'autres proxys pour reconstituer les variations interannuelles du climat à l'échelle pluri-centennale (e.g. Loader & Switsur, 1996, McCarroll & Loader, 2004, Raffalli-Delercé et al., 2004, Etien et al., 2009). Les analyses isotopiques se sont majoritairement développées sur la cellulose, qui est plus stable dans le temps que la matière organique totale (MOT) des cernes (Wilson & Grinsted, 1977, Spiker & Hatcher, 1987). Il est généralement préconisé de mesurer le $\delta^{13}\text{C}$ sur le bois final seulement afin d'augmenter les corrélations avec le climat de l'année (e.g. McCarroll & Loader, 2004). En effet, pour certaines espèces, le bois initial est constitué en partie sur les réserves stockées l'année précédente qui peuvent altérer la relation entre $\delta^{13}\text{C}$ et climat. Par ailleurs à l'échelle interannuelle, il

est nécessaire d'éliminer la tendance d'évolution du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes avant de le comparer aux données climatiques (Freyer & Belacy, 1983). En effet, le $\delta^{13}\text{C}$ du CO_2 atmosphérique a diminué d'environ 1.5 ‰ depuis la période industrielle suite à la libération dans l'atmosphère de carbone issu du pétrole et du charbon, qui, étant d'origine organique, sont appauvris en ^{13}C comparé au CO_2 atmosphérique. Comme il est généralement établi que peu d'arbres (4 ou 5) sont nécessaires à échantillonner pour obtenir un signal isotopique local (McCarroll & Loader, 2004), peu d'études analysent la variabilité entre arbres de ce signal pour la vérifier.

2.6. A l'échelle saisonnière : le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne

Depuis Leavitt & Long (1991), le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes est aussi étudié à l'échelle saisonnière en découpant le cerne en plusieurs sections (Leavitt & Newberry, 1992) ou en lamelles de taille fine, d'une dizaine de micromètres (Helle & Schleser, 2004). Les mesures sont souvent effectuées sur la cellulose même si plusieurs études ont montré que les variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne sont similaires entre cellulose et MOT (Warren et al., 2001, Helle & Schleser, 2004, Skomarkova et al., 2006). Le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes peut être utilisé comme indicateur des variations climatiques saisonnières de VPD et de DHS (e.g. Warren et al., 2001, Barbour et al., 2002, Leavitt, 2002, Eilmann et al., 2010). Plusieurs études ont cherché à mettre en évidence les liens entre $\delta^{13}\text{C}$ du houppier et $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne à l'échelle saisonnière. Ainsi, Helle et Schleser (2004) ont constaté que les variations saisonnières de $\delta^{13}\text{C}$ de la MOT des feuilles et celles du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne sont similaires pour *Fagus sylvatica* (**Fig. 6**). Certains auteurs ont aussi démontré que le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne pouvait être lié aux variations de p_i/p_a à l'échelle foliaire chez les conifères (Walcroft et al., 1997 pour *Pinus radiata*, Klein et al., 2005 pour *Pinus halepensis*) mais d'autres n'ont pas trouvé cette relation entre p_i/p_a et le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne (Vaganov et al., pour *Picea abies*).

Le signal climatique enregistré par le $\delta^{13}\text{C}$ des sucres solubles à l'échelle foliaire peut en effet être altéré dans le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne. Des discriminations post-photosynthétiques peuvent modifier le $\delta^{13}\text{C}$ entre les assimilats foliaires et la matière organique des cernes (e.g. Duranceau et al., 1999, Terwilliger et al., 2001, Damesin & Lelarge, 2003, Gessler et al., 2004, Maunoury et al., 2007). Elles peuvent avoir lieu dans la feuille et dans le phloème avant le déchargement des sucres qui vont constituer le cerne (synthétisé par Gessler et al., 2009). De plus, les variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne sont atténuées par rapport à celles des sucres foliaires car les sucres sont mélangés temporellement et spatialement dans le phloème avant leur incorporation par les cellules cambiales pour la constitution du cerne (Pate & Arthur, 1998, Kagawa et al., 2006, Eglin et al., 2010).

L'origine des substrats peut aussi modifier le $\delta^{13}\text{C}$ du cerne. En effet, les sucres solubles utilisés pour sa formation proviennent des nouveaux assimilats foliaires mais peuvent aussi provenir des réserves carbonées accumulées l'année précédente dans tous les organes. Ces réserves sont

principalement sous forme d'amidon qui est enrichi en ^{13}C (de l'ordre de 3 ‰ dans les feuilles par rapport aux assimilats (Brugnoli et al., 1988). Elles sont généralement utilisées pour la croissance du cerne en début de saison, en mai, chez les feuillus et un peu plus tard, en juin-juillet chez les conifères en forêt tempérée (Fischer & Höll, 1992, Barbaroux & Bréda, 2002, Hoch et al., 2003). Chez les pins, les réserves sont aussi sous forme de lipides, qui sont appauvris en moyenne de 4.7 ‰ en ^{13}C comparé à la MOT (Badeck et al., 2005) mais les variations saisonnières de la quantité de réserves lipidiques demeurent faibles (Fischer & Höll, 1992, Hoch et al., 2003). Les réserves selon leur dynamique et leur intensité d'utilisation peuvent influencer le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne ce qui peut entraîner des décalages avec le signal saisonnier des nouveaux assimilats à l'échelle foliaire.

Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ moyennes sur le cerne peuvent être variables entre arbres d'une même espèce (Leavitt & Long, 1986, Ponton et al., 2001, Skomarkova et al., 2006). Helle & Schleser (2004) ont montré chez les espèces décidues (*F. sylvatica*, *Q. petraea*, *Populus nigra* et *Morus alba*) que les dynamiques semblent répétables entre années et entre espèces (en 3 phases cf. **Fig. 6**), et que la majeure partie des variations observées n'était pas due aux changements de conditions climatiques. Cependant, les connaissances sont assez récentes concernant le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne et il est nécessaire pour chaque espèce de comprendre les patterns saisonniers et de déterminer quelle est la part d'influence climatique et de dynamique interne du carbone dans ces patterns.

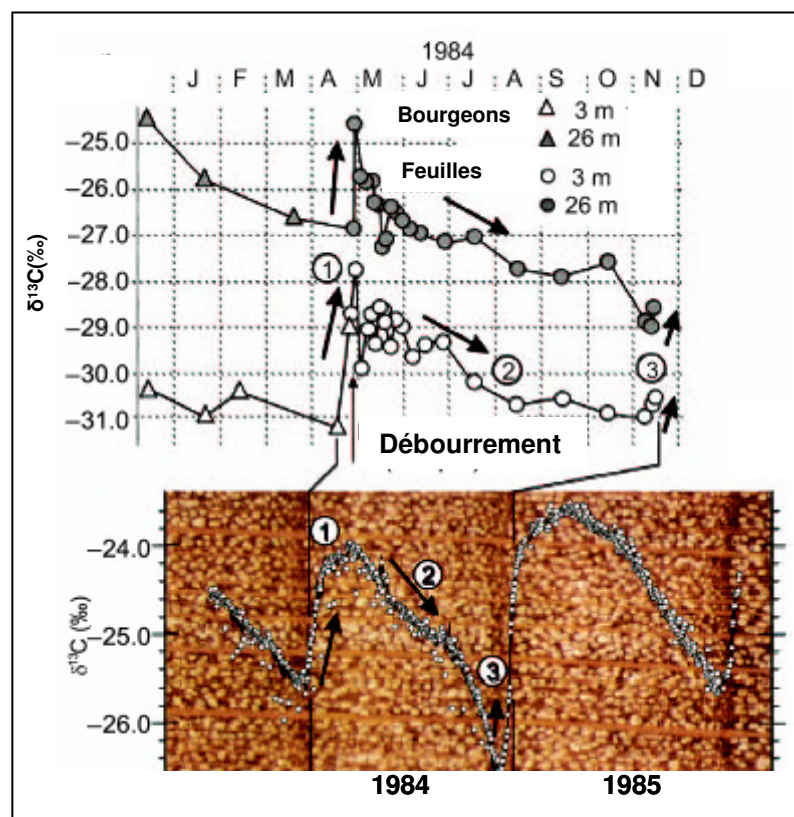


Figure 6. Variations saisonnières triphasiques du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne et des feuilles chez *Fagus sylvatica* en forêt d'Hambach (Allemagne) en 1984 et 1985, d'après Helle & Schleser (2004).

3. Une approche comparative de trois espèces en forêt tempérée

La sensibilité des espèces aux variations climatiques dépend entre autres de leur fonctionnement. On peut penser que les espèces les plus sensibles aux températures maximales estivales et au DHS seront celles qui résisteront le moins aux changements climatiques attendus. Mais, de nombreux facteurs peuvent interagir et rendre difficiles les prédictions de la productivité et des aires de répartition de chaque espèce, en plus des incertitudes liées aux modèles eux-mêmes (Cheaib et al., in prep.). Par exemple, l'augmentation du CO₂ peut jouer un rôle positif sur la croissance des espèces et comme nous l'avons évoqué, les effets du climat sur la croissance peuvent être différés de plusieurs années (Becker et al., 1994). Une étude de plusieurs peuplements monospécifiques sur le même site (donc soumises aux mêmes variations climatiques) peut permettre de comparer plus directement les différences interspécifiques de vulnérabilité au climat. Nous avons pu mener ce type d'étude dans une forêt tempérée de plaine sur trois espèces : *Fagus sylvatica* L., *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. et *Pinus sylvestris* L. Ces espèces sont toutes largement réparties en Europe mais elles présentent une écologie, une phénologie et une structure de bois contrastées.

3.1. Site d'étude

Le site d'étude principal de cette thèse est une forêt tempérée : la forêt domaniale de Fontainebleau qui est située à 60 km au sud-est de Paris (48°25 N, 2°40 E, 120 m d'altitude). Elle s'étend sur 17 000 ha et elle est composée de 748 parcelles, d'une surface moyenne de 22 ha chacune (**Fig. 7**). Le climat de cette région est océanique dégradé avec une température moyenne annuelle de 10,6°C et des précipitations moyennes annuelles de 750 mm assez bien réparties au cours de l'année. La forêt est gérée par l'Office National des Forêts (ONF). Géologiquement, le site est constitué d'une couche de sables de Fontainebleau, où reposent des grès et parfois une couche de calcaire stampien, souvent érodée, auxquels se superpose une couche de sables éoliens avec plus ou moins de limons des plateaux. Les espèces dominantes dans le peuplement forestier sont le Chêne sessile (*Quercus petraea*), le Chêne pédonculé (*Quercus robur* L.), le Hêtre (*Fagus sylvatica*) et le Pin sylvestre (*Pinus sylvestris*). Les deux espèces de chêne peuvent coexister sur la même parcelle et s'hybrident fréquemment. Cette forêt présente l'avantage d'avoir de nombreuses parcelles mono-spécifiques, d'âges différents, dont nous connaissons certains paramètres écologiques (tels que la réserve utile en eau du sol, le LAI, l'azote foliaire) déjà mesurés ou estimés via de précédentes études (Le Dantec, 2000, Barbaroux, 2002, Le Maire, 2005). Par conséquent, nous avons pu choisir un échantillonnage adapté à notre étude de l'impact du climat sur la croissance et le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes aux échelles interannuelle et saisonnière. Ainsi, pour l'étude de la croissance interannuelle, nous avons sélectionné 9 parcelles mono-spécifiques matures (**Fig. 7**), afin d'éviter l'effet de l'âge qui peut interférer sur la

réponse climatique. Nous avons également choisi des parcelles aux réserves utiles en eau du sol différentes, pour tester l'impact de ce paramètre qui peut influencer la réponse climatique des arbres. Pour d'autres expérimentations et selon nos objectifs, que nous allons présenter par la suite, nous avons sous-échantillonné un nombre différent d'arbres et de parcelles.

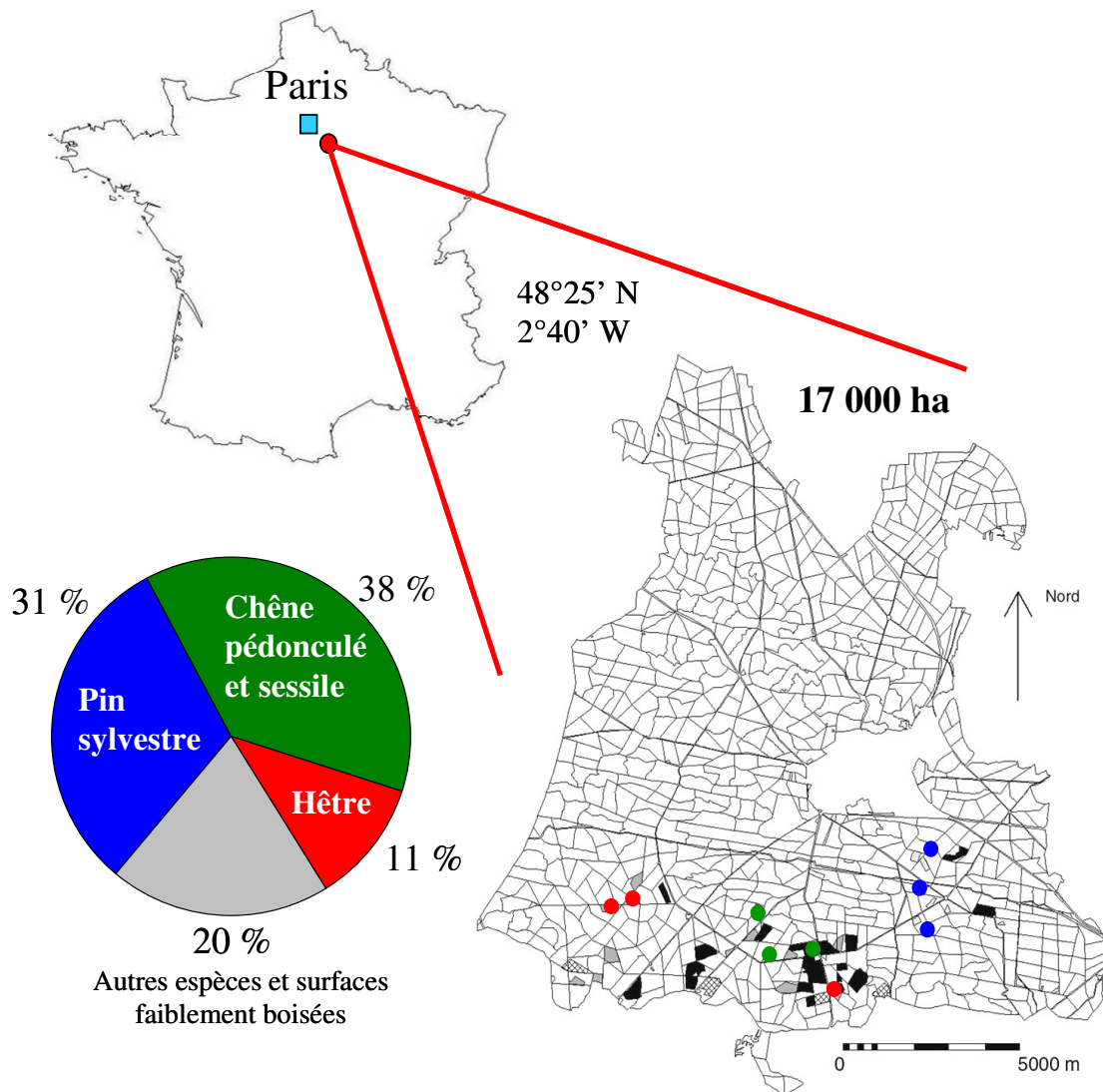


Figure 7. Localisation du principal site d'étude, la forêt domaniale de Fontainebleau, et proportion du Hêtre, du Chêne et du Pin dans cette forêt. Les 9 parcelles échantillonnées pour la croissance interannuelle sont localisées par des points : rouges pour les hêtraies, verts pour les chênaies et bleus pour les pinèdes (d'après Barbaroux, 2002, Le Maire, 2005).

3.2. Le Hêtre : une espèce décidue à pores diffus

Le Hêtre (*Fagus sylvatica*) est une espèce décidue, indigène en Europe qui pousse surtout en plaine dans la moitié nord de la France et en montagne dans la moitié sud, jusqu'à 1700 m. Les hêtraies représentent 9 % de la superficie des forêts françaises de production et le Hêtre est l'essence

décidue qui produit le plus de volume de bois annuel en France (**Tab. 1**). Il peut mesurer jusqu'à 40 m de hauteur et sa longévité est de 150 à 300 ans avec un âge d'exploitation entre 80 et 150 ans. Il pousse sur des humus de types variés, généralement de mull carbonaté à moder, et parfois dysmoder ou mor. C'est une espèce d'ombre (sciaphile) qui craint l'hydromorphie et peut subsister sur des sols peu profonds grâce à un système racinaire superficiel (Rameau et al., 1989).

Tableau 1. Superficie, volume sur pied et production brute annuelle du Hêtre, du Chêne et du Pin. Le pourcentage représenté par chaque essence, par rapport au total considérant les treize principales essences en France, est donné entre parenthèses. D'après les données de l'Inventaire Forestier National en 2008 (I.F.N., 2008).

Essence	Superficie des forêts dédiée à la production de bois (milliers d'ha)	Volume sur pied (millions de m ³)	Production annuelle brute (millions de m ³)
<i>Fagus sylvatica</i>	1390 (9 %)	260 (11 %)	8.4 (8 %)
<i>Quercus petraea</i>	1690 (11 %)	289 (12 %)	8 (8 %)
<i>Pinus sylvestris</i>	910 (6 %)	143 (6 %)	4.8 (5 %)
Total en France	14970	2407	101.1

Le bois de Hêtre est hétéroxylé (**Fig. 8a**), à pores diffus, ce qui signifie que les vaisseaux de bois initial et de bois final sont difficilement différenciables par leur taille. Cependant, certaines études mesurent séparément la largeur du bois initial et du bois final du Hêtre, même si cette dernière ne représente que 20 % environ de la largeur du cerne total (e.g. Lebourgeois et al., 2005). Les petits vaisseaux du Hêtre sont assez résistants à l'embolie hivernale et le fonctionnement hydraulique est restauré grâce à une faible pression racinaire au printemps (Cochard et al., 2001). Le Hêtre débute sa croissance radiale après le débourrement (Suzuki et al., 1996, Schmitt et al., 2000, Barbaroux & Bréda, 2002, Cufar et al., 2008) et le développement de ses feuilles est rapide (e.g. Eglin et al., 2009 pour la masse surfacique des feuilles -ou LMA- en région parisienne). Sa croissance interannuelle est sensible à l'intensité du DHS estival et une synthèse sur plusieurs sites européens montre que le climat du mois de juin (températures et précipitations) est celui qui influence le plus sa croissance (Lebourgeois, 2005).

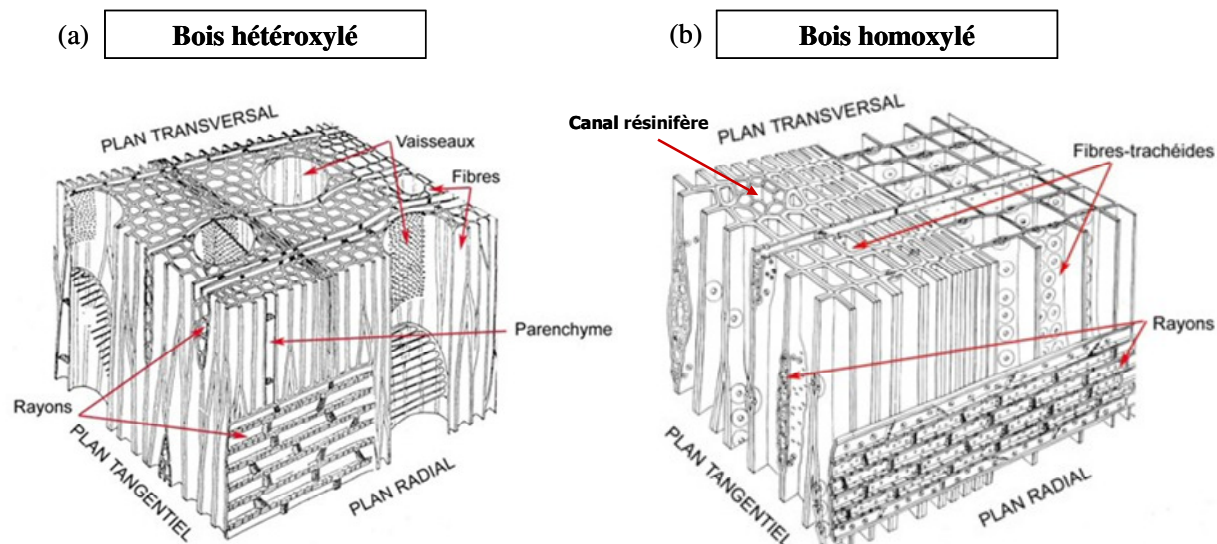


Figure 8. Schéma d'un bois hétéroxylé (a) et d'un bois homoxylé (b). Un bois hétéroxylé (bois de feuillus) est formé de plusieurs types d'éléments : vaisseaux et fibres. Un bois homoxylé (bois de conifères) est formé d'un seul type d'élément : les trachéides qui ont à la fois un rôle de vaisseaux et de fibres, d'après Schweingruber, 1996 (images sur <http://www.xyloree.fr>).

3.3. Le Chêne : une espèce décidue à zone poreuse

Le Chêne (*Quercus petraea*) est une espèce décidue, européenne, qui pousse dans les plaines françaises, sauf sur la côte sud-ouest et le bassin méditerranéen. Les chênaies sessiliflores représentent 11 % de la superficie des forêts françaises de production et le Chêne est l'essence qui représente le plus de volume de bois sur pied en France (**Tab. 1**). Il peut atteindre 40 m de hauteur et sa durée de vie est longue, de 500 à 1000 ans, avec un âge d'exploitation entre 180 et 250 ans. C'est une espèce pionnière de demi-ombre qui pousse bien sur des sols filtrants, épais, légèrement acides et sur des humus variés, de mull carbonaté à mor (Rameau et al., 1989).

Le bois de Chêne est hétéroxylé (**Fig. 8a**), tout comme celui du Hêtre mais il est à zone poreuse, c'est-à-dire que les gros vaisseaux du bois initial sont nettement distinguables des petits vaisseaux du bois final par leur taille. Les gros vaisseaux de bois initial du Chêne sont très sensibles à l'embolie hivernale (Cochard et al., 1992). La circulation de l'eau doit donc être restaurée chaque printemps, par la mise en place de nouveaux gros vaisseaux de xylème et ainsi assurer la reprise de la transpiration. Ce mode de fonctionnement hydraulique est donc relié à la phénologie foliaire du Chêne dont la croissance du bois initial commence plusieurs semaines avant le débourrement (Bréda & Granier, 1996, Zweifel et al., 2006, Sass-Klaassen et al., 2011). D'après Lebourgeois et al. (2006), sa croissance interannuelle est sensible à l'intensité du DHS estival, comme le Hêtre mais aussi aux pluies de l'automne et de l'hiver précédents. Ainsi, il y a des arrières-effets climatiques sur la croissance qui influencent surtout la croissance du bois initial (d'après Dolezal et al., 2010).

3.4. Le Pin : une espèce sempervirente à bois homoxylé

Le Pin (*Pinus sylvestris*), est lui une espèce sempervirente, d'origine eurasiatique dont l'aire de répartition en Europe est principalement située au centre et au nord. En France, il pousse principalement dans les régions montagneuses, de 400 à 2000 m d'altitude, où son origine est naturelle alors qu'il a été introduit dans d'autres régions comme le Nord. En plaine, on le trouve dans des chênaies dégradées. Les pinèdes de Pin sylvestre représentent 6 % de la superficie des forêts françaises de production, soit la deuxième essence française de conifère en surface, après *Pinus pinaster* (**Tab. 1**). C'est une espèce post-pionnière nomade dont la longévité est plus longue en montagne (200 ans) qu'en plaine (100 ans) et il est généralement exploité à l'âge de 75-85 ans. Contrairement au Hêtre et au Chêne, le Pin est une espèce de pleine lumière (héliophile). Il peut pousser sur des sols appauvris en matière minérale et la chute de ses aiguilles crée un humus mor, favorisant la podzolisation sur les sols acides et filtrants. Il ne craint ni le froid, ni le gel et il résiste à la sécheresse estivale (Rameau et al., 1989).

Le bois de Pin est un bois homoxylé (**Fig. 8b**), contrairement aux deux autres espèces. Le bois final est plus foncé que le bois initial, ce qui permet de les distinguer facilement. La sortie des nouvelles aiguilles du Pin a lieu en moyenne début mai (en France, Lebourgeois et al., 2002) et les aiguilles ont un cycle de vie de 3 ans à Fontainebleau. La croissance radiale débute bien avant le débourrement. Chez les conifères la réactivation du cambium semble indépendante de la phénologie des aiguilles (Rossi et al., 2009). Les variations interannuelles de croissance du Pin sont sensibles aux températures, hivernales (surtout le bois initial) et printanières ou estivales (surtout le bois final, Rigling et al., 2002, Lebourgeois et al., 2010).

4. Objectifs de la thèse et expérimentations principales

Comme nous l'avons vu, les cernes sont des archives du carbone utilisé par les arbres pour leur croissance en lien avec les caractéristiques spécifiques de gestion du carbone et en réponse au climat. Cette réponse est amenée à évoluer avec les changements climatiques à venir. L'objectif principal de cette thèse est de déterminer, à partir des cernes, les réponses fonctionnelles de trois essences forestières aux variations climatiques. Pour cela, nous avons réalisé une approche originale puisque deux proxys ont été étudiés : la largeur et la composition isotopique en ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$) des cernes, à deux échelles temporelles : interannuelle et saisonnière. Cette thèse repose principalement sur des expérimentations. Sa présentation est structurée en trois parties. Le premier chapitre est consacré à l'approche interannuelle et les deux suivants à l'approche saisonnière. Toutes les parties -excepté la partie I.2- sont constituées d'un article (publié, soumis ou en préparation) dont la présentation et les

principaux résultats sont synthétisés en amont. Ci-dessous, voici, pour chaque chapitre les questions principales et l'approche utilisée :

- **Chapitre I.1** : Quel est l'impact des variations interannuelles climatiques et du déficit hydrique du sol (DHS) sur la croissance des cernes de chaque espèce ?

L'idée ici est d'examiner, rétrospectivement, la réponse climatique et bioclimatique des trois espèces, en termes de croissance radiale, grâce à une approche de type dendrochronologique. L'objectif principal est d'identifier les variables mensuelles de températures, de précipitations et de DHS auxquelles est sensible la croissance interannuelle de chaque espèce en mettant en évidence les différences de vulnérabilité entre espèces. Pour cela, nous avons mesuré la largeur de cerne sur 15 arbres pour chacune des trois parcelles étudiées par espèce en forêt de Fontainebleau (**Tab. 2**) de 1960 à 2007. Pour le Chêne et le Pin, la largeur du bois initial et du bois final a également été mesurée séparément. Les indices de croissance obtenus sur chaque parcelle ont été reliés aux variables climatiques mensuelles (températures et précipitations) et au DHS, simulé par le modèle BILJOU© (Granier et al., 1999). L'article présenté a été soumis mi-avril 2011 à « Forest Ecology and Management ».

- **Chapitre I.2** : Quelles sont les informations climatiques et fonctionnelles qui sont enregistrées par le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes à l'échelle interannuelle ?

Le $\delta^{13}\text{C}$ peut apporter des informations complémentaires à celles enregistrées par les largeurs de cerne. Nous avons voulu déterminer l'ampleur de la variabilité entre arbres, entre parcelles et entre espèces des variations interannuelles de $\delta^{13}\text{C}$ des cernes. Par la suite, l'objectif est d'identifier quelles variables climatiques (températures, précipitations, VPD) et de DHS influencent les variations de $\delta^{13}\text{C}$ des cernes de chaque espèce. Sur 8 arbres par parcelle, à partir des carottes extraites pour l'analyse de la croissance interannuelle, le $\delta^{13}\text{C}$ a été mesuré sur la cellulose du cerne total (Hêtre, Pin) ou du bois final (Chêne) sur deux parcelles par espèce, de 1960 à 2007 (**Tab. 2**). La variabilité entre arbres (de 1994 à 2007) ainsi que celle entre parcelles et entre espèces de 1960 à 2007 a été analysée. Des corrélations ont ensuite été établies entre le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes et les variables climatiques mensuelles et le DHS. Les résultats de cette partie n'ont pu être traités que très récemment mais ils feront prochainement l'objet d'un article en collaboration.

- **Chapitre II** : Quelles sont les différences ou similitudes de phénologie et de dynamique saisonnière de croissance des trois espèces ?

Pour mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la réponse de croissance interannuelle au climat, on s'est intéressé aux variations de croissance à une échelle temporelle plus fine, intra-annuelle, c'est-à-dire saisonnière. Nous avons voulu comparer le calendrier et la dynamique de la croissance saisonnière de chaque espèce et les mettre en lien avec leur date de débourrement. Notre

but est également d'étudier l'influence des conditions climatiques sur la croissance saisonnière. Nous avons fait un suivi saisonnier en 2009 sur une parcelle par espèce (**Tab. 2**). 5 arbres sains ont été suivis par espèce et 5 dépérissants pour les hêtres. Les premiers résultats sur les hêtres dépérissants ne seront présentés qu'en perspective de cette thèse. La phénologie foliaire (débourrement, jaunissement) a été observée et la croissance hebdomadaire mesurée par des dendromètres manuels et à partir de micro-carottes. L'observation des micro-carottes a permis de définir les événements de croissance de chaque espèce et la dynamique d'accroissement du cerne. La variabilité des événements de croissance entre arbres a été mise en relation avec les paramètres structuraux mesurés. L'article présenté est en préparation et sera soumis très prochainement.

- **Chapitre III.1** : Quels sont les liens entre le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne et les variations saisonnières d'efficacité d'utilisation de l'eau (WUE) chez le Chêne ?

Le $\delta^{13}\text{C}$ présente des variations à l'échelle interannuelle mais également saisonnière. Nous avons tout d'abord recherché quels sont les processus écophysologiques qui peuvent être à l'origine de la dynamique du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne. Notre objectif est ensuite de déterminer l'information fonctionnelle en termes de WUE qui peut être extraite à partir d'analyses isotopiques intra-cerne. Nous avons mené cette étude sur le Chêne, espèce pour laquelle nous avons en parallèle des informations de flux de carbone et d'eau. Ainsi, les expérimentations ont été réalisées sur le site de tour à flux (site FLUXNET) en forêt de Barbeau, à 10 km au nord-est de la forêt de Fontainebleau (**Tab. 2**). Dans ce cadre, le cerne de l'année 2006 a été découpé en lamelles sur 8 chênes et nous avons mesuré le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne de la matière organique totale (MOT). Le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne a été comparé avec les simulations de W_g (assimilation sur conductance stomatique foliaire) du modèle CASTANEA (Dufrêne et al., 2005) et les mesures de W_t (assimilation sur transpiration écosystémique). L'article présenté a été publié en février 2011 dans « Plant, Cell and Environment ».

- **Chapitre III.2** : Comment interpréter les variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne des trois essences ?

La forte variabilité entre individus dans les dynamiques saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne des chênes à Barbeau et son lien avec la WUE, nous ont incités à mieux comprendre la part climatique et fonctionnelle dans les dynamiques de $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne. Notre objectif est notamment de déterminer si le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne est un indicateur du fonctionnement foliaire. Pour cela, nous avons comparé les patterns de $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne des trois espèces et nous l'avons relié au $\delta^{13}\text{C}$ des sucres apportés par le phloème ainsi qu'à la dynamique saisonnière de la quantité de réserves. Nous avons mesuré pour l'année 2009 le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne de la cellulose (et de la matière organique totale pour un arbre par espèce) ainsi que les variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$ de la sève phloémienne sur les arbres suivis en croissance saisonnière sur le site de Fontainebleau (**partie II**). Le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne a été recalé temporellement pour chaque arbre grâce à la dynamique saisonnière de croissance mesurée sur les

micro-carottes. Nous avons comparé le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne et le $\delta^{13}\text{C}$ de la sève phloémienne et déterminer la part d'influence climatique dans les patterns intra-cerne de chaque espèce. L'article présenté est en préparation et sera soumis prochainement. La quantité des réserves carbonées (amidon et sucres solubles) a également été mesurée dans les cernes, trois fois pendant la saison de croissance. Ces résultats sont en cours d'acquisition et seront en partie montrés en conclusion.

Un schéma de l'ensemble des expérimentations de la thèse est présenté sur la **figure 9**.

Tableau 2. Age et réserve utile en eau du sol des parcelles étudiées en forêt de Fontainebleau et en forêt de Barbeau. Le choix des parcelles pour l'étude de la croissance interannuelle en forêt de Fontainebleau a été fait à partir de ces caractéristiques. Pour le site de Barbeau, ce sont les valeurs moyennes des caractéristiques des deux parcelles qui sont présentées. Les parcelles échantillonnées en forêt de Fontainebleau pour l'analyse du $\delta^{13}\text{C}$ interannuel sont indiquées par un astérisque* et celles pour l'étude saisonnière sont soulignées.

Site	Espèce	Parcelle	Age en 2008 (ans)	Réserve utile (mm)
Fontainebleau	Hêtre	B4*	114	141
	Hêtre	B9	142	136
	Hêtre	<u>B12*</u>	92	101
	Chêne	O3	179	125
	Chêne	<u>O4*</u>	151	115
	Chêne	<u>O19*</u>	199	180
	Pin	<u>P3*</u>	68	118
	Pin	<u>P8*</u>	84	100
	Pin	P13	115	144
Barbeau	Chêne	4 et 5	150	170

Approche interannuelle

1960-2007

Sur 3 parcelles par espèce à Fontainebleau

I.1. Croissance interannuelle

15 arbres par parcelle

Collaboration : Equipe Phytoécologie forestière, UMR EEF, INRA Nancy, N. Bréda, F. Gérémia et S. Ponton



Sur les mêmes carottes

Sur 2 parcelles par espèce à Fontainebleau

I.2. $\delta^{13}\text{C}$ interannuel

8 arbres par parcelle

Collaboration : Equipe GLACCIOS du LSCE, CEA-CNRS-UVSQ, Gif s/Yvette, V. Daux, N. Etien, V. Masson-Delmotte, M. Pierre et M. Stievenard

Approche saisonnière

Année 2009

Sur le site de Barbeau

III.1. $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne

8 chênes

Collaboration : T. Eglin, doctorant au laboratoire ESE en 2007

Sur 1 parcelle par espèce à Fontainebleau

II. Croissance saisonnière

Collaboration : Equipe CPQB du LERFoB, INRA Nancy, C. Rathgeber et stage de S. Simard (doctorante en 2009 à l'Université du Québec à Chicoutimi)

Sur 1 parcelle par espèce à Fontainebleau

III.2. $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne et $\delta^{13}\text{C}$ phloème

Collaborations techniques : LERFoB (microtome) et LSCE (extraction cellulose)

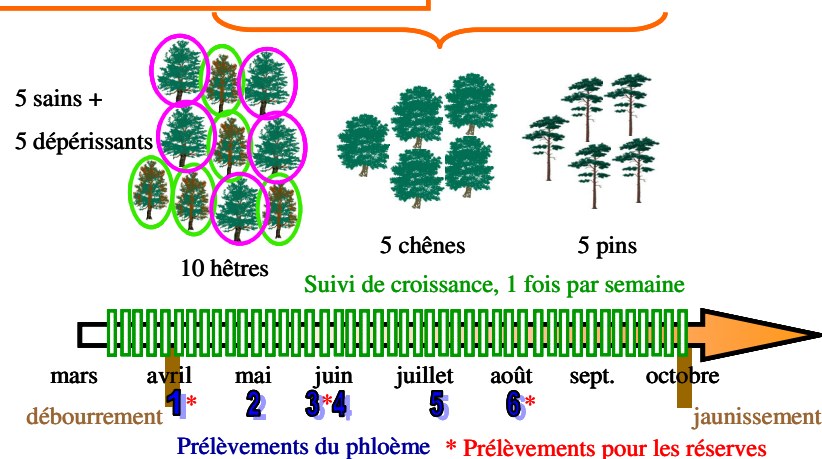


Figure 9. Dispositif expérimental de la thèse et collaborations. Les analyses du $\delta^{13}\text{C}$ ont été réalisées par la plateforme métabolisme-métabolome de l'Institut de Biologie des Plantes à Orsay.

Chapitre I. Réponse climatique interannuelle de la croissance et du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes sur la période 1960-2007

I.1. Réponse climatique interannuelle de la croissance des trois essences

I.1.1. Présentation

D'après les modèles climatiques, la fréquence et l'intensité des sécheresses vont probablement augmenter dans le sud et le centre de l'Europe dans les années à venir. Ces changements climatiques peuvent diminuer la productivité forestière comme ce fut le cas en 2003 (Ciais et al., 2005, Granier et al., 2007, Reichstein et al., 2007) et pourraient entraîner à terme des changements d'aire de répartition des espèces. Les études dendrochronologiques mettent en évidence les relations entre croissance (largeur de cerne) et climat mensuel (températures et précipitations) et permettent ainsi d'identifier la vulnérabilité actuelle des espèces aux variations climatiques. Généralement, ces études échantillonnent des arbres soumis à des conditions climatiques extrêmes où les corrélations entre largeur de cerne et climat sont fortes. Les études en forêt tempérée sont plus rares, notamment celles menées dans les plaines françaises. Dans cette partie, nous avons analysé les variations de croissance interannuelle des trois essences étudiées (Hêtre, Chêne et Pin) en fonction des variations climatiques et du déficit hydrique du sol (DHS) simulé par le modèle BILJOU© (Granier et al., 1999). Pour cela, nous avons échantillonné 9 parcelles monospécifiques (3 par espèce) en forêt de Fontainebleau (**Tab. 1** de l'article). Les parcelles choisies sont toutes matures afin d'éviter les impacts non-climatiques (notamment l'effet de l'âge) sur la croissance et présentent des niveaux différents de réserve utile en eau du sol. Les largeurs du bois initial, du bois final et du bois total ont été mesurées sur 15 arbres dominants par parcelle de 1960 à 2007. Les objectifs sont de :

1. Identifier les caractéristiques des parcelles qui peuvent expliquer les éventuelles différences de croissance moyenne et de réponse climatique des peuplements de 1960 à 2007.
2. Mettre en évidence les variables climatiques (précipitations et températures mensuelles) et les indices de DHS auxquels la croissance du cerne total de chaque espèce est sensible.
3. Déterminer pour le Chêne et le Pin, les différences de réponse aux variations climatiques et au DHS entre la croissance du bois initial et celle du bois final.

I.1.2. Principaux résultats et discussion

Cette étude montre que :

1. Les différences de croissance moyenne et de réponse au climat entre les parcelles étudiées sont principalement dues à des différences de fertilité et de réserve utile en eau du sol (cf. détails des

variations interannuelles de croissance par parcelle en **annexe 1**). Chez les chênes, la croissance des arbres sur O3 est très sensible aux variations climatiques et au DHS ce qui peut être expliqué par un nombre réduit d'interventions sylvicoles (éclaircies) et un sol moins fertile. Chez les pins, les écarts de croissance moyenne et la réponse de la croissance au climat sont plus contrastés entre parcelles sûrement dus aux différences d'âge entre les pinèdes (de 68 ans pour P3 à 115 ans pour P13 en 2007).

2. Des différences interspécifiques de vulnérabilité de la croissance au climat et au DHS ont pu être mises en évidence et sont cohérentes avec des hypothèses fonctionnelles préalablement connues.

Les hêtres sont les plus sensibles aux variables climatiques de la saison de croissance (mai, juin et juillet) et à l'intensité du DHS de juillet et août. Ces résultats sont similaires à ceux retrouvés dans différents sites européens comme en Belgique en climat océanique sur la période 1954-1996 ou sur 10 sites d'Europe Centrale en climat continental de 1952 à 1995 (résultats repris dans Lebourgeois, 2005). La phénologie foliaire du Hêtre peut en grande partie expliquer la forte sensibilité de sa croissance au climat de l'année. En effet, les hêtres débourrent généralement quelques jours avant le début de croissance (Suzuki et al., 1996) comme nous l'avons observé en 2009 à Fontainebleau lors de l'étude intra-annuelle sur la parcelle B12 (**cf. chapitre II**). Par conséquent, leur croissance est moins dépendante des réserves carbonées et plus sensible aux conditions climatiques influençant la photosynthèse.

Le Chêne est l'espèce la plus sensible aux conditions climatiques de l'année précédente, notamment à celles de l'automne précédent (températures minimales d'août et septembre et précipitations d'août et octobre). Cette vulnérabilité peut être due au démarrage rapide de la croissance du Chêne quelques semaines avant le débourrement (comme observé en 2009 sur la parcelle O4 **chapitre II**). Ainsi, la croissance est largement dépendante de la quantité de réserves, surtout au printemps. Les mauvaises conditions climatiques de l'automne précédent peuvent donc entraîner une diminution de la quantité des réserves stockées pendant cette période (Barbaroux & Bréda, 2002, Hoch et al., 2003) et diminuer la croissance l'année suivante.

La croissance des pins augmente lorsque les hivers sont chauds (principalement le mois de décembre). Certains processus fonctionnels peuvent être favorisés par de fortes températures hivernales comme le stockage des réserves, la photosynthèse hivernale, la croissance des racines ou encore l'activité mycorhizienne (e.g. Guehl, 1985, Lebourgeois et al., 2010). Mais, la croissance radiale est négativement impactée par les fortes températures de juin à août et le DHS d'août et septembre. Contrairement aux deux essences décidues, le climat du mois d'août influence donc la croissance des pins, ce qui s'explique sans doute par une durée plus longue de leur saison de croissance (**cf. chapitre II**).

3. Contrairement aux chênes, la croissance du bois initial du pin est influencée par le DHS de l'année et ses variations interannuelles sont du même ordre de grandeur que celles du bois final. Pour les deux

espèces (Chêne et Pin), le bois final est le compartiment du cerne le plus sensible aux variations climatiques et au DHS.

Ces résultats apportent des recommandations d'échantillonnage pour améliorer la qualité des reconstitutions paléoclimatiques. Ainsi, il est préférable d'échantillonner des arbres poussant sur les parcelles ayant les plus faibles réserves utiles et les sols les moins fertiles puisque leur croissance semble mieux répondre au climat. Les études pluri-espèces permettent d'avoir des informations climatiques complémentaires. Les proxys mesurés sur le bois final sont les plus corrélés au climat. Bien que le bois initial du Pin soit plus large que le bois final, il apporte peu d'informations climatiques puisque les corrélations avec le climat sont peu nombreuses et très différentes entre parcelles. Dans le contexte des changements climatiques, l'augmentation des températures et des sécheresses printanières et estivales pourrait donc considérablement diminuer la croissance du Hêtre, particulièrement sensible au climat de mai à juillet. Les sécheresses estivales et automnales peuvent aussi diminuer le stockage des réserves carbonées et entraîner des arrières-effets sur la croissance du Chêne notamment. Le Pin sylvestre pourrait être l'espèce la mieux acclimatée puisque sa croissance est favorisée par le réchauffement hivernal. Mais de récentes études montrent que sa forte sensibilité aux fortes températures estivales et au DHS compensent cet effet et diminuent sa croissance et sa survie dans le centre et le sud de l'Europe (Reich & Oleksyn, 2008) ainsi que sa future aire de répartition, notamment dans l'Ouest de la France (Cheaib et al., in prep.). Cette étude montre la nécessité de comprendre et d'intégrer le fonctionnement de chaque espèce dans les modèles et de prendre en compte les arrières-effets sur la croissance dus à la diminution des réserves.

I.1.3. Article

Soumis à "Forest Ecology and Management" le 17 Avril 2011

Differing growth responses to climatic variations and soil water deficits of *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* and *Pinus sylvestris* in a temperate forest

Alice Michelot^{1,2,3*}, Nathalie Bréda^{4,5}, Claire Damesin^{1,2,3} and Eric Dufrêne^{1,2,3}

¹Univ Paris-Sud, Laboratoire Ecologie Systématique et Evolution, UMR8079, Orsay, F-91405

²CNRS, Orsay, F-91405

³AgroParisTech, Paris, F-75231

⁴UMR 1137 INRA Unité d'Ecologie et Ecophysiologie Forestières, Champenoux, F-54280

⁵UMR 1137 Faculté des Sciences, F-54500 Vandoeuvre les Nancy

*Corresponding author:

Email: alice.michelot@u-psud.fr

Phone number: 33-1 69 15 71 37

Fax number: 33-1 69 15 72 38

Abstract

Climatic changes may impact tree growth and distribution areas according to the sensitivity of species to different climatic variables. The aim of this study was to compare the growth response of three European species (*Quercus petraea*, *Fagus sylvatica* and *Pinus sylvestris*) to climatic variations and soil water deficits in the same temperate forest. Earlywood, latewood and total ring widths were measured from 1960 to 2007 in three mature stands per species. The observed between-stand growth differences were mainly due to variability in soil fertility and available soil water capacity. Our results highlighted major differences in the vulnerability of the species to climate conditions and soil water deficits. *Fagus sylvatica* was the most sensitive species to the climatic conditions of the current growing season. *Quercus petraea* was sensitive to the climatic conditions of the previous autumn. This led to long-term consequences for growth, probably due to carbon reserve depletion. *Pinus sylvestris*, an evergreen species, was positively influenced by warm winters but was also vulnerable to temperature and soil water deficits in the growing season. The climate in August influenced pine growth, in contrast to what was seen for the deciduous species, probably because the growing season of pine was the longest. Contrary to what was observed for oak, the earlywood growth of pine was sensitive to soil water deficits in the growing season. For both oak and pine, latewood was the component that was most sensitive to climatic variations and soil water deficits. These results are discussed in the context of climate change predictions and provide information for paleoclimatic studies.

Key-words: Sessile oak, European beech, Scots pine, tree ring, interannual growth, climate

Introduction

Drought may induce productivity decreases in temperate forests, as was observed for ecosystem CO₂ fluxes during the drought of 2003 (Ciais et al., 2005, Granier et al., 2007, Reichstein et al., 2007). Key processes have been found to alter tree functioning immediately after a drought (such as related to crown condition declines, root mortality or cavitation) and for some years after an extreme event, which is mainly due to carbon reserve depletion (reviewed in Bréda et al., 2006). In addition to global warming, the frequency and the intensity of droughts will probably increase in central and southern Europe (IPCC, 2007). This may have future implications for species distribution areas (e.g. in France, Cheaib et al., in prep.) Understanding the vulnerability of tree species to climatic variations is therefore an essential issue. Investigation of recent past impacts of climate on tree growth provides useful information on the vulnerability of each affected species.

Dendroclimatic studies show the relationships between climatic data and standardised tree-ring width indices (Fritts, 1976). They highlight the main changes in ring widths due to extreme climatic events during pointer years and the sensitivity of each species to monthly temperatures and precipitation. Identification of each species' sensitivity to climatic variables could also provide valuable information for paleoclimatic studies. Additional physiological indices, such as related to soil water deficits (Zahner & Stage, 1966), are used rather than climatic data to allow biological interpretations of the growth response to climate. These indices could be better correlated with radial growth than monthly climatic variables (Foster & Leblanc, 1993) because soil water availability is a major limiting factor for tree growth. Trees growing on sites with a low available water capacity could be more sensitive to climatic variations compared to trees growing on other sites (Lebourgeois et al., 2005).

Dendrological studies are generally focused on species growing under extreme climatic conditions where climate-ring correlations were strong (e. g. Rigling et al., 2001, Wang et al., 2006). Fewer studies have been conducted in temperate forests, although they represent 24% of the global forest area and exhibit carbon storage equally allocated between vegetation and soil (Robert & Saugier, 2003). Our study site is a French temperate forest where we compared the tree growth response of three species (*Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* and *Pinus sylvestris*) with contrasting wood anatomy, phenology and ecophysiology to the same climatic variations. *Q. petraea* is a ring-porous species characterised by growth beginning prior to budburst (Bréda & Granier, 1996), whereas *F. sylvatica* is a diffuse-porous species showing growth beginning after budburst (Suzuki et al., 1996). *P. sylvestris* is an evergreen species, so its needles can be photosynthetically active before and during radial growth and new needle expansion. These species are widely distributed in European temperate forests, but dendrological studies on these trees are scarce in the French plains (e.g. Lebourgeois et al., 2010, Mérian & Lebourgeois, 2011). Earlywood, latewood and total ring widths were analysed for

each species from 1960 to 2007 to study the impacts of year-to-year variability of the climate and of years with an extreme climate on radial growth. Three monospecific stands were sampled per species. The investigated trees were mostly mature to limit non-climatic effects (ageing) on growth. For each species, the three stands were selected based on their different available water capacity (AWC) to be representative of the range of AWC in the forest. The objectives of this study are as follows: (i) to identify the stand characteristics explaining between-stand growth from 1960 to 2007, (ii) to highlight the contrasting vulnerability of the species growth to climatic variations and soil water deficits (SWD) and (iii) to determine differences between earlywood and latewood growth responses to climatic variations and SWD. We discuss the species vulnerability in the context of climate change predictions and paleoclimatology.

Materials and methods

Study site and stand selection

The study was conducted in the Fontainebleau forest, which is a large forest extending over 17,000 ha in the southeast of Paris (48°25 N, 2°40 E, mean altitude 120 m). This national forest is managed by the French National Forest Office (Office National des Forêts, ONF). The temperate-type climate is homogeneous over the whole forest, with a mean annual temperature of 10.6°C and mean precipitation of 750 mm that was fairly well distributed throughout the year. The soil texture is dominated by Stampian sand mixed with loam and clay at different depths. The studied species were *Quercus petraea*, *Fagus sylvatica* and *Pinus sylvestris*. Nine monospecific stands (3 per species) were selected with a maximal distance between stands of 9 km (**Table 1**). The soil profiles differed between stands of the same species, which leads to differences in soil fertility (Robin, 1993). For beech, the soil of B4 was the more fertile because its limestone-parent rock was thick and rich in Ca²⁺ cations, whereas the soil of B9 was shallower, and the soil of B12 was more superficial with unfertile silt in the parent rock. For oak, the soil of O19 was the deepest and the richest because of both a thick layer of silt (blown sands) and a thick B_t horizon. The parent rock of O4 was more fertile than that of O3 because it was comprised of blown sands, whereas the parent rock of O3 was a limestone layer. For pine, the parent rock of P13 was less fertile because it was a limestone layer, whereas the parent rock in P3 and P8 consisted of fertile blown sands.

In April 2008, one core was sampled at breast height in 15 dominant healthy trees per stand. To limit confusion related ageing effects on growth, pure and mature stands were selected, excepting the beech stand B12 (43 years old in 1960) and the pine stand P3 (20 years old in 1960). Stands were also selected according to their AWC to test the influence of this parameter on growth response to climate.

Measurements of stand and tree characteristics

The stand dominant height, overstory basal area and understory proportion were obtained from forest inventories performed during winter in 1994-1995 (Le Dantec et al., 2000). The leaf area index (LAI) was estimated at each stand with a canopy analyser (LAI-2000, LI-COR Inc., Nebraska, USA). From 1994 to 2000, 40 to 150 measurements, according to stand area, were performed distributed along transects below the canopy on sunny days 2 h after sunrise or before sunset. Linearly interpolated values of incident light on three zenith angles were used (from 0° to 43°, Dufrêne & Bréda, 1995). For pine, measurements were divided by 0.57 to compute hemisurface leaf area (Stenberg et al., 1994). The mean of the maximal LAI measurements performed from 1994 to 2000 was chosen as the stand LAI parameter. AWC was calculated from soil samples collected every 2 ha in 1995 by the ONF. For each soil sample, all soil horizon depths and textures were determined. The field capacity and wilting point were calculated for each horizon according to the function of Saxon *et al.* (1986). AWC was the sum of the horizon differences between the field capacity and wilting point (Le Maire, 2005). Soil types (IUSS Working Group, 2007) and the C/N ratio were determined from soil pits dug in January and February 2004. Organic C and N were determined in the upper organo-mineral layer by oxidation, as soils are acids (pH ranging between 4 and 5) according to the normalised method (NF ISO 14235).

With respect to tree characteristics, the circumference at breast height (C_{130}) was measured in the 15 sampled trees per stand from the core sampling in April 2008. The mean age was measured from 5 to 15 trees per stand by ring counting to the pith in the sampled cores. The mean age of the trees in B9, O3, O4 and O19 was estimated from a previous study conducted in 1995 (Barbaroux, 2002), and that of B4 and B12 was estimated from a study from 2008 (E. Silva, pers. com.).

Tree-ring data and pointer years

Tree rings were measured microscopically in the sampled cores for earlywood, latewood and total ring width to the nearest 0.01 mm from 1960 to 2007 using a digitising tablet connected to a micro-computer and the tree-ring program SAISIE (Becker, unpublished). As beech is a diffuse porous species, only the total ring widths were measured for this species. After cross-dating, 45 individual ring series for oak (15 trees in 3 stands), 45 for beech and 41 for pine were used. Thinning information was available for each stand from 1970 to 2007 (ONF). Some thinnings impacted the stand tree-ring series and led to stand pointer years, especially for beech. Thus, the pointer years were identified for each species to limit the number of non-climatic pointer years. They were calculated separately for each ring component, i.e., earlywood, latewood and total ring. Relative growth variation (RGV) was calculated for each n year in each individual ring series as follows:

$$RGV = \left(\frac{W_n - W_{n-1}}{W_{n-1}} \right) * 100 \quad (1)$$

where W is the width of the considered ring component. The mean RGV by species was calculated for each ring component. The pointer years were defined for each ring component as those calendar years when at least 70% of the cross-dated trees presented the same sign of growth change (at least 10% narrower or wider than the previous year).

Tree basal area increment chronologies

The basal area increment (BAI) of earlywood, latewood and total ring were calculated for each tree using ring data and C_{130} from 1960 to 2007. BAI was preferred to ring width because it provides a more accurate quantification of wood production due to the continually increasing diameter of a growing tree (Rubino & McCarthy, 2000). Chronology statistics were calculated for each stand BAI series from 1960 to 2007 (**Table 2**) with the COFECHA v6.06P program (Holmes, 1994). The mean sensitivity (MS) is a measure of year-to-year variability, and the first-order autocorrelation coefficient (AC) assesses the influence of the previous year's growth on the current year's growth (Fritts, 1976). Standardisation of each individual BAI series was performed using the program ARSTAN v6.05P (Cook, 1985). For all series, we used a 60-year cubic spline with a 50% frequency response, which preserved 99% of the variation within individual series at a wavelength of 19 years. Subsequently, first-order autoregressive modelling of the residuals and bi-weight robust estimation of the mean were applied (Cook & Peters, 1981).

Climatic data and simulations of soil water deficit

Mean, maximum and minimum temperatures ($^{\circ}C$), mean relative air humidity (%), mean wind speed ($m\ s^{-1}$) and global radiation ($J\ m^{-2}$) were recorded daily at the Melun-Villaroche meteorological station (Météo-France network). Precipitation was recorded at the Fontainebleau station. The monthly means of the minimum and maximum temperatures (T_{min} , T_{max}) and monthly sums of precipitation (P) were calculated for each year from 1960 to 2007.

The daily water balance model BILJOU© (Granier et al., 1999) was used to calculate each water-flux component and the resulting daily soil water content. The intensity (I_s), starting date and duration of SWD were calculated each year for each stand. The input climatic data were daily precipitation and potential evapotranspiration (PET) calculated according to the Penman formulation (Penman, 1948). The budburst day was fixed at 20 April for oak and 25 April for beech, according to observations made by Dufrêne E. (unpublished data), and the leaf fall day was fixed at 27 October for these two species. Pine was assumed to maintain a constant LAI and to be able to transpire throughout

the year, including winter, depending on PET. Detailed soil parameterisation was performed for each stand based on descriptions from deep soil pits dug in 2004. According to the observed soil properties and the fine root distribution, two layers were defined, including 75% of fine roots for the top soil layer and 25% for the deeper one. AWC and soil density were calculated for the two soil layers based on the properties of the corresponding pedological horizons. For each stand, daily relative extractable soil water (*REW*) was calculated from 1960 to 2007 as

$$REW = \frac{W_e}{AWC} \quad (2)$$

where W_e is daily extractable water. A soil water deficit is assumed to occur when *REW* drops below a critical threshold of 0.4 (REW_c), under which transpiration is gradually reduced due to stomatal closure (Granier et al., 1999).

The intensity of SWD (I_s), which accumulates the difference between *REW* and REW_c , was calculated monthly or annually:

$$I_s = \frac{\sum (0.4 * AWC - W_e)}{0.4 * AWC} \quad (3)$$

Statistics and dendroclimatic analyses

All statistical analyses were performed using a statistical software package (Statistica; Statsoft, Tulsa, OK, USA). The coefficient of variation (CV, ratio of standard deviation to mean) was calculated from 1960 to 2007 to compare the mean BAI of earlywood and latewood for oak and pine. Analysis of variance was conducted to determine whether "species" was a factor that significantly influenced the mean species *BAI* from 1960 to 2007. Comparisons between the stand or species mean *BAI*, *MS* or *AC* were checked with a *t*-test at the 95% confidence level. The homoscedasticity assumption and the comparison of the interannual variation amplitudes between the species *BAI* were checked by a Levene-test.

First, bootstrapped correlation coefficients were calculated between monthly climatic data (*Tmax*, *Tmin* and *P*) and the residual chronology of each stand (earlywood, latewood and total ring) with the software package DENDROCLIM2002 (Biondi & Waikul, 2004). This software calculates the statistical significance of the coefficients by calculating 95% quantile limits based on 1000 bootstrap re-samples of the data. Correlations were performed from August of the previous year (n-1) to August of the current year (n). Analyses were conducted for two periods: 1961 to 2007 (47 years) and the pointer years for each species (26 years for beech, 30 for oak and 25 for pine). For these two periods, the bootstrapped correlation coefficients were also calculated between SWD indices and the residual chronology of each stand. The SWD indices were I_s from June to October (n-1 and n) and annual SWD duration (n-1 and n).

Second, bootstrapped response function coefficients were calculated between monthly climatic data (Tmax or Tmin and P) and the residual chronology of each stand (EW, LW and total ring, Guiot, 1991). Climatic parameters were considered from August n-1 to July n for the deciduous species and from September n-1 to August n for pine. Analyses were performed using 12 monthly Tmax or Tmin and 12 P from 1961 to 2007. For the same period, response function analyses were also performed between monthly temperatures (Tmax or Tmin) and SWD indices and the residual chronology of each stand. The SWD indices were I_s from June to October (n-1 and n) and annual SWD duration (n and n-1). Analyses were thus performed using 12 monthly Tmax or Tmin and 12 SWD indices. Linear multiple regressions were finally performed between the significant climatic data or SWD indices resulting from the response function analyses and the residual chronology of each stand from 1961 to 2007. The adjusted R^2 obtained from these regressions accounted for the percent of the interannual variations in stand growth explained by climatic (T, P) or bioclimatic (T, SWD indices) models.

Third, response function analyses with only 12 regressors were performed between monthly temperatures (Tmax or Tmin) and SWD indices and the residual chronology of each stand over two periods: 1961-2007 (47 years) and the pointer years of each species ($25 < N < 30$ years). This allowed a comparison of the stand growth response for the two periods with the same number of regressors. The regressors were chosen according to the previous results of the response function analyses (methodology described in the previous paragraph). For the deciduous species, analyses were conducted using 6 monthly Tmax (August to October n-1, June to August n) and 6 SWD indices (I_s of July and August n-1, I_s from June to August n and SWD duration n). For pine, analyses were performed using 7 monthly Tmax (June and December n-1, January, February and June to August n) and 5 SWD indices (I_s of August and September n-1, I_s of August and September n and SWD duration n).

Results

Interannual growth variations

The growth of the three species responded similarly to dry years (e.g., 1964, 1976, 1996), which induced a decrease in growth (**Fig. 1**). The interannual variations were more pronounced for beech (Levene-test, $p < 0.001$). The pointer years were different between species (**Fig. 2**). Considering the total ring parameter, the proportion of pointer years was slightly higher for oak (30) than for beech (26) and pine (25) from 1961 to 2007. There were only two pointer years for beech from 1961 to 1973 because the pointer years were different between the three beech stands (data not shown). For oak, a low growth level was observed during the 7 years from 1972 to 1978, with a lack of a positive pointer year in 1975 compared to the other species. The drought in 2003 had an impact on pine, resulting in a

decrease of 25% in *RGV* in that year (pointer year), whereas the impact was delayed by one year, to 2004, for oak and beech (decreases of -26% and -49%, respectively).

The number of pointer years was higher in latewood than in earlywood for pine (25 vs. 18) and particularly for oak (32 vs. 8). The proportion of earlywood in the total ring width from 1960 to 2007 (EW/TR proportion) was significantly higher for pine (68.2 ± 5.1 %) than for oak (41.8 ± 6.1 %, *t*-test, $t = 23.0$, $p < 0.001$). The interannual growth variations for oak were mainly due to latewood growth variations rather than earlywood variations because earlywood variations were extremely low from 1960-2007 ($CV_{EW} = 14\%$ vs. $CV_{LW} = 26\%$, **Fig 3 a**). Oak earlywood growth was correlated with latewood growth variations from 1960 to 2007 ($R^2 = 0.29$, $p < 0.001$). Contrary to what was seen in oak, for pine, the interannual variations of earlywood and latewood growth were close from 1960 to 2007 ($CV_{EW} = 25\%$ vs. $CV_{LW} = 32\%$, **Fig 3 b**). Pine earlywood growth was also more correlated with latewood growth variations from 1960 to 2007 ($R^2 = 0.45$, $p < 0.001$) compared to oak.

Tree BAI chronology statistics

The stand mean BAI from 1960 to 2007 was significantly different among the three species (ANOVA, $F = 100$, $p < 0.001$, **Table 2**). The mean BAI of pine was significantly lower than that of oak (18.5 ± 3.0 vs. 29.0 ± 2.4 ; *t*-test, $t = -10.0$, $p < 0.001$). Among the stands of beech, oak and pine, the mean BAI was highest in B4 (*t*-test, $p < 0.01$), lowest in O3 (*t*-test, $p < 0.05$, after a logarithm transformation to homoscedasticity) and lowest in P13 (*t*-test, $p < 0.05$), respectively. The mean sensitivity (*MS*) of the beech total ring BAI (0.347) was significantly higher than that of oak (0.207) and pine (0.290; *t*-test, $p < 0.001$, after a log transformation). The first-order autocorrelation (*AC*) of the pine total ring BAI (0.678) was significantly higher than that of beech (0.530) and oak (0.522; *t*-test, $p < 0.001$). For oak and pine, *MS* of the earlywood BAI was significantly lower than that of the latewood BAI (0.190 vs. 0.337 for oak and 0.300 vs. 0.489 for pine; *t*-test, $p < 0.001$, after a log transformation for pine).

Climatic interpretation of pointer years for stand growth

The effects of monthly temperature and precipitation on the stand total ring chronologies were quantified by bootstrapped correlations over the pointer years of each species (**Fig 4**). The between-species comparison of climatic effects on growth revealed major differences. Beech growth was highly sensitive to warm temperatures in June and July. Oak growth was more affected by warm temperatures in the previous August and September, rather than by temperatures in the current growing season. Pine growth was positively influenced by warm temperatures in the previous December and negatively affected by temperatures in the current growing season. Abundant precipitation in the previous December seemed to represent a suitable condition for the three species, but oak growth was also

positively influenced by the previous autumnal precipitation. The growths of all species were sensitive to spring and summer precipitation, but the key climatic month for growth differed between species. Thus, for beech, the key months were May, June and July, whereas for oak, they were June and July, and for pine, they were June and August.

For each species, some between-stand differences of the climatic effects were also observed for the pointer years. Growth in B4 was not influenced by the climate of the previous year, in contrast to growth in B9 and B12. Among the oak stands, growth in O3 was the more sensitive to climate, particularly in June. The between-stand differences in climatic effects on growth were stronger for the pine stands. Thus, the growth in P3 was mainly influenced by the climate in the previous winter and was less influenced by temperatures in the current growing season. Trees growing in P8 were the only sensitive to the climate in July.

Climatic effects on earlywood and latewood growth

The earlywood growth of both oak and pine was slightly sensitive to climate, and its response was different between stands (**Fig. 5**). Oak earlywood growth was negatively influenced by temperatures of the current January (O4, O19) and positively affected by precipitation in the current April (O4, O19) and June (O3, O4). Pine earlywood growth was positively correlated with temperatures and precipitation in the previous December (P3, P8) and with precipitation in January for P13 and was negatively influenced by the maximum temperatures in May (P13) and June (P3). In contrast, oak and pine latewood growth were very sensitive to climate for all stands. Oak latewood growth was positively correlated with the precipitation of the previous autumn-winter and precipitation from May to July. Pine latewood growth was negatively correlated with maximal temperatures in June and July and positively correlated with precipitation in February and from May to August. Only the oak latewood growth response to temperatures in the previous autumn and in the current summer was different between stands.

Growth response to soil water balance

Bootstrapped correlations coefficients were quantified between each earlywood and latewood stand chronology and SWD indices. Oak earlywood growth was only significantly negatively correlated with I_s in June, whereas its latewood growth was sensitive to I_s from June to August. For pine, both earlywood and latewood growth were significantly correlated with I_s from June to September, but the correlation values were lower for earlywood compared to latewood (data not shown).

Response function analysis was performed between the stand total ring indices and 12 bioclimatic regressors (Tmax, monthly I_s and SWD duration) for two periods: from 1961 to 2007

(**Table 3a**) and over the pointer years of each species (**Table 3b**). Beech growth was influenced by SWD duration and I_s in the current July and August for the two considered datasets. When considering only the pointer years, growth in B9 was influenced by the maximum temperature in July, rather than I_s in July. From 1961 to 2007, growth in O3 and O4 was sensitive to I_s in June and July (plus August for O3), whereas growth in O19 was only sensitive to I_s in July and August (plus SWD duration). During the pointer years, only one month's I_s significantly influenced oak growth (June for O3 and O4 and July for O19). With respect to climatic effects, the between-stand difference in the response to climate was stronger for the pine stands. Pine growth was positively influenced by warm temperatures in the previous December for the two considered datasets. I_s in August and September had a stronger influence on pine growth during the pointer years than from 1961 to 2007. Trees growing in P3 were also sensitive to the SWD duration, and trees growing in P8 and P13 were sensitive to temperatures in August and June, respectively.

Comparison between climatic and bioclimatic models

For each stand BAI chronology, multiple linear regressions were performed between growth indices and significant monthly climatic (Tmax, P) or bioclimatic (Tmax, I_s and SWD duration) variables resulting from the response function analysis (24 regressors). The adjusted determination coefficient values obtained with the climatic and bioclimatic models were compared, as shown in **Figure 6**. The bioclimatic models explained significantly more of the interannual growth variations of pine than the climatic models (*t*-test, $p < 0.05$; mean species adjusted $R^2 = 6.8\%$ vs. 33.7% , respectively). This difference was lower with respect to latewood growth (mean adjusted $R^2 = 31\%$ vs. 42% , data not shown). For oak, except for O19, the bioclimatic models explained slightly more of the interannual growth variations than the climatic models (mean adjusted $R^2 = 34\%$ vs. 40%). The difference in the adjusted R^2 between the climatic and bioclimatic models clearly increased when considering latewood growth (mean adjusted $R^2 = 25\%$ vs. 39% , data not shown). However, for beech growth, the use of a bioclimatic model did not improve the percent of explained variance compared to a climatic model (mean adjusted $R^2 = 33\%$ vs. 40%). The interannual growth variations in B12 and O3 were the best explained by both the climatic and bioclimatic models.

Discussion

Between-stand growth

The mean beech growth from 1960 to 2007 was highest in stand B4, mainly due to higher soil fertility (Robin, 1993). However, beech growth appeared to be sensitive to the same climatic variables and SWD indices between stands. This lack of differences in close stands within a forest was also observed at a larger scale using the French network RENECOFOR from 1949 to 1994 (Lebourgeois, 2006). Probably due to the most constraining soil conditions being observed at this site (i.e., low fertility and AWC), the interannual growth variations in B12 over 48 years were better predicted by both the climatic and bioclimatic models than the growth in B4 and B9.

The mean oak growth was lowest in stand O3, mainly due to lower soil fertility and a larger overstory basal area. The growth in O3 was also the more sensitive to the maximum temperatures, precipitation and I_s of the current growing season and less sensitive to the climate of the previous year than that in O4 and O19. This climate sensitivity of O3 could be due to the lower soil fertility and low thinning rate at this stand compared to O4 and O19 because thinning partially buffers the tree-ring response to climate (Martín-Benito et al., 2010). This led to an exceptional ability of the climatic and bioclimatic models to predict the interannual growth variations in O3 from 1960 to 2007.

The mean pine growth was the lowest in P13, which could be explained by its exhibiting the lowest soil fertility, highest understory proportion and oldest trees among the pine stands. Martínez-Vilalta et al. (2007) reported a large growth efficiency decrease of approximately 50% between 25-year-old and 75-year-old Scots pine in the Scottish Highlands. The between-stand difference in response to climate and SWD was greater for pine than for beech and oak. The low AWC in P8 could explain the higher growth vulnerability to maximal temperatures and precipitation over the current June to August observed at this site, leading to the best ability of the bioclimatic model for P8 to make growth predictions. Most likely due to the highest AWC and the oldest trees being found at this site, the growth in P13 was the less sensitive to the I_s value of the growing season, both over 47 years and when considering only the pointer years. For all species, ring width measurements in the stands with the lowest AWC and the lowest fertility seemed to provide the best climatic signal for paleoclimatic reconstitutions.

Between-species response to climate

Investigation of the growth response to climate and SWD for the pointer years of each species allowed highlighting differences in the species' vulnerability. Differing frequencies of pointer years were observed among species. This is consistent with the results of a previous analysis of a large tree

ring database showing that species are the first source of differences in the frequency of pointer years, before the bioclimatic context (Bréda & Badeau, 2008). Beech was very sensitive to the climate of the current year, with more pronounced interannual growth variations being observed than for the other species. The high suitability of beech tree-rings for dendrological analysis has been reported at many European sites (Dittmar et al., 2003). Generally, the beech budburst is earlier (Suzuki et al., 1996) than the initiation of radial growth because of a close correspondence between leaf unfolding and the reactivation of the cambium (Cufar et al., 2008). Radial growth in this species is therefore mainly dependent on climatic variations and leaf photosynthesis. As beech is a diffuse porous-species, the reactivation of its growth is less sensitive to winter embolism and consequently less dependent on stored reserves which could explain the weak influence of the climate of the previous year on this species (Barbaroux & Bréda, 2002). The observed interannual growth variations were negatively correlated with the maximum temperatures in June and, especially, in July and positively correlated with precipitation from May to July. Previous European studies have shown similar results as under Atlantic climate in Belgium or in 10 sites of central Europe under continental climate (reviewed in Lebourgeois, 2005). The observed beech growth response to the intensity of SWD in July and August and SWD duration underlined the key role of soil water depletion during the summer.

During the pointer years, the total ring growth of oak was more sensitive to the climate of the previous year compared to beech and pine. Oak growth was sensitive to cold temperatures and low precipitation in the previous autumn and December, as described at other French sites by Lebourgeois (2006). The temporal dynamics of soil water recharge for recovering field capacity appears to be a water balance pattern pre-conditioning the next ring. Large earlywood vessels of oak are sensitive to embolism generated by winter frosts (Hacke & Sauter, 1996). Therefore, the production of new earlywood before leaf expansion for the spring recovery of hydraulic conductivity largely depends on the use of carbon reserves. Dry autumnal conditions could affect carbon reserve storage because the accumulation of non-structural carbohydrates in temperate sessile oak continues after growth cessation until leaf fall (Barbaroux & Bréda, 2002, Hoch et al., 2003). Carbohydrate depletion could explain long term consequences of climate on oak growth, such as observed from 1972 to 1978 with a time lag of more than one year (Becker et al., 1994). As for beech, oak growth was positively correlated with the precipitation of the growing season, but the months with the strongest climatic impact were June and July. The June-July period corresponded to latewood formation was found to be the ring component that most influenced the total ring width variations. The growth response to I_s in June and July highlighted the vulnerability of oak growth to SWD during this period.

Pine was the only evergreen species included in our study, and its growth increased in the case of warm temperatures in winter and, particularly, in the previous December. Warm winter conditions could improve carbohydrate storage because photosynthesis occurs in conifers during mild winters and could increase the mycorrhizal activity and root growth (Guehl, 1985, Lebourgeois et al., 2010). These factors, in combination with abundant precipitation in the previous December, which increases

extractable soil water, promote earlywood formation during spring. Pine growth was also affected by maximal temperatures in June (as in Rigling et al., 2002), July and August and positively correlated with abundant precipitation in June and August. Therefore, pine was the only species sensitive to the climate of August. The observed pine growth response to I_s in August and September also highlighted the key role of the soil water status at the end of the growing season. This could be explained by the longer growing season of pine in Fontainebleau (until September) compared to beech and oak over a mean climatic year (Michelot et al., in prep.) Warm and dry climatic conditions over June to August could lead to quick stomatal closure in Scots pine, and thus, photosynthesis is reduced during the early stage of drought (Cochard, 1992, Zweifel et al., 2009). The use of SWD indices, rather than precipitation to predict the interannual growth variations of pine greatly improve model quality. These indices include the accumulated SWD during the growing season and thus the water constraints of the previous months, contrary to monthly precipitation. A major effect of summer SWD on Scots pine ring formation has been observed in other European sites (reviewed in Lebourgeois et al., 2010): in Mediterranean forests (e.g. Andreu et al., 2007) and Alpine valleys in Switzerland and Austria (e.g. Bigler et al., 2006, Weber et al., 2007).

In the context of climatic changes, droughts will be more intensive and frequent, and maximal temperatures will increase in central and Southern Europe, particularly in winter (IPCC 2007). The high sensitivity of *F. sylvatica* to maximum temperatures and the precipitation of the current growing season could make this species highly vulnerable to future drought events (as suggested by the results of Gessler et al., 2007b). Oak growth was strongly dependant on the carbon reserve storage. In the case of summer droughts, reserve depletion due to soil water deficits could lead to long-term consequences for oak growth. Additionally, Bréda *et al.* (2006) have shown the impact of drought in 2003 via the amount of carbohydrate reserves on the crown vitality of oak during the following year. *P. sylvestris* could be the species that is less vulnerable to expected climate changes among the investigated species because its growth could be stimulated by warm winters. However, recent studies have shown that its great sensitivity to maximum summer temperatures and summer SWD, as we found, could have an opposite effect. This lead to decrease in pine growth and survival in central and southern Europe (Reich & Oleksyn, 2008) and probable decrease of its future distribution area, as predicted by Cheaib *et al.* (in prep.) in the west of France.

Differing responses between earlywood and latewood growth

For oak, interannual earlywood growth variations were buffered compared to latewood growth. The mean sensitivity and the number of pointer years were therefore extremely low for the earlywood chronologies. During a mean climatic year, earlywood develops over April to mid-May (Bréda & Granier, 1996, Gricar, 2010, Michelot et al., in prep.) before leaf maturity occurs. Carbohydrate reserves are used as the main substrate for earlywood formation, as shown by the severe

depletion of total non-structural carbohydrates during this period (Barbaroux and Bréda, 2002) and by studies on the intra-ring carbon isotopic composition (Helle & Schleser, 2004, Eglin et al., 2010, Michelot et al., 2011). Earlywood growth was less dependent on the climate and SWD of the current year (Bréda et Granier, 1996) than latewood growth, which was significantly correlated with many climatic variables. Concerning latewood growth, our results showed a large influence of precipitation, rather than the temperatures of the current growing season. However, latewood growth was more influenced by the previous autumn-winter conditions than was that of earlywood, contrary to the findings of most dendrochronological studies in Europe (reviewed in Dolezal et al., 2010). Like earlywood, latewood also appeared to be affected by carbon reserve depletion due to unfavourable conditions in the previous autumn.

In contrast to what was seen in oak, the interannual earlywood growth variations of pine were close to those of latewood. The number of pointer years was lower for earlywood compared to latewood growth, but the decrease was much lower than for oak. During a mean climatic year, the earlywood growth of pine lasts approximately one month longer than that of latewood (Michelot et al., in prep.), which could explain the difference in the EW/TR proportion observed between pine and oak (68% vs. 42%, respectively). Earlywood growth was sensitive to temperatures and precipitation during winter but was only slightly influenced by the climate of the current growing season (as in Lebourgeois et al., 2010). Contrary to what was seen for oak, earlywood growth was sensitive to I_s in the growing season (as in Eilmann et al., 2009, Lebourgeois et al., 2010). Latewood growth was very sensitive to the climate of the current growing season and was greatly reduced when the I_s values of SWD in July and August were strong. Latewood formation occurred from June to September, which corresponded to the period when the soil water deficit was the strongest.

These results confirmed that the use of proxies measured in latewood rather than those measured in total rings for the paleoclimatic reconstitutions was highly preconized for both oak and pine. Although in pine, earlywood was thicker than latewood, the climatic information provided by earlywood width was difficult to use in paleoclimatic reconstitutions because of the low number and the high between-stand variability of significant climatic variables.

Conclusions

Comparison of the growth response to climatic variations and SWD for the pointer years of each species allowed highlighting differences in species vulnerability. *Fagus sylvatica* was the species that was most sensitive to the climatic conditions of the current growing season. *Quercus petraea* exhibited long-term consequences of autumnal droughts on growth. Unfavourable climatic conditions in the previous autumn affected current oak growth, probably due to the resulting storage reserve depletion. *Pinus sylvestris* was positively influenced by warm winter conditions, particularly in the

previous December, and was vulnerable to temperature and SWD in the growing season. The climate of August influenced pine growth, contrary to what was seen for the deciduous species, probably because the growing season of pine was the longest. In contrast to what was observed for oak, the earlywood growth of pine was sensitive to soil water deficits in the growing season. For both oak and pine, latewood was the component that was most sensitive to climatic variations and soil water deficits. An increase in the frequency and the intensity of droughts, as predicted by the IPCC (2007), could affect the three species differently, with negative impacts of maximum summer temperatures for *F. sylvatica* and long-term consequences of tree carbohydrate storage depletion for *Q. petraea*. The future distribution area of *P. sylvestris* will depend on the evolution of global warming because warm winters were found to promote their growth, whereas warm summers decreased it. These specific growth responses to climatic variations highlight the necessity of understanding and integrating the functioning of each species to improve future simulations of carbon storage and to adapt forest management practices under conditions of climate change.

Acknowledgments

François Gérémia is gratefully acknowledged for the core sampling and his expertise in dendrological measurements and cross dating. We also thank all of the colleagues of the Laboratory ESE for field leaf samples, Yves Lefèvre for his expertise in soil descriptions and Fabien Spicher for his help in data analysis. The authors are grateful to the Office National des Forêts, especially Claude Lagarde and Gilles Defour for facilitating the experimental work in the Fontainebleau forest. This research took place under the project AFOCLIM, which was financed by the National Program GIS Climat-Environnement-Société. Alice Michelot receives a PhD grant from the French Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche and the University of Paris-Sud.

References

1. Andreu L., Gutierrez E., Macias M., Ribas M., Bosch O. & Camarero J.J. (2007) Climate increases regional tree-growth variability in Iberian pine forests. *Global Change Biology*, **13**, 804-815.
2. Barbaroux C. (2002) Analyse et modélisation des flux de carbone de peuplements forestiers pour la compréhension de la croissance de deux espèces feuillues *Quercus petraea* et *Fagus sylvatica*, thèse, Université Paris-sud 11, pp. 183 + annexes.
3. Barbaroux C. & Bréda N. (2002) Contrasting distribution and seasonal dynamics of carbohydrate reserves in stem wood of adult ring-porous sessile oak and diffuse-porous beech trees. *Tree Physiology*, **22**, 1201-1210.
4. Becker M., Nieminen T.M. & Gérémia F. (1994) Short-term variations and long-term changes in oak productivity in northeastern France. The role of climate and atmospheric CO₂. *Annals of Forest Science*, **51**, 477-492.
5. Bigler C., Braker O.U., Bugmann H., Dobbertin M. & Rigling A. (2006) Drought as an inciting mortality factor in Scots pine stands of the Valais, Switzerland. *Ecosystems*, **9**, 330-343.

6. Biondi F. & Waikul K. (2004) DENDROCLIM2002: A C++ program for statistical calibration of climate signals in tree-ring chronologies. *Computers & Geosciences*, **30**, 303-311.
7. Bréda N. & Badeau V. (2008) Forest tree responses to extreme drought and some biotic events: Towards a selection according to hazard tolerance? *Comptes Rendus Geoscience*, **340**, 651-662.
8. Bréda N. & Granier A. (1996) Intra- and interannual variations of transpiration, leaf area index and radial growth of a sessile oak stand (*Quercus petraea*). *Annals of Forest Science*, **53**, 521-536.
9. Bréda N., Huc R., Granier A. & Dreyer E. (2006) Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. *Annals of Forest Science*, **63**, 625-644.
10. Cheaib A., Badeau V., Boe J., Chuine I., Delire C., Dufrêne E., . . . Leadley P. (in prep.) Climate change induced shifts in tree ranges: how model inter-comparison facilitates understanding and quantification of uncertainty.
11. Ciais P., Reichstein M., Viovy N., Granier A., Ogée J., Allard V., . . . Valentini R. (2005) Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. *Nature*, **437**, 529-533.
12. Cochard H. (1992) Vulnerability of several conifers to air-embolism. *Tree Physiology*, **11**, 73-83.
13. Cook E.R. (1985) A time series analysis approach to tree-ring standardization, University of Arizona, pp. 171.
14. Cook E.R. & Peters K. (1981) The smoothing spline: a new approach to standardizing forest interior tree-ring width series for dendroclimatic studies. *Tree-ring bulletin*, **41**, 45-53.
15. Cufar K., Prislán P. & Gricar J. (2008) Cambial activity and wood formation in Beech (*Fagus Sylvatica*) during the 2006 growth season. *Wood Research*, **53**, 1-12.
16. Dittmar C., Zech W. & Elling W. (2003) Growth variations of Common beech (*Fagus sylvatica* L.) under different climatic and environmental conditions in Europe - a dendroecological study. *Forest Ecology and Management*, **173**, 63-78.
17. Dolezal J., Mazurek P. & Klimesova J. (2010) Oak decline in southern Moravia: the association between climate change and early and late wood formation in oaks. *Preslia*, **82**, 289-306.
18. Dufrêne E. & Bréda N. (1995) Estimation of deciduous forest Leaf-Area Index using direct and indirect methods. *Oecologia*, **104**, 156-162.
19. Eglin T., Francois C., Michelot A., Delpierre N. & Damesin C. (2010) Linking intra-seasonal variations in climate and tree-ring $\delta^{13}\text{C}$: A functional modelling approach. *Ecological Modelling*, **221**, 1779-1797.
20. Eilmann B., Zweifel R., Buchmann N., Fonti P. & Rigling A. (2009) Drought-induced adaptation of the xylem in Scots pine and pubescent oak. *Tree Physiology*, **29**, 1011-1020.
21. Foster J.R. & Leblanc D.C. (1993) A physiological approach to dendroclimatic modeling of Oak radial growth in the Midwestern United-States. *Canadian Journal of Forest Research*, **23**, 783-798.
22. Fritts H.C. (1976) Tree-ring and climate, pp. 567. Academic press, New-York.
23. Gessler A., Keitel C., Kreuzwieser J., Matyssek R., Seiler W. & Rennenberg H. (2007) Potential risks for European beech (*Fagus sylvatica* L.) in a changing climate. *Trees - Structure and Function*, **21**, 1-11.
24. Granier A., Bréda N., Biron P. & Villette S. (1999) A lumped water balance model to evaluate duration and intensity of drought constraints in forest stands. *Ecological Modelling*, **116**, 269-283.
25. Granier A., Reichstein M., Bréda N., Janssens I.A., Falge E., Ciais P., . . . Wang Q. (2007) Evidence for soil water control on carbon and water dynamics in European forests during the extremely dry year: 2003. *Agricultural and Forest Meteorology*, **143**, 123-145.
26. Gricar J. (2010) Xylem and phloem formation in Sessile oak from Slovenia in 2007. *Wood Research*, **55**, 15-22.
27. Guehl J.-M. (1985) Etude comparée des potentialités hivernales d'assimilation carbonée de trois conifères de la zone tempérée (*Pseudotsuga menziesii* Mirb, *Abies alba* Mill et *Picea excelsa* Link). *Annals of Forest Science*, **42**, 23-38.
28. Guiot J. (1991) The bootstrapped response function. *Tree-ring bulletin*, **51**, 39-41.

29. Hacke U. & Sauter J.J. (1996) Xylem dysfunction during winter and recovery of hydraulic conductivity in diffuse-porous and ring-porous trees. *Oecologia*, **105**, 435-439.
30. Helle G. & Schleser G.H. (2004) Beyond CO₂-fixation by Rubisco - an interpretation of ¹³C/¹²C variations in tree rings from novel intra-seasonal studies on broad-leaf trees. *Plant, Cell & Environment*, **27**, 367-380.
31. Hoch G., Richter A. & Körner C. (2003) Non-structural carbon compounds in temperate forest trees. *Plant Cell and Environment*, **26**, 1067-1081.
32. Holmes R.L. (1994) Dendrochronology program library user's manual. Laboratory of Tree-Ring Research. University of Arizona, Tucson.
33. IPCC (2007) Climate change 2007: Synthesis report. Cambridge University Press, pp. 52.
34. IUSS Working Group (2007) World Reference Base for Soil Resources 2006. FAO, pp. 145.
35. Le Dantec V., Dufrêne E. & Saugier B. (2000) Interannual and spatial variation in maximum leaf area index of temperate deciduous stands. *Forest Ecology and Management*, **134**, 71-81.
36. Le Maire G. (2005) Détermination du bilan de carbone de la forêt de Fontainebleau : apport de la télédétection pour la spatialisation des paramètres d'entrée. PhD thesis, Université Paris-sud 11, pp. 201 + annexes.
37. Lebourgeois F. (2005) Approche dendroécologique de la sensibilité du Hêtre (*Fagus sylvatica* L.) au climat en France et en Europe. *Revue Forestière Française*, **1**, 33-50.
38. Lebourgeois F. (2006) Sensibilité au climat des Chênes sessile et pédonculé dans le réseau RENECOFOR. Comparaison avec les hêtraies. *Revue Forestière Française*, **58**, 29-44.
39. Lebourgeois F., Bréda N., Ulrich E. & Granier A. (2005) Climate-tree-growth relationships of European beech (*Fagus sylvatica* L.) in the French Permanent Plot Network (RENECOFOR). *Trees-Structure and Function*, **19**, 385-401.
40. Lebourgeois F., Rathgeber C.B.K. & Ulrich E. (2010) Sensitivity of French temperate coniferous forests to climate variability and extreme events (*Abies alba*, *Picea abies* and *Pinus sylvestris*). *Journal of Vegetation Science*, **21**, 364-376.
41. Martínez-Vilalta J., Vanderklein D. & Mencuccini M. (2007) Tree height and age-related decline in growth in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Oecologia*, **150**, 529-544.
42. Martín-Benito D., Del Río M., Heinrich I., Helle G. & Cañellas I. (2010) Response of climate-growth relationships and water use efficiency to thinning in a *Pinus nigra* afforestation. *Forest Ecology and Management*, **259**, 967-975.
43. Mérian P. & Lebourgeois F. (2011) Size-mediated climate-growth relationships in temperate forests: A multi-species analysis. *Forest Ecology and Management*, **261**, 1382-1391.
44. Michelot A., Eglin T., Dufrêne E., Lelarge-Trouverie C. & Damesin C. (2011) Comparison of seasonal variations in water-use efficiency calculated from the carbon isotope composition of tree rings and flux data in a temperate forest. *Plant Cell and Environment*, **34**, 230-244.
45. Michelot A., Simard S., Rathgeber C.B.K., Dufrêne E. & Damesin C. (in prep.) Comparing the seasonal wood formation of three European species (*Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* and *Pinus sylvestris*) in a temperate forest.
46. Penman H.L. (1948) Natural evaporation from open water, bare soil and grass. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences*, **193**, 120-145.
47. Reich P.B. & Oleksyn J. (2008) Climate warming will reduce growth and survival of Scots pine except in the far north. *Ecology Letters*, **11**, 588-597.
48. Reichstein M., Ciais P., Papale D., Valentini R., Running S., Viovy N., . . . Zhao M. (2007) Reduction of ecosystem productivity and respiration during the European summer 2003 climate anomaly: a joint flux tower, remote sensing and modelling analysis. *Global Change Biology*, **13**, 634-651.
49. Rigling A., Braker O., Schneiter G. & Schweingruber F. (2002) Intra-annual tree-ring parameters indicating differences in drought stress of *Pinus sylvestris* forests within the Erico-Pinon in the Valais (Switzerland). *Plant Ecology*, **163**, 105-121.
50. Rigling A., Waldner P.O., Forster T., BraSker O.U. & Pouttu A. (2001) Ecological interpretation of tree-ring width and intraannual density fluctuations in *Pinus sylvestris* on dry sites in the central Alps and Siberia. *Canadian Journal of Forest Research*, **31**, 18-31.
51. Robert M. & Saugier B. (2003) Contribution of terrestrial ecosystems to carbon sequestration. *Comptes-rendus Geosciences*, **335**, 577-595.

52. Robin A.-M. (1993) Catalogue des principales stations forestières de la forêt de Fontainebleau. Université Pierre et Marie Curie, Paris 6 / ONF, pp. 371.
53. Rubino D.L. & McCarthy B.C. (2000) Dendroclimatological analysis of white oak (*Quercus alba* L., Fagaceae) from an old-growth forest of southeastern Ohio, USA. *Journal of the Torrey Botanical Society*, **127**, 240-250.
54. Saxton K.E., Rawls W.J., Romberger J.S. & Papendick R.I. (1986) Estimating generalized soil-water characteristics from texture. *Soil Science Society of America Journal*, **50**, 1031-1036.
55. Stenberg P., Linder S., Smolander H. & Flowerellis J. (1994) Performance of the LAI-2000 plant canopy analyzer in estimating Leaf-Area Index of some Scots pine stands. *Tree Physiology*, **14**, 981-995.
56. Suzuki M., Yoda K. & Suzuki H. (1996) Phenological comparison of the onset of vessel formation between ring-porous and diffuse-porous deciduous trees in a Japanese temperate forest. *Iawa Journal*, **17**, 431-444.
57. Wang T., Zhang Q.B. & Ma K.P. (2006) Treeline dynamics in relation to climatic variability in the central Tianshan Mountains, northwestern China. *Global Ecology and Biogeography*, **15**, 406-415.
58. Weber P., Bugmann H. & Rigling A. (2007) Radial growth responses to drought of *Pinus sylvestris* and *Quercus pubescens* in an inner-Alpine dry valley. *Journal of Vegetation Science*, **18**, 777-792.
59. Zahner R. & Stage A.R. (1966) A procedure for calculating daily moisture stress and its utility in regressions of tree growth on weather. *Ecology*, **47**, 64-74.
60. Zweifel R., Rigling A. & Dobbertin M. (2009) Species-specific stomatal response of trees to drought - a link to vegetation dynamics? *Journal of Vegetation Science*, **20**, 442-454.

Tables

Table 1. Mean stand characteristics [dominant height (Hd) in 1995, overstory basal area (BA) and understory proportion of the total stand basal area in 1995, maximal leaf mass area (LAI) during 1994-2000, available soil water capacity (AWC), soil type and C/N of the organic layer (soil horizon A) in 2004] and mean characteristics of the sampled trees in 2008 [age and circumference at breast height (C_{130})].

Mean stand characteristics										Sampled tree characteristics	
Stand	Species	Stand area (ha)	Hd (m)	BA ($m^2 ha^{-1}$)	Understorey (%) ¹	LAI	AWC (mm)	Soil type	Soil C/N	Age (years)	C_{130} (cm)
B4	<i>F. sylvatica</i>	8.6	33	29.4	7.8	5.6	141	Entic Podzol to Luvisol	27.0	114	208
B9	<i>F. sylvatica</i>	11.8	33	29.8	9.2	4.1	136	Luvisol	20.0	142 ²	194
B12	<i>F. sylvatica</i>	10.4	23	17.7	12.0	5.5	101	Haplic Albeluvisol	18.7	92	154
O3	<i>Q. petraea</i>	9.8	30	35.5	11.7	6.3	125	Haplic Albeluvisol	18.7	179 ²	201
O4	<i>Q. petraea</i>	10.2	32	27.8	11.3	6.5	115	Haplic Albeluvisol	18.7	151 ²	201
O19	<i>Q. petraea</i>	6.6	34	41.3	14.4	5.5	180	Endostagnic Luvisol	14.5	199 ²	222
P3	<i>P. sylvestris</i>	4.7	23	25.6	1.3	3.7	118	Albic Podzol	20.1	68	126
P8	<i>P. sylvestris</i>	5.0	23	33.4	0.6	3.8	100	Ortsteinic Albic Podzol	32.3	84	142
P13	<i>P. sylvestris</i>	6.6	24	26.2	23.5	4.6	144	Albic Podzol	32.3	115	162

¹Proportion of the total stand basal area

²Data estimated from a previous study on these stands (Barbaroux, 2002)

Table 2. Chronology statistics of tree basal area increment (BAI) series. Means were calculated for each tree from 1960 to 2007 and averaged per stand. N: number of sampled trees for each stand, mean BAI per tree (*SD*), *IC*: series intercorrelation, *MS*: average mean sensitivity and *AC*: first-order autocorrelation.

Stand	N	Total ring				Earlywood				Latewood			
		BAI (cm ²)	IC	MS	AC	BAI (cm ²)	IC	MS	AC	BAI (cm ²)	IC	MS	AC
B4	15	38.4 (11.1)	0.723	0.308	0.566								
B9	15	30.8 (6.7)	0.787	0.398	0.422								
B12	15	27.7 (6.2)	0.698	0.334	0.603								
Beech mean		32.3 (5.5)	0.736	0.347	0.530								
O3	15	26.3 (4.6)	0.724	0.194	0.470	10.8 (1.7)	0.220	0.185	0.417	15.4 (3.7)	0.715	0.326	0.348
O4	15	29.8 (6.7)	0.771	0.218	0.547	10.8 (2.8)	0.356	0.206	0.455	19.0 (4.8)	0.746	0.338	0.455
O19	15	30.9 (8.3)	0.693	0.209	0.550	12.8 (3.1)	0.307	0.178	0.519	18.1 (5.8)	0.685	0.348	0.430
Oak mean		29.0 (2.4)	0.729	0.207	0.522	11.5 (1.2)	0.294	0.190	0.464	17.5 (1.9)	0.715	0.337	0.411
P3	14	21.8 (4.7)	0.619	0.271	0.690	14.7 (3.6)	0.518	0.289	0.658	7.1 (1.5)	0.658	0.434	0.440
P8	14	17.9 (5.2)	0.584	0.272	0.674	11.9 (3.1)	0.444	0.285	0.640	6.0 (2.4)	0.601	0.489	0.377
P13	13	15.9 (4.2)	0.711	0.326	0.671	10.7 (3.2)	0.655	0.327	0.630	5.2 (1.4)	0.709	0.545	0.471
Pine mean		18.5 (3.0)	0.638	0.290	0.678	12.4 (2.0)	0.539	0.300	0.643	6.1 (1.0)	0.656	0.489	0.429

Table 3. Response function analyses between each stand's total wood chronology and the monthly maximal temperature and monthly soil water deficit (SWD) indices of the previous year and current year (N= 12 regressors, see text for details). Considered period: 47 years from 1961 to 2007 (a); pointer years for each species: 26 years for beech, 30 years for oak and 25 years for pine (b).

(a)	Temperature						Soil water deficit (SWD)				
	A-1	O-1	D-1	Ju	J	A	SWD intensity (I_s)			Annual SWD duration	
							Ju	J	A	S	
B4								-	-		-
B9								-	-		-
B12		-						-	-		
O3							-	-	-		
O4	-						-	-			
O19								-	-		-
P3			+						-	-	-
P8			+			-			-		
P13				-							

(b)	Temperature						Soil water deficit (SWD)				
	A-1	O-1	D-1	Ju	J	A	SWD intensity (I_s)			Annual SWD duration	
							Ju	J	A	S	
B4								-	-		-
B9					-				-		-
B12								-	-		-
O3							-				
O4							-				
O19								-			
P3			+						-	-	-
P8			+			-			-	-	
P13			+	-					-		

Figures

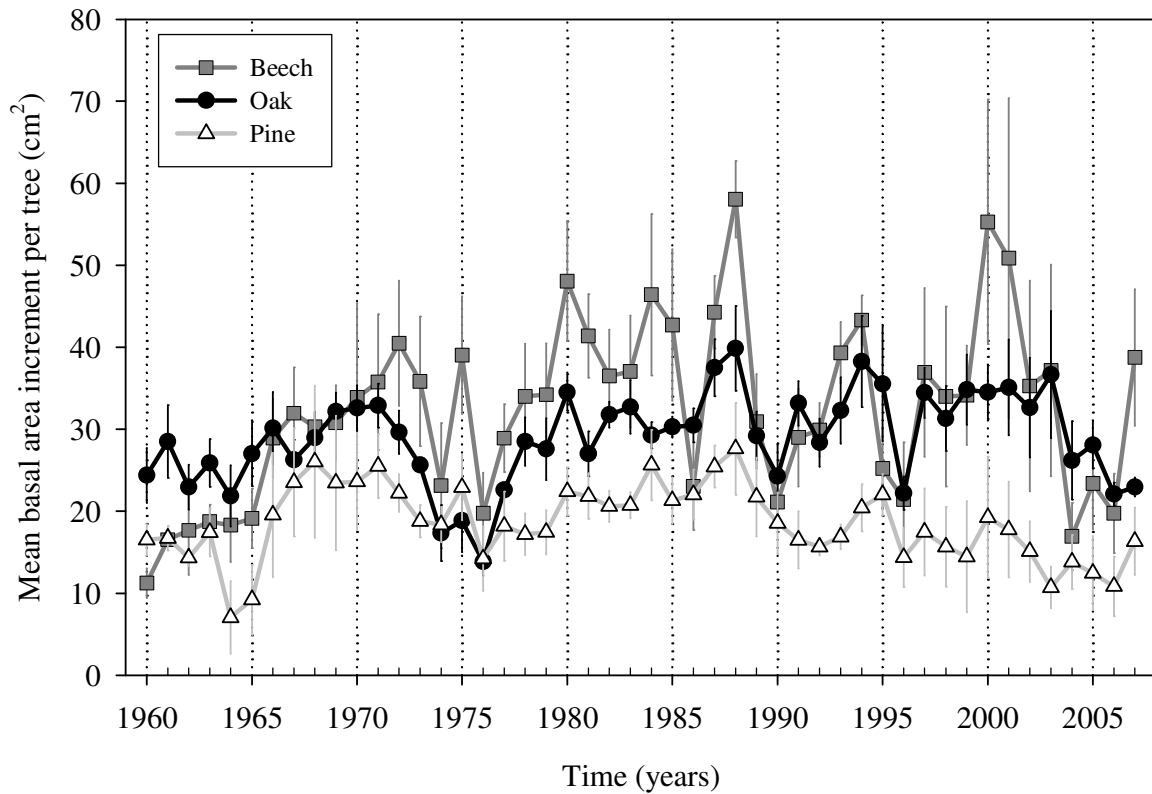


Figure 1. Interannual variations in the mean basal area increment per tree from 1960 to 2007 for beech, oak and pine. Error bars represent ± 1 SD ($N = 3$ stands per species).

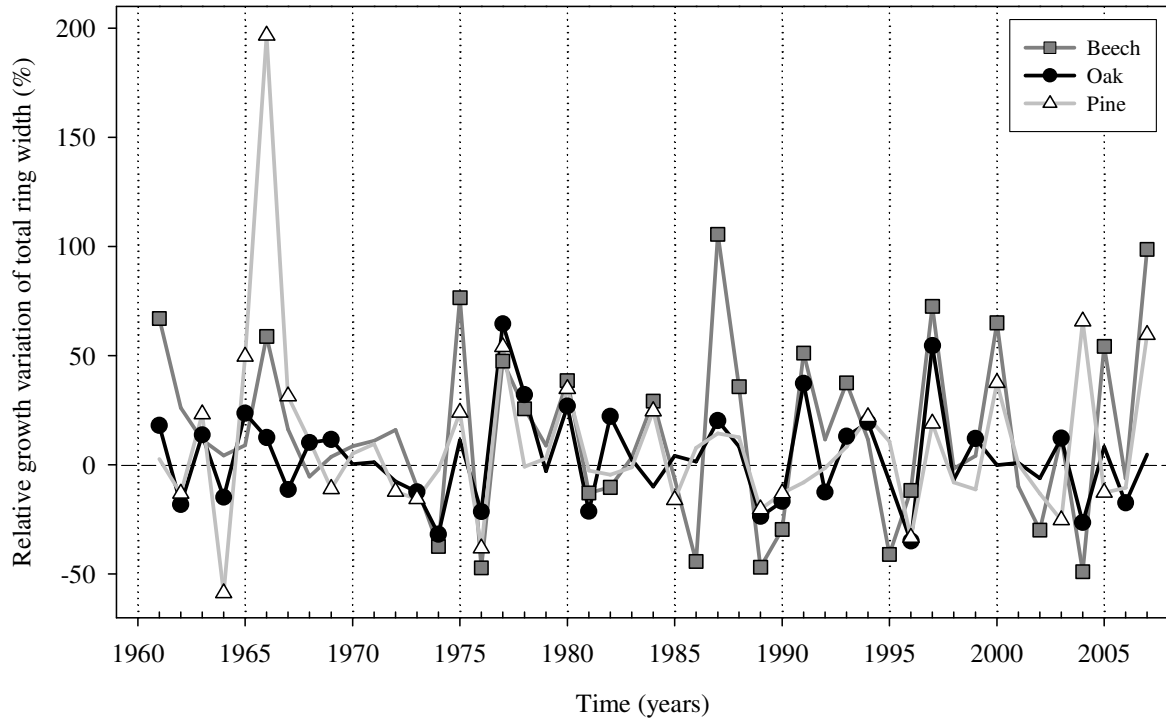


Figure 2. Relative growth variation (*RGV*) of total ring width (eq. 1) for each species from 1961 to 2007. Pointer years (i.e., when at least 70% of the cross-dated trees presented the same sign of change in *RGV* between two consecutive years that was at least of 10%) are represented by a symbol ($41 \leq N$ trees per species ≤ 45).

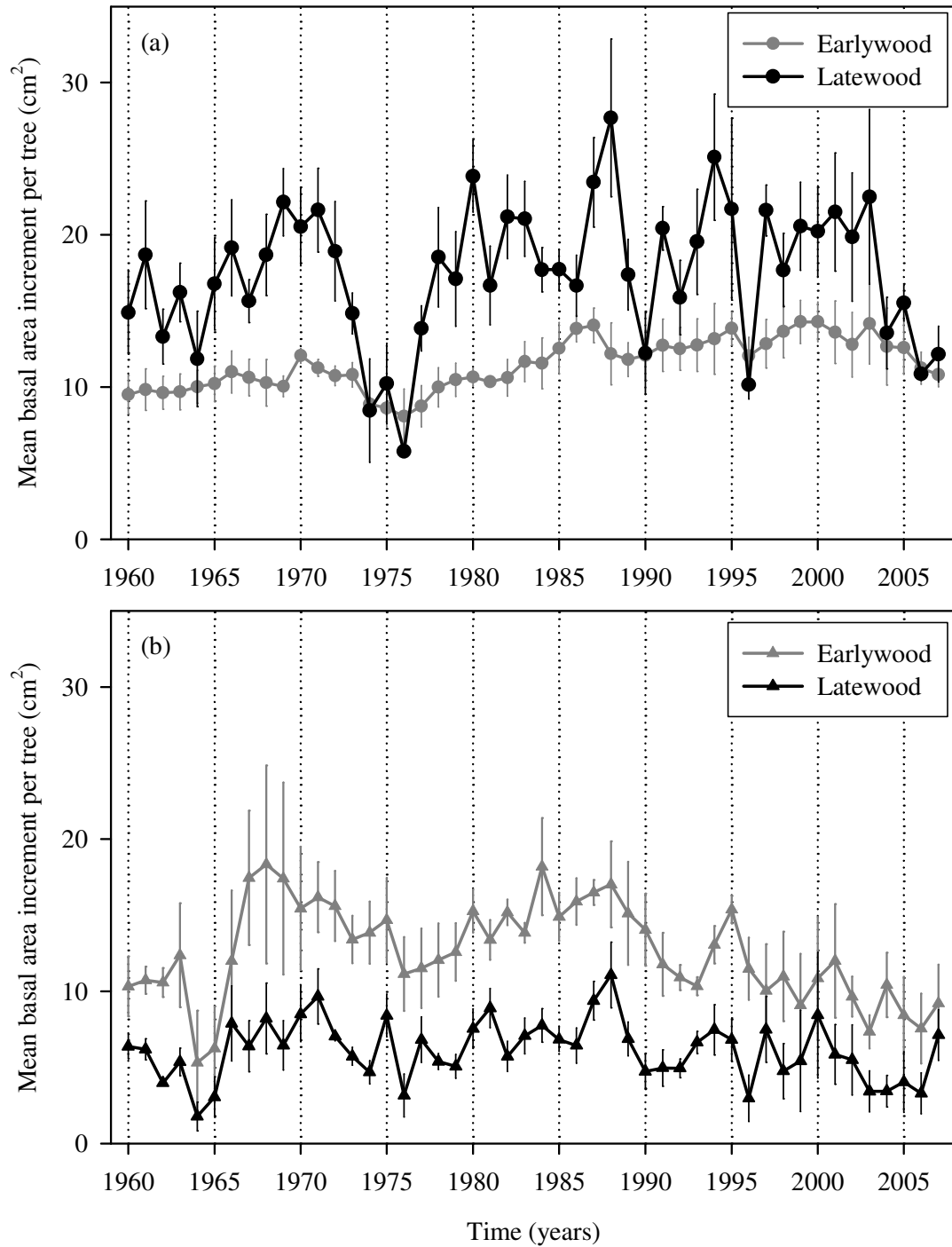


Figure 3. Interannual variations in the mean earlywood and latewood tree basal area increment from 1960 to 2007 for oak (a) and pine (b). Error bars represent ± 1 SD (N = 3 stands per species).

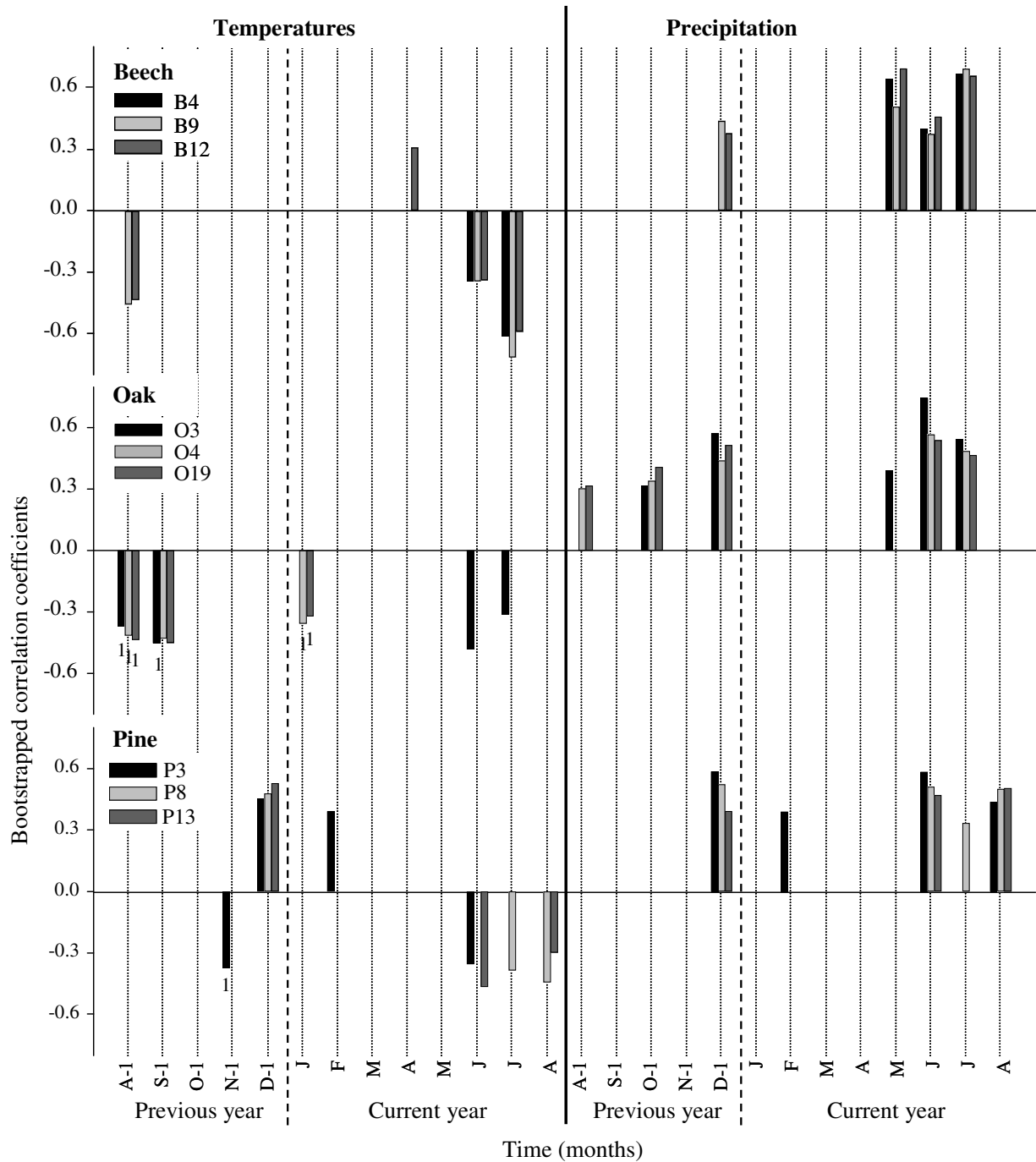


Figure 4. Significant bootstrapped correlation values (95% level) calculated between each stand's total ring chronology and the monthly maximum temperature (except 1 minimal temperature) and precipitation. Correlations were performed only in the pointer years of each species from the previous August to the current August. Number of pointer years: 26 for beech, 30 for oak and 25 for pine.

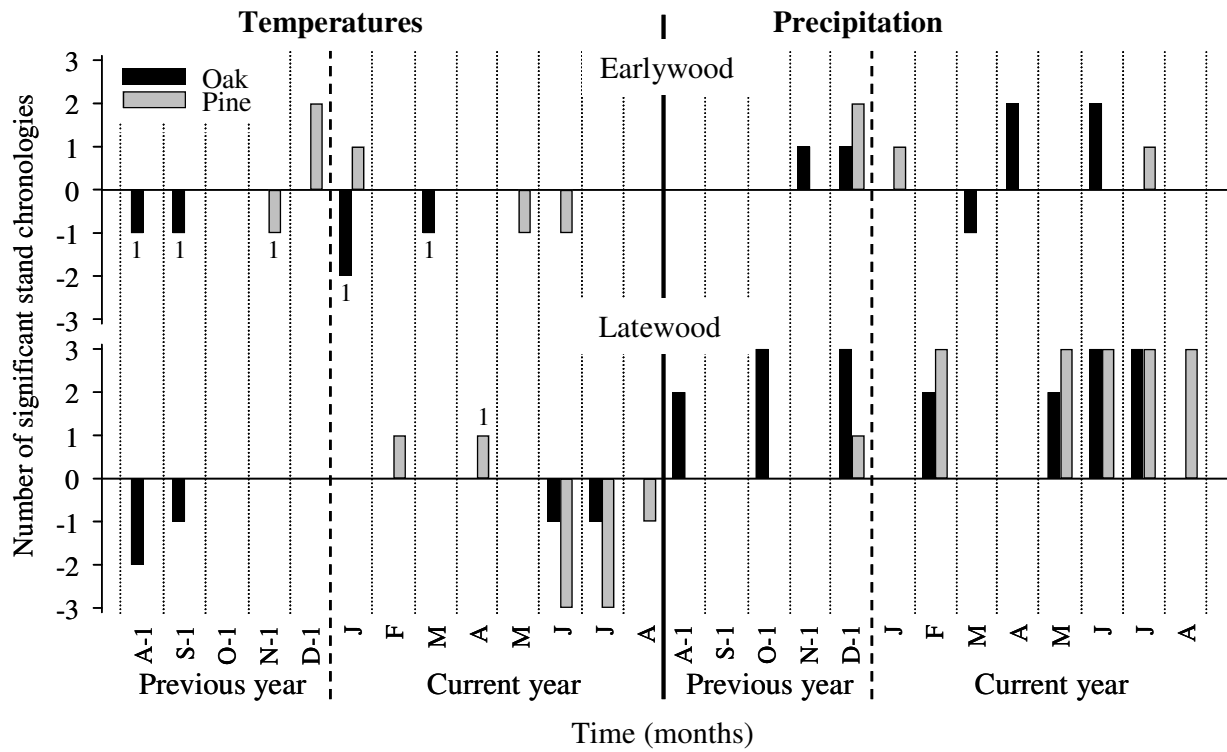


Figure 5. Number of stand chronologies with significant bootstrapped correlation values (95% level) calculated between each stand's chronology and the monthly maximum temperature (except 1 minimal temperature) and precipitation. Correlations were performed for earlywood and latewood from 1961 to 2007 from the previous August to the current August. The stand numbers are indicated as negative for negative correlations and positive for positive correlations.

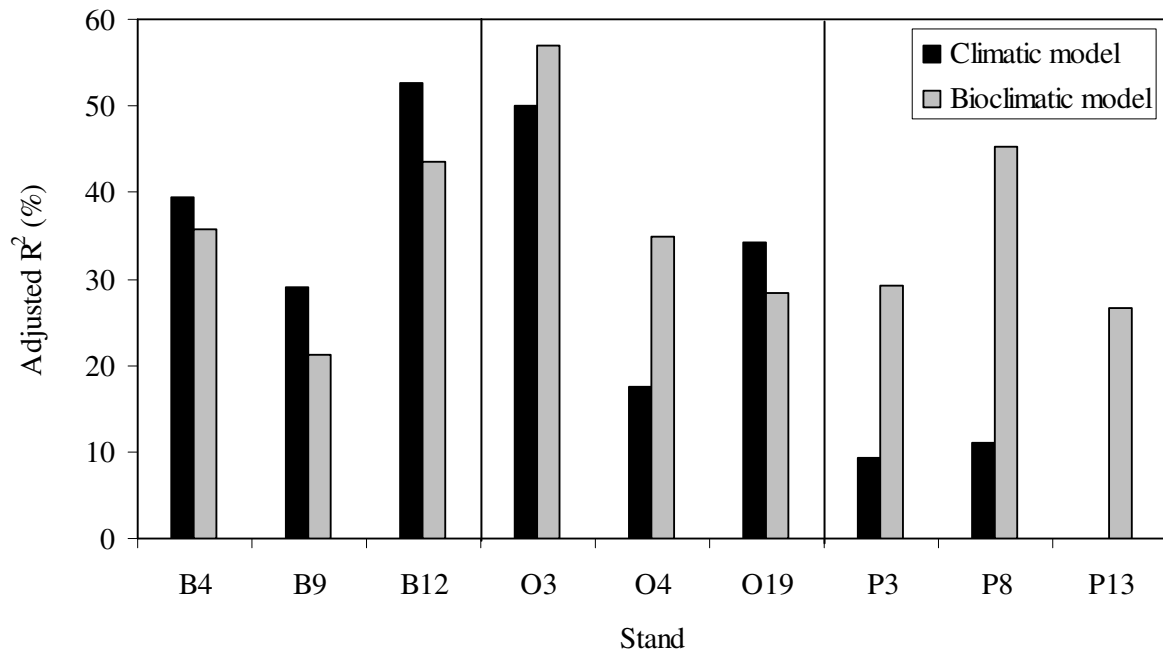


Figure 6. Adjusted determination coefficients of multiple regressions between stand total ring chronology and significant monthly climatic (black) and bioclimatic (grey) variables of the response function analyses from 1961 to 2007 ($N = 24$ regressors for each stand response function analysis). No significant monthly climatic variable was found in the response function analysis for the stand P13.

I.2. Réponse climatique interannuelle du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes des trois essences

I.2.1. Présentation

Dans cette partie, nous allons présenter les premiers résultats d'une étude menée en collaboration avec le laboratoire du climat et de l'environnement (LSCE). Un des buts de cette étude était de mesurer les variations interannuelles du $\delta^{13}\text{C}^1$ de la cellulose des cernes des trois essences (Hêtre, Chêne et Pin) pendant la période 1960 à 2007, et de déterminer si elles apportaient des informations climatiques complémentaires à celles enregistrées par les largeurs de cerne. Comme nous l'avons évoqué précédemment, le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes est utilisé en écologie comme indicateur du fonctionnement de l'arbre en réponse notamment aux variations climatiques. Il est également utilisé comme proxy en paléoclimatologie. En effet, il est souvent relié aux variables climatiques de la saison de croissance telles que : les températures (e.g. Liu et al., 1996, Porte & Loustau, 2001, Levanic et al., 2009), les précipitations (e.g. Saurer et al., 1995, Anderson et al., 1998), l'humidité relative de l'air (e.g. Panek & Waring, 1997, Hemming et al., 1998) ou le déficit hydrique du sol (DHS, e.g. Dupouey et al., 1993). Les relations statistiquement significatives entre $\delta^{13}\text{C}$ et variables climatiques, établies sur la période instrumentale (qui remonte au mieux jusqu'à 1850), sont utilisées pour reconstituer les variations interannuelles du climat à l'échelle pluri-centennale. Une reconstitution de la moyenne annuelle des températures maximales d'avril à septembre de 1596 à 2000 a ainsi été obtenue à partir des mesures de $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{13}\text{C}$ et δD dans le bois final de chênes sessiles échantillonnés en forêt de Fontainebleau ou issus des poudres du château de Fontainebleau (Etien, 2008, Etien et al., 2009).

Pour réaliser des reconstitutions climatiques fiables, il est essentiel d'avoir un échantillonnage représentatif. Après le niveau de variabilité au sein d'un même arbre (i.e. en fonction de la hauteur ou de l'orientation), le premier niveau de variabilité est celui entre arbres qui peut largement être égal aux variations interannuelles du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes (e. g. McCarroll & Pawellek, 1998). Afin d'estimer le nombre d'arbres minimum nécessaires à l'obtention d'un signal $\delta^{13}\text{C}$ représentatif de la population, les paléoclimatologues calculent généralement le signal de population exprimé ou EPS (expressed population signal) :

$$\text{EPS}(t) = (t r_{bt}) / [t r_{bt} + (1 - r_{bt})] \quad (3)$$

où t est le nombre d'arbres et r_{bt} est la moyenne des coefficients de corrélations du $\delta^{13}\text{C}$ entre arbres. On estime qu'une valeur d'EPS supérieure à 0.85 permet d'obtenir un signal local de la population (Wigley et al., 1984). Cependant, comme l'ont signalé McCarroll & Loader (2004) l'EPS prend

¹ Des mesures de $\delta^{18}\text{O}$ de la cellulose des cernes ont aussi été réalisées mais ne font pas partie de cette thèse.

uniquement en compte l'inter-corrélation entre arbres et pas les différences de valeurs du signal entre arbres. Ainsi, il ne peut pas indiquer l'intervalle de confiance autour de la chronologie moyenne du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes. Le deuxième niveau de variabilité est celui entre parcelle d'une même espèce. Il peut en effet exister des différences de valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ des cernes et de variations interannuelles notamment entre les sites secs et les sites humides (e. g. Saurer et al., 1995, Saurer et al., 1997). Un troisième niveau de variabilité est celui entre espèces. Plusieurs études ont notamment montré des valeurs plus élevées en $\delta^{13}\text{C}$ dans les cernes des conifères comparés aux cernes d'angiospermes (e. g. Stuiver & Braziunas, 1987, Leavitt & Newberry, 1992, Liu et al., 2007).

Dans notre étude, nous avons quantifié ces différents niveaux de variabilités en forêt de Fontainebleau sur les trois essences. Les objectifs étaient de :

1. Caractériser l'ampleur de la variabilité inter-arbres du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes au sein d'une espèce ;
2. Comparer les variations interannuelles du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes entre deux peuplements de la même espèce : l'un poussant sur une parcelle avec une faible réserve utile en eau (parcelle sèche) et l'autre sur une parcelle avec une plus forte réserve utile (parcelle humide) ;
3. Comparer les variations interannuelles du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes entre les trois espèces.
4. Déterminer à quelles variables climatiques ou à quels indices de déficit hydrique du sol (DHS) étaient reliés les variations interannuelles du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes dans chaque parcelle.

I.2.2. Matériels et méthodes

A partir des résultats obtenus en dendrochronologie (i.e. les mesures des largeurs de cernes) sur 15 arbres dominants par parcelle (cf. **partie I.1**), 8 arbres par parcelle ont été sélectionnés (**Tab. 3**). Les arbres sélectionnés sont ceux qui présentaient les plus fortes corrélations avec la croissance moyenne de la parcelle et les plus fortes croissances. Ainsi, ces arbres étaient les plus représentatifs de la parcelle. De plus, leur forte croissance permettait d'avoir assez de matière dans les cernes pour les analyses isotopiques et un signal peu altéré par des effets non-climatiques comme la compétition notamment. Deux parcelles par espèce ont été choisies parmi les trois échantillonnées en dendrochronologie. Pour les espèces décidues, les parcelles ayant les plus faibles (B12 et O4) et les plus fortes (B4 et O19) réserves utiles en eau ont été choisies. Pour les pinèdes, ce sont les parcelles P3 et P8 qui ont été sélectionnées car les arbres de la parcelle P13 avaient une croissance trop faible notamment due à l'âge plus élevé du peuplement (cf. **annexe 1**).

Tableau 3. Caractéristiques de l'échantillonnage pour les mesures du $\delta^{13}\text{C}$ de la cellulose des cernes sur la période 1960 à 2007. Le matériau analysé est la cellulose, extraite soit du cerne total (Hêtre et Pin) soit du bois final (Chêne).

Espèce	Parcelle	Réserve utile (mm)	Age moyen en 2008	Nombres d'arbres	Compartiment analysé
Hêtre	B4	141	114	8	cerne total
	B12	101	92	8	cerne total
Chêne	O4	115	151	8	bois final
	O19	180	199	8	bois final
Pin	P3	118	68	8	cerne total
	P8	100	84	8	cerne total

Le travail en laboratoire (découpe, broyage et extraction de la cellulose) a été réalisé par l'équipe du LSCE. Les carottes sèches prélevées en avril 2008 pour l'analyse dendrochronologique ont été découpées cerne par cerne de 1960 à 2007. Pour les hêtres et les pins, le cerne total a été broyé en poudre fine tandis que seul le bois final a été broyé pour les chênes. Le $\delta^{13}\text{C}$ du bois final est en effet plus dépendant des conditions climatiques que le cerne total (Lipp & Trimborn, 1991), notamment puisque le bois initial est formé en partie à partir des réserves carbonées stockées les années précédentes. Concernant les pins, comme les largeurs de cernes étaient faibles, les analyses ont été faites sur le cerne total plutôt que sur le bois final pour obtenir suffisamment de matière. Afin d'analyser la variabilité entre arbres, ce qui n'est pas souvent fait en paléoclimatologie, les échantillons ont été broyés arbre par arbre de 1994 à 2007. Pour la période 1960 à 1993, les cernes des 8 arbres ont été poolés (i.e. rassemblés) avant broyage. La cellulose- α a été extraite à partir des poudres de bois selon la méthode au SOXHLET élaborée par Green (1963), modifiée par Leavitt & Danzer (1993) et utilisée par Etien et al. (2009). Elle est décrite en **annexe 2** et cette méthode est également utilisée pour les analyses du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne dans la **partie III.2**. Une quantité de 0.13 à 0.50 mg d'échantillons a ensuite été pesée puis brûlée dans un analyseur élémentaire (Model NA-1500; Carlo Erba, Milan, Italie) et analysée dans un spectromètre de masse isotopique (IRMS, VG Optima; Fison, Villeurbanne, France) au sein de la plateforme métabolisme-métabolome de l'IBP (Institut de Biotechnologie des plantes). Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ de la cellulose (qui seront appelées par la suite $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$) se réfèrent au standard international VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite). La précision des mesures est de $\pm 0.2 \text{ ‰}$. Par manque de matière pour effectuer les analyses, quelques données isotopiques individuelles (i.e. période 1994-2007) non pas pues être mesurées.

Pour les parcelles O19, O4 et P8, il manque respectivement 1, 3 et 8 mesures de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ annuel sur les 112 mesures individuelles par parcelle. Pour les deux chênaies, les valeurs manquantes n'ont pas été complétées car les arbres pour lesquelles les données manquaient avaient des valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ proches de la moyenne des autres arbres. En revanche, pour la parcelle P8, les données manquantes correspondent à des arbres dont les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ sont nettement plus hautes ou plus basses comparées à la moyenne des autres arbres. Afin de ne pas biaiser la chronologie moyenne, les données

ont donc été complétées (i.e. nous avons fait un « gap filling »). Pour chaque année manquante n dans une chronologie individuelle, la différence du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ de l'année n avec la valeur de l'année $n-1$ et avec la valeur de l'année $n+1$ a été calculée pour tous les arbres qui ont des chronologies complètes. Ces différences de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ [$n-(n-1)$] et [$n-(n+1)$] ont été moyennées sur l'ensemble des arbres. Pour chaque année n , parmi les deux différences moyennes, celle qui présente le plus faible écart-type entre arbres a été retenue. Cette valeur de différence a ensuite été ajoutée ou retranchée au $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ (de l'année $n-1$ ou $n+1$, selon ce qui a été retenu) dans la chronologie individuelle à compléter pour obtenir une valeur de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ pour l'année n . Les données ont ensuite été corrigées de la tendance à la diminution du $\delta^{13}\text{C}$ atmosphérique au cours du temps (d'après les données européennes de Leuenberger, non publiées). Ce sont ces données de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ corrigées qui seront utilisées dans tous les résultats suivants.

Pour chaque parcelle, la variabilité inter-arbres du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ a été calculée comme l'écart maximum de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ mesuré entre individus chaque année puis moyenné sur $N = 14$ années (1994-2007). La variabilité interannuelle du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ a également été calculée comme l'écart maximum de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ mesuré entre années, pour chaque arbre, moyenné sur $N = 8$ arbres. Comme dans l'étude dendrochronologique (**partie I.1**), les coefficients de corrélation bootstrap ont été calculés avec le logiciel DENDROCLIM2002 d'une part, entre les séries de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ de chaque parcelle et les variables climatiques mensuelles (Tmax, Tmin, précipitations et de VPD). D'autre part, entre les séries de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ de chaque parcelle et les indices de DHS calculés pour chaque parcelle avec le modèle BILJOU© dans la **partie I.1**. Des coefficients de corrélation simple de Pearson ont été calculés pour quantifier les corrélations du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ de chaque parcelle avec les indices de croissance obtenus dans la **partie I.1**. L'autocorrélation d'ordre 1 des séries de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ a également été calculée.

I.2.3. Principaux résultats

- **Variabilité du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes entre arbres de 1994 à 2007**

Pour les trois essences, la variabilité inter-arbres entre les chronologies de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ est non négligeable. En effet, sur la période 1994-2007, elle est de $2.9 \pm 0.4 \text{ ‰}$ pour les hêtres (moyenne des deux parcelles $\pm ET$, **Fig. 10 a et b**), $2.0 \pm 0.2 \text{ ‰}$ pour le bois final des chênes (**Fig. 10 c et d**) et $1.8 \pm 0.1 \text{ ‰}$ pour les pins (**Fig. 10 e et f**). Elle est du même ordre de grandeur que la variabilité interannuelle de 1994 à 2007 (**Tab. 4**), excepté pour les chênes où elle est plus faible à cause de la chute exceptionnelle du signal en 2007. Pour les deux hêtraies, la corrélation inter-arbres des variations interannuelles du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ est assez faible et ne permet pas d'avoir un échantillon représentatif pour les reconstructions paléoclimatiques avec 8 arbres ($\text{EPS} < 0.85$, éq. 3). Pour les pins, on peut obtenir un signal local à partir de 7 arbres pour la parcelle P3 mais 8 arbres ne suffisent pas à l'obtenir pour la

parcelle P8. En revanche, pour les deux chênaies, l'obtention d'un signal local est possible à partir de 5 arbres pour O19 et 6 arbres pour O4. Si on calcule l'EPS par espèce en considérant les 16 arbres (8 arbres x 2 parcelles), pour l'obtention d'un signal local, moins d'arbres sont nécessaires pour le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ du bois final des chênes (10 arbres) que pour le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des cernes des autres espèces (12 arbres pour le Pin et 13 pour le Hêtre).

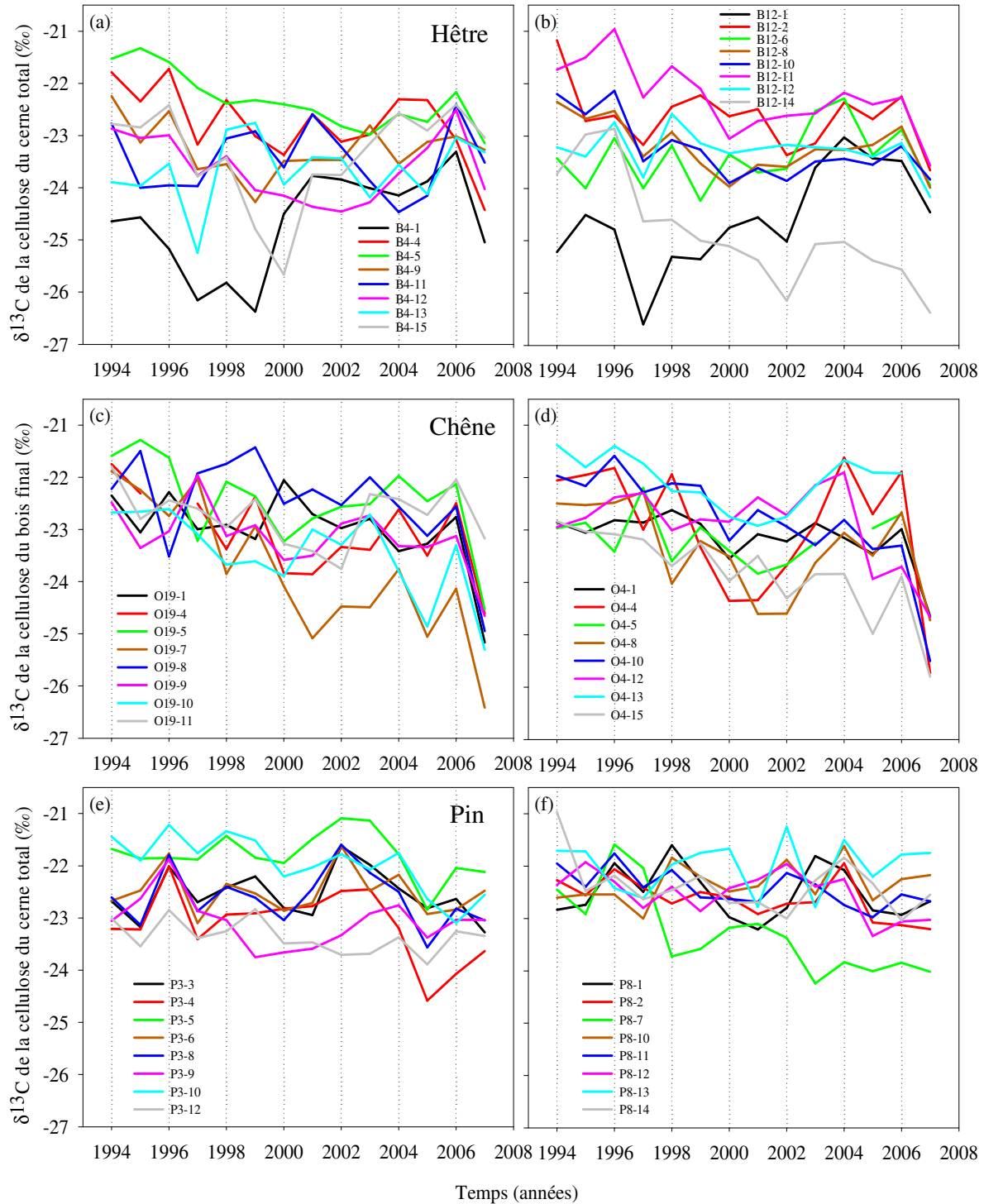


Figure 10. Variations interannuelles du $\delta^{13}\text{C}$ de la cellulose du cerne total (ou du bois final pour les chênes) mesuré sur 8 arbres par parcelle de 1994 à 2007 pour chaque espèce : Hêtre (B4, a et B12, b), Chêne (O19, c et O4, d) et Pin (P3, e et P8, f). Pour chaque espèce, la parcelle ayant la réserve utile la plus grande est à gauche.

Tableau 4. Caractéristiques des séries de $\delta^{13}\text{C}$ de la cellulose du cerne total (Hêtre, Pin) et du bois final (Chêne) par parcelle. A gauche, variabilité inter-arbres du signal (moyenne sur $N = 14$ années $\pm ET$), variabilité interannuelle (moyenne sur $N = 8$ arbres $\pm ET$) et signal de la population exprimé (EPS, éq. 3) en fonction du nombre d'arbres (entre parenthèses) pour la période 1994-2007. Les valeurs d'EPS permettant l'obtention d'un signal local sont indiquées en rouge. A droite, coefficient de Pearson de l'autocorrélation d'ordre 1 ($r_{AC\ 1}$) et coefficients de corrélation de Pearson entre les indices de croissance (cf. **partie I.1**) et le $\delta^{13}\text{C}$ de la cellulose des cernes pour la période 1961-2007.

Espèce	Parcelle	Période 1994-2007			Période 1961-2007	
		Variabilité inter-arbres	Variabilité interannuelle	EPS (nombre d'arbres)	$r_{AC\ (1)}$	r (croissance)
Hêtre	B4	2.6 ± 1.0	2.4 ± 0.5	0.68 (8)	0.39**	-0.35*
	B12	3.2 ± 0.6	2.4 ± 0.7	0.84 (8)	0.02ns	-0.49***
Chêne	O19	2.1 ± 0.6	3.1 ± 0.7	0.87 (5)	0.41**	-0.14ns
	O4	1.8 ± 0.5	2.7 ± 0.9	0.87 (6)	0.30*	-0.21ns
Pin	P3	1.9 ± 0.3	1.8 ± 0.4	0.85 (7)	0.15ns	-0.27(*)
	P8	1.7 ± 0.5	1.6 ± 0.5	0.67 (8)	0.09ns	-0.36*

Significativité : (*) $p < 0.1$; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; ns $p > 0.1$

- **Variabilité du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes entre parcelles et espèces de 1960 à 2007**

Pour les trois essences, la parcelle ayant la réserve utile en eau la plus faible est celle qui présente la plus forte corrélation entre les variations interannuelles du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes et les indices de croissances de 1961 à 2007 (calculés dans la **partie I.1**). Ces corrélations entre $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ et croissance ne sont pas significatives pour les chênes, significatives pour les pins sur P8 ($p < 0.05$) mais pas sur P3 ($p < 0.1$) et significatives pour les hêtres dans les deux parcelles : B4 ($p < 0.05$) et B12 ($p < 0.001$). Pour chaque essence, les variations interannuelles du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ de 1960 à 2007 sont très significativement corrélées ($p < 0.001$) entre les deux parcelles, mais la corrélation est plus faible pour les hêtraies (**Fig. 11**). Les valeurs des $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ (**Fig. 12**) sont du même ordre de grandeur pour chaque espèce et ont des amplitudes comparables (-23.2 ± 0.5 ‰ pour le Hêtre, -22.7 ± 0.6 ‰ pour le Chêne et -22.5 ± 0.5 ‰ pour le Pin, moyenne $\pm ET$ sur le période 1960-2007). Les séries moyennes de $\delta^{13}\text{C}$ des 3 espèces sont très significativement corrélées ($p < 0.001$) avec une corrélation plus forte entre pins et hêtres ($r = 0.79$). Pour les trois essences, on observe une forte augmentation du signal lors de la sécheresse de 1976, celle-ci étant la plus précoce et la plus intense de 1960 à 2007. En 2007, le $\delta^{13}\text{C}$ du bois final du Chêne chute de 2.2 ‰ et atteint une valeur de -25 ‰, très largement en dessous des valeurs enregistrées de 1960 à 2007. Cette chute a également pu être observée sur le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne de la matière organique d'un Chêne en forêt de Barbeau (**annexe 3**) dont on a analysé le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne en différentes directions à 1.30 m et à différentes hauteurs pour quantifier la variabilité intra-arbre du signal. Le signal du Hêtre montre aussi une diminution, mais plus faible (-1.0 ‰) que celle du Chêne.

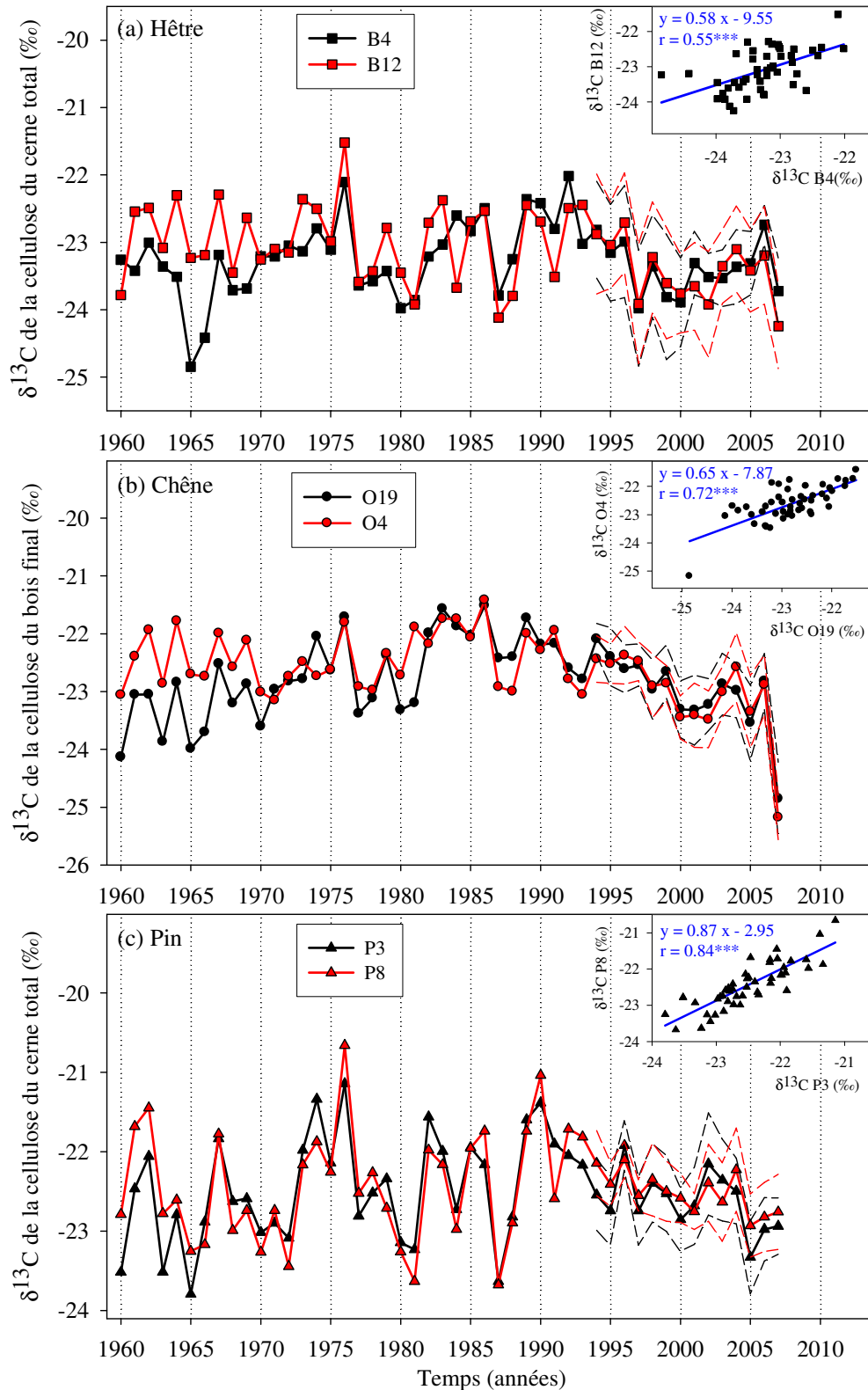


Figure 11. Comparaison des variations interannuelles du $\delta^{13}\text{C}$ de la cellulose des deux parcelles. Le $\delta^{13}\text{C}$ a été mesuré sur 8 arbres de 1960 à 2007 sur le cerne total du Hêtre (a), sur le bois final du Chêne (b) et sur le cerne total du Pin (c). Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ sont mesurées sur des cernes poolés de 1960 à 1993 et sont la moyenne des valeurs mesurées par arbre de 1994 à 2007. Les lignes pointillées représentent l'intervalle de confiance à 95 % autour de la moyenne par parcelle (N=8) de 1994 à 2007. Significativité : *** $p < 0.001$.

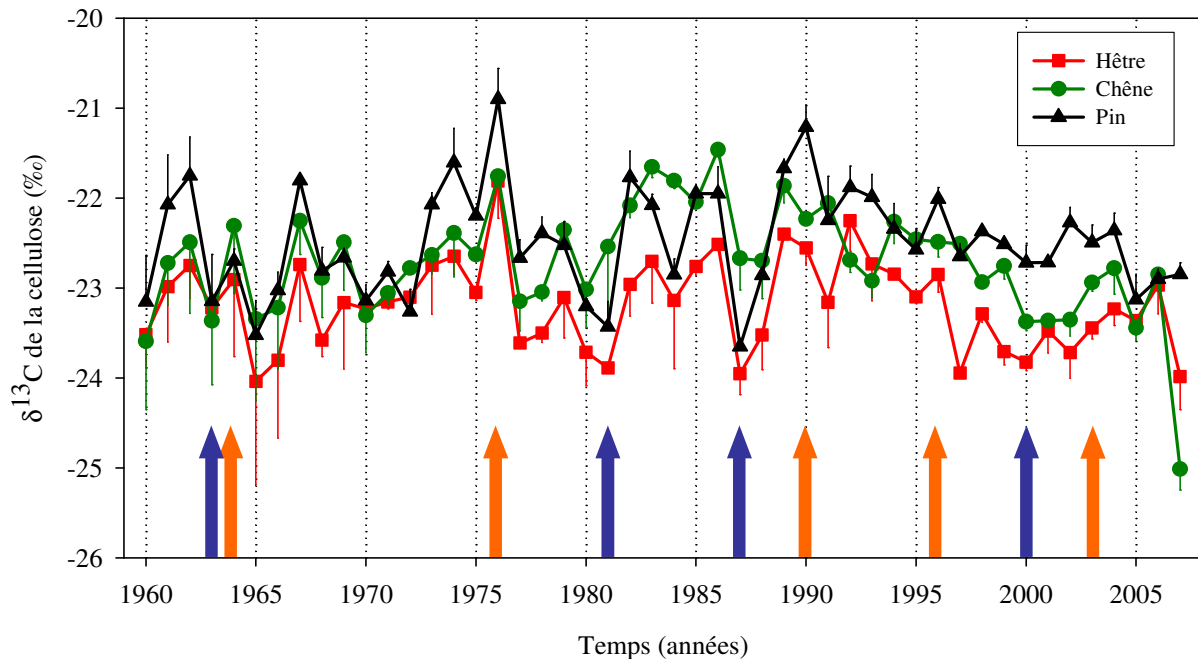


Figure 12. Variations interannuelles du $\delta^{13}\text{C}$ de la cellulose par espèce (moyenne des 2 parcelles \pm ET) de 1960 à 2007 mesurées sur le cerne total du Hêtre et du Pin et sur le bois final du Chêne. Les flèches orange indiquent les années particulièrement sèches et les flèches bleues les années humides.

- **Corrélations du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes avec les températures et les précipitations mensuelles**

Peu de variables climatiques de l'année précédente (températures et précipitations) sont significativement corrélées avec le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ (**Fig. 13**). Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des hêtres et celui des pins sont significativement corrélés ($p < 0.05$) avec les mêmes variables climatiques de l'année : positivement avec les températures maximales (Tmax) de janvier et de juillet et négativement avec les températures minimales (Tmin) d'avril et les précipitations de mai à août mais pas de septembre. Cependant, le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des pins est également corrélé positivement aux Tmax d'août et négativement aux précipitations de janvier à mars contrairement à celui du Hêtre. Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ du bois final du chêne est positivement corrélé aux Tmax de juillet et août comme le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des pins mais il est seulement corrélé négativement aux précipitations de juillet et d'août. Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ de la parcelle O4 est le seul qui soit corrélé négativement avec les Tmin de février et de mai et juin.

Concernant les différences de réponse climatique du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ entre les parcelles, pour chaque essence, les parcelles ayant la plus faible réserve utile sont celles qui ont le plus grand nombre de corrélations significatives entre le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ et les variables climatiques. Pour le Hêtre, les corrélations entre $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ et précipitations de juin à août sont plus fortes sur B12 que sur B4. Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ du bois final de la parcelle O4 n'est pas corrélé avec le climat du mois d'août contrairement à celui de la parcelle O19. Les différences de réponse climatique du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ entre les pinèdes sont moins marquées, excepté les précipitations hivernales de janvier et février qui influencent négativement le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ sur P8 seulement.

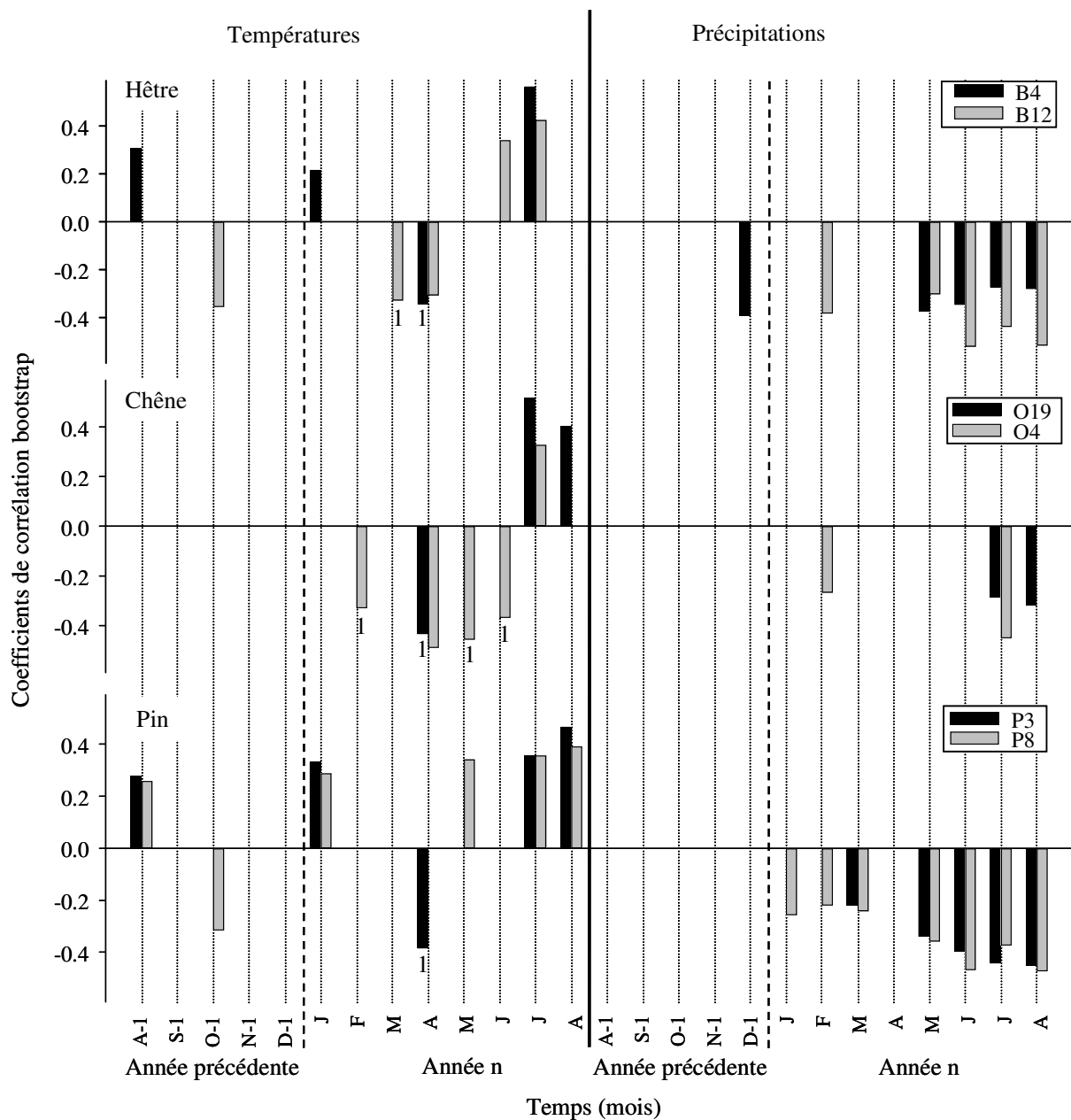


Figure 13. Coefficients de corrélations bootstrap significatifs ($p < 0.05$) entre les variables climatiques mensuelles (Précipitations et Tmax, sauf 1 : Tmin) et le $\delta^{13}\text{C}$ de la cellulose du cerne total (Hêtre, Pin) et du bois final (Chêne). Les corrélations sont réalisées pour deux parcelles par espèce (en gris la parcelle avec la réserve utile la plus faible). Les mois considérés sont d'août de l'année précédente (n-1) jusqu'à août de l'année n sur la période 1961 à 2007. Il n'y avait pas de corrélation significative avec septembre de l'année n.

- **Corrélations du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes avec le déficit hydrique du sol et le VPD**

Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des hêtres et des pins est plus fortement corrélé aux indices de DHS qu'aux températures et aux précipitations mensuelles de 1961 à 2007 (**Fig. 14**). Ainsi, le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des cernes des hêtres est positivement corrélé à l'intensité du DHS (I_s) de juin à septembre et à la durée annuelle du

DHS. Ces corrélations sont plus fortes pour juin, juillet et août (surtout sur B12) que pour septembre. Pour les pins, le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ est positivement corrélé à l'intensité du DHS (I_s) de juin à septembre et à la durée annuelle du DHS. Ces corrélations sont les plus fortes avec l' I_s du mois d'août et sont plus fortes avec l' I_s de septembre qu'avec celle de juin. Les corrélations avec l' I_s estival sont beaucoup plus faibles pour le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ du bois final des chênes. Pour la parcelle O19, le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ est corrélé positivement avec l' I_s de juillet à septembre et la durée du DHS. Pour O4, les corrélations entre le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ et l' I_s sont significatives uniquement en juillet et en août.

Sur la période 1960 à 2007, nous avons calculé le coefficient de détermination (R^2) entre le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ de chaque espèce et la somme de l' I_s sur plusieurs mois. Les variations interannuelles l' I_s de juin à août expliquent 34 et 52 % des variations interannuelles du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ sur B4 et B12, celles de l' I_s de juin à septembre expliquent 49 et 56 % des variations interannuelles du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ sur P3 et P8 et celles de l' I_s de juillet à août seulement 23 et 12 % des variations interannuelles du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ sur O19 et O4. Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des parcelles B4, O19 et des deux pinèdes est également significativement corrélé positivement au VPD de juillet et août calculé à partir des Tmax. La corrélation est plus forte avec le VPD d'août que celui de juillet pour les pinèdes et inversement pour B4 et O19. Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ mesuré sur B12 est lui significativement corrélé au VPD de juin et juillet. Pour la parcelle O4, aucune corrélation significative n'a été trouvée entre le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ et le VPD estival (données non montrées).

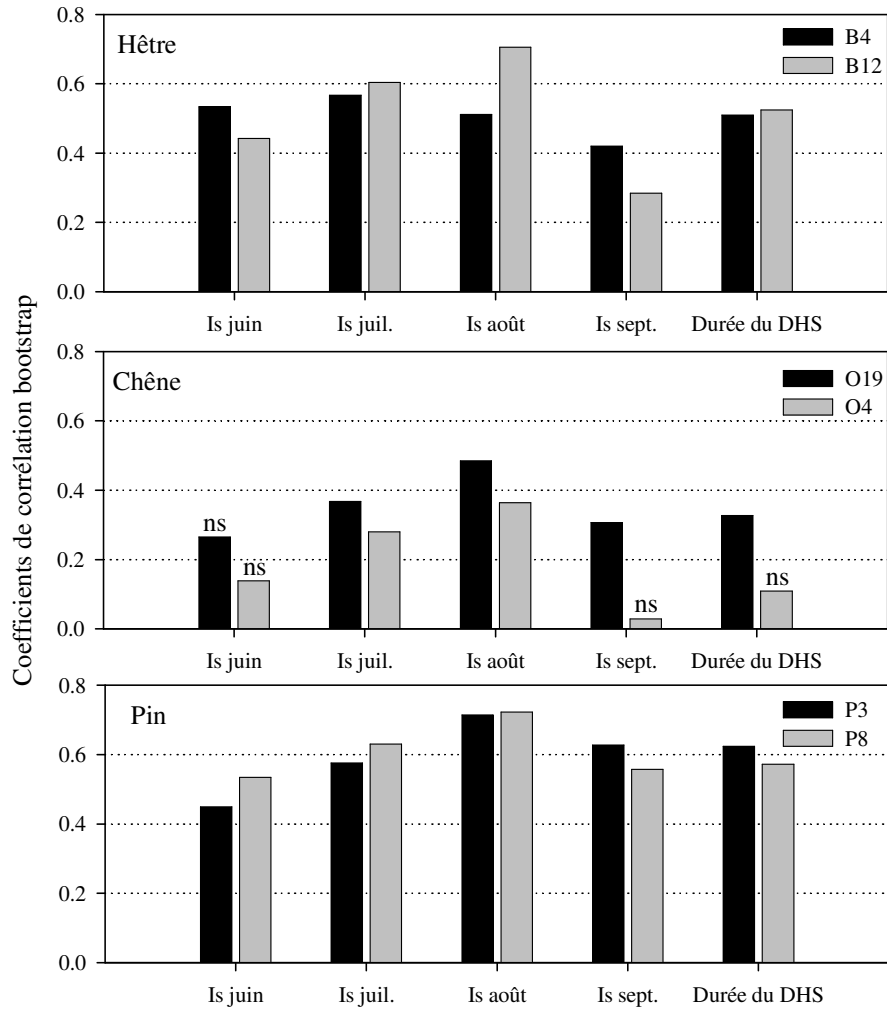


Figure 14. Coefficients de corrélations bootstrap significatifs ($P < 0.05$), sauf indication contraire (ns), entre les indices de déficit hydrique du sol (DHS, I_s : intensité mensuelle du DHS et durée annuelle du DHS) et le $\delta^{13}\text{C}$ de la cellulose du cerne total (Hêtre, Pin) et du bois final (Chêne). Les corrélations sont réalisées pour deux parcelles par espèce (en gris la parcelle avec la réserve utile la plus faible) sur la période 1961 à 2007.

I.2.4. Discussion

- **Les différents niveaux de variabilité du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes**

Ces résultats montrent que la variabilité inter-arbres du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ par année est du même ordre de grandeur que la variabilité interannuelle du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ sur la période 1994-2007. La variabilité entre arbres dans notre étude est similaire à celle trouvée dans différentes régions du globe et sur différentes espèces (de 1 à 3 ‰) synthétisées par Leavitt (2010). Plus précisément, Saurer et al. (1997) trouvent une variabilité entre 6 arbres de 1 à 3 ‰ dans le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des cernes de *F. sylvatica* de 1934 à 1990 sur deux sites en Suisse. Pour *Quercus robur*, Raffali-Delerce et al. (2004) montrent une amplitude de 1.5 à 2 ‰ entre 4 arbres dans le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ du bois final de 1879 à 1998 sur un site en France. Pour *Pinus*

sylvestris, McCarroll and Pawellek (1998) observent une variabilité de 1 à 2.5 ‰ entre 5 arbres dans le $\delta^{13}\text{C}$ de l'holocellulose du bois final de 1971 à 1994 sur 5 sites en Finlande. Ces derniers trouvent également que la variabilité entre arbres est du même ordre de grandeur que la variabilité interannuelle du $\delta^{13}\text{C}$.

Dans le contexte paléoclimatique, sylvicole et génétique de nos parcelles, pour le Chêne sessile, seuls 5 à 6 arbres sont suffisants à échantillonner pour avoir un signal local du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ du bois final alors qu'il en faut plus que 8 pour les deux hêtraies et la pinède P8. Cette différence peut-être due soit à la différence entre espèces, soit à la différence entre compartiments du cerne (i.e. bois final vs bois total). Il faudrait vérifier si le nombre d'arbres nécessaire pour l'obtention d'un signal local augmente lorsque l'on mesure le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ sur le bois total du Chêne. Si c'est le cas, l'étude du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ seulement sur le bois final pourrait réduire le nombre d'arbres à échantillonner. Généralement, les études antérieures montrent qu'il faut de 4 à 5 arbres pour avoir un signal local dans le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ du bois final (McCarroll & Loader, 2004, Treydte et al., 2007). Mais, les sites étudiés ont de très fortes contraintes environnementales et climatiques (e. g. Robertson et al., 1997 pour *Quercus robur* dans le sud de la Finlande ou McCarroll and Pawellek, 1998 pour *P. sylvestris* dans le nord de la Finlande) qui peuvent augmenter les corrélations du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ entre arbres et ainsi augmenter l'EPS. Pour *F. sylvatica*, Saurer et al. (1995) ont d'ailleurs montré que 4 arbres n'étaient pas suffisants pour obtenir un signal local sur un site humide. Dans de nombreuses études, les paléoclimatologues s'appuient sur les résultats de McCarroll and Loader (2004) et échantillonnent 4 à 5 arbres sur leur site sans vérifier la variabilité inter-arbres au préalable. Nos résultats montrent que, pour chaque nouveau site d'étude, il est nécessaire de quantifier la variabilité inter-arbres par espèce afin de déterminer le nombre d'arbres permettant d'avoir un signal local. De plus, comme nous l'avons déjà évoqué, l'EPS prend uniquement en compte le parallélisme des séries de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ entre arbres et pas les différences de valeurs du signal entre arbres. Il ne semble donc pas être un test suffisant pour déterminer le nombre d'arbres adéquat et avoir un intervalle de confiance réduit autour de la moyenne du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$. D'ailleurs, une étude récente de Daux et al. (in prep.), sur *Larix decidua* dans les Hautes-Alpes, a montré que pour avoir un intervalle de confiance à 90 % autour de la moyenne acceptable (i.e. < à 0.5 % sur la période 1989-2003), il faut prendre en compte 6 arbres alors qu'en calculant l'EPS, seulement 2 arbres sont nécessaires à l'obtention d'un signal local.

En revanche, les variations interannuelles et les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ entre parcelles d'une même espèce et entre espèces sont très proches. La cellulose des cernes de Pin est seulement enrichie de 0.7 ‰ en ^{13}C en moyenne par rapport à celle du Hêtre ce qui est largement inférieur aux résultats d'Hemming et al. (1998) qui trouvent un enrichissement de 2.5 ‰ en ^{13}C de la cellulose des cernes de *P. sylvestris* par rapport à celle de *F. sylvatica* sur la période 1895-1995 au Royaume-Uni. Seules les variations interannuelles de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ de 1960 à 1970 sont différentes entre chênaies (en valeur) et entre hêtraies (en dynamique). Pour les parcelles considérées ici, ces résultats indiquent que des différences

de réserve utile et de fertilité n'entraînent pas de fortes différences dans les variations interannuelles de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$.

- **Impact des variations climatiques et bioclimatiques sur le $\delta^{13}\text{C}$ des cerne**

Les variations interannuelles de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des trois espèces sont influencées négativement par les précipitations estivales. L'abondance des précipitations estivales permet de bonnes conditions hydriques pour la croissance des espèces et ne limite pas la conductance stomatique et l'assimilation du CO_2 . Par conséquent, la discrimination foliaire se fait principalement pendant la carboxylation par la RuBisCO. Les sucres solubles nouvellement synthétisés qui parviennent jusqu'au cerne via le phloème sont donc appauvris en ^{13}C . Les variations interannuelles de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ du Hêtre et du Pin sont également sensibles aux températures et au VPD durant l'été. L'augmentation de la sécheresse entraîne une diminution de la conductance stomatique. Par conséquent, le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ augmente puisque le ratio entre la pression partielle en CO_2 dans les espaces intercellulaires de la feuille et la pression partielle du CO_2 dans l'atmosphère (i.e. p_i/p_a) diminue et la discrimination contre le ^{13}C pendant la carboxylation s'exprime moins. Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ du Hêtre et du Pin peut donc être utilisé pour les reconstructions paléoclimatiques des pluies et des températures estivales. Loader and Switsur (1996) ont d'ailleurs montré des corrélations significatives pour *P. sylvestris* entre le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ et les températures de juin à août de 1760 à 1991 au Royaume-Uni. Pour les deux chênaies, le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ du bois final est sensible aux Tmax, aux précipitations et au VPD de juillet et août (plus août pour O19 seulement). Le mois de juillet correspond à la fin de saison de croissance du Chêne (comme nous le verrons au **chapitre II**). Seules les sécheresses en fin de saison semblent donc pouvoir diminuer la conductance stomatique chez le Chêne. L'étude d'Etien et al. (2009), également sur le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ du bois final de *Q. petraea* en forêt de Fontainebleau, montre des corrélations similaires négatives avec la somme des précipitations de juin à août ($r = -0.45$) sur la période 1951-2000. Pour *Fagus sylvatica*, *Quercus robur* et *Pinus sylvestris*, au Royaume-Uni, Hemming et al. (1998) trouvent des résultats similaires avec des corrélations fortes du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des trois espèces avec les Tmax de juillet à octobre, les précipitations de juin à août et l'humidité relative de l'air de juin à septembre pour de 1895 à 1995.

L'impact des températures printanières sur le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ du Hêtre et du Chêne est probablement dû à son influence sur la phénologie foliaire et la photosynthèse. Ainsi, un développement foliaire précoce et de bonnes conditions climatiques pour la photosynthèse dues à des Tmin printanières élevées favorisent l'ouverture stomatique et entraîne donc un appauvrissement du cerne de l'année en ^{13}C . La chute de 2.2 ‰ pour le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ du bois final du Chêne, observée aussi bien sur le site de Fontainebleau que sur le site de Barbeau (cf. **annexe 3**), peut être ainsi expliquée par les températures chaudes du printemps 2007 non associées à une sécheresse. Ces conditions climatiques ont en effet

entraîné une assimilation en CO_2 exceptionnellement forte dans de nombreuses forêts européennes (Delpierre et al., 2009). Une autre hypothèse, évoquée par Helle & Schleser (2004) est la synthèse de réserves carbonées, principalement sous forme d'amidon (Lacointe et al., 1993), qui est très enrichi en ^{13}C par rapport à la matière organique, et qui serait plus importante en 2007 du fait des bonnes conditions photosynthétiques. De plus, pour le Chêne, il a été montré (Eglin et al., 2010) que plus le développement foliaire est rapide, plus la formation du cerne se fait rapidement à partir des nouveaux assimilats plutôt que des réserves carbonées. Or, ces assimilats sont appauvris en ^{13}C par rapport aux réserves (qui sont principalement sous forme d'amidon). Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ de la cellulose qui forme le cerne seraient donc rapidement plus faibles et le bois final serait construit à partir d'assimilats particulièrement appauvris en ^{13}C .

Concernant le Pin, le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des cernes est influencé par les précipitations et les températures hivernales. D'abondantes précipitations en hiver et des températures maximales pas trop élevées peuvent favoriser l'ouverture stomatique et la photosynthèse hivernale, observée chez les conifères sempervirents (Guehl, 1985), et ainsi diminuer le $\delta^{13}\text{C}$ des photoassimilats en hiver. Ces assimilats appauvris en ^{13}C pourront être utilisés pour la croissance du cerne de l'année des pins, soit directement soit après avoir été stockées dans les aiguilles.

Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des pins et des hêtres est fortement sensible au déficit hydrique du sol (DHS) de juin jusqu'à septembre qui peut même expliquer plus de 50 % de ces variations interannuelles sur les parcelles B12 et P8. En revanche, le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ du bois final du Chêne est moins fortement influencé par le DHS que les deux autres espèces. Pour le Hêtre en France, Dupouey et al. (1993) ont également montré une forte dépendance des variations interannuelles de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ au DHS de juillet sur la période 1950-1990. Comme dans notre étude, Hemming et al. (1998), au Royaume-Uni, ont démontré que le Pin sylvestre était l'espèce la plus sensible à l'indice de sécheresse de Palmer du mois d'août comparé au Hêtre et au Chêne pédonculé. Plus récemment, Eilmann et al. (2010) ont montré que le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes à l'échelle interannuelle et saisonnière augmente sous l'effet du DHS. Ils suggèrent ainsi que les assimilats nouvellement synthétisés, enrichis en ^{13}C lors des périodes de sécheresse sont rapidement et directement transférés jusqu'au cerne. Cette rapidité de transfert des assimilats serait ainsi à l'origine de la forte réponse du $\delta^{13}\text{C}$ des pins à la sécheresse.

En résumé, nous avons pu mettre en évidence une forte variabilité entre arbres du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ interannuel sur la période 1994-2007, soulignant la nécessité de quantifier cette variabilité avant les études paléoclimatiques pour déterminer le nombre d'arbres nécessaire à l'obtention d'un signal local. Les différences de réserve utile et de fertilité entre les parcelles étudiées n'engendrent pas une forte variabilité du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ interannuel sur la période 1960-2007. Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des 3 espèces sur la période 1960-2007 est relativement proche, malgré leurs fonctionnements contrastés, aussi bien en valeurs qu'en amplitude. Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ interannuel est

influencé par les précipitations et les températures estivales pour les trois espèces, ce qui peut être relié au fonctionnement des espèces. Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des pins est plus sensible au climat hivernal que le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des espèces décidues, sans doute dû à ses capacités photosynthétiques hivernales. Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des feuillus est lui plus sensible aux chaudes températures printanières qui peuvent favoriser le développement rapide des feuilles et des bonnes conditions pour la photosynthèse. Enfin, le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ est également un bon indicateur du DHS de juin à septembre pour le Hêtre et le Pin mais pas pour le bois final du Chêne. Ces différences de réponse au DHS pourraient être plus finement comprises à l'échelle saisonnière en étudiant le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ intra-cerne des 3 espèces, comme nous allons le voir dans la partie III.2.

Chapitre II : Analyse saisonnière de la croissance des trois essences

II.1. Présentation

La phénologie foliaire et la croissance saisonnière des essences forestières seront probablement modifiées par le réchauffement climatique et l'augmentation des sécheresses dans les années à venir (IPCC, 2007) et des changements ont déjà été observés. En effet, l'augmentation des températures a un rôle clé dans la réactivation du cambium et dans l'accroissement radial (e.g. Oribe et al., 2001, Begum et al., 2007, Rossi et al., 2007, Deslauriers et al., 2008). Elle avance également la date de débourrement et accélère la maturation des feuilles (Sarvas, 1972, Chuine, 2000, Schaber & Badeck, 2003, Davi et al., 2008). La dynamique de croissance saisonnière des espèces peut également être influencée par les variations climatiques, notamment leur taux de croissance maximale. Le suivi de la phénologie du cambium et de la dynamique de croissance à l'échelle intra-annuelle (ou saisonnière) semble aujourd'hui incontournable pour mieux comprendre la réponse de la croissance des arbres au climat. Ces études sont rares dans les forêts tempérées de plaine et aucune n'a comparé la croissance d'espèces décidues et de conifères. Dans cette partie, nous avons observé la date de débourrement et analysé la croissance saisonnière du Hêtre, du Chêne et du Pin au cours de l'année 2009. Pour cela, chaque semaine, la croissance radiale a été relevée à l'aide de dendromètres manuels et parallèlement l'accroissement du cerne a été suivi en prélevant des micro-carottes sur 5 arbres sur une parcelle par espèce (**Tab. 5**). Les parcelles ayant des réserves utiles relativement faibles et une bonne croissance ont été choisies parmi celles échantillonnées pour l'analyse dendrochronologique (**partie I.1**). Les 5 arbres qui présentaient la plus forte croissance interannuelle de 1960 à 2007 et la meilleure synchronisation avec la chronologie moyenne de la parcelle ont été choisis parmi les 15 échantillonnés pour l'analyse dendrochronologique (**partie I.1**).

L'objectif principal de cette étude est de comparer la phénologie et la dynamique de croissance saisonnière entre les trois espèces au cours de l'année 2009 en mettant en évidence d'éventuelles différences ou similitudes entre espèces. De plus, nous avons mis en évidence l'apport respectif des micro-carottes et des dendromètres dans le suivi de la croissance saisonnière des espèces et étudié la variabilité entre arbres dans les variables phénologiques de croissance et la date de débourrement.

Tableau 5. Caractéristiques de l'échantillonnage pour le suivi de la croissance saisonnière en 2009.

Espèce	Parcelle	Réserve utile (mm)	Age moyen en 2008 (ans)	Nombres d'arbres
Hêtre	B12	101	92	5
Chêne	O4	115	151	5
Pin	P3	118	68	5

II.2. Principaux résultats et discussion

Cette étude montre que :

1. Les mesures de l'accroissement du cerne via les micro-carottes sont complémentaires aux données issues des dendromètres, qui, bien que plus faciles à acquérir, peuvent masquer certains événements de croissance. En effet, les dendromètres mesurent non seulement l'accroissement du xylème mais aussi celui du phloème et de l'écorce. Ils enregistrent en plus de la croissance cellulaire, les mouvements d'hydratation et de déshydratation, qui ont surtout lieu dans l'écorce du tronc. Nous avons d'ailleurs montré que plus l'épaisseur d'écorce de l'espèce est importante, plus la corrélation entre précipitation et accroissement radial mesuré par les dendromètres est forte.

2. La dynamique et la phénologie de la croissance saisonnière en 2009 sont différentes entre espèces. Les dynamiques saisonnières du Hêtre et du Pin peuvent être modélisées par une fonction de Gompertz, utilisée classiquement dans les études intra-annuelles de croissance, mais pas celle du Chêne. Pour le Chêne, la fonction utilisée est une double sigmoïde puisque le bois initial et le bois final ont leur propre dynamique de croissance, séparés par un ralentissement de croissance au mois de mai. Ainsi, la croissance du Hêtre commence le 21 avril, trois semaines après celle des chênes et des pins, et débute ainsi 2 jours après son débourrement. Au contraire, la croissance des chênes commence deux semaines avant le débourrement, ce qui montre l'importance de l'utilisation des réserves pour une partie de la formation du bois initial. La fin de croissance des chênes (le 24 juillet) est significativement plus précoce que celle du Hêtre (12 août) et du Pin (28 août) ce que nous attribuons soit à une sensibilité au DHS soit au début de dépérissement observé sur les houppiers de certains chênes. Par conséquent, la durée de croissance des pins est plus longue d'un mois comparée à celle des deux essences décidues.

3. Certaines caractéristiques de la croissance saisonnière sont cependant communes aux trois essences tempérées. Ainsi, la largeur de cerne finale est reliée à la date de fin de croissance, ce qui n'est généralement pas observé et reste difficile à expliquer puisque le taux de croissance est faible en fin de croissance. Début juin, toutes les espèces ont constitué la moitié de leur cerne. Le taux maximum de croissance est similaire entre espèce allant de 28.7 $\mu\text{m}/\text{jour}$ pour les pins à 33.0 $\mu\text{m}/\text{jour}$ pour hêtres et chênes. Contrairement à certaines études sur les conifères en écosystèmes boréaux ou en altitude, le taux maximum de croissance n'est pas synchronisé avec les températures maximales de la saison (fin juillet, début août) : il est observé en moyenne un à deux mois plus tôt. En revanche, pour les chênes le taux maximum de croissance est synchronisé avec la durée maximale du jour (le 21 juin) ce qui a pu être également observé par Rossi et al. (2006c) sur des conifères.

Ces résultats permettent de mieux caractériser les différences interspécifiques de croissance saisonnière en fonction des variations climatiques. Ce type d'études, mené sur plusieurs années successives, permettrait de déterminer quelle est la part ontogénique dans la croissance saisonnière et quelle est la part qui peut être fortement influencée par les variations climatiques pour chaque espèce. Cette étude intra-annuelle permet également de mieux interpréter les résultats dendroclimatiques que nous avons obtenus à l'échelle interannuelle (**Partie I.1**). Ainsi, les précipitations de mai à juillet influencent fortement la croissance du hêtre de 1960 à 2007, période qui correspond à la majeure partie de la formation du cerne. Pour le Chêne, la croissance du bois initial est peu influencée par le climat de 1960 à 2007. Ceci est probablement due à la formation rapide du bois initial, au mois d'avril, en grande partie à partir des réserves et à la pré-division des vaisseaux l'hiver précédent observé chez les espèces à poreuse (Fonti et al., 2007). Pour le bois final des chênes, la période de formation en 2009 s'étend de mai à juillet, ce qui correspond à la période des précipitations qui influencent sa croissance interannuelle de 1960 à 2007. Pour les pins, la durée de croissance du bois final jusqu'à fin août explique l'influence des précipitations de mai jusqu'à août sur la croissance interannuelle du bois final de 1960 à 2007 que nous avons précédemment trouvé.

II.3. Article

Comparing the seasonal wood formation of three European species (*Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* and *Pinus sylvestris*) in a temperate forest

Alice Michelot^{1,2,3*}, Sonia Simard⁴, Cyrille Rathgeber⁵, Eric Dufrêne^{1,2,3} and Claire Damesin^{1,2,3}

¹Univ Paris-Sud, Laboratoire Ecologie Systématique et Evolution, UMR8079, Orsay, F-91405

²CNRS, Orsay, F-91405

³AgroParisTech, Paris, F-75231

⁴Swiss Federal Research Institute WSL, Birmensdorf, Switzerland, CH-8903

⁵INRA, UMR1092, Laboratoire d'étude des ressources forêt-bois (LERFoB), Centre INRA de Nancy, F-54280 Champenoux, France

*Corresponding author:

Email: alice.michelot@u-psud.fr

Phone number: 33-1 69 15 71 37

Fax number: 33-1 69 15 72 38

Abstract

Leaf phenology and seasonal wood formation are reported to differ according to climatic change. Access to cambial phenology and seasonal growth dynamics with high resolution sampling is thus essential to understand tree growth response to climate change. However, few studies are interested in the intra-annual dynamics of wood formation in lowland temperate forests and any compare the seasonal ring formation between deciduous and conifer species at a high time resolution. Here, we compared the seasonal wood formation and leaf phenology of three European species with contrasted ecology: *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* and *Pinus sylvestris*. In 2009, we monitored the stem circumference weekly using dendrometers, xylem growth using microcores and leaf phenology using direct observations of the canopy. The seasonal growth dynamics was modelled with a Gompertz function for beech and pine and with a double sigmoid function for oak. The comparison of seasonal wood formation between species showed important differences. Beeches radial growth beginning started in April 21, 3 weeks later than oaks (30 March) and pines (2 April), and was synchronized with budburst. Conversely, oak vessels formation began 2 weeks earlier than budburst, underlining the use of stored carbohydrates to build part of the earlywood. The ending of radial growth defined as the cessation of cell (tracheids or vessels) production by the cambium was significantly earlier for oak (24 July) than for beech (12 August) and pine (28 August). Consequently, the growth duration was longer of one month for pine compared to the deciduous species. On the other hand, similarities between species were observed in terms of maximum growth rate (from 28.7 to 33.0 $\mu\text{m}/\text{day}$). In all species, the timing of growth culmination was not synchronized with the warmest temperatures, observed in late July. This study demonstrates that the seasonal wood formation monitoring allows a better understanding of tree growth response to climate and a better interpretation of dendrological results also in temperate forest.

Keywords: intra-annual growth, cambial phenology, tree ring, microcore, Sessile oak, European beech, Scots pine

Introduction

The increase of temperatures and droughts (IPCC, 2007) is expected to modify tree species phenology. Shifts in plant phenology have already been observed at multiple scales in numerous studies (reviewed by Cleland et al., 2007). The importance of temperatures in both cambial reactivation and wood production has recently been underlined (e.g. Oribe et al., 2001, Begum et al., 2007, Rossi et al., 2007, Deslauriers et al., 2008). Leaf phenology was also shown to be largely dependant on spring temperatures (see Sarvas, 1972, Chuine, 2000, Schaber & Badeck, 2003 for budburst, Davi et al., 2008 for leaf mass area). This dependency that could lead, in a context of warmer springs, to an increase in carbon uptake as observed in 2007 in many European forests (Delpierre et al., 2009). Leaf phenology and seasonal wood formation have been linked in many deciduous species (e.g. Cufar et al., 2008 for European beech), as newly assimilates are the main substrate for radial increment. For conifers, needle phenology seems to have less influence on the seasonal growth as demonstrated by Rossi et al. (2009) for three conifer species. The plasticity of the wood formation dynamics under climatic variations has been highlighted for different species. The maximum growth rate of conifers was either synchronized with the warmest temperatures (e.g. Makinen et al., 2003) or with the maximum day length (Rossi et al., 2006c). This seasonal growth plasticity was also observed in response to biotic factors as competition (Linares et al., 2009), tree size (Rathgeber et al., in press-b) or tree vigor (Gricar et al., 2009), with a certain variability between trees within a species however. High resolution sampling of the cambial phenology and seasonal growth dynamics could thus be useful to a better understanding of the tree growth response to climate change.

Access to the ring formation dynamics of each species can help interpreting the interannual growth response to monthly climatic variables in dendroecological studies (e.g. van der Werf et al., 2007; Cufar et al., 2008). The knowledge gained from cambial dynamics studies is also essential to correctly place back in time intra-ring proxies like wood density or isotopic composition (e.g. Skomarkova et al., 2006; Michelot et al., 2011) or to develop mechanistic models aiming at predicting the future forest carbon storage (e.g. Dufrière et al., 2005). Different methodologies were used to access the seasonal tree growth dynamics with high temporal resolution. Band or point dendrometers have been used to measure the expansion of trees' circumference (e.g. Zweifel & Häsler, 2000, Deslauriers et al., 2003b). Alternatively, wood formation has also been monitored using the pinning technique that consist in repeatedly wounding the cambium with a pin to retrospectively determine the number of cells produced by the cambium between each pinning dates (Wolter, 1968). Repeated stem microcore sampling using specifically designed tools has also been successfully used to determine the intra-annual cambial dynamics (e.g. Forster et al., 2000, Rossi et al., 2006a).

For many years, the intra-annual studies have been well developed in boreal and mountains ecosystems on coniferous species. However, as demonstrated by Rathgeber et al. (in press-a), the

intra-annual dynamics of cambial activity and wood formation of coniferous is quite different for temperate forests than for cold boreal and mountain forests, particularly because the growth duration is longest in temperate forests. The intra-annual studies of wood formation by microcoring or pinning are scarce in lowland temperate forest both for deciduous species (e.g. Schmitt et al., 2000, Cufar et al., 2008 for *Fagus sylvatica*, Gricar et al. 2010 for *Quercus petraea* and van der Werf et al., 2007 for both species) and for coniferous species (Wodzicki, 1971, Rathgeber et al., in press-a). To our knowledge, no study compared the seasonal wood formation of deciduous species with evergreen species in a lowland temperate forest.

In this study, we were interested in the seasonal dynamics of tree-ring formation of three European species (*Fagus sylvatica* L., *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Pinus sylvestris* L.) with contrasting wood anatomy, phenology and ecophysiology. The tree ring structure of the deciduous species made up of vessels and fibers differs between species. Beech (*F. sylvatica*) presents a diffuse porous tree-ring structure whereas oak (*Q. petraea*) is classified as a ring porous species with large vessels formed in spring. On the other hand, the tree ring of pine (*P. sylvestris*) is made up of tracheids evenly distributed. Pine, as an evergreen species, has needles that remain photosynthetically active throughout the year as opposed to deciduous species that shed leaves at autumn.

We investigated the seasonal growth (i.e. cell enlargement) of these three species by weekly measurements on dendrometers and microcore sections in 2009. The main objective of this study was to compare the wood formation calendar and dynamics between species during the growing season 2009. In addition, we discuss the impact of the seasonal climate variations on the species growth and the variability of phenological traits between trees.

Material and methods

Study site and tree selection

The study was conducted in the Fontainebleau forest, a large managed forested area extend over 17,000 ha southeast of Paris (48°25 N, 2°40 E, mean altitude 120 m). The climate is of oceanic attenuated type and is homogeneous over the whole forest, with a mean annual temperature of 10.6°C and mean precipitation of 750 mm fairly well distributed throughout the year. From 1960 to 2009, the mean maximal temperature from April to August (i.e. the growing season) was 21.1 ± 1.1 °C and the mean sum of precipitation was 307 ± 83 mm. The soil texture is dominated by sand from Stampian sand mixed with loam and clay which covered the whole forest at different depths.

The seasonal growth and phenology of *Fagus sylvatica* L. (beech), *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. (oak) and *Pinus sylvestris* L. (pine), the dominant species in the Fontainebleau forest, was followed weekly with manual dendrometers and microcore sampling on 5 trees per species, one

species per stand, from April to November 2009. Young stands with a relatively low available water capacity (AWC) were chosen. The selected stands were part of a larger dendroecological project (3 stands per species - 15 trees/stand) studying the impact of climatic variations and soil water deficits on tree growth during the 1960-2007 period (Michelot et al., submitted).

Climate data and soil relative humidity

Mean, maximal and minimal temperatures and precipitation were recorded at the Fontainebleau meteo station over 1960 to 2009. In addition, the sums of precipitation were weekly collected from 1 April to 16 November 2009 by rain gauges, in sites within a maximal distance of 2 km to each stand. Measurements of soil water content were done from 29 April to 16 November 2009 for each stand at intervals of two weeks. Three soil samples per site, 40 cm deep, were extracted with a soil auger. The soil sampling sites were within a 2-m radius to the stem of 3 of the 5 studied trees. The soil was weighed fresh and dry after 48 hours at 100°C. The soil water content (SWC, %) was calculated for each date:

$$SWC = \frac{W_m - W_d}{W_d} * 100 \quad (1)$$

where W_m is the weight of the moist soil (g) and W_d is the weight of the dry soil (g).

Tree's structural parameters

For each tree, the final width of earlywood, latewood and total ring were measured to the nearest 1/10 mm using a magnifier (10x, Peak, Japan) on one macrocore (10 mm of diameter) sampled in December 2009. The height and circumference at breast height (C_{130}) of the 15 sampled trees were measured in March 2009 before installing the dendrometers (**Tab 1**). For each tree, the crown projected area (CPA) was estimated as the surface of an ellipse:

$$CPA = \pi * \frac{ab}{4} \quad (2)$$

where a is the longest axis of the crown projected onto the ground and b is the shortest axis (taken at 90° from a). Both axes are measured from the stem. To describe the local neighbourhood interference around each target tree, a crowding index was calculated like in Michelot *et al.* (2011) from log transformation of Weiner's index (Weiner, 1984, Takahashi, 1996):

$$W = \log \left(\sum_{i=1}^n s_i / d_i^2 \right) \quad (3)$$

where n is the total number of neighbours, d_i is the distance (m) from the target tree to the i^{th} neighbour and s_i is the size of the i^{th} neighbour. Basal area (cm²) at breast height was used as a

surrogate for the size of the neighbour (s_i). A neighbour was defined as any woody plant located within 15 m of the target tree with C_{130} exceeding 20 cm.

For each sampled tree, leaf mass per area (LMA), current-year leaf or needle nitrogen content (N_{leaf} , $\text{mg g}^{-1}_{\text{DM}}$) and one-year old needle nitrogen content ($N_{\text{leaf } n-1}$, $\text{mg g}^{-1}_{\text{DM}}$) were measured in June 2009. LMA and N_{leaf} were measured on 30 sun leaves per deciduous tree. For pine, N_{leaf} and $N_{\text{leaf } n-1}$ were respectively measured on 10 current-year and 10 one-year-old sun needles per tree. Sun leaves were sampled at the top of the canopy using a rifle. For deciduous, leaf area was measured using an area meter (Delta-T Devices, UK). Leaf dry weight was determined after 48 h in an oven at 60°C. For pine, the immersion volume (V , m^3) of each set of 10 needles (n) was determined after weighing and the mean needle length (l , m) was measured. The hemisurface leaf area ($HSLA$, m^2) was then calculated as:

$$HSLA = f * \sqrt{Vnl} \quad (4)$$

with $f = 2.05$ (Bond-Lamberty et al., 2003). The dry weight of each 10-needles set was determined after 48 h in an oven at 60°C. To determine N_{leaf} and $N_{\text{leaf } n-1}$, leaf and needle powder was weighed and enclosed in tin capsules (4 x 6 mm; 4 mg for oak and beech and 6 mg for pine). The capsules were combusted in an elemental analyzer (Model NA-1500; Carlo Erba, Milan, Italy) and the gases resulting from combustion were separated. The N_2 peak was sent to a mass spectrometer (IRMS, VG Optima; Fison, Villeurbanne, France). The leaf chlorophyll content (Chl_{leaf} , $\mu\text{g cm}^{-2}$) was measured on 10 sun leaves per deciduous tree with a SPAD (Minolta Camera, Osaka, Japan) chlorophyll meter (average of 10 measurements per leaf). SPAD values were converted to chlorophyll values using a calibrated relationship established in Fontainebleau forest for oak and beech, respectively (Le Dantec, unpublished data).

Leaf phenology monitoring

Budburst observations were monitored from 1 April to 25 May 2009 on all sampled trees at a 3 to 7-day interval. The evolution of the percentage of just-unfolded leaves (or needles for pine) in the crown was recorded. For each tree, the budburst date was computed when 50% of the leaves (or needles) just unfolded in the crown. This date could be obtained by a linear interpolation from the percentage evolution for each tree. In the same way, for the deciduous species, the colouring evolution was monitored at weekly intervals from 6 October to 16 November 2009.

Dendrometers and wood formation monitoring

Manual band dendrometers were installed at breast height on the 15 selected trees in early March 2009. To ensure a smooth contact between the band and trunk, the outer bark was slightly

brushed off. Dendrometer readings were done weekly before microcore samplings. Xylem development was monitored by collecting wood microcores (2-mm diameter and 15–20-mm length) from the stem from 1 April to 16 November (i.e. 34 weeks). Microcores were taken at breast height using a Trephor® tool (Vitzani, Perarolo di Cadore [BL], Italy), following an ascend spiral pattern and spacing out each sampling from about 2 cm of the previous one to avoid wound reaction (Deslauriers et al., 2003a, Rossi et al., 2006a). The 510 samples were placed in a water:ethanol solution (1:1 v/v) and stored at 4°C to avoid tissue deterioration of the cambial zone.

Each sample was oriented under a stereomicroscope at $\times 10$ – 20 magnifications, and the transverse side was marked with a pencil. The microcores were successively cleaned, dehydrated, and infiltrated by immersion in baths of ethanol, d-limonene, and paraffin, using an automatic tissue processor (STP121; MM France, Francheville, France), according to Rossi *et al.* (2006a). The microcores were then embedded in paraffin blocks with an embedding station (EC 350, MM France). Paraffin blocks were made thinner with a rotary microtome (HM 355S, MM France) until it reached the microcore plan and were immersed in water to facilitate the cutting of microcore sections. Transverse sections, 7- μ m-thick, were cut with a rotary microtome (HM 355S, MM France), put on glass slides and dried at least one hour at 50°C. They were successively immersed in d-limonene, ethanol, cresyl violet acetate (0.16% in water) and distilled water. The sections were finally dried and permanently mounted on glass slides with Histolaque LMR®.

The thin sections were then observed using an optical microscope (Orthoplan, Leitz, Germany), under visible and polarised light at $\times 125$ – 400 magnifications to distinguish cells in the cambial zone and differentiating xylem cells (**Fig. 1**). For each sample, ring width was measured on three radial files from the first enlarging cell in the xylem (i.e. after the last cambial cell) to the end of the latewood of the previous year ring. The cumulative ring width of each tree was calculated for each date as the mean of the three radial measurements. Cambial cells were characterised by thin cell walls and small radial diameters.

Cambium phenology

Different phenological phases were determined from microcore observations. The dates were defined in julian days as the average of the sampling dates before and after the observed event (i.e. growth beginning, growth end and earlywood-latewood transition). Growth beginning was determined when the first vessels (bigger for oak than for beech) were formed in deciduous species and the first enlarging cell was observed in the developing tree ring of pine. Cells in radial enlargement were larger than cambial cells and presented thin pink-violet walls that were not birefringent under polarised light. For three oaks and one pine, growth appeared to begin before the first sampling date (1 April). We therefore extrapolated the date of growth beginning by a linear interpolation from the first data of the cumulative ring width curve.

For the three species, the growth end was determined when all newly formed cells near the cambial zone began their lignification (i.e. no more cells entering the enlargement phase). The growth duration was the difference between the growth end date and the growth beginning (in julian days). For oak, the earlywood-latewood transition was considered when the last big earlywood vessel was totally formed. For pine, contrary to oak, it was very difficult to directly observe the earlywood-latewood transition on the sampled sections. Thus, the final earlywood width and the total number of earlywood cells were determined on 2 or 3 samples when the growth was finished (in October-November). From the fitted ring width increment curve (see next paragraph), we identified the date when earlywood reached its final width, which corresponded to the date of earlywood-latewood transition. We checked the finding date of earlywood-latewood transition counting the cells of earlywood on the sections (earlywood cells were more elongated and had thinner cell walls than latewood cells) and observing the cellular form on the optical microscope.

Fitted functions from microcore measurements

For each tree, the cumulative ring width from microcore measurements was fitted using a non-linear estimation from a statistical software package (Statistica; Statsoft, Tulsa, OK, USA). This method estimates the values of parameters to minimize the sum of squares (SS). For each fit, we checked the asymptotic t -statistic for the parameters, the residual distribution and the resulting R^2 . The Gompertz function was used to fit the cumulative ring width of beech and pine trees:

$$y = A \exp [-e^{(\beta-\kappa t)}] \quad (5)$$

where y is the weekly cumulative ring width (μm); t is the day of the year (julian day); A is the upper asymptote (μm), fixed according to the observed final ring, β is the placement parameter, where the lower asymptote starts and κ is the rate of change parameter.

Three biologically useful variables were calculated from the fitted parameters (see Cheng & Gordon, 2000, Deslauriers et al., 2003a, Rossi et al., 2006c) that include r ($\mu\text{m}/\text{day}$), the weighted mean absolute ring growth rate, M (in julian day), the time of maximum growth rate and d (in julian day), the time required for the major portion of ring formation (**appendix 2**). They were calculated as:

$$r = \frac{\alpha\kappa}{4} \quad (6)$$

$$M = \frac{\beta}{\kappa} \quad (7)$$

$$d = \frac{4}{\kappa} \quad (8)$$

For oak, a double sigmoid function was used to correctly fit the growth slowdown measured in May on the microcore sections. The first part of the sigmoid represented the cumulative width of earlywood and the second part that of latewood:

$$y = \frac{u}{1 + \exp^{-K1(t-M1)}} + \frac{A-u}{1 + \exp^{-K2(t-M2)}} \quad (9)$$

where u is the asymptote of the earlywood formation (μm), fixed with the value of the final earlywood width; $\kappa1$ is the rate of change parameter for the earlywood formation; $M1$ is the time of maximum growth of the earlywood; $\kappa2$ is the rate of change parameter for the latewood formation and $M2$ is the time of maximum growth of the latewood.

The fit were done from all the microcore data from beginning to the identified growth end, except 3 outlier points for the tree P6 and one for the tree B12 (see the appendixes 1 and 2 for all fit details).

Statistical analysis

For the three species, Pearson correlations coefficients were calculated between weekly mean of temperature, sum of precipitation and maximum of air relative humidity and the mean daily radial increment ($\mu\text{m}/\text{day}$) weekly measured on dendrometers. Analysis of variance was performed to determine whether "species" was a factor that significantly influenced the mean of phenological variables (i.e. budburst date, date of growth beginning, date of growth end, growth duration and date of earlywood-latewood transition). The homoscedasticity was checked by a Levene-test. For each species ($N=5$), Pearson correlations coefficients were calculated between the tree's phenological variables or the fitted parameters (r , equation 6, M , eq. 7 or $M1$ and $M2$, eq. 9 for oak) and the measured structural parameters (i.e. ring width, earlywood width, latewood width, C_{130} , tree height, crown area, crowding index, N_{leaf} , $N_{\text{leaf } n-1}$ and Chl_{leaf}). For oak, the parameter r used in the correlation was the maximum growth rate in earlywood or in latewood. Partial correlations coefficients were also calculated between trees' structural parameters and between phenological variables.

Results

Dendrometer measurements and microcoring

For the three species, the maximal cumulative radial growth measured by the dendrometers was higher than that fitted from microcore data (**Fig. 2**). The beginning of the radial growth increase measured by dendrometers in 3 out of the 5 studied beeches occurred between one to two weeks earlier as compared with the ring increment measured on microcores. No difference between the two methodologies was found in the remaining beeches. For oak, the slowdown in growth observed in

May was only detected in the microcore data and not in the dendrometer one. For both oak and pine, the mean daily radial increment ($\mu\text{m}/\text{day}$) weekly measured on dendrometers was significantly correlated with the weekly stand precipitation ($r = 0.57$, $p < 0.05$; $r = 0.76$, $p < 0.001$, respectively) and the maximal air humidity of the week ($r = 0.60$, $p < 0.05$; $r = 0.68$, $p < 0.01$, respectively, data not shown). However, no significant correlations between the mean daily radial increment of beeches weekly measured on dendrometers and climatic variables were found.

Variability of ring formation calendar between the three species

The growth beginning (corresponding to the first cell observed in the enlargement phase) occurred 2 days after budburst for beech compared to 14 and 40 days earlier for oak and pine, respectively (**Fig. 3**). The date of growth beginning was significantly later for beech (21 April \pm 8 days, mean date \pm *SD*) than that of oak (30 March \pm 4 days) and pine (2 April \pm 3 days, ANOVA, $F = 24.4$, $p < 0.001$). The date of growth end, which was the most variable between trees, was significantly earlier for oak (24 July \pm 8 days) than for beech (12 August \pm 14 days) and pine (28 August \pm 19 days, ANOVA, $F = 6.9$, $p < 0.01$). The growth duration was clearly longer for pine (148 \pm 21 days) compared to that of oak (-32 days) and beech (-36 days, ANOVA, $F = 7.7$, $p < 0.01$). The earlywood-latewood transition occurred significantly later for pine (4 June \pm 11 days) compared to oak (16 May \pm 6 days, ANOVA, $F = 10.8$, $p < 0.05$). The first row of earlywood vessels was completed for all oak trees between 14 April and 21 April. The mean date of leaf yellowing (i.e. 50% of yellow leaves in the crown) was similar for beech (28 October \pm 1 day) and oak (28 October \pm 14 days) but the between-tree variability in this date was largely higher for oak.

In April, the growth slope of oak was higher than that of pine (**Fig. 4**). Consequently, 30 % of the total ring width was already developed by the end of April for pine compared to only 1 % for beech and 19 % for pine. The ring width increment of oaks considerably slowed down in May, a period corresponding to the earlywood-latewood transition. During the same month, only 13 % of the ring width was produced for oak versus 31 % for both beech and pine. Among the species, beeches had the steepest slope of ring growth from May to June. The 50 % of ring development occurred at the same time for the two deciduous species (11 June for beech and 10 June for oak) and about 10 days earlier for pine (31 May).

Climatic conditions and growth rate of the three species

The climatic conditions of the 2009 growing season, from April to August, were warmer (+1.2°C) than the regional 1960-2008 mean, while rainfall was average (-20 mm). Monthly mean temperatures of April and August were warmer by +2.5°C and +2°C, respectively, than the average of the last 49 years (data not shown). August was particularly dry with a monthly precipitation of just 16

mm and VPD values which reached 1.5 kPa. For the three species, the maximum growth rate of ring occurred earlier than the warmest period which was around mid-July (**Fig. 4**). The maximum rate of cell production was not significantly different between species ($33.0 \pm 6.0 \mu\text{m/day}$ for beech, $33.0 \pm 14.0 \mu\text{m/day}$ for oak and $28.7 \pm 8.6 \mu\text{m/day}$ for pine, mean \pm SD, ANOVA, $F = 0.33$, $p = 0.72$). For beech, the date of maximum growth rate (i.e. mean fitted parameter M , see material and methods) occurred in June 4 (± 7 days, SD) before the soil water content depletion observed from mid-June to mid-July. This date was similar between beeches. For pine, the growth culmination occurred in May 17 (± 13 days) earlier than for beech and the second growth impulse in oak (latewood formation). Pines with the largest ring width showed a cell production peak slightly delayed in the beginning of June in comparison with the other pines. For oak, the maximum growth rate was observed either in the earlywood or in the latewood formation, depending on trees. The date of the maximum growth rate of earlywood ($M1$) occurred in April 17 (± 8 days), corresponding to a warm period. The date of the growth culmination of latewood ($M2$) was observed on June 21 (± 15 days) corresponding to the maximum day length (i.e. the summer solstice). The between-tree variability in the time of maximum growth rate was higher during the oak latewood formation than during earlywood formation.

Variability of phenological traits between trees

The growth duration of the studied species depended mainly on the date of growth end rather than the date of growth beginning. No significant correlation was found between the latter two variables (data not shown). In all species, significant positive correlations were found between the date of growth end and the total ring width (only with latewood width for oak, $p < 0.05$, **Table 2**). Correlations between total ring width and growth rate were not significant except between earlywood width and maximum growth rate of earlywood for oak. Trees structural parameters correlated at a higher level with the dates of growth beginning and budburst than with the date of growth end. For oak, the budburst date was positively correlated with the growth beginning ($p < 0.05$, data not shown). Oaks with a higher C_{130} and crown area significantly started earlier their growth and budburst than smaller oaks. On the contrary, bigger beeches significantly started later their growth and budburst. For oak, the day of maximum growth rate (M) of both earlywood and latewood was positively correlated with the leaf nitrogen content, and the leaf chlorophyll content was positively correlated with the maximum growth rate of earlywood. For pine, the needle nitrogen content was significantly correlated with the phenological variables. The nitrogen content of the current-year needles was negatively correlated with the growth rate. The nitrogen content of the previous-year needles was positively correlated with the end of growth and the ring width.

Discussion

Dendrometer and microcoring measurements

The maximal seasonal growth of each species was higher on dendrometer measurements than on microcoring as in Zweifel *et al.* (2006) and Makinen *et al.* (2008). Contrary to microcoring, the dendrometers measured the growth of all tissues: bark, phloem and xylem. According to Gricar (2010), the annual phloem increment of oak is not negligible because it could represent about 20% of the xylem increment. The dendrometer data integrate two phenomena: enlargement of woody cells and water-related swelling and shrinking of elastic tissues located mainly in the bark (Zweifel & Häsler, 2000). As a consequence, the weekly radial increment was significantly correlated with precipitation and maximal relative air humidity as in Deslauriers *et al.* (2003b) and Zweifel *et al.* (2006). In our study, the correlations were stronger for pine than for oak and were non-significant for beech. The bark thickness seemed thus drive these relationships since the strength of correlations with precipitation and relative air humidity decreased when the species bark thickness decreased. Dendrometers on 3 beeches out of the 5 studied recorded stem expansion one to two weeks before the microcore data showed any new cell production in the xylem. This difference was due to trunk rehydration in early spring, which could mislead the interpretation of the beginning of radial growth (Deslauriers *et al.*, 2003b). This time lag between dendrometers and microcores was nevertheless not observed in pines as also shown by Zweifel *et al.* (2006) on trees from a similar environment. However, the dissociation between dendrometer and microcore data can be up to a month on pines from the boreal forest (Makinen *et al.*, 2008). In addition to anticipate the beginning of xylem cell production in beeches by a few weeks, the dendrometer measurements masked the growth slowdown of oak in May, observed with microcore analysis and increased the slope of the growth beginning of pine. Although the dendrometer data acquisition was easier and not biased by the spatial differences in cambial activity compared to microcoring, they masked some phases of cellular growth events. Consequently, the combination of dendrometer measurements and microcoring is highly recommended. Microcoring is necessary to have the dates of growth beginning and growth end with precision.

Comparison of the seasonal growth between the three species

Our results are consistent with the studies on beech, as a diffuse porous species, which found that growth beginning occurred after the budburst (Suzuki *et al.*, 1996, Schmitt *et al.*, 2000, Barbaroux & Bréda, 2002, Cufar *et al.*, 2008) and with oak studies, as a ring porous species, which displayed the growth beginning several weeks before the budburst (Bréda & Granier,

1996, Zweifel et al., 2006, Sass-Klaassen et al., 2011). Consequently, for oak, carbon stored from the previous year, mainly as starch, plays a key role in building earlywood (Lacointe et al., 1993, Damesin & Lelarge, 2003, Hoch et al., 2003) as also evocated in studies of the intra-ring carbon isotopic composition (Helle & Schleser, 2004, Eglin et al., 2010, Michelot et al., 2011). Earlywood growth was thus less dependent on climate and soil water deficit than latewood growth. The growth beginning of pines in 2009 occurred widely before needles unfold which indicated a relative independence of the cambial reactivation to the needle phenology. Rossi *et al.* (2009) also highlighted an earlier activation of the cambium with respect to needle and shoot growth on three coniferous species in the eastern Italian Alps.

The growth dynamics of beech and pine only could be fitted by a classical Gompertz function (Rossi et al., 2003) contrary to oaks which adopt a different growth strategy. For oak, the first row of earlywood vessels was built very quickly in around two to three weeks as in Gricar (2010). This quick enlargement could be made possible by the division of undifferentiated vessel elements formed at the end of the previous vegetation period that overwintered in the cambium (Zasada & Zahner, 1969, Frankenstein et al., 2005, Fonti et al., 2007). The largest part of earlywood vessels was finished developing in April with a maximum growth rate synchronized with warm temperatures. A double sigmoid function correctly fitted the oak wood formation because the earlywood and latewood cell enlargement led to two separate growth parts connected by the transition period in May. The pine earlywood-latewood transition occurred later than that of oak, which could explain the lower proportion of latewood to total ring width for pine than for oak found in the dendrological studies (see Michelot et al., submitted). Although beech showed a slower growth rate in April compared to the other species, they quickly overcome this difference by increasing their growth rate in May and June, even exceeding that of the other species. The fast maturation of beech leaves (Eglin et al., 2009) could promote the fast ring formation from May. The beech maximum growth rate occurred in June corresponded to the time when the leaves reached their maximum LMA and photosynthetic rate (see Eglin et al., 2009). This could underline the dependence of the beech wood formation to the functioning of leaves.

The time of the maximum growth rate of the three species, seemed independent to the warmest climatic conditions of the year. However, the maximum growth rate of oak latewood coincided with the maximum day length. Pine trees with the highest growth also had growth culmination in the beginning of June, a period with the longest photoperiod, close to the summer solstice. For conifers in cold environments, Rossi et al. (2006c) also showed the synchronization of maximum cell production rate with maximum day length rather than with the warmest period of the year. Moreover, a high variability in the time of maximum growth rate for latewood production was observed between oaks in opposition to earlywood. It suggests a potentially higher plasticity of latewood growth compared to earlywood under climatic variations.

Beeches growth end occurred later than that of oaks, which led to the same growth duration (about 4 months) for the two deciduous species whereas the growth duration of pine (5 months) was considerably longer compared to that of beech and oak. Results on Scots pine growing in temperate forest are scarce in the literature. Studies on that species are generally conducted in boreal ecosystems (Makinen et al., 2008, Seo et al., 2008, Seo et al.) or at higher altitudes (Schmitt et al., 2004) with a shorter vegetative period, shorter day length and colder temperatures. However, the few studies on temperate forest also show long growth duration for Scots pine. Wodzicki (1971), in Poland, showed that the cambial activity of Scots pine starts mid-April and stops mid-September. Rathgeber et al. (in press-a) in a study done in 2006 found a mean growth duration of 162 days for pines growing in a forest Northeast of France close to our results in 2009 (148 days).

The wood formation calendar found for beech was similar to the week to that of Cufar et al. (2008) in a Central-European forest for the year 2006, although climatic conditions were different in 2006 in Slovenia compared to that of 2009 in France. According to a previous dendrological study (Michelot et al., submitted) from 1960 to 2007, precipitation from May to July largely influenced the growth of beech at the studied stand, a period when most of the tree ring formation occurred in 2009. Although beech exhibits a high sensitivity to soil water deficit (Badeau et al., 1997, Bouriaud et al., 2004), the decoupling of minimal SWC (from mid-June to late July 2009) and maximum growth rate (early June) prevented the dryer period to be recorded in the radial growth. For oaks, latewood enlargement lasted just over two months from mid-May to the end of July which explains the sensitivity to precipitation over May to July from 1960 to 2007, found in Michelot et al. (submitted). In 2009, the radial growth interruption of oaks followed the dry period from June 16 to July 7. This pause might have happened earlier in 2009 compared to an average climatic year explaining the thinner ring width for oaks in 2009 compared to the mean ring width of the last 10 years. Our hypothesis was supported by the results of Gricar (2010) who found a growth end in mid-August for oak. In addition, the light crown opening observed on oak at the study site could also hasten the time of growth end. For pine, the xylem cell production until August allowed to use latewood of pine as an indicator of summer precipitations up to August (Michelot et al., submitted).

Between-tree variability

Our results displayed strong correlations between the date of growth end (i.e. end of cell enlargement) and the total ring width or latewood width for the three species. The growth rate was not significantly correlated with the total ring width. On the contrary, for *Abies alba*, Rathgeber et al. (in press-b) showed that 75% of tree-ring width variability was attributable to the rate of cell production and only 25% to its duration. In a boreal forest, Lupi *et al.* (2010) demonstrated that a higher number of cells delay the end of xylogenesis (i.e. end of lignification processes) for *Picea mariana* from 2006 to 2009. However, they also found a significant influence of the date of xylogenesis beginning on the

total number of cells in total ring contrary to our results. In our temperate site, the final number of cells in the tree ring seemed more largely dependant on the growth end date than the growth beginning.

Structural parameters as C_{130} , tree height or crown area were more strongly linked with the date of growth beginning than with the date of growth end although the latter was the parameter showing the highest variability between trees. For pine, we found positive correlations between growth end dates and ring widths with $N_{\text{leaf } n-1}$ rather than with N_{leaf} . The high amount of nitrogen in needles of the previous year increases their photosynthetic capacity which could increase the amount of newly assimilates and the reserve storage. Thus, $N_{\text{leaf } n-1}$ could influence the total ring width. However, we expected a correlation between $N_{\text{leaf } n-1}$ and the growth rate rather than between $N_{\text{leaf } n-1}$ and the date of growth end, this latter correlation being difficult to explain.

Conclusions

This study highlighted the differences in the seasonal wood formation between three temperate species, both in cambial phenology and in growth dynamics. To relate all these growth events, the microcoring methodology was necessary in complement to dendrometer data. Beech started growing 3 weeks later than oak and pine in synchronization with budburst. On the contrary, oak growth began two weeks before budburst underlining the necessity of using stored carbohydrates to build part of the earlywood. Contrary to pine and beech, the earlywood and latewood of oak showed separated growth dynamics, correctly fitted by a double sigmoid function. The growth end of oaks occurred three weeks before that of beeches and 5 weeks before that of pines. Consequently, the growth duration was longer of one month for pine compared to the deciduous species. This date of growth end was variable between trees within the same species and was strongly linked with the final ring width. Despite differences, some characteristics of the seasonal wood formation remained close between species. Thus, the maximum growth rate was similar between species and the time of growth culmination was not synchronized with the warmest temperatures of the year but rather with summer solstice for oaks and for some pines. The knowledge gained on the seasonal wood formation dynamics for each species led to a better interpretation of the dendrological results. This multi-species comparison in temperate forests was necessary to a better understanding of the climatic impacts on tree growth and its plasticity, between trees and species.

Acknowledgments

All the colleagues of the Laboratory ESE are gratefully acknowledged for field-leaf samples, particularly Laurent Vanbostal. Many thanks to all the team CPQB of the UMR LERFoB. The authors

are grateful to the Office National des Forêts, especially Claude Lagarde and Gilles Defour for facilitating the experimental work in the Fontainebleau forest. We also thank the platform Métabolisme-Métabolome of the IFR87 for the nitrogen concentration measurements. This research took place within the project AFOCLIM which was financed by the French national program “GIS Climat-Environnement-Société”. Alice Michelot received a PhD grant from the French “Ministère de l’Enseignement Supérieur et de la Recherche” and the University Paris-Sud 11.

References

1. Badeau V., Bréda N. & Landmann G. (1997) La récente crise de vitalité du hêtre en plaine semble largement liée aux déficits hydriques. In: *La Santé des forêts, France 1996, Les Cahiers du D.S.F.*, pp. 60-63. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche.
2. Barbaroux C. & Bréda N. (2002) Contrasting distribution and seasonal dynamics of carbohydrate reserves in stem wood of adult ring-porous sessile oak and diffuse-porous beech trees. *Tree Physiology*, **22**, 1201-1210.
3. Begum S., Nakaba S., Oribe Y., Kubo T. & Funada R. (2007) Induction of cambial reactivation by localized heating in a deciduous hardwood hybrid poplar (*Populus sieboldii* x *P. grandidentata*). *Annals of Botany*, **100**, 439-447.
4. Bond-Lamberty B., Wang C. & Gower S.T. (2003) The use of multiple measurement techniques to refine estimates of conifer needle geometry. *Canadian Journal of Forest Research*, **33**, 101-105.
5. Bouriaud O., Bréda N., Le Moguédec G. & Nepveu G. (2004) Modelling variability of wood density in beech as affected by ring age, radial growth and climate. *Trees-Structure and Function*, **18**, 264-276.
6. Bréda N. & Granier A. (1996) Intra- and interannual variations of transpiration, leaf area index and radial growth of a sessile oak stand (*Quercus petraea*). *Annals of Forest Science*, **53**, 521-536.
7. Cheng C. & Gordon I.L. (2000) The Richards function and quantitative analysis of germination and dormancy in meadowfoam (*Limnanthes alba*). *Seed Science Research*, **10**, 265-277.
8. Chuine I. (2000) A unified model for budburst of trees. *Journal of Theoretical Biology*, **207**, 337-347.
9. Cleland E.E., Chuine I., Menzel A., Mooney H.A. & Schwartz M.D. (2007) Shifting plant phenology in response to global change. *Trends in Ecology & Evolution*, **22**, 357-365.
10. Cufar K., Prislan P. & Gricar J. (2008) Cambial activity and wood formation in Beech (*Fagus sylvatica*) during the 2006 growth season. *Wood Research*, **53**, 1-12.
11. Damesin C. & Lelarge C. (2003) Carbon isotope composition of current-year shoots from *Fagus sylvatica* in relation to growth, respiration and use of reserves. *Plant, Cell and Environment*, **26**, 207-219.
12. Davi H., Barbaroux C., Dufrêne E., Francois C., Montpied P., Brea N. & Badeck F. (2008) Modelling leaf mass per area in forest canopy as affected by prevailing radiation conditions. *Ecological Modelling*, **211**, 339-349.
13. Delpierre N., Soudani K., Francois C., Kostner B., Pontailier J.Y., Nikinmaa E., . . . Dufrêne E. (2009) Exceptional carbon uptake in European forests during the warm spring of 2007: a data-model analysis. *Global Change Biology*, **15**, 1455-1474.
14. Deslauriers A., Morin H. & Bégin Y. (2003a) Cellular phenology of annual ring formation of *Abies balsamea* in the Quebec boreal forest (Canada). *Canadian Journal of Forest Research*, **33**, 190-200.
15. Deslauriers A., Morin H., Urbinati C. & Carrer M. (2003b) Daily weather response of balsam fir (*Abies balsamea* (L.) Mill.) stem radius increment from dendrometer analysis in the boreal forests of Quebec (Canada). *Trees-Structure and Function*, **17**, 477-484.

16. Deslauriers A., Rossi S., Anfodillo T. & Saracino A. (2008) Cambial phenology, wood formation and temperature thresholds in two contrasting years at high altitude in southern Italy. *Tree Physiology*, **28**, 863-871.
17. Eglin T., Francois C., Michelot A., Delpierre N. & Damesin C. (2010) Linking intra-seasonal variations in climate and tree-ring $\delta^{13}\text{C}$: A functional modelling approach. *Ecological Modelling*, **221**, 1779-1797.
18. Eglin T., Fresneau C., Lelarge-Trouverie C., Francois C. & Damesin C. (2009) Leaf and twig $\delta^{13}\text{C}$ during growth in relation to biochemical composition and respired CO_2 . *Tree Physiology*, **29**, 777-788.
19. Fonti P., Solomonoff N. & Garcia-Gonzalez I. (2007) Earlywood vessels of *Castanea sativa* record temperature before their formation. *New Phytologist*, **173**, 562-570.
20. Forster T., Schweingruber F.H. & Denneler B. (2000) Increment puncher - A tool for extracting small cores of wood and bark from living trees. *Iawa Journal*, **21**, 169-180.
21. Frankenstein C., Eckstein D. & Schmitt U. (2005) The onset of cambium activity - A matter of agreement? *Dendrochronologia*, **23**, 57-62.
22. Gricar J. (2010) Xylem and phloem formation in Sessile oak from Slovenia in 2007. *Wood Research*, **55**, 15-22.
23. Gricar J., Krze L. & Cufar K. (2009) Number of cells in xylem, phloem and dormant cambium in Silver fir (*Abies alba*), in trees of different vitality. *Iawa Journal*, **30**, 121-133.
24. Helle G. & Schleser G.H. (2004) Beyond CO_2 -fixation by Rubisco - an interpretation of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ variations in tree rings from novel intra-seasonal studies on broad-leaf trees. *Plant, Cell & Environment*, **27**, 367-380.
25. Hoch G., Richter A. & Körner C. (2003) Non-structural carbon compounds in temperate forest trees. *Plant Cell and Environment*, **26**, 1067-1081.
26. IPCC (2007) Climate change 2007: Synthesis report. Cambridge University Press, pp. 52.
27. Lacoite A., Kajji A., Daudet F.A., Archer P. & Frossard J.S. (1993) Mobilization of carbon reserves in young walnut trees. *Acta Botanica Gallica*, **140**, 435-441.
28. Linares J.C., Camarero J.J. & Carreira J.A. (2009) Plastic responses of *Abies pinsapo* xylogenesis to drought and competition. *Tree Physiology*.
29. Lupi C., Morin H., Deslauriers A. & Rossi S. (2010) Xylem phenology and wood production: resolving the chicken-or-egg dilemma. *Plant Cell and Environment*, **33**, 1721-1730.
30. Makinen H., Nojd P. & Saranpaa P. (2003) Seasonal changes in stem radius and production of new tracheids in Norway spruce. *Tree Physiology*, **23**, 959-968.
31. Makinen H., Seo J.W., Nojd P., Schmitt U. & Jalkanen R. (2008) Seasonal dynamics of wood formation: a comparison between pinning, microcoring and dendrometer measurements. *European Journal of Forest Research*, **127**, 235-245.
32. Michelot A., Bréda N., Damesin C. & Dufrêne E. (submitted) Differing growth responses to climatic variations and soil water deficits of *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* and *Pinus sylvestris* in a temperate forest.
33. Michelot A., Eglin T., Dufrêne E., Lelarge-Trouverie C. & Damesin C. (2011) Comparison of seasonal variations in water-use efficiency calculated from the carbon isotope composition of tree rings and flux data in a temperate forest. *Plant Cell and Environment*, **34**, 230-244.
34. Oribe Y., Funada R., Shibagaki M. & Kubo T. (2001) Cambial reactivation in locally heated stems of the evergreen conifer *Abies sachalinensis* (Schmidt) masters. *Planta*, **212**, 684-691.
35. Rathgeber C.B.K., Longuetaud F., Mothe F., Cuny H. & Le Moguédec G. (in press-a) Phenology of wood formation: Data processing, analysis and visualisation using R (package CAVIAR). *Dendrochronologia*.
36. Rathgeber C.B.K., Rossi S. & Bontemps J.-D. (in press-b) Tree size influences cambial activity in a mature silver fir plantation. *Annals of Botany*.
37. Rossi S., Anfodillo T. & Menardi R. (2006a) Trephor: A new tool for sampling microcores from tree stems. *Iawa Journal*, **27**, 89-97.
38. Rossi S., Deslauriers A., Anfodillo T. & Carraro V. (2007) Evidence of threshold temperatures for xylogenesis in conifers at high altitudes. *Oecologia*, **152**, 1-12.

39. Rossi S., Deslauriers A., Anfodillo T., Morin H., Saracino A., Motta R. & Borghetti M. (2006b) Conifers in cold environments synchronize maximum growth rate of tree-ring formation with day length. *New Phytologist*, **170**, 301-310.
40. Rossi S., Deslauriers A. & Morin H. (2003) Application of the Gompertz equation for the study of xylem cell development. *Dendrochronologia*, **21**, 33-39.
41. Rossi S., Rathgeber C.B.K. & Deslauriers A. (2009) Comparing needle and shoot phenology with xylem development on three conifer species in Italy. *Annals of Forest Science*, **66**.
42. Sarvas R. (1972) Investigations on the annual cycle of development of forest trees. I Active period. *Communicationes Instituti Forestalis Fenniae*, **76**, 1-110.
43. Sass-Klaassen U., Sabajo C.R. & den Ouden J. (2011) Vessel formation in relation to leaf phenology in pedunculate oak and European ash. *Dendrochronologia*, **29**, 171-175.
44. Schaber J. & Badeck F.W. (2003) Physiology-based phenology models for forest tree species in Germany. *International Journal of Biometeorology*, **47**, 193-201.
45. Schmitt U., Jalkanen R. & Eckstein D. (2004) Cambium dynamics of *Pinus sylvestris* and *Betula* spp. in the northern boreal forest in Finland. *Silva Fennica*, **38**, 167-178.
46. Schmitt U., Moller R. & Eckstein D. (2000) Seasonal wood formation dynamics of beech (*Fagus sylvatica* L.) and black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) as determined by the "pinning" technique. *Journal of Applied Botany-Angewandte Botanik*, **74**, 10-16.
47. Seo J.-W., Eckstein D., Jalkanen R., Rickebusch S. & Schmitt U. (2008) Estimating the onset of cambial activity in Scots pine in northern Finland by means of the heat-sum approach. *Tree Physiology*, **28**, 105-112.
48. Seo J.-W., Eckstein D., Jalkanen R. & Schmitt U. (in press) Climatic control of intra- and inter-annual wood-formation dynamics of Scots pine in northern Finland. *Environmental and Experimental Botany*.
49. Suzuki M., Yoda K. & Suzuki H. (1996) Phenological comparison of the onset of vessel formation between ring-porous and diffuse-porous deciduous trees in a Japanese temperate forest. *Iawa Journal*, **17**, 431-444.
50. Takahashi K. (1996) Plastic response of crown architecture to crowding in understory trees of two co-dominating conifers. *Annals of Botany*, **77**, 159-164.
51. van der Werf G.W., Sass-Klaassen U.G.W. & Mohren G.M.J. (2007) The impact of the 2003 summer drought on the intra-annual growth pattern of beech (*Fagus sylvatica* L.) and oak (*Quercus robur* L.) on a dry site in the Netherlands. *Dendrochronologia*, **25**, 103-112.
52. Weiner J. (1984) Neighbourhood interference amongst *Pinus rigida* individuals. *Journal of Ecology*, **72**, 183-195.
53. Wodzicki T.J. (1971) Mechanism of xylem differentiation in *Pinus sylvestris* L. *Journal of Experimental Botany*, **22**, 670-687.
54. Wolter K.E. (1968) A new method for marking xylem growth. *Forest Science*, **14**, 102-104.
55. Zasada J.C. & Zahner R. (1969) Vessel element development in earlywood of red oak (*Quercus rubra*). *Canadian Journal of Botany*, **47**, 1965-1971.
56. Zweifel R. & Häslér R. (2000) Frost-induced reversible shrinkage of bark of mature subalpine conifers. *Agricultural and Forest Meteorology*, **102**, 213-222.
57. Zweifel R., Zimmermann L., Zeugin F. & Newbery D.M. (2006) Intra-annual radial growth and water relations of trees: implications towards a growth mechanism. *Journal of Experimental Botany*, **57**, 1445-1459.

Tables

Table 1. Mean stand characteristics [overstorey basal area (BA) in 1995, available soil water capacity (AWC)] and mean ($\pm SD$) structural parameters of the sampled trees in 2009 [circumference at breast height (C_{130}), leaf mass area (LMA), leaf or needle nitrogen content, leaf chlorophyll content (Chl_{leaf})].

Stand	Species	Stand characteristics		Sampled tree (N=5 per species)							
		BA ($m^2 ha^{-1}$) ¹	AWC (mm) ¹	Age (years)	C_{130} (cm)	Tree height (m)	Crown area (m^2)	Crowding index	LMA ($g m^{-2}$)	N_{leaf} ($mg g^{-1}_{DM}$)	Chl_{leaf} ($\mu g cm^{-2}$)
B12	<i>F. sylvatica</i>	17.7	101	93 \pm 6	159 \pm 10	26.6 \pm 1.1	106 \pm 29	2.47 \pm 0.17	91.6 \pm 13.7	23.2 \pm 0.6	46.7 \pm 2.8
O4	<i>Q. petraea</i>	27.8	115	152 ¹	197 \pm 26	32.1 \pm 2.9	113 \pm 24	2.55 \pm 0.15	108.4 \pm 16.3	21.7 \pm 1.9	62.5 \pm 6.9
P3	<i>P. sylvestris</i>	26.2	118	61 \pm 4	120 \pm 15	22.8 \pm 0.8	44 \pm 20	2.34 \pm 0.17	118.3 \pm 11.5	11.1 \pm 1.2	not measured

¹See the details of data acquisition in a previous study (Michelot *et al.*, submitted).

Table 2. Pearson correlation coefficients between structural parameters [C_{130} : circumference at 1.30m, N_{leaf} : leaf or needle nitrogen content, $N_{\text{leaf } n-1}$: nitrogen content of the previous year's needles, Chl_{leaf} : leaf chlorophyll content] and phenologic variables or fitted parameters (r and M , see appendix 2) for beech (F), oak (Q) and pine (P). EW or LW is indicated when only earlywood or latewood was considered in the correlation. $N = 5$.

	Species	Growth beginning	Budburst date	Growth end	r (growth rate) ¹	M (day of max growth rate)
Ring width	F	ns	ns	0.90*	ns	ns
	Q	ns	ns	0.92* _{LW}	0.92* _{EW} ²	ns
	P	ns	ns	0.99***	ns	ns
C_{130}	F	ns	ns	ns	ns	-0.96**
	Q	-0.90*	-0.98**	ns	ns	-0.92* _{EW}
	P	-0.95**	ns	ns	ns	ns
Tree height	F	ns	0.94*	ns	ns	ns
	Q	ns	-0.93*	ns	ns	ns
Crown area	F	0.97**	ns	ns	ns	ns
	Q	ns	-0.99***	ns	ns	-0.95* _{EW}
N_{leaf}	Q	ns	ns	ns	ns	0.90* _{EW} 0.93* _{LW}
	P	ns	ns	ns	-0.97**	ns
$N_{\text{leaf } n-1}$	P	ns	ns	0.91*	ns	ns
Chl_{leaf}	Q	ns	ns	ns	0.88* _{EW}	ns

Significance * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ns $P > 0.05$; n.m. not measured.

¹For oak, r was the maximum growth rate of earlywood or latewood.

²Correlation between earlywood width and maximum growth rate of earlywood.

Figures

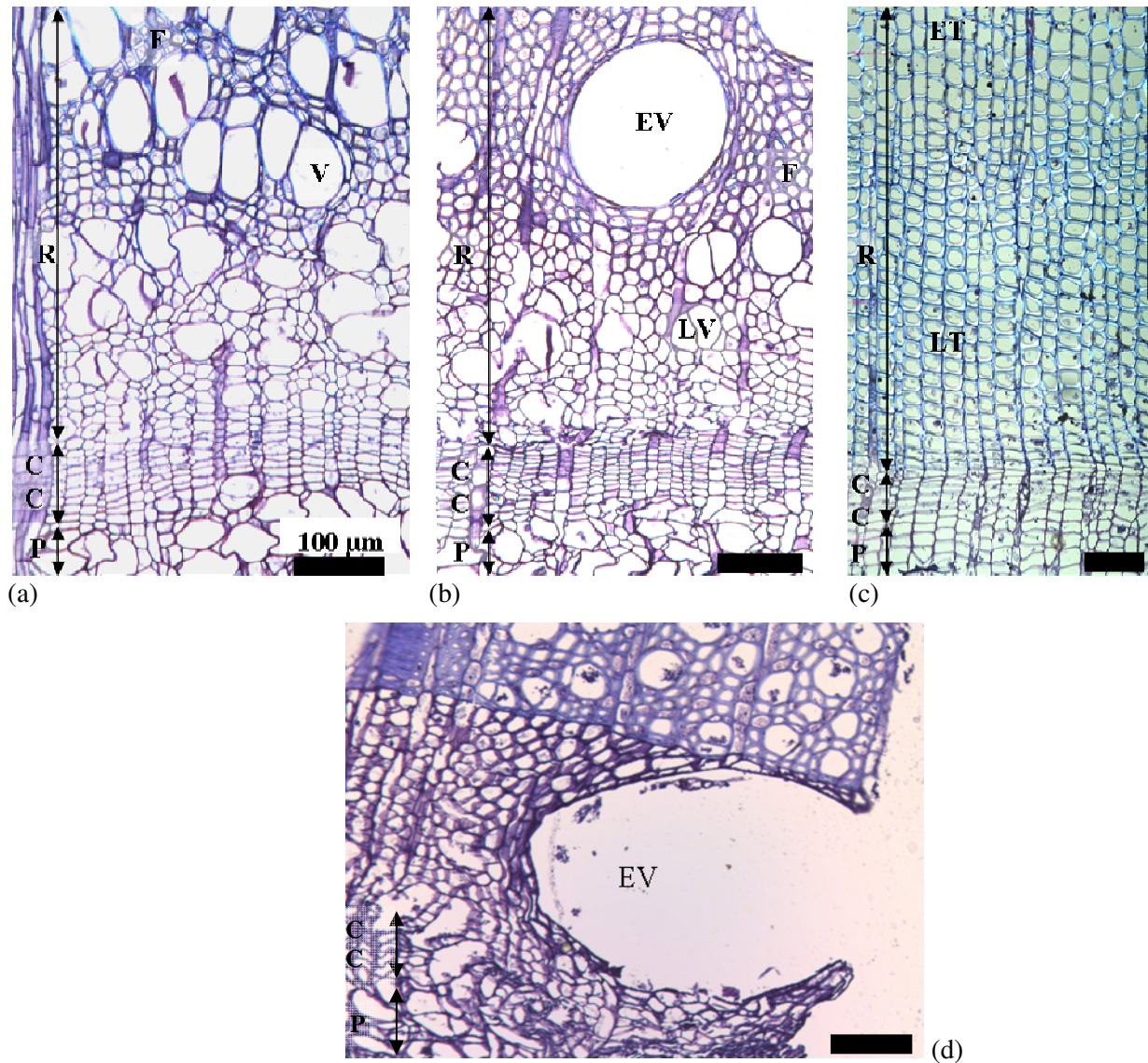


Figure 1. Microcore sections observed in optical microscope at x80: beech, June 23 (a), oak, June 8 (b) pine, September 7 (c) and oak, April 7 2009 with earlywood vessel in formation (d). Phloem (P), cambial cells (CC), vessel (V), fibre (F), current ring (R), earlywood vessel (EV), latewood vessel (LV), earlywood tracheids (ET) and latewood tracheids (LT). The scale bars represent 100 µm.

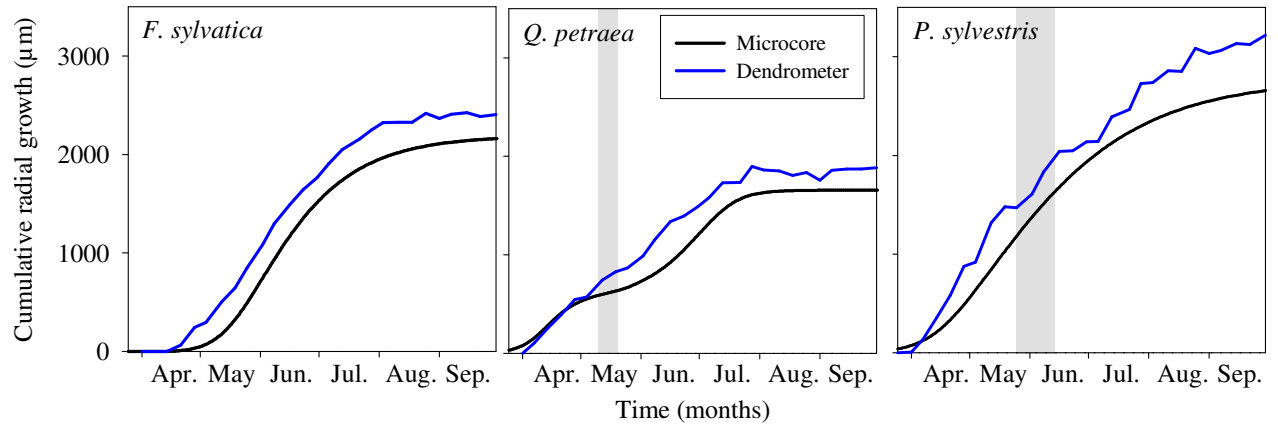


Figure 2. Comparison between fitted micro-core data and dendrometer measurements for beech, oak and pine in 2009. The grey bands correspond to the 95% confidence limits of the mean earlywood-latewood transition date (N = 5 trees per species).

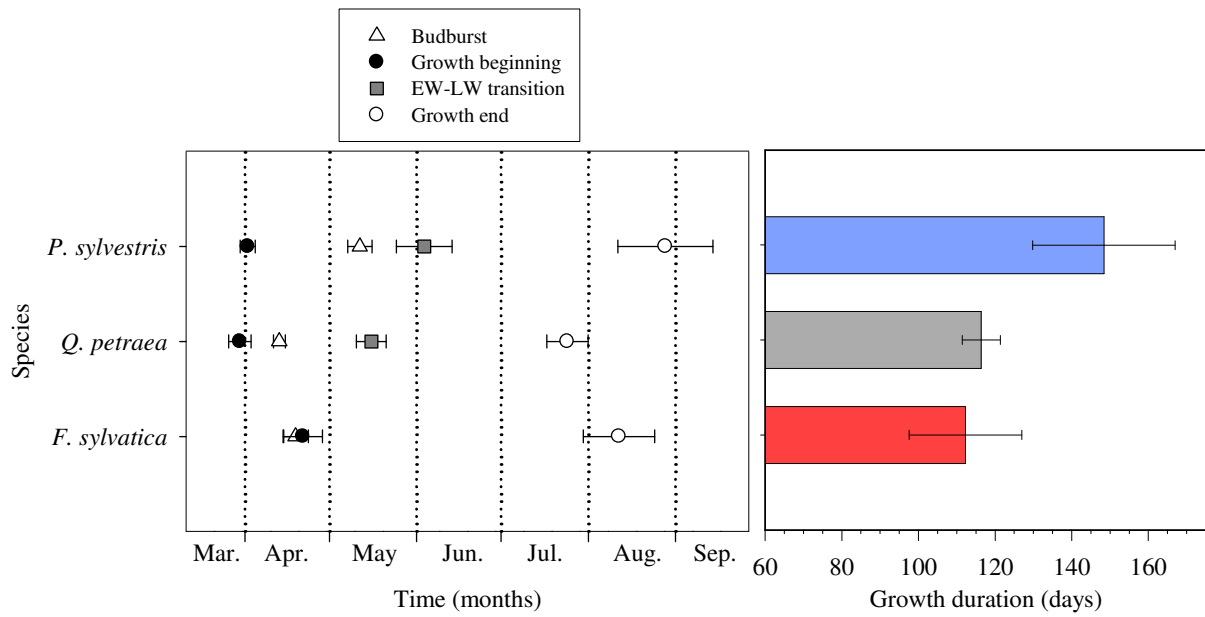


Figure 3. Dates of budburst, growth beginning, earlywood-latewood (EW-LW) transition and growth end (left), as well as growth duration (right) for beech, oak and pine in 2009. Horizontal bars correspond to the 95 % confidence limits of the mean (N = 5 trees per species).

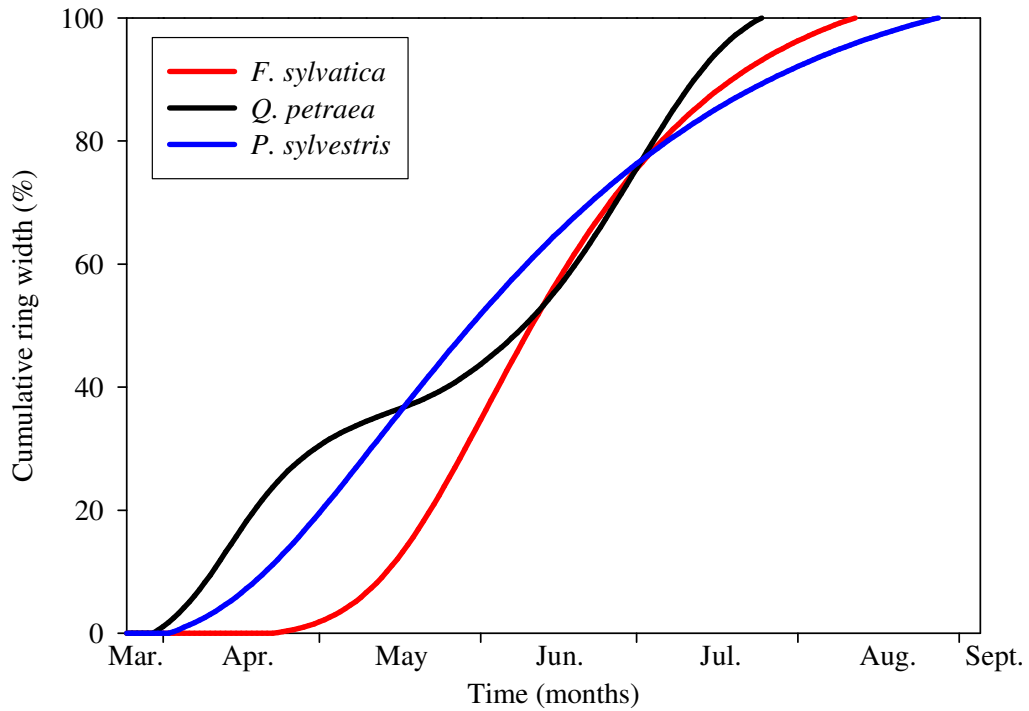


Figure 4. Mean species cumulative ring width from fitted microcore measurements in 2009 (N = 5 trees per species). The growth of each species was normalized between the mean date of growth beginning and the mean date of growth end observed on microcore sections.

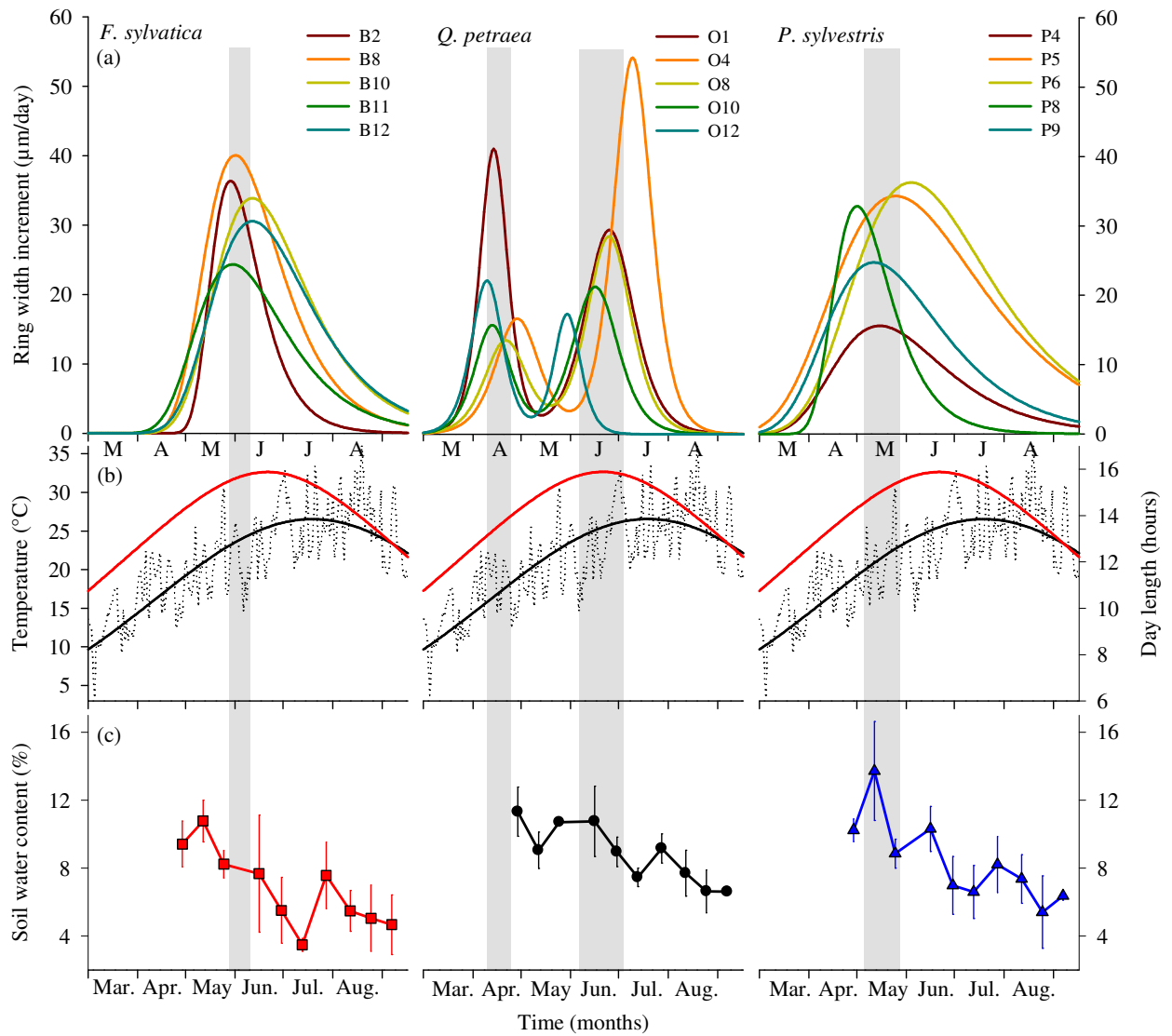
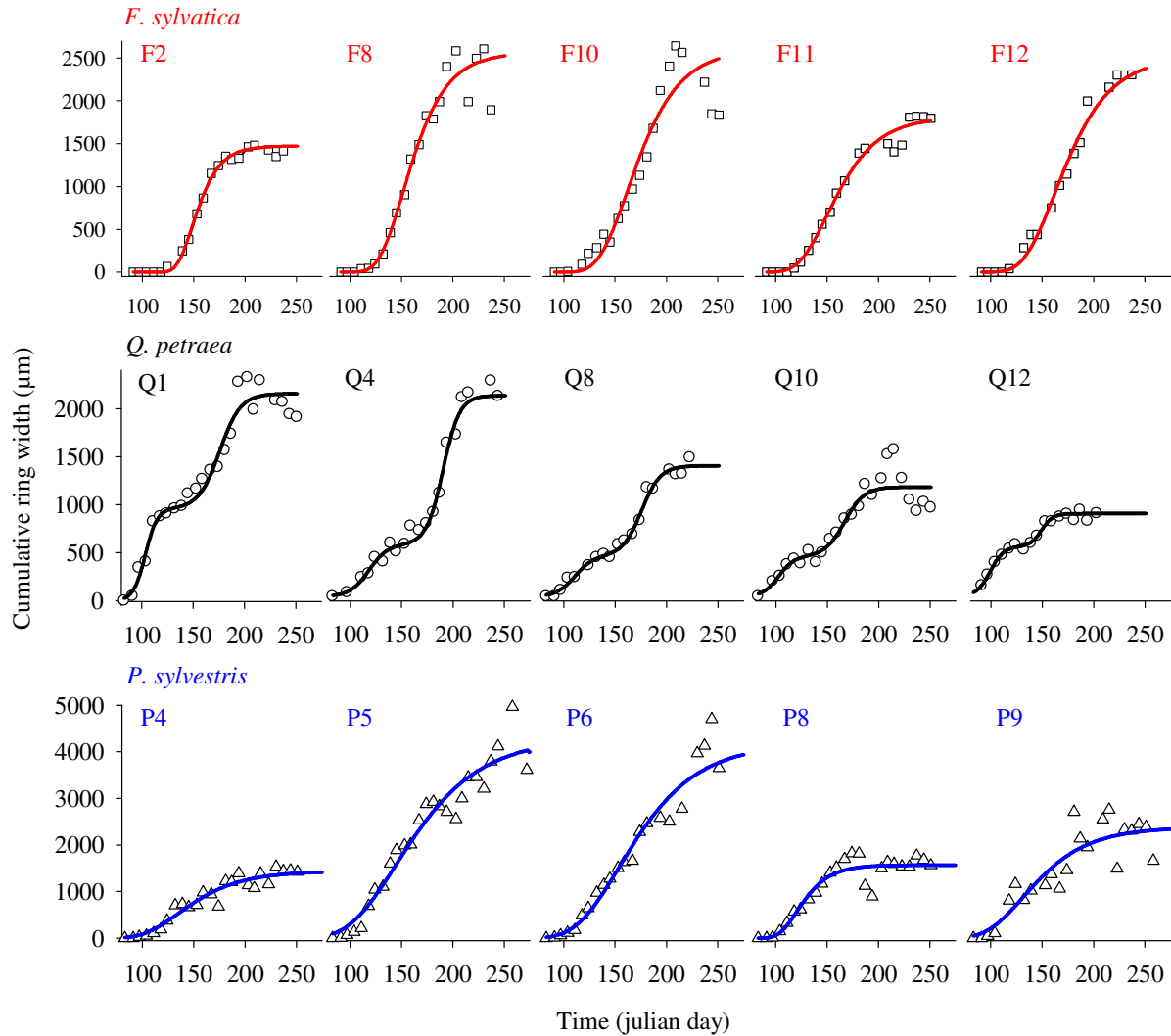


Figure 5. Tree-ring width increment fitted from microcore measurements for beech, oak and pine (a) and climatic conditions in 2009. Daily means of maximal temperatures (black) and day length (red, b); mean (\pm SE) soil water content at 40 cm depth for each stand (c). The grey bands correspond to the 95 % limits of the mean parameter M (day of the maximal growth rate).

Appendices

Appendix A. Cumulative ring width fitted from microcore measurements for beech, oak and pine trees in 2009.



Appendix B. Parameters and goodness of fit (R^2) of the fitted function used for each studied tree.

Trees	F2	F8	F10	F11	F12
Function used	Gompertz	Gompertz	Gompertz	Gompertz	Gompertz
R^2	99.7	96.3	90.8	98.6	97.1
A	1473.3	2563.2	2602.5	1811.3	2509.8
β	10.0	6.4	5.7	5.5	5.4
κ	0.067	0.042	0.035	0.037	0.033
M	148.7	151.7	162.3	150.0	162.4
r ($\mu\text{m/day}$)	24.7	27.2	23.0	16.5	20.8
d (day)	59.6	94.2	113.1	109.6	120.9
Trees	Q1	Q4	Q8	Q10	Q12
Function used	Double sigmoid	Double sigmoid	Double sigmoid	Double sigmoid	Double sigmoid
R^2	97.5	98.7	99.0	98.0	98.8
A	2155.5	2346.1	1526.1	1278.7	968.2
u	958.6	611.5	474.4	466.3	584.5
κI	0.171	0.109	0.113	0.134	0.152
$\kappa 2$	0.098	0.125	0.108	0.105	0.180
MI	103.5	118.2	110.9	102.5	99.3
$M2$	175.8	190.3	175.6	166.9	149.4
Trees	P4	P5	P6	P8	P9
Function used	Gompertz	Gompertz	Gompertz	Gompertz	Gompertz
R^2	94.5	95.2	95.4	90.9	87.2
A	1440.2	4286.3	4173.2	1569.5	2379.7
β	4.0	3.1	3.6	6.9	3.7
κ	0.029	0.022	0.024	0.057	0.028
M	134.8	144.7	154.3	120.7	131.3
r ($\mu\text{m/day}$)	10.6	23.3	24.6	22.3	16.8
d (day)	136.0	183.9	169.5	70.4	141.7

Chapitre III : Variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne des trois essences

III.1. Liens entre la WUE et le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne du Chêne

III.1.1. Présentation

Le $\delta^{13}\text{C}$ des feuilles a souvent été utilisé pour obtenir une information sur l'efficacité d'utilisation de l'eau (WUE) intrinsèque (W_g , rapport de l'assimilation en CO_2 sur la conductance stomatique pour l'eau) et ce grâce au modèle de Farquhar *et al.* (1982). Ce modèle est également utilisé pour relier le $\delta^{13}\text{C}$ mesuré dans les cernes à W_g (Duquesnay *et al.*, 1998, Ponton *et al.*, 2001, Saurer *et al.*, 2004). Néanmoins, cette relation a rarement été vérifiée expérimentalement. Dans cette partie, nous proposons de l'étudier à l'échelle intra-cerne, c'est-à-dire saisonnière. Les précédentes études sur ce sujet concernent peu d'individus, peu d'espèces et montrent des résultats contrastés. Ainsi, pour *Pinus radiata*, Walcroft *et al.* (1997) mettent en évidence une dynamique saisonnière proche entre c_i (concentration en CO_2 dans les espaces intercellulaires) calculée à partir du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne et c_i simulée à l'échelle de la canopée. En revanche, pour *Picea abies*, Vaganov *et al.* (2009) montrent que les dynamiques saisonnières de c_i/c_a (concentration en CO_2 dans l'atmosphère) calculées à partir du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne et de c_i/c_a dérivées des flux mesurés par eddy covariance sont différentes. Pour *Fagus sylvatica*, Skomarkova *et al.* (2006) trouvent également qu'il n'y a pas de relation entre le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne et le $\delta^{13}\text{C}$ des assimilats foliaires calculé via le modèle de Farquhar *et al.* (1982) avec c_c (concentration en CO_2 au niveau des sites de carboxylation) estimée à partir des flux d'eddy covariance.

Notre objectif ici est d'examiner la signification des variations du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne chez *Quercus petraea*. Plus précisément, il s'agit de :

1. Mettre en évidence la variabilité inter-individuelle du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne.
2. Comprendre quels sont les processus écophysologiques à l'origine de la dynamique saisonnière du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne.
3. Déterminer si le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne peut être un indicateur des variations de W_g (A/g_s) de la canopée d'une part et de W_t (assimilation en CO_2 / transpiration) de l'écosystème d'autre part.

Pour cela, sur 8 chênes de la forêt de Barbeau, le cerne 2006 a été découpé au microtome par tranche de 30 à 60 μm . Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne de la matière organique totale ont été mesurées pour chaque tranche de cerne et recalées temporellement grâce à la croissance mesurée avec des dendromètres automatiques à bande. W_g calculée à partir du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne a été comparée à W_g de la canopée, simulée par le modèle CASTANEA. Puis, la discrimination photosynthétique Δ calculée à partir du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne a été comparée à W_t , estimée par le rapport entre l'assimilation mesurée par eddy covariance et la transpiration mesurée par flux de sève.

III.1.2. Principaux résultats et discussion

Cette étude montre que :

1. Chez le Chêne, les dynamiques saisonnières de $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne sont très variables entre individus aussi bien en valeurs (2.9‰ d'écart-type sur les valeurs moyenne de $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne entre les 8 chênes) qu'en amplitude (écart entre la plus forte valeur de $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne et la plus faible valeur pour chaque arbre, allant de 0.5‰ à 2.8‰). La compétition entre arbres et la croissance radiale semble être à l'origine de ces différences inter-individuelles comme le montre la corrélation significative ($r = 0.848$, $p < 0.01$) entre amplitude du $\delta^{13}\text{C}$ du bois final et indice de compétition. De plus, la vitesse de croissance par individu est essentielle pour recalibrer la dynamique de $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne dans le temps.

2. Malgré la variabilité inter-individuelle, la dynamique saisonnière du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne observée est généralement tri-phasique. Cette dynamique peut être expliquée par des processus écophysologiques rapportés dans des références précédentes. Les fortes valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne observées durant la première phase (Avril à mi-Mai) correspondent à l'utilisation des réserves pour la formation du bois initial. Ces réserves sont principalement sous forme d'amidon qui est enrichi d'environ 3‰ comparé aux sucres solubles. La deuxième phase (mi-Mai à fin Juin) est caractérisée par une chute du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne due au changement progressif de substrat pour constitution du cerne : des réserves aux assimilats foliaires nouvellement synthétisés. La dernière phase (fin Juin à fin Août) commence lorsque les assimilats foliaires sont les seuls substrats utilisés pour la croissance du bois final du cerne. Les variations saisonnières de $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne dépendent alors principalement des conditions climatiques et de la discrimination photosynthétique.

3. Pour 6 chênes sur les 8, des corrélations positives significatives ont été trouvées entre W_g calculée à partir du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne et W_g de la canopée, uniquement pendant la période de formation du bois final. Ces corrélations sont maximales lorsque W_g de la canopée est moyennée sur 8 à 10 jours. Le $\delta^{13}\text{C}$ du bois final semble donc être un indicateur des variations saisonnières de W_g de la canopée à condition de considérer le temps de mélange des assimilats foliaires dans le phloème et le délai de dépôt de la matière organique dans le cerne. Pour les 6 mêmes chênes, des corrélations positives ont été trouvées entre la discrimination photosynthétique Δ calculée à partir du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne et W_t dérivée des flux écosystémiques, uniquement pendant la période de formation du bois final. Ces corrélations sont maximales lorsque W_t est moyennée entre 4 et 9 jours selon les arbres. Le $\delta^{13}\text{C}$ du bois final pourrait donc être utilisé pour reconstituer les variations saisonnières passées de W_t .

Une partie des résultats expérimentaux de cette étude a permis de valider un modèle mécaniste "ISOCASTANEA" (Eglin et al. 2010, résumé en **annexe 4**), construit à l'échelle individuelle à partir

du modèle CASTANEA. Ce modèle simule notamment la dynamique saisonnière du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne en prenant en compte la maturation du cerne, l'utilisation de réserves et le transport dans le phloème.

III.1.3. Article

Plant, Cell and Environment (2011) **34**: 230–244

Comparison of seasonal variations in water-use efficiency calculated from the carbon isotope composition of tree rings and flux data in a temperate forest

Running title: Intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and water-use efficiency

Alice Michelot^{1,2,3*}, Thomas Eglin^{1,2,3,4}, Eric Dufrêne^{1,2,3}, Caroline Lelarge-Trouverie⁵ and Claire Damesin^{1,2,3}

¹Univ Paris-Sud, Laboratoire Ecologie Systématique et Evolution, UMR8079, Orsay, F-91405

²CNRS, Orsay, F-91405

³AgroParisTech, Paris, F-75231

⁴Laboratoire des Sciences du Climat et de l'Environnement, CEA-CNRS-UVSQ, Gif-sur-Yvette, F-91191

⁵Univ Paris-Sud, Plateforme Métabolisme-Métabolome IFR87, Institut de Biologie des Plantes, Orsay, F-91405

*Corresponding author:

Email: alice.michelot@u-psud.fr

Phone number: 33-1 69 15 71 37

Fax number: 33-1 69 15 72 38

Abstract

Tree-ring $\delta^{13}\text{C}$ is often interpreted in terms of intrinsic water-use efficiency (WUE) using a carbon isotope discrimination model established at the leaf level (Farquhar et al. 1982). We examined whether intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ could be used to assess variations in intrinsic WUE (W_g , the ratio of carbon assimilation and stomatal conductance to water) and variations in ecosystem WUE (W_t , the ratio of C assimilation and transpiration) at a seasonal scale. Intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ was measured in 30 to 60 μm -thick slices in eight oak trees (*Quercus petraea*). Canopy W_g was simulated using a physiologically process-based model. High between-tree variability was observed in the seasonal variations of intra-ring $\delta^{13}\text{C}$. Six trees showed significant positive correlations between W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and canopy W_g averaged over several days during latewood formation. These results suggest that latewood is a seasonal recorder of W_g trends, with a temporal lag corresponding to the mixing time of sugars in the phloem. These six trees also showed significant negative correlations between photosynthetic discrimination Δ calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$, and ecosystem W_t , during latewood formation. Despite the observed between-tree variability, these results indicate that intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ can be used to access seasonal variations in past W_t .

Keywords: oak, tree ring, stable carbon isotope, water-use efficiency, intra-seasonal variation, eddy covariance, sap flow, modelling

Introduction

According to many forecasts, the frequency and the intensity of droughts will probably increase in central and southern Europe (IPCC, 2007). These water stresses may lead to a decrease in forest productivity (Loustau et al., 2005), as was observed in ecosystem CO_2 fluxes during the drought of 2003 in a large part of Europe (Ciais et al., 2005, Granier et al., 2007, Reichstein et al., 2007). This context highlights the importance of studying forest productivity, i.e. ecosystem carbon gain, in relation to water loss. Water-use efficiency (W_t), the ratio of carbon gain during CO_2 assimilation (A) and water loss during transpiration (T), is thus an essential element of the survival, productivity and fitness of individual plants (Osmond et al., 1982). However, experimental measurements of W_t are not easy at tree or ecosystem scales. Intrinsic water-use efficiency (W_g), the ratio of carbon assimilation and stomatal conductance to water (g_{sw}), can be indirectly estimated using the stable carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$) of plant organic matter using a leaf-level model of carbon isotope discrimination (Farquhar et al., 1982). In C_3 -type plant, main photosynthetic discrimination against ^{13}C (Δ) occurs in leaves during CO_2 diffusion and carboxylation by RuBisCO. The most often used version of the model (i.e. the reduced form) integrates these two discrimination steps and linearly links Δ to the ratio of intercellular (c_i) to atmospheric CO_2 concentration (c_a) and thus to W_g . This relationship between W_g and Δ (and thus $\delta^{13}\text{C}$) has been evaluated using instantaneous gas exchange measurements in many studies (e. g. Farquhar et al., 1989, Meinzer et al., 1992, Morgan et al., 1993, Guehl et al., 1995, Voltas et al., 2006). Using the same model from Farquhar *et al.* (1982), W_g has often been calculated from tree-ring $\delta^{13}\text{C}$, which has been assumed to integrate the variations in Δ over the canopy photosynthesis period (Duquesnay et al., 1998, Ponton et al., 2001, Saurer et al., 2004). In these studies, interannual correlations between climate and ring $\delta^{13}\text{C}$ were interpreted in terms of W_g .

At the seasonal scale, the relationships between intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and seasonal W_g have been rarely examined. The studies concerned only few species and led to contrasted results. On one hand, for *Pinus radiata*, Walcroft *et al.* (1997) showed a good agreement between seasonal c_i calculated from simulated leaf fluxes and c_i calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of one tree. On the other hand, for *Picea abies*, Vaganov *et al.* (2009) did not find a similar seasonal pattern between c_i/c_a calculated from eddy-fluxes and intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of 3 trees. For *Fagus sylvatica*, Skomarkova *et al.* (2006) also did not show any correlation between $\delta^{13}\text{C}$ of assimilates calculated from eddy-fluxes and intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of 5 trees.

Different up-scaling steps could dampen the relationship between intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and W_g or W_t estimated at the canopy or ecosystem levels. First, leaf $\delta^{13}\text{C}$ exhibits a strong intra-canopy gradient in temperate deciduous forests (from 2 to 6 ‰) which may result from short-term changes in leaf gas exchange in response to variations in local conditions of irradiance, VPD, temperature etc. (reviewed by Le Roux et al., 2001). Besides, some studies have reported high between-tree variability in intra-

ring $\delta^{13}\text{C}$ values. For *Pinus pinaster*, Ogée *et al.* (2009) showed a difference of 2‰ in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ between two trees probably due to a difference in tree growth. For *Picea abies*, Vaganov *et al.* (2009) highlighted that slow-growing trees had low intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ values. For *Fagus sylvatica*, Skomarkova *et al.* (2006) attributed the observed variability of intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ (from -31 to -24‰ between trees) to competition and microclimatic variations within the canopy.

Concerning the intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ signal, post-photosynthetic discrimination can modify the stable carbon isotope composition between newly assimilated carbon in leaves and organic matter in tree rings (Duranceau *et al.*, 1999, Damesin & Lelarge, 2003, Gessler *et al.*, 2004, Badeck *et al.*, 2005, Maunoury *et al.*, 2007). For four broad-leaved species, Helle & Schleser (2004) highlighted a common tri-phase intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ pattern, that is difficult to explain using the model of carbon isotope fractionation during photosynthesis alone. The comparison between intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and W_g or W_t should therefore reveal differences due to processes other than photosynthetic discrimination. Moreover, intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ values integrate several days of tree functioning, depending on the considered ring slice width and radial growth intensity, whereas W_g or W_t derived from leaf or canopy fluxes are generally based on instantaneous measurements. Therefore, the difficulty lies in determining the number of days over which W_g or W_t has to be integrated for comparison with intra-ring data.

In this study, we examined the relationships between intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of *Quercus petraea* (Mattuschka) Liebl., simulated canopy W_g and measured ecosystem W_t at the same site over the year 2006. Canopy W_g was simulated using a physiologically process-based model and ecosystem W_t was the ratio of GPP measured from eddy-fluxes and transpiration measured from sap flow measurements. Eight oak trees were studied. Intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ was measured in 30 to 60- μm slices that were temporally located using knowledge of the time course of radial growth. We first compared W_g derived from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ using the model of Farquhar *et al.* (1982) and canopy W_g . Then, we compared photosynthetic discrimination Δ calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and W_t estimated from flux data. The aim of the present study was: (1) to explore the between-tree variability of intra-ring $\delta^{13}\text{C}$, (2) to understand the seasonal dynamics of intra-ring $\delta^{13}\text{C}$, (3) to determine whether intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ records seasonal variations in canopy W_g , and (4) to examine whether intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ records seasonal variations in the ecosystem W_t .

Materials and methods

Study site

The experiment was conducted in the Barbeau national forest (48°29' N, 2°47' E), 60 km southeast of Paris (France, CarboEurope site). The climate in this location is temperate, with a mean annual temperature of 10.5 °C and a mean annual precipitation of 690 mm. The soil is a gleyic luvisol

(FAO-ISRIC-ISSS 1998) of 80 cm depth, developed on millstone bedrock and covered by an oligomull humus. CO_2 and water vapour fluxes between the canopy and the atmosphere, as well as meteorological data, have been measured using the eddy covariance technique since March, 2005. The site is a managed mature oak forest with a dense understory of coppiced hornbeam (*Carpinus betulus* L.). The dominant species is sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.), aged about 140 years old. In 2006, average leaf area index was 5.1, and budburst occurred on April 23 for oak and April 14 for hornbeam (Dufrêne, unpublished data).

Tree sampling

Eight oak trees were selected within an 80 m radius around the flux tower. One core per tree was sampled at breast height in February 2007 and lyophilized at -80°C for the intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ analysis. All trees were dominant or co-dominant with an average (\pm SD) circumference at breast height (C_{130}) and height of 199 ± 39 cm and 29 ± 4 m, respectively. For each tree, the crown projected area was estimated by measuring two perpendicular diameters and then considering the crown projection as an ellipse. To describe the local neighbourhood interference around each target tree, a crowding index was calculated like in Damesin, Rambal & Joffre (1997) from log transformation of Weiner's index (Weiner, 1984, Takahashi, 1996):

$$W = \log \left(\sum_{i=1}^n s_i / d_i^2 \right) \quad (1)$$

where n is the total number of neighbours, d_i is the distance (m) from the target tree to the i^{th} neighbour and s_i is the size of the i^{th} neighbour. In this study, the size of the neighbour (s_i) was represented by its basal area (cm^2) at breast height. A neighbour was defined as any woody plant whose C_{130} exceeds 20 cm, located within 15 m of the target tree. All structural parameters of the sampled trees are summarized in Table 1.

Meteorological and eddy flux measurements

Air temperature (PT100 sensor; Vaisala, Helsinki, Finland), relative humidity (capacitive sensor; Vaisala, Helsinki, Finland), precipitation (ARG100 tipping bucket rain gauge; Campbell Scientific, Logan, UT, USA), and photosynthetically active radiation (BF3; Delta-T Devices, Cambridge, UK) were averaged half-hourly on the flux tower at 8 m above the top of the canopy. Soil water content was measured weekly near the flux tower by frequency domain reflectometry at 100 MHz using a PRL1 profile probe (Delta-T Devices, Cambridge, UK) every 10 cm over a 60-cm depth. The data we used are arithmetic means of measurements from 14 access tubes located around the flux tower. The CO_2 exchange between the forest and the atmosphere was measured by the eddy-covariance technique at 20 Hz. The three directional components of wind speed were measured with a

sonic anemometer (Solent R3; Gill Instruments Ltd, Lymington, UK), and the CO_2 concentration was measured with an open path infrared gas analyzer (LI-7500; Li-Cor Inc., Lincoln, NE, USA). These measurements were used to calculate net ecosystem productivity (NEP) and were routinely acquired on a half-hourly basis, according to the standard methodology recommended by (Aubinet et al., 2003). All available continuous data in 2006 were quality-controlled, gap-filled and partitioned into GPP and TER according to CARBOEUROPE database standards (Reichstein et al., 2005, Papale et al., 2006). Parameter fitting for flux partitioning was performed according to the short-term exponential method (Reichstein et al., 2005).

Sap flow measurements

We used sap flow measurements to estimate ecosystem transpiration rather than eddy-flux evapotranspiration (ET) data, which include an evaporation component from soil and vegetation surfaces. The half-hourly xylem sap flux density (*SFD*, $1 \text{ H}_2\text{O dm}^{-2} \text{ sapwood s}^{-1}$) was obtained from March 28 to December 13, 2006 using eight Granier sensors (Granier, 1985, Granier, 1987) inserted in three hornbeams (C_{130} of 40 to 57 cm) and five sessile oaks (C_{130} of 90 to 222 cm). Three of these oaks were sampled for measurements of intra-ring $\delta^{13}\text{C}$. All studied trees were located less than 80 m from the flux tower. Each sensor consisted in a pair of probes, 2 cm long and 0.2 cm in diameter each. The two probes were inserted in a radial orientation into the sapwood, 15 cm apart. The upper probe was heated whereas the lower one was not. The temperature difference between the heated and reference probes (ΔT) was measured by a Cu-Cst thermocouple and recorded every 30 min. By comparing ΔT to the maximum predawn temperature (ΔTM), *SFD* was calculated for each tree according to the method presented by Granier (1985).

To estimate the oak sapwood area in the stand, sapwood thickness was measured on cores taken on oak trunks ranging from 30 to 320 cm in C_{130} , thus representative of the C_{130} range of the stand. An allometric relationship was established on 24 oak trees-to estimate the individual sapwood area (*SA*, cm^2) from the diameter at breast height (*DBH*, cm):

$$SA = 0.769 \text{ DBH}^{1.639} \quad R^2 = 0.936 \quad (2)$$

This type of relationship has been used in several studies (Wullschleger et al., 2001, Aranda et al., 2005, Vincke et al., 2005).

For the hornbeams, it was considered that that sapwood area was equivalent to basal area. Oak and hornbeam half-hourly stand transpiration (*T*, mm s^{-1}) was calculated as follows:

$$T = \frac{SA_s \sum_{i=1}^N \text{SFD}_i}{GA_s N} \quad (3)$$

where SA_s is the sapwood area in the stand estimated from the allometric relation (m^2), GA_s is the ground area of stand: 58000 m^2 around the flux tower, SFD_i is the daily sap flow density of the tree *i*

($\text{mm}^3 \text{mm}^{-2} \text{s}^{-1}$) and N is the total number of trees, i , for which SFD was obtained ($N=5$ for oaks and $N=3$ for hornbeams). The mean transpiration in 2006 was the sum of oak and hornbeam transpirations. Seasonal variations in transpiration of oaks and hornbeams were similar during the growing season.

Model simulations

CASTANEA is a process-based model that aims at predicting the carbon and water balances of an even-aged monospecific forest stand (Dufrêne et al., 2005). CASTANEA was run with site-specific parameters for one species: *Quercus petraea*. Half-hourly meteorological data and phenological variables (Table 2) were used as forcing variables. The canopy is assumed to be homogeneous horizontally and vertically subdivided into a variable number of layers. Gross canopy photosynthesis was represented using a biochemical process-based model for C_3 plants (Farquhar et al., 1980) coupled with a stomatal conductance model (Ball et al., 1987). Carbon assimilation and stomatal conductance to water were calculate layer per layer (typically less than $0.1 \text{m}^2 \text{m}^{-2}$), on sunlit (leaf area intercepting diffuse and direct photosynthetically active radiation) and shaded (leaf area intercepting diffuse photosynthetically radiation only) foliage separately. Both contributions were summed and C assimilation and stomatal conductance were finally summed over all the canopy layers. The big-leaf Penman-Monteith equation (Monteith, 1965) was used to calculate half-hourly rates of transpiration. A complete description of the model, including equations and validations, is given in Dufrêne et al. (2005) and Davi et al. (2005).

Trunk radial growth

Trunk increment data were not available for the trees sampled in this study. The timing of the samples was estimated from trunk increment data measured on other oak trees at the study site, like in Barbour et al. (2002). Trunk radial growth was measured at breast height on two co-dominant oaks at half-hourly intervals by automatic band dendrometers (stainless steel band associated with a movement sensor MM30; Megatron, Allinges, France; resolution $<0.01 \text{mm}$, stroke 30mm). We checked that these automatic measurements were in agreement with weekly manual dendrometer data collected on 61 oak trees in the same stand during the same period. The dynamics were similar, but the growth slope of the automatic data corresponded to the lowest individual slopes measured by the manual dendrometers. Dendrometer increment data integrate two phenomena: enlargement of woody cells and water-related swelling and shrinking of elastic tissues located mainly in the bark (Zweifel & Häslér, 2000). A decrease in radial growth is thus most likely caused by depletion of water in the bark (Zweifel et al., 2005). Consequently, the daily increment values were modified using a segmental linear regression following the methodology described in Zweifel et al. (2005). In this way we only considered the increment due to changes in radial growth. This methodology was not applied during

growth-free periods, which were characterized by a strong decrease in the ratio of transpiration to potential evapotranspiration (PET) over an extended period (more than five days). The resulting normalized values of trunk increment were used to assign an absolute time scale for the intra-ring $\delta^{13}\text{C}$.

Seasonal variations in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$

The 2006 ring width of the cores sampled on the eight studied trees was measured to the nearest 1/10 mm using a magnifier (10x, Peak, Japan). Rings were cut with a cryostat (Leica CM-1900, Leica, Germany) into 60- μm slices (or less if the ring width was less than 1.5 mm, detailed in Table 1). Visual inspection using a stereoscopic microscope was used to identify tree ring borders and wood anatomical features, such as earlywood-latewood transitions. The carbon isotope composition was measured on total organic matter, as previous studies have shown that variations in whole wood and cellulose values were similar (Warren et al., 2001, Helle & Schleser, 2004, Skomarkova et al., 2006). To determine the carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$), each slice was weighed, cut into 4 sections and enclosed in a tin capsule (4 x 6 mm). The samples weighed between 200 and 1400 μg . The capsules were then combusted to CO_2 in an elemental analyzer (Model NA-1500; Carlo Erba, Milan, Italy), and the gases resulting from combustion were separated. Combustion was checked to be complete. The CO_2 peak was sent to an isotope ratio mass spectrometer (IRMS, VG Optima; Fison, Villeurbanne, France). $\delta^{13}\text{C}$ was referred to the international standard VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite): $\delta^{13}\text{C} = R_s / R_{\text{VPDB}} - 1$, where R_s and R_{VPDB} are the molar abundance ratios of carbon isotopes, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, of the sample and the standard VPDB, respectively. The precision on isotope measurements was $\pm 0.2\text{‰}$, as determined by repeated measurements of the laboratory working standard (i.e. glutamic acid whose $\delta^{13}\text{C}$ of $-26.389 \pm 0.042\text{‰}$ was calibrated by the International Atomic Energy Agency).

An absolute time scale was assigned to the intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ values according to the daily normalized trunk increment using Matlab R12 7.0 software. We assumed that C_{130} growth dynamics were similar to ring growth dynamics. Each value of daily normalized trunk increment was multiplied by total ring width and then interpolated to a 0.2 day time-step. When the cumulative ring width was greater than the interpolated cumulative trunk increment, the previous date was chosen to mark the end of the slice constitution. Thus, the length of the period represented by each ring slice depended on both ring width and radial growth intensity. The resulting intra-ring time resolution varied during the growing season from less than one day to 21 days. We also used the maximum growth slope of trunk increment measured by manual dendrometers to test the impact on the seasonal intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ pattern.

Calculations and comparisons of intrinsic water-use efficiency

First, seasonal W_g values were calculated from the intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ using the model of carbon isotope discrimination of Farquhar *et al.* (1982):

$$W_g = \frac{c_a (b - \Delta)}{1.6 (b - a)} \quad \text{with} \quad \Delta = \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{atm}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{ring}}}{1 + \delta^{13}\text{C}_{\text{ring}}} \quad (4)$$

where c_a is the atmospheric concentration of CO_2 measured by the flux tower ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), a is the discrimination against $^{13}\text{CO}_2$ during diffusion through stomata (= 4.4‰), b is the discrimination against $^{13}\text{CO}_2$ during RuBisCO carboxylation (= 27‰), Δ is the discrimination against ^{13}C in the source and product (‰), the value 1.6 is the ratio of the stomatal conductance of water to that of CO_2 , $\delta^{13}\text{C}_{\text{atm}}$ is the isotope composition of ^{13}C in the atmosphere and $\delta^{13}\text{C}_{\text{ring}}$ is the isotope composition of organic matter in a tree-ring slice. Daily values of $\delta^{13}\text{C}_{\text{atm}}$ were interpolated from a polynomial regression fitted to temporal variations in flask sample measurements that were made at Mace Head in Ireland (53°33' N, 9°9' W, 25 m elevation, NOAA/CMDL atmospheric [CO_2] monitoring site, see (Eglin *et al.*, 2010)). To test post-photosynthetic discrimination processes, W_g from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ was also calculated with an offset of 1‰ in $\delta^{13}\text{C}$ values to account for lignin discrimination (e. g. Helle & Schleser, 2004) or an offset of -1.91‰ to account for discrimination between leaves and woody stems (mean value from Badeck *et al.*, 2005).

Second, canopy W_g at half-hourly intervals (W_{ghh}) was calculated as:

$$W_{\text{ghh}} = A \left(\frac{1}{g_{\text{sw}}} + \frac{1}{g_i} \right) \quad (5)$$

where A is carbon assimilation ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}$ of leaf s^{-1}) simulated by CASTANEA, g_{sw} is stomatal conductance to water (mol m^{-2} of leaf s^{-1}) simulated by CASTANEA and g_i is the internal (mesophyll) conductance to water (mol m^{-2} of leaf s^{-1}). The sensitivity of the results to g_i was tested using values from the literature for *Quercus sp.* : from 0.112 to 0.480 $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (reviewed by Flexas *et al.*, 2008). The g_i value finally used was 0.296 $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, which corresponds to the mean of reported values.

Canopy W_g was then calculated as daily means of the diurnal W_{ghh} weighted by half-hourly simulations of carbon assimilation. Two successive steps of calculations were applied to canopy W_g to compare it to W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$:

- (i) Different window sizes (0 to 20 days) were used to calculate moving averages of canopy W_g . These moving averages were tested to account for two processes : the mixing of leaf assimilates in the phloem before their incorporation into the ring structural matter and the delay of organic matter deposition in the ring (tree-ring maturation, Kagawa *et al.*, 2006, Gessler *et al.*, 2007a, Keel *et al.*, 2007). Without these mathematical transformations, only stepwise cell enlargement could be considered, because the seasonal pattern of intra-ring $\delta^{13}\text{C}$

is temporally located using knowledge of the time course of radial growth. Ring maturation is not instantaneous and involves three different stages: cell division in the cambium, cell enlargement and cell wall thickening (Samuels et al., 2006).

(ii) W_g values were averaged over the number of growth days determined for each ring slice.

Calculation of water-use efficiency and comparison with ^{13}C photosynthetic discrimination (Δ)

Seasonal WUE at half-hourly intervals (W_{thh}) was calculated as the ratio of gross primary production from eddy-flux data (GPP, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) to transpiration from stand sap-flow data (T, $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). W_t values were then calculated as daily means of the diurnal W_{ghh} . Like for canopy W_g , two successive steps of calculations were applied to W_t to compare it to ^{13}C photosynthetic discrimination (Δ) calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ (see eq. 4) for each tree:

- (i) Different window sizes (0 to 20 days) were tested to calculate moving averages of W_t . These moving averages accounted for the difference between instantaneous fluxes and the delay of organic matter deposition in the ring.
- (ii) W_t values were averaged over the number of growth days determined for each ring slice.

Statistical analysis

Correlations between variables were quantified by calculating Pearson's correlation coefficients. Comparisons between W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and simulated W_g were checked with a *t*-test at the 95% confidence level. Statistical analyses were performed using a statistical software package (Statistica; Statsoft, Tulsa, OK, USA).

Results

Seasonal variations in environmental conditions and fluxes of CO_2 and H_2O

The mean annual air temperature in 2006 was 11.5°C and the annual precipitation was 711 mm, which was only slightly warmer and wetter than the average of the last 25 years. Four periods of climatic constraints were identified: June 8 to 13, June 29 to July 4, July 15 to 26 and August 31 to September 14. These periods were characterized by high temperatures, particularly during the dry period of July (up to 27.7°C), showing also a high vapor pressure deficit (up to 2.3 kPa) and low precipitation (Fig.1). During May 17 – September 14, soil water content decreased from 166 to 122 mm in spite of a relatively wet period from July 21 to August 3.

During the dry period of July, GPP and stomatal conductance decreased and the radial growth of trunks ceased (Fig. 2). GPP simulations were generally in good agreement with eddy flux data ($R^2 = 0.90$, $p < 0.05$), although the lowest values of GPP and GPP from September to November appeared largely overestimated (Fig. 2a). The seasonal variations of simulated transpiration simulations seemed to be generally in good agreement with sap flow data ($R^2 = 0.84$, $p < 0.05$) but the magnitude of values was different: simulations overestimated high transpiration values (Fig. 2c). Trunk radial growth began slightly before budburst (April 20) and ceased on August 31, just before September dry period. Two periods of slower growth were observed: from May 20 to June 9 and from July 10 to 26 (Fig. 2d).

Seasonal variations in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and between-tree variability

For all trees except tree 8, intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ increased from the beginning of the growing season to the middle or the end of May (Fig. 3). The early-latewood transition, clearly identified in five out of the eight studied trees, occurred within a relatively short period (13-17 June). A high between-tree variability in the seasonal dynamics of intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ was observed, particularly in the values (from -28.8‰ for tree 5 to -24.1‰ for tree 8) and in their amplitude (i. e. the difference between highest and lowest values of ring $\delta^{13}\text{C}$, from 0.5‰ for tree 3 to 2.8‰ for tree 7). Nevertheless, similar patterns were found in trees 1 and 2 (Fig. 3a, 3b), 3 and 4 (Fig. 3c, 3d) and 7 and 8 (Fig. 3g, 3h). For trees 1, 2 and 6, a decrease in the $\delta^{13}\text{C}$ signal was observed during the transition from early to latewood (Fig. 3a, 3b, 3f). For trees 7 and 8, $\delta^{13}\text{C}$ values increased during latewood formation (Fig. 3g, 3h). The use of a maximum slope of radial growth shifts the patterns to the left (i.e earlier) and particularly the increase observed in the beginning of the growing season (Fig 3, tree 1 and 7).

A significant positive relationship was observed between a tree's crowing index and its latewood $\delta^{13}\text{C}$ amplitude (i. e. the difference between highest and lowest values of latewood $\delta^{13}\text{C}$) ($r = 0.848$, $p < 0.01$, Fig. 4a). For 7 of the 8 trees studied, a significant positive correlation was found between 2006 ring width and latewood $\delta^{13}\text{C}$ amplitude ($r = 0.951$, $p < 0.01$, Fig. 4b). All Pearson correlation coefficients between intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ means and amplitudes and structural parameters of trees are summarized in Table 3.

Comparison between W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and canopy W_g

Significant positive correlations were observed between W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and simulated canopy W_g for six out of the eight studied trees (trees 1 to 6), but during latewood formation only (June 15 – August 31). Significant negative correlations were found for tree 7, and no significant correlation was found for tree 8. The correlation value was dependent on the window size of the moving average applied to canopy W_g (Fig. 5). With no moving average, the correlations were not significant. Generally, the correlations were maximum for a moving average with a window size

of 8 to 10 days. On average, W_g values calculated from latewood $\delta^{13}\text{C}$ were higher (t -test, $p < 0.05$) than those simulated by CASTANEA ($87.1 \pm 10.8 \mu\text{mol mol}^{-1}$ vs $77.7 \pm 0.9 \mu\text{mol mol}^{-1}$, respectively, mean for $N = 8$, Fig. 6). The values of latewood $\delta^{13}\text{C}$ for tree 5 ($66.6 \pm 1.4 \mu\text{mol mol}^{-1}$) were lower than for other trees, and were consequently lower than those obtained from canopy W_g values, as shown in figure 6c. The mean of canopy W_g could vary by up to 40% depending on the g_i value chosen ($100.6 \mu\text{mol mol}^{-1}$ with $g_i = 0.112 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ vs $72.3 \mu\text{mol mol}^{-1}$ with $g_i = 0.480 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ gained $10.5 \mu\text{mol mol}^{-1}$ on average when a discrimination of 1.0‰ due to lignification was considered, and lost $20.1 \mu\text{mol mol}^{-1}$ when a discrimination of -1.9‰ between woody stems and leaves was considered (data not shown). The amplitude observed during latewood formation was lower for W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ ($16.9 \pm 5.7 \mu\text{mol mol}^{-1}$) than for canopy W_g ($47.0 \pm 2.6 \mu\text{mol mol}^{-1}$, mean values of the 8 trees).

Comparison between ^{13}C photosynthetic discrimination and W_t

Significant correlations were observed between photosynthetic discrimination (Δ) calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and W_t , but only during latewood formation. These correlations were positive for trees 1 to 6 and negative for trees 7 and 8. Linear regressions with positive parameters that significantly linked seasonal Δ and W_t are shown in Figure 7, for the same four trees as those presented in figure 6. The strength of the correlation was dependent on the moving average applied to W_t (Fig. 5). With no moving average, the correlations were not significant. Maximum correlations were obtained with a different window size of the moving average for each tree, varying between 4 and 9 days. Moreover, significant positive correlations were observed between Δ and VPD for trees 1 and 2 during latewood formation but no significant correlation was found for the other trees, except for tree 7, which showed a negative correlation (data not shown).

Discussion

Between-tree variability in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$

Our results highlight a strong between-tree variability in mean ring $\delta^{13}\text{C}$ values (2.9‰), as shown in other studies (Leavitt & Long, 1986, Ponton et al., 2001, Skomarkova et al., 2006). The seasonal amplitude of intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ also differed between individual trees. Several factors may explain this variability. In our study, the amplitude of latewood $\delta^{13}\text{C}$ was positively correlated with the crowding index and with the ring width. Growth rate and dynamics may explain differences in the observed amplitude of latewood $\delta^{13}\text{C}$. Trees with a low growth rate (e. g. tree 3) have a thin ring, a low crown area and a reduced sapwood thickness (data not shown). For these trees, low intra-ring $\delta^{13}\text{C}$

variations could be explained by a prolonged mixing of soluble sugars in the phloem. This buffer effect leads to low variations in $\delta^{13}\text{C}$ available for ring formation.

The transition in substrates used for growth, from carbon reserves to current-year photoassimilates is probably a key factor to explain the observed pattern differences. If this transition is fast, less starch is used and thus, the increase in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ values at the beginning of the growing season is small (trees 7, 8); the opposite occurs if this transition is slow (trees 1, 2, 6). This assumption was checked for five of our studied trees using a modeling approach in (Eglin et al., 2010). Many factors may affect the velocity of this transition, such as total reserve content, current-assimilate production rate or date of budburst (Eglin et al., 2008).

Moreover, carbon-transfer discrepancies could explain a large part of between-tree variability in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$. Many studies have shown an increase in leaf $\delta^{13}\text{C}$ with an increase in tree height, both for total organic matter (Schleser, 1992, Livingston et al., 1998, Le Roux et al., 2001) and soluble sugars (Le Roux et al., 2001, Scartazza et al., 2004). Sun leaves may have a greater intrinsic water-use efficiency than shade leaves because of light acclimation during photosynthesis (Scartazza et al., 2004). Consequently, photoassimilates that are transferred to the phloem during ring formation may have different levels of $\delta^{13}\text{C}$, depending on the position of the leaves in the canopy. However, our results do not show any significant correlation between tree height and intra-ring $\delta^{13}\text{C}$, suggesting a low influence of carbon-transfer discrepancies on between-tree variability in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$.

Seasonal variations in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$

Intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ values from April to mid May correspond with the period when earlywood is built from carbon that was stored from the previous year, mainly as starch (Lacointe et al., 1993, Damesin & Lelarge, 2003, Hoch et al., 2003). The use of these reserves is necessary for ring growth because ring-porous species form new conducting wood before gas exchange can occur in new leaves (Bréda & Granier, 1996, Barbaroux & Bréda, 2002). Starch is known to be enriched in ^{13}C by about 3‰, which is much greater than the ^{13}C content in soluble sugars in woody organs (Brugnoli et al., 1988, Damesin & Lelarge, 2003, Eglin et al., 2008). The intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ increase during this first phase may be caused by a discrimination process during starch synthesis or by the formation of a ^{13}C gradient between starch layers that are synthesized at different periods of the previous vegetation season (Lacointe et al., 1993). Earlywood $\delta^{13}\text{C}$ could thus reflect environmental conditions and W_g variations in previous years.

The second phase of this seasonal pattern is a decrease in the intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ from May to the end of June. This trend was clearly observed for three trees (1, 2 and 6) and occurred during the transition from earlywood to latewood. It may be related to the change in growth substrates from carbon reserves to current-year photoassimilates. As new assimilates are generally more ^{13}C -depleted than the remaining reserves, the result is a decrease in $\delta^{13}\text{C}$ during this period. Moreover, this decrease

may be due to the formation of ^{13}C -enriched starch, probably leading to ^{13}C -depleted wood (Helle & Schleser, 2004). The last phase begins when current photosynthates become the only carbon source for ring formation, from July to the end of August. In this phase of latewood formation, the seasonal variations in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ depend on climatic variations and photosynthetic discrimination. This study highlights the link between photosynthetic discrimination and intra-ring $\delta^{13}\text{C}$, since significant correlations were found between canopy W_g and W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ for six trees during this period. Variations in air temperature (Sheu et al., 1996), air relative humidity (Ogle & McCormac, 1994, Loader et al., 1995, Korol et al., 1999) and soil moisture (Leavitt, 2002) influence the relative importance of stomatal diffusion versus RuBisCO carboxylation and thus the ratio $\frac{c_i}{c_a}$.

For example, the $\delta^{13}\text{C}$ increase in July for four trees (1, 2, 7 and 8) corresponded with a decrease in g_{sw} , which generally leads to an increase in ^{13}C content of the current assimilates. This process was probably caused by the high temperatures, high VPD and low soil moisture recorded in July. These correlations between VPD and intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ during latewood formation were significant for trees 1 and 2 (data not shown).

Comparison of W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and simulated canopy W_g

We found significant correlations between the W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and the simulated canopy W_g during latewood formation. These correlations were significant and maximum after averaging simulated W_g over 8 to 10 days. These results suggest that latewood can be a recorder of the seasonal trend in the ratio of assimilation to stomatal conductance, with a mixing time of leaf assimilates in the phloem of 8 to 10 days. These mixed assimilates are then incorporated into the organic matter of the ring with a delay due to organic matter deposition in the ring (tree-ring maturation, Kagawa et al., 2006, Gessler et al., 2007a, Keel et al., 2007). No significant correlation was observed between variations in W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and canopy W_g during earlywood formation, probably because of the use of carbohydrates stored during the previous year (e. g. Lacoite et al., 1993, Barbaroux & Bréda, 2002, Damesin & Lelarge, 2003, Hoch et al., 2003). Moreover, the W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ was slightly higher than the canopy W_g . This small difference of $9.4 \mu\text{mol mol}^{-1}$ could in fact be larger ($19.9 \mu\text{mol mol}^{-1}$) if the discrimination due to lignification were considered. This difference may be explained by the fact that woody stems are generally more enriched in ^{13}C (1.91‰ on average) than leaves (Badeck et al., 2005). Therefore, the Δ from ring $\delta^{13}\text{C}$ was probably lower than the Δ calculated from leaf ^{13}C , and thus the W_g calculated from the intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ using the model of Farquhar *et al.* (1982) was overestimated (by $20.1 \mu\text{mol mol}^{-1}$ in this study). This difference between ring $\delta^{13}\text{C}$ and leaf $\delta^{13}\text{C}$ may be partly due to post-photosynthetic differences (reviewed by Badeck et al., 2005) that occur during the transport of assimilates (Damesin & Lelarge, 2003, Gessler et al., 2004), the biosynthesis of wood compounds

(Panek & Waring, 1997), or respiration (Duranceau et al., 1999, Damesin & Lelarge, 2003, Tcherkez et al., 2003), or to varying biochemical composition of wood within tree rings (Helle & Schleser, 2004). In addition, internal conductance values (g_i) have a strong impact on W_g values calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ (up to $28.3 \mu\text{mol mol}^{-1}$). It is interesting to know the g_i values because they can change within a given species and vary according to environmental conditions (i.e. light intensity, temperature, VPD, etc., Flexas et al., 2008).

The between-tree variability makes the comparison between the W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and the canopy W_g difficult. This is because between-tree variability prevents us from having an intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ signal that is representative of a given stand. Seasonal W_g was calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ at the individual tree level, whereas canopy W_g integrated the average trend across all trees in the ecosystem. Consequently, it may be difficult to have a spatial representation of W_g that is calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$. Furthermore, individual intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ dynamics must be accurately placed in an absolute time scale in order to display correlations between canopy W_g and W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$. Thus, it is important to use a model simulating both growth and intra-ring $\delta^{13}\text{C}$.

Comparison between ^{13}C photosynthetic discrimination and W_t

Significant positive correlations were observed between ^{13}C photosynthetic discrimination (Δ , calculated from latewood $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{atm}}$) and W_t calculated from flux data (June 15 – August 31) for six out of the eight studied trees, in spite of the change in spatial scale from the individual ring to the ecosystem. As intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ is a time-integrated measurement, in contrast to W_t , these correlations were maximum by averaging W_t over 4 to 9 days for six of the eight studied trees. Considering the $\delta^{13}\text{C}_{\text{atm}}$ seasonal trend, individual latewood may thus be a recorder of the W_t seasonal trend, which can be measured at the ecosystem scale.

Although W_t depends on VPD at the ecosystem level (e. g. Ponton et al., 2006), we observed that Δ was significantly correlated with W_t , but not VPD for four trees (trees 3, 4, 5 and 6). This result can be explained by differences in the factors that influence W_t and Δ : W_t depends on VPD in addition to stomatal conductance to CO_2 (g_s), whereas Δ depends on mesophyll conductance in addition to g_s (Seibt et al., 2008).

Conclusions

The present study shows that there is substantial between-tree variability in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ values and seasonal amplitudes. Our results suggest that this variability could be due to three major factors: variation in growth rate, competition between trees and a different carbon allocation from leaves to trunk. Despite this variability, a tri-phasic pattern was generally observed. The first phase

corresponds to earlywood formation, which involves the use of carbohydrates that were stored during the previous year. The second phase corresponds to the transition between using stored carbohydrates and newly assimilated soluble sugars that become available substrates for tree growth. The last phase highlights the influence of climatic variations on latewood $\delta^{13}\text{C}$. Significant correlations were observed between W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and canopy W_g . These results show that latewood may be a good proxy for assessing seasonal variations of the ratio of assimilation to stomatal conductance, despite a required period of 8 to 10 days for the mixing of leaf assimilates in the phloem and a delay in organic matter deposition in the ring. Significant correlations between ^{13}C photosynthetic discrimination and ecosystem W_t during latewood formation indicate that intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ can be used to access seasonal variations in past W_t . More work is needed to improve our understanding of the impact of physiological processes on seasonal variations in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$. A functional discrimination model at the tree level would help us test physiological hypotheses regarding the origin of these variations. This model should have individual tree parameters like budburst date, internal conductance or competition index and should simulate photosynthetic discrimination, growth and the transition between reserves and assimilates.

Acknowledgments

Many thanks to Chantal Ballagny and the laboratory DEVEVOL (UMR 8080) for access to the cryostat. Thanks to Daniel Berveiller, Nicolas Delpierre, Jean-Yves Pontailler, and Laurent Vanbostal for their help and the platform Métabolisme-Métabolome of the IFR87 for the isotopic measurements. The authors are grateful to the Office National des Forêts, especially to Michel Bénard, for facilitating the experimental work in the Barbeau forest. This research was financed by the Programme National ACI/FNS ECCO, PNBC (convention no. 0429 FNS) and the ESE laboratory supported by the University Paris XI and CNRS.

References

1. Aranda I., Gil L. & Pardos J.A. (2005) Seasonal changes in apparent hydraulic conductance and their implications for water use of European beech (*Fagus sylvatica* L.) and sessile oak [*Quercus petraea* (Matt.) Liebl] in South Europe. *Plant Ecology*, **179**, 155-167.
2. Aubinet M., Clement R., Elberts J.A., Foken T., Grelle A., Ibrom A., . . . Rebmann C. (2003) Methodology for data acquisition, storage and treatment in: fluxes of carbon, water and energy of European forests. In: *Ecological studies*, pp. 9-33. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
3. Badeck F.W., Tcherkez G., Nogués S., Piel C. & Ghashghaie J. (2005) Post-photosynthetic fractionation of stable carbon isotopes between plant organs - a widespread phenomenon. *Rapid communications in mass spectrometry*, **19**, 1381-1391.
4. Ball J.T., Woodrow I.E. & Berry J.A. (1987) A model predicting stomatal conductance and its contribution to the control of photosynthesis under different environmental conditions. *Progress in photosynthesis research*, **4**, 221-224.

5. Barbaroux C. & Bréda N. (2002) Contrasting distribution and seasonal dynamics of carbohydrate reserves in stem wood of adult ring-porous sessile oak and diffuse-porous beech trees. *Tree Physiology*, **22**, 1201-1210.
6. Barbour M.M., Walcroft A.S. & Farquhar G.D. (2002) Seasonal variation in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ of cellulose from growth rings of *Pinus radiata*. *Plant Cell and Environment*, **25**, 1483-1499.
7. Bréda N. & Granier A. (1996) Intra- and interannual variations of transpiration, leaf area index and radial growth of a sessile oak stand (*Quercus petraea*). *Annals of Forest Science*, **53**, 521-536.
8. Brugnoli E., Hubick K.T., Caemmerer S.v., Wong S.C. & Farquhar G.D. (1988) Correlation between the carbon isotope discrimination in leaf starch and sugars of C3-plants and the ratio of intercellular and atmospheric partial pressures of carbon dioxide. *Plant Physiology*, **88**, 1418-1424.
9. Ciais P., Reichstein M., Viovy N., Granier A., Ogée J., Allard V., . . . Valentini R. (2005) Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. *Nature*, **437**, 529-533.
10. Damesin C. & Lelarge C. (2003) Carbon isotope composition of current-year shoots from *Fagus sylvatica* in relation to growth, respiration and use of reserves. *Plant, Cell and Environment*, **26**, 207-219.
11. Damesin C., Rambal S. & Joffre R. (1997) Between-tree variations in leaf $\delta^{13}\text{C}$ of *Quercus pubescens* and *Quercus ilex* among Mediterranean habitats with different water availability. *Oecologia*, **111**, 26-35.
12. Davi H., Dufrêne E., Granier A., Le Dantec V., Barbaroux C., Francois C. & Bréda N. (2005) Modelling carbon and water cycles in a beech forest Part II: Validation of the main processes from organ to stand scale. *Ecological Modelling*, **185**, 387-405.
13. Dufrêne E., Davi H., Francois C., Le Maire G., Le Dantec V. & Granier A. (2005) Modelling carbon and water cycles in a beech forest. Part I: Model description and uncertainty analysis on modelled NEE. *Ecological Modelling*, **185**, 407-436.
14. Duquesnay A., Bréda N., Stievenard M. & Dupouey J.L. (1998) Changes of tree-ring $\delta^{13}\text{C}$ and water-use efficiency of beech (*Fagus sylvatica* L.) in north-eastern France during the past century. *Plant, Cell and Environment*, **21**, 565-572.
15. Duranceau M., Ghashghaie J., Badeck F., Deleens E. & Cornic G. (1999) $\delta^{13}\text{C}$ of CO_2 respired in the dark in relation to $\delta^{13}\text{C}$ of leaf carbohydrates in *Phaseolus vulgaris* L. under progressive drought. *Plant, Cell and Environment*, **22**, 515-523.
16. Eglin T., Francois C., Michelot A., Delpierre N. & Damesin C. (2010) Linking intra-seasonal variations in climate and tree-ring $\delta^{13}\text{C}$: A functional modelling approach. *Ecological Modelling*, **221**, 1779-1797.
17. Eglin T., Maunoury-Danger F., Fresneau C., Lelarge C., Pollet B., Lapiere C., . . . Damesin C. (2008) Biochemical composition is not the main factor influencing variability in carbon isotope composition of tree rings. *Tree Physiology*, **28**, 1619-1628.
18. Farquhar G.D., Caemmerer S.v. & Berry J.A. (1980) A Biochemical-model of photosynthetic CO_2 assimilation in leaves of C-3 species. *Planta*, **149**, 78-90.
19. Farquhar G.D., Ehleringer J.R. & Hubick K.T. (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **40**, 503-537.
20. Farquhar G.D., O'Leary M.H. & Berry J.A. (1982) On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology*, **9**, 121-137.
21. Flexas J., Ribas-Carbo M., Diaz-Espejo A., Galmes J. & Medrano H. (2008) Mesophyll conductance to CO_2 : current knowledge and future prospects. *Plant Cell and Environment*, **31**, 602-621.
22. Gessler A., Keitel C., Kodama N., Weston C., Winters A.J., Keith H., . . . Farquhar G.D. (2007) $\delta^{13}\text{C}$ of organic matter transported from the leaves to the roots in *Eucalyptus delegatensis*: short-term variations and relation to respired CO_2 . *Functional Plant Biology*, **34**, 692-706.
23. Gessler A., Rennenberg H. & Keitel C. (2004) Stable isotope composition of organic compounds transported in the phloem of European beech - Evaluation of different methods of phloem sap

- collection and assessment of gradients in carbon isotope composition during leaf-to-stem transport. *Plant Biology*, **6**, 721-729.
24. Granier A. (1985) Une nouvelle méthode pour la mesure du flux de sève dans le tronc des arbres. *Annals of Forest Science*, **42**, 193-200.
 25. Granier A. (1987) Mesure de flux de sève brute dans le tronc du Douglas par une nouvelle méthode thermique. *Annals of Forest Science*, **44**, 1-14.
 26. Granier A., Reichstein M., Bréda N., Janssens I.A., Falge E., Ciais P., . . . Wang Q. (2007) Evidence for soil water control on carbon and water dynamics in European forests during the extremely dry year: 2003. *Agricultural and Forest Meteorology*, **143**, 123-145.
 27. Guehl J.-M., Fort C. & Ferhi A. (1995) Differential response of leaf conductance, carbon isotope discrimination and water-use efficiency to nitrogen deficiency in maritime pine and pedunculate oak plants. *New Phytologist*, **131**, 149-157.
 28. Helle G. & Schleser G.H. (2004) Beyond CO_2 -fixation by Rubisco - an interpretation of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ variations in tree rings from novel intra-seasonal studies on broad-leaf trees. *Plant, Cell & Environment*, **27**, 367-380.
 29. Hoch G., Richter A. & Körner C. (2003) Non-structural carbon compounds in temperate forest trees. *Plant Cell and Environment*, **26**, 1067-1081.
 30. IPCC (2007) Climate change 2007: Synthesis report. Cambridge University Press, pp. 52.
 31. Kagawa A., Sugimoto A. & Maximov T.C. (2006) Seasonal course of translocation, storage and remobilization of ^{13}C pulse-labeled photoassimilate in naturally growing *Larix gmelinii* saplings. *New Phytologist*, **171**, 793-804.
 32. Keel S.G., Siegwolf R.T.W., Jaggi M. & Körner C. (2007) Rapid mixing between old and new C pools in the canopy of mature forest trees. *Plant Cell and Environment*, **30**, 963-972.
 33. Korol R.L., Kirschbaum M.U.F., Farquhar G.D. & Jeffreys M. (1999) Effects of water status and soil fertility on the C-isotope signature in *Pinus radiata*. *Tree Physiology*, **19**, 551-562.
 34. Lacoite A., Kajji A., Daudet F.A., Archer P. & Frossard J.S. (1993) Mobilization of carbon reserves in young walnut trees. *Acta Botanica Gallica*, **140**, 435-441.
 35. Le Maire G. (2005) Détermination du bilan de carbone de la forêt de Fontainebleau : apport de la télédétection pour la spatialisation des paramètres d'entrée. PhD thesis, Université Paris-sud 11, pp. 201 + annexes.
 36. Le Roux X., Bariac T., Sinoquet H., Genty B., Piel C., Mariotti A., . . . Richard P. (2001) Spatial distribution of leaf water-use efficiency and carbon isotope discrimination within an isolated tree crown. *Plant Cell and Environment*, **24**, 1021-1032.
 37. Leavitt S.W. (2002) Prospects for reconstruction of seasonal environment from tree-ring $\delta^{13}\text{C}$: baseline findings from the Great Lakes area, USA. *Chemical Geology*, **192**, 47-58.
 38. Leavitt S.W. & Long A. (1986) Stable-carbon isotope variability in tree foliage and wood. *Ecology*, **67**, 1002-1010.
 39. Livingston N.J., Whitehead D., Kelliher F.M., Wang Y.P., Grace J.C., Walcroft A.S., . . . Millard P. (1998) Nitrogen allocation and carbon isotope fractionation in relation to intercepted radiation and position in a young *Pinus radiata* D. Don tree. *Plant Cell and Environment*, **21**, 795-803.
 40. Loader N.J., Switsur V.R. & Field E.M. (1995) High-resolution stable isotope analysis of tree rings: Implications of "microdendroclimatology" for palaeoenvironmental research. *Holocene*, **5**, 457-460.
 41. Loustau D., Bosc A., Colin A., Ogée J., Davi H., Francois C., . . . Delage F. (2005) Modeling climate change effects on the potential production of French plains forests at the sub-regional level. *Tree Physiology*, **25**, 813-823.
 42. Maunoury F., Berveiller D., Lelarge C., Pontailier J.Y., Vanbostal L. & Damesin C. (2007) Seasonal, daily and diurnal variations in the stable carbon isotope composition of carbon dioxide respired by tree trunks in a deciduous oak forest. *Oecologia*, **151**, 268-279.
 43. Meinzer F.C., Rundel P.W., Goldstein G. & Sharifi M.R. (1992) Carbon isotope composition in relation to leaf gas exchange and environmental conditions in Hawaiian *Metrosideros* polymorpha populations. *Oecologia*, **91**, 305-311.

44. Monteith J.-L. (1965) Evaporation and environment. In : The state and movement of water in living organisms, XIX TII Symposium of the Society for Experimental biology. *Cambridge University Press, New-York*, 205-233.
45. Morgan J.A., Lecain D.R., McCaig T.N. & Quick J.S. (1993) Gas-exchange, carbon isotope discrimination, and productivity in winter-wheat. *Crop Science*, **33**, 178-186.
46. Ogée J., Barbour M.M., Wingate L., Bert D., Bosc A., Stievenard M., . . . Dewar R.C. (2009) A single-substrate model to interpret intra-annual stable isotope signals in tree-ring cellulose. *Plant Cell and Environment*, **32**, 1071-1090.
47. Ogle N. & McCormac F.G. (1994) High-resolution $\delta^{13}\text{C}$ measurements of oak show a previously unobserved spring depletion. *Geophysical Research Letters*, **21**, 2373-2375.
48. Osmond C.B., Winter K. & Ziegler Z. (1982) Functional significance of different pathways of CO_2 fixation in photosynthesis In: *Encyclopedia of Plant Physiology*, pp. 479-547, Springer-Verlag, New-York.
49. Panek J.A. & Waring R.H. (1997) Stable carbon isotopes as indicators of limitations to forest growth imposed by climate stress. *Ecological Applications*, **7**, 854-863.
50. Papale D., Reichstein M., Aubinet M., Canfora E., Bernhofer C., Kutsch W., . . . Yakir D. (2006) Towards a standardized processing of Net Ecosystem Exchange measured with eddy covariance technique: algorithms and uncertainty estimation. *Biogeosciences*, **3**, 571-583.
51. Ponton S., Dupouey J.L., Bréda N., Feuillat F., Bodenes C. & Dreyer E. (2001) Carbon isotope discrimination and wood anatomy variations in mixed stands of *Quercus robur* and *Quercus petraea*. *Plant, Cell and Environment*, **24**, 861-868.
52. Ponton S., Flanagan L.B., Alstad K.P., Johnson B.G., Morgenstern K., Kljun N., . . . Barr A.G. (2006) Comparison of ecosystem water-use efficiency among Douglas-fir forest, aspen forest and grassland using eddy covariance and carbon isotope techniques. *Global Change Biology*, **12**, 294-310.
53. Reichstein M., Ciais P., Papale D., Valentini R., Running S., Viovy N., . . . Zhao M. (2007) Reduction of ecosystem productivity and respiration during the European summer 2003 climate anomaly: a joint flux tower, remote sensing and modelling analysis. *Global Change Biology*, **13**, 634-651.
54. Reichstein M., Falge E., Baldocchi D., Papale D., Aubinet M., Berbigier P., . . . Valentini R. (2005) On the separation of net ecosystem exchange into assimilation and ecosystem respiration: review and improved algorithm. *Global Change Biology*, **11**, 1424-1439.
55. Samuels A.L., Kaneda M. & Rensing K.H. (2006) The cell biology of wood formation: from cambial divisions to mature secondary xylem. *Canadian Journal of Botany*, **84**, 631-639.
56. Saurer M., Siegwolf R.T.W. & Schweingruber F.H. (2004) Carbon isotope discrimination indicates improving water-use efficiency of trees in northern Eurasia over the last 100 years. *Global Change Biology*, **10**, 2109-2120.
57. Scartazza A., Mata C., Matteucci G., Yakir D., Moscatello S. & Brugnoli E. (2004) Comparisons of $\delta^{13}\text{C}$ of photosynthetic products and ecosystem respiratory CO_2 and their responses to seasonal climate variability. *Oecologia*, **140**, 340-351.
58. Schleser G.H. (1992) $\delta^{13}\text{C}$ pattern in a forest tree as an indicator of carbon transfer in trees. *Ecology*, **73**, 1922-1925.
59. Seibt U., Rajabi A., Griffiths H. & Berry J.A. (2008) Carbon isotopes and water use efficiency: sense and sensitivity. *Oecologia*, **155**, 441-454.
60. Sheu D.D., Kou P., Chiu C.H. & Chen M.J. (1996) Variability of tree-ring $\delta^{13}\text{C}$ in Taiwan fir: Growth effect and response to May-October temperatures. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **60**, 171-177.
61. Skomarkova M.V., Vaganov E.A., Mund M., Knohl A., Linke P., Boerner A. & Schulze E.D. (2006) Inter-annual and seasonal variability of radial growth, wood density and carbon isotope ratios in tree rings of beech (*Fagus sylvatica*) growing in Germany and Italy. *Trees-Structure and Function*, **20**, 571-586.
62. Takahashi K. (1996) Plastic response of crown architecture to crowding in understory trees of two co-dominating conifers. *Annals of Botany*, **77**, 159-164.

63. Tcherkez G., Nogues S., Bleton J., Cornic G., Badeck F. & Ghashghaie J. (2003) Metabolic origin of carbon isotope composition of leaf dark-respired CO_2 in French bean. *Plant Physiology*, **131**, 237-244.
64. Vaganov E.A., Schulze E.-D., Skomarkova M.V., Knohl A., Brand W.A. & Roscher C. (2009) Intra-annual variability of anatomical structure and $\delta^{13}\text{C}$ values within tree rings of spruce and pine in alpine, temperate and boreal Europe. *Oecologia*, **161**, 729-745.
65. Vincke C., Bréda N., Granier A. & Devillez F. (2005) Evapotranspiration of a declining *Quercus robur* (L.) stand from 1999 to 2001. I. Trees and forest floor daily transpiration. *Annals of Forest Science*, **62**, 503-512.
66. Voltas J., Serrano L., Hernández M. & Pemán J. (2006) Carbon isotope discrimination, gas exchange and stem growth of four Euramerican hybrid poplars under different watering regimes. *New Forests*, **31**, 435-451.
67. Walcroft A.S., Silvester W.B., Whitehead D. & Kelliher F.M. (1997) Seasonal changes in stable carbon isotope ratios within annual rings of *Pinus radiata* reflect environmental regulation of growth processes. *Australian Journal of Plant Physiology*, **24**, 57-68.
68. Warren C., McGrath J. & Adams M. (2001) Water availability and carbon isotope discrimination in conifers. *Oecologia*, **127**, 476-486.
69. Weiner J. (1984) Neighbourhood interference amongst *Pinus rigida* individuals. *Journal of Ecology*, **72**, 183-195.
70. Wullschleger S.D., Hanson P.J. & Todd D.E. (2001) Transpiration from a multi-species deciduous forest as estimated by xylem sap flow techniques. *Forest Ecology and Management*, **143**, 205-213.
71. Zweifel R. & Häsler R. (2000) Frost-induced reversible shrinkage of bark of mature subalpine conifers. *Agricultural and Forest Meteorology*, **102**, 213-222.
72. Zweifel R., Zimmermann L. & Newbery D.M. (2005) Modeling tree water deficit from microclimate: an approach to quantifying drought stress. *Tree Physiology*, **25**, 147-156.

Tables

Table 1. Structural parameters [circumference at breast height (C_{130} , cm), height (m), ring width (mm), number of slices sampled for the isotopic analyses, sapwood thickness (mm), crown area (m^2) and crowding index] of eight oak trees sampled in the year 2006.

Tree number	C_{130}	Height	Ring width (number of slices)	Sapwood thickness	Crown area	Crowding index
1	159.5	29.6	2.0 (34)	32	118.8	2.561
2	199.1	28.6	2.4 (38)	45	127.6	2.574
3	196.0	21.4	1.0 (23)	25	72.8	2.314
4	259.4	34.7	3.5 (58)	93	251.9	2.704
5	221.6	32.2	1.3 (38)	44	172.6	2.172
6	238.1	27.9	1.7 (29)	40	151.2	2.340
7	173.0	27.9	1.0 (46)	27	45.8	2.775
8	146.1	28.6	2.5 (40)	35	94.0	2.603

Table 2. List of the main input parameters used in the CASTANEA model

Symbol	Description	Units	Value	Reference
C_a	Atmospheric carbon dioxide concentration	$\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol air}^{-1}$	Variable	Measured at the site
α	Quantum yield	$\text{mol electron (mol quanta)}^{-1}$	0.24	(Le Maire, 2005)
θ	Curvature of the quantum response of the electron transport rate	Dimensionless	0.7	(Le Maire, 2005)
g_0	Leaf cuticular conductance	$\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	0.001	(Dufrêne et al., 2005)
$g_{1_{\max}}$	Slope of the Ball relationship (maximum value)	Dimensionless	9.27	(Ball et al., 1987)
$g_{1_{\min}}$	Slope of the Ball relationship (minimum value)	Dimensionless	0.001	(Dufrêne et al., 2005)
LAI_{\max}	Maximum leaf area index	$\text{m}^2 \text{ m}^{-2}$	5.1	Soudani & Dufrêne (unpublished data)
LMA_{\max}	Maximum leaf mass per area	$\text{g}_{\text{dm}} \text{ m}^{-2}$	117	Maunoury-Danger (pers. comm.)
N_{leaf}	Maximum leaf nitrogen content	$\text{mgN g}_{\text{dm}}^{-1}$	24	Maunoury-Danger (pers. comm.)
BB_{day}	Starting date of budburst	Julian day	113	Dufrêne (unpublished data)
$\text{L}_{\text{fall}_{\text{day}}}$	Starting date of leaf fall	Julian day	300	Dufrêne (unpublished data)
H_{soil}	Depth of total soil root zone	mm	1000	Dufrêne (unpublished data)
RU_{soil}	Available water capacity	mm	181	Dufrêne (unpublished data)

Table 3. Pearson correlation coefficients between mean and seasonal amplitude of carbon isotope composition of total ring, earlywood (EW) and latewood (LW) per tree, and tree structural parameters.

	Mean $\delta^{13}\text{C}$			$\delta^{13}\text{C}$ amplitude		
	Total ring	EW	LW	Total ring	EW	LW
C₁₃₀	-0.30	-0.21	-0.37	0.04	0.49	-0.17
Height	-0.48	-0.43	-0.51	0.27	0.25	0.29
Ring width	0.31	0.34	0.29	0.06	0.01	0.18
Sapwood thickness	-0.15	-0.10	-0.19	0.12	0.18	0.19
Crown area	-0.22	-0.14	-0.29	-0.09	0.25	-0.15
Crowding index	0.20	0.14	0.25	0.63 (*)	0.08	0.85 **

(*) = $P < 0.1$; * = $P < 0.05$; ** = $P < 0.01$; *** = $P < 0.001$, and $P > 0.1$ otherwise.

Figures

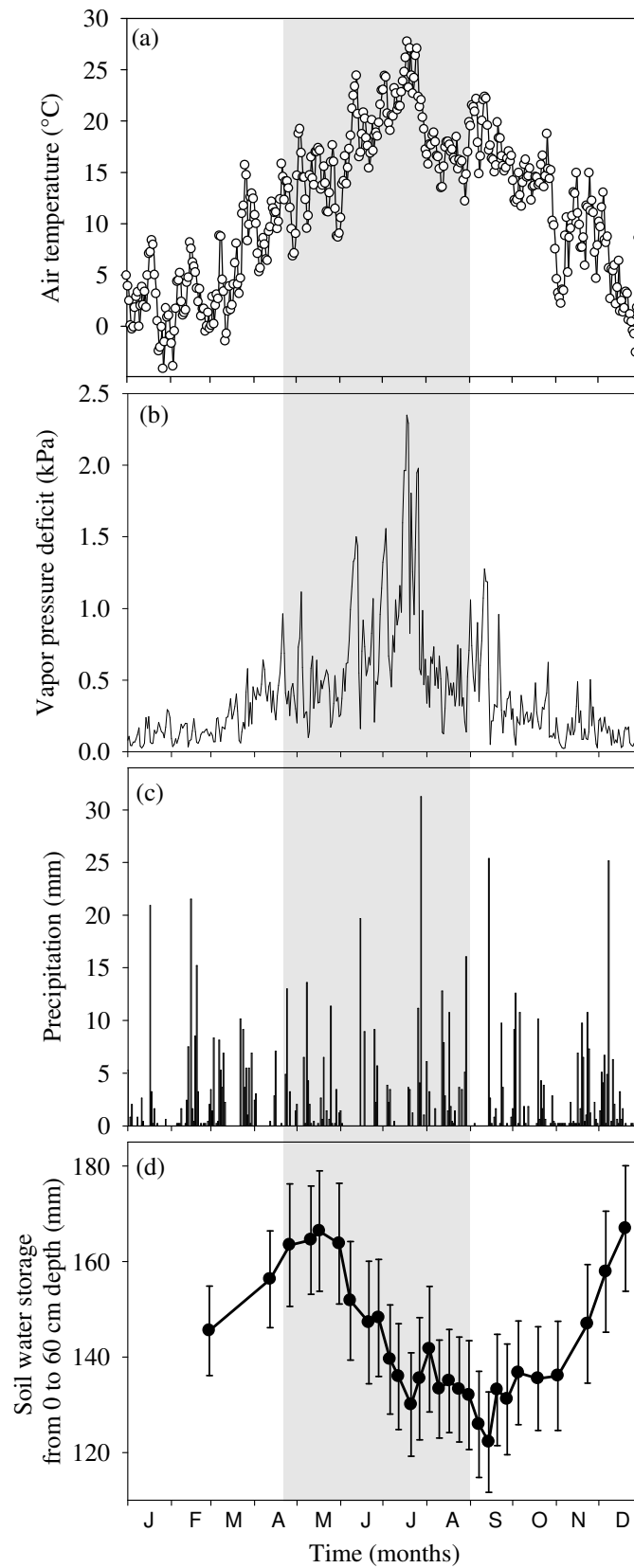


Figure 1. Seasonal variations in daily mean air temperatures (a), daily mean vapor pressure deficit (b), daily total precipitation (c) and daily mean soil water storage ($N=14$) at a depth of 0 to 60 cm (d) during the year 2006. Error bars represent ± 1 SE (mean \pm SE). The trunk growth period is indicated by shading.

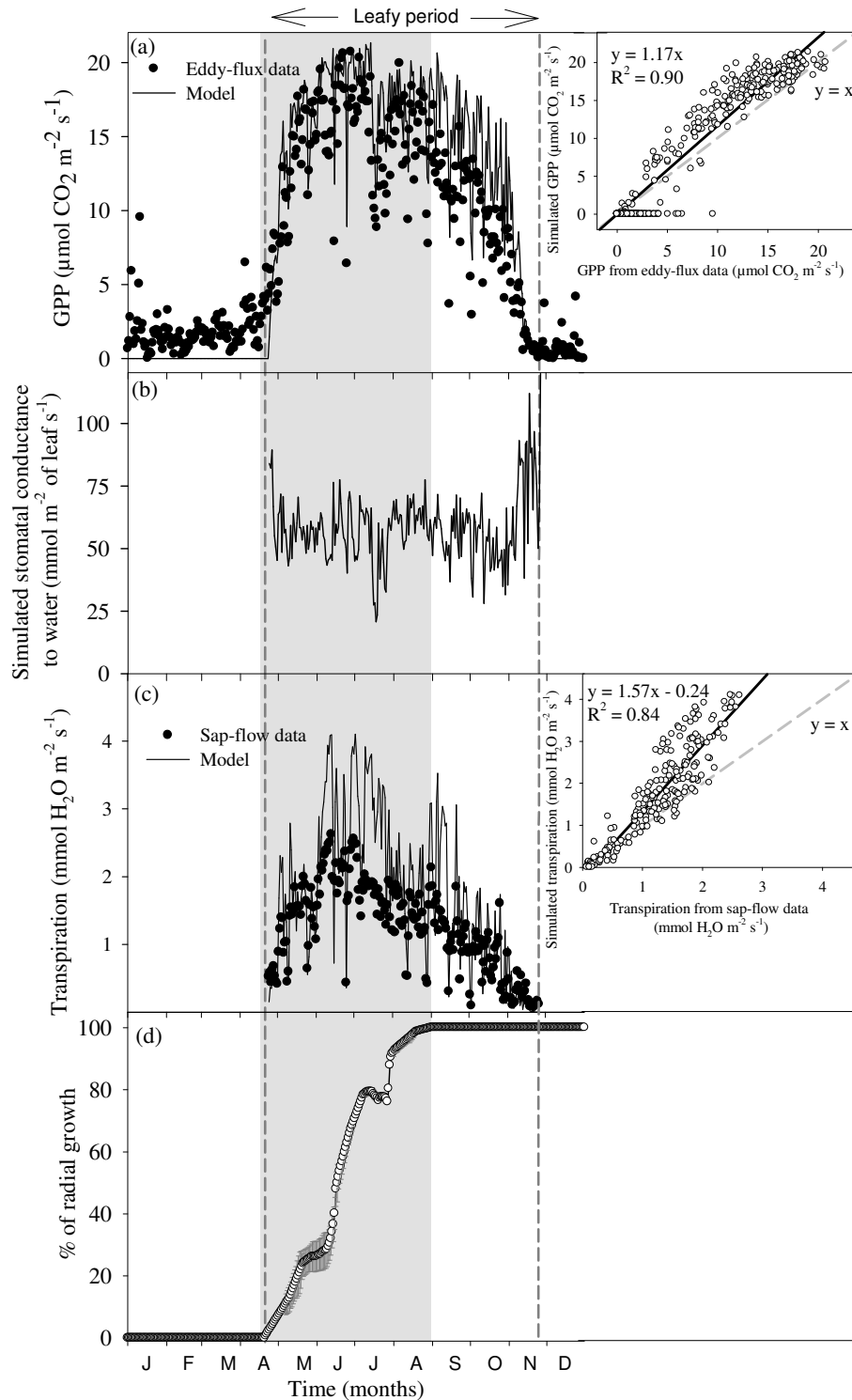


Figure 2. Seasonal variations in diurnal mean gross photosynthesis simulated by CASTANEA and calculated from eddy-flux measurements (a), diurnal mean stomatal conductance to water simulated by CASTANEA (b), diurnal mean transpiration simulated by CASTANEA and calculated from sap flow measurements (c), daily mean stem increment measured by automatic band dendrometers on two oaks and detrended of water effect (d) during the year 2006. Error bars represent ± 1 SE. Trunk growth period is indicated by shading.

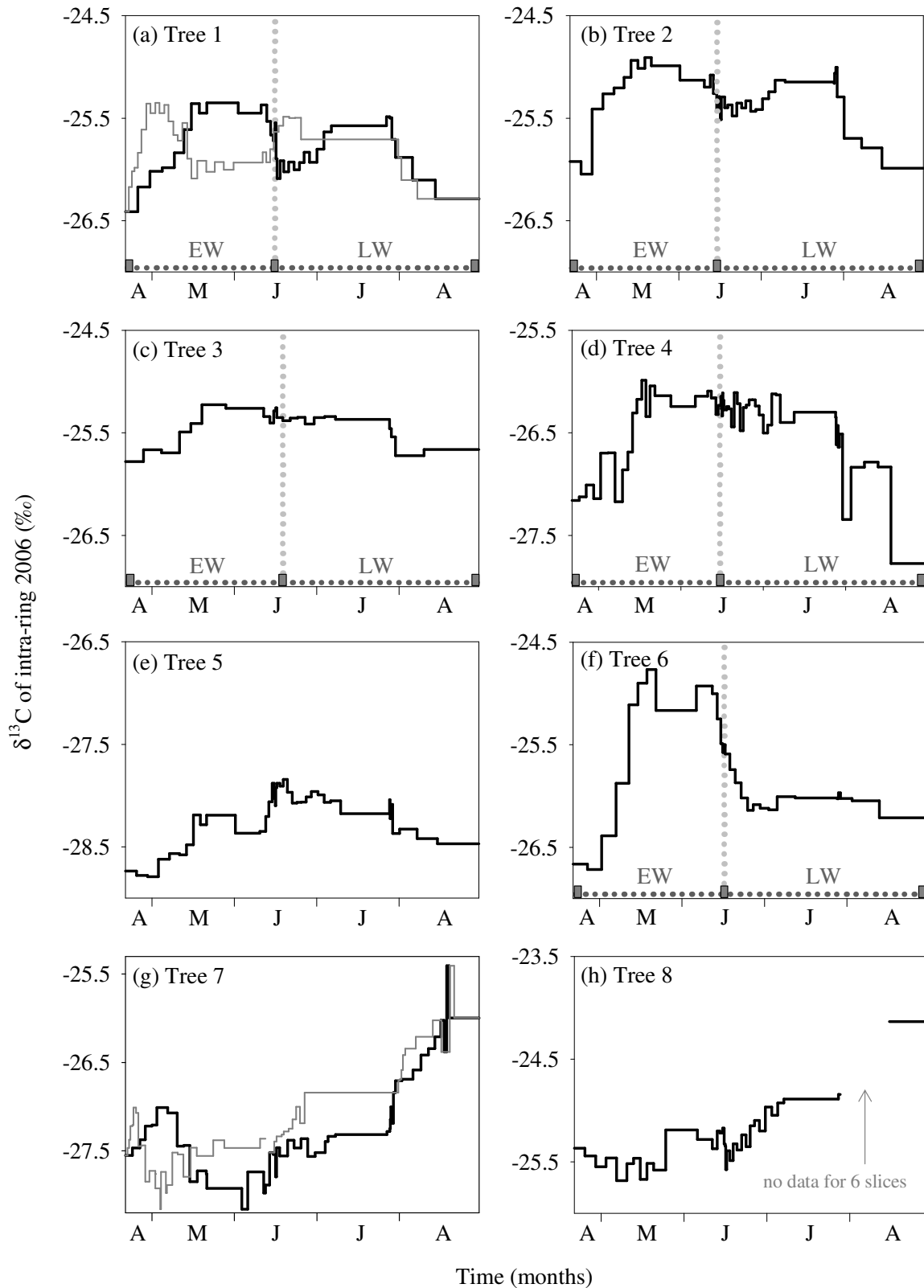


Figure 3. Seasonal variations in the carbon isotope composition of total organic matter for each slice of the tree ring in 2006 for eight studied oaks. An absolute time scale was assigned for the intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ values according to the daily normalized stem increment measured on two oaks with automatic dendrometers (black line). For trees 1 and 7 the grey line represents the pattern obtained with the maximum slope of growth observed between 61 oaks measured using manual dendrometers. The dotted line represents the transition date between early (EW) and latewood (LW) when it was identified.

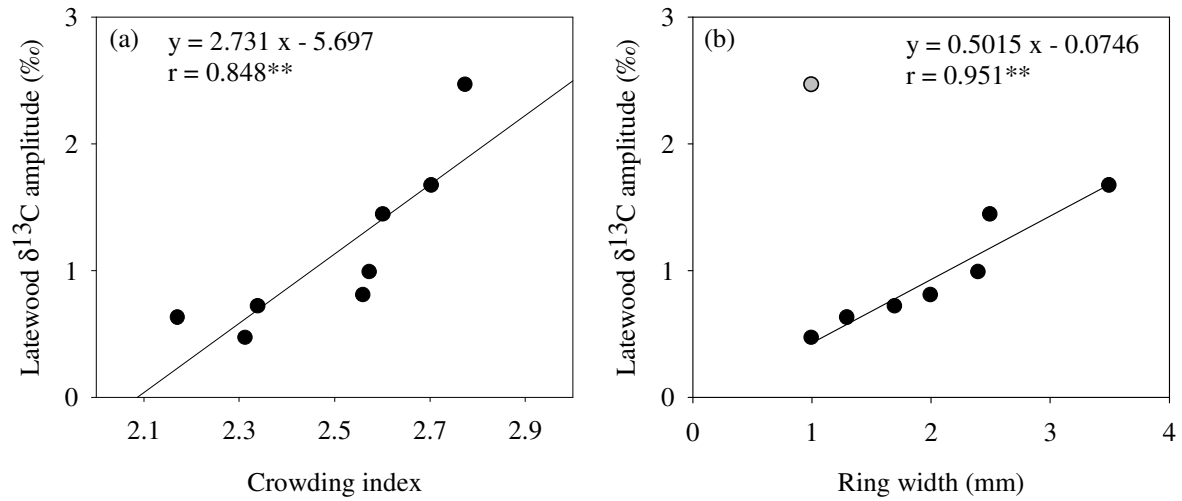


Figure 4. Relationship between seasonal latewood $\delta^{13}\text{C}$ amplitude and crowding index per tree (a) relationship between seasonal latewood $\delta^{13}\text{C}$ amplitude and ring width per tree (b) for eight studied oaks. The outlier point (○) was not considered in the linear regression. Significance: ** $p < 0.01$.

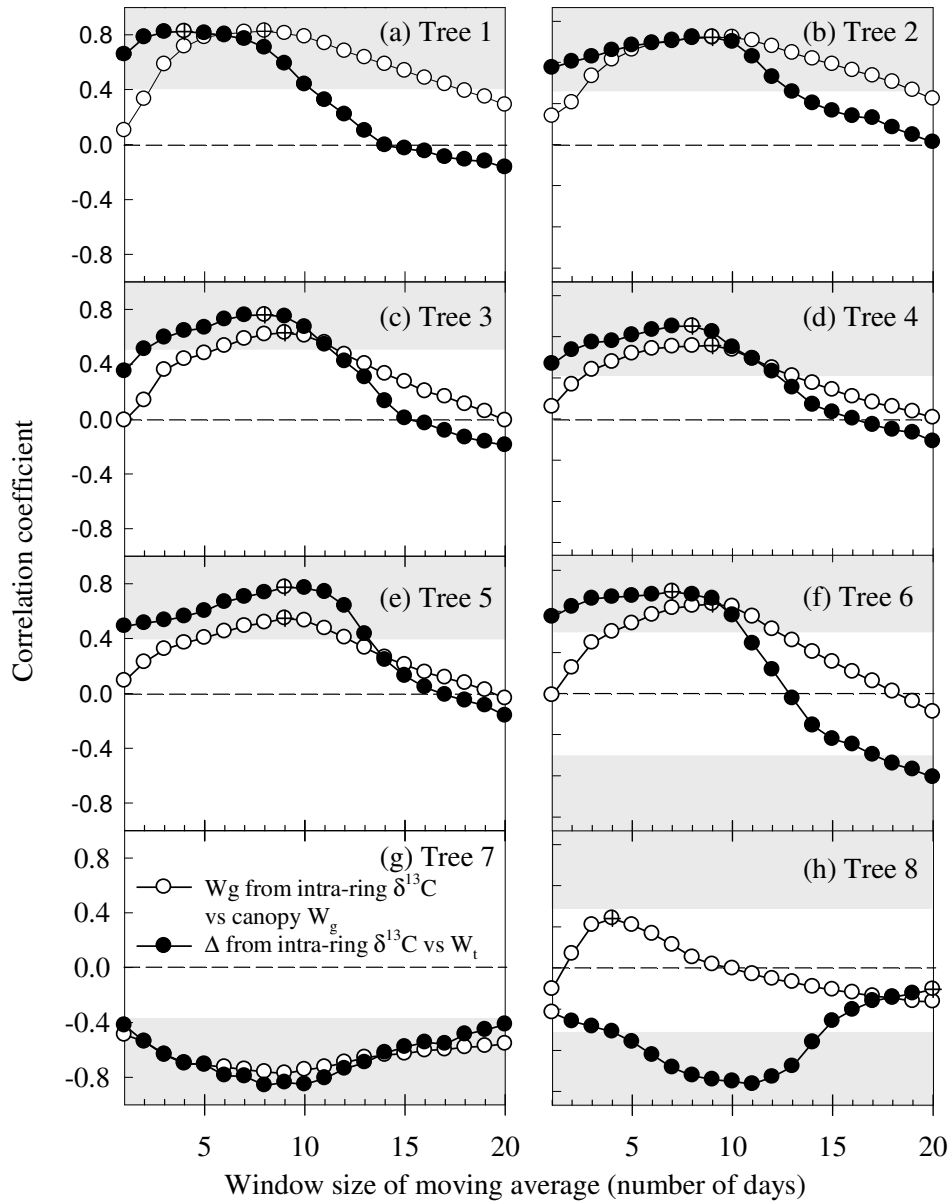


Figure 5. Pearson correlation coefficients between intrinsic WUE (W_g) calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and simulated canopy W_g (○) and between Δ calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and W_t from flux data (●) for the eight studied oaks. The x axis is the window size of the moving average used to calculate canopy W_g and W_t (see explanations in material and methods). These correlations were assessed for the identified latewood formation period (15 June-31 August). The maximum positive correlations are indicated by ⊕. Significance limits ($p < 0.05$) of the correlation coefficients are indicated by shading.

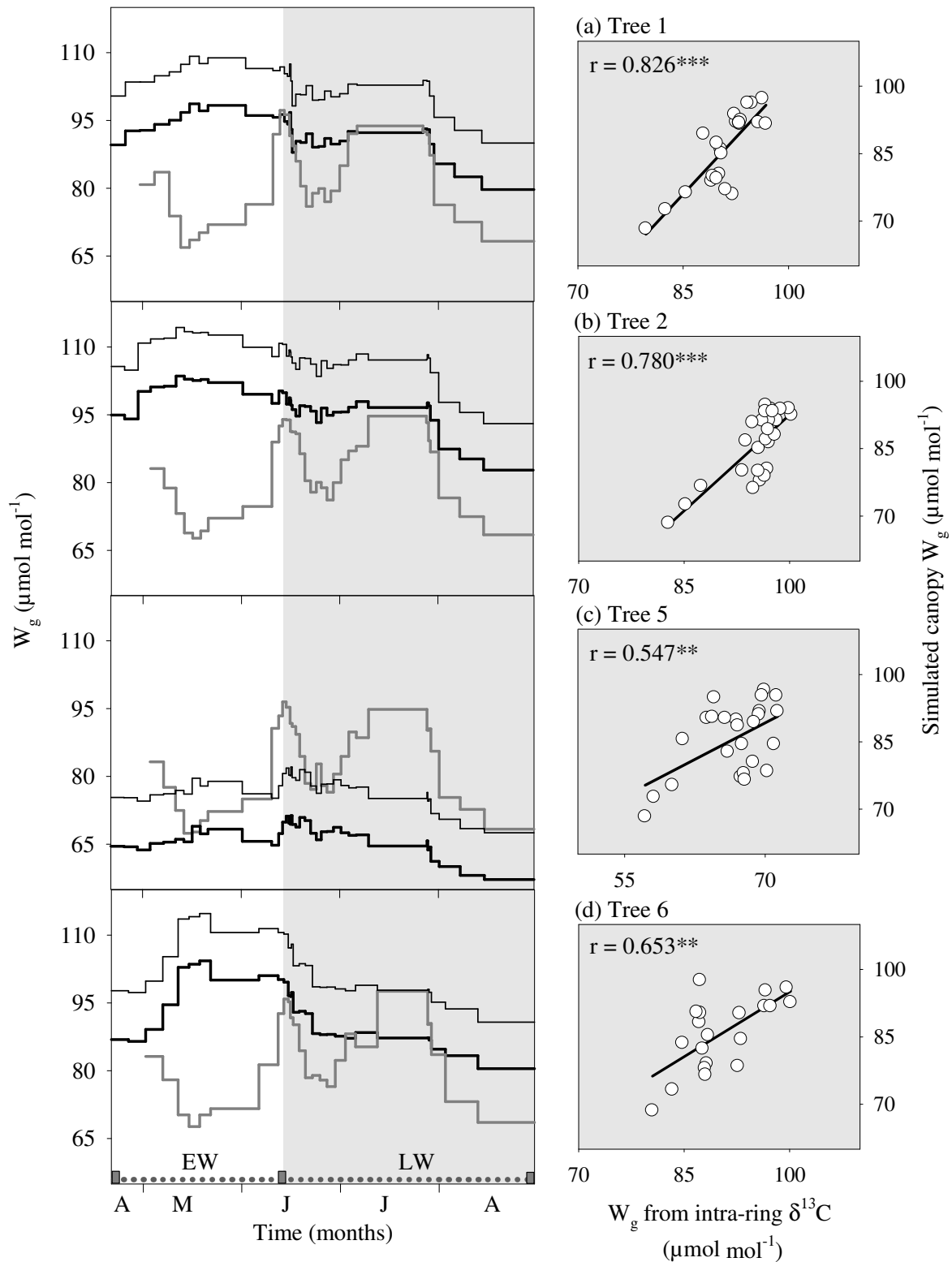


Figure 6. Comparison between intrinsic WUE (W_g) for four oaks (thick black line) and simulated canopy W_g with a moving average that maximizes its correlation with W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ during the latewood-formation period (window size of 6 days for tree 1 and 8 for the other trees, grey line). The thin black line represents W_g calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ with an offset of 1‰ in $\delta^{13}\text{C}$ values to account for lignin discrimination. Linear regressions were performed over the mean latewood-formation period (15 June-31 August) and indicated by shading. Significance: ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

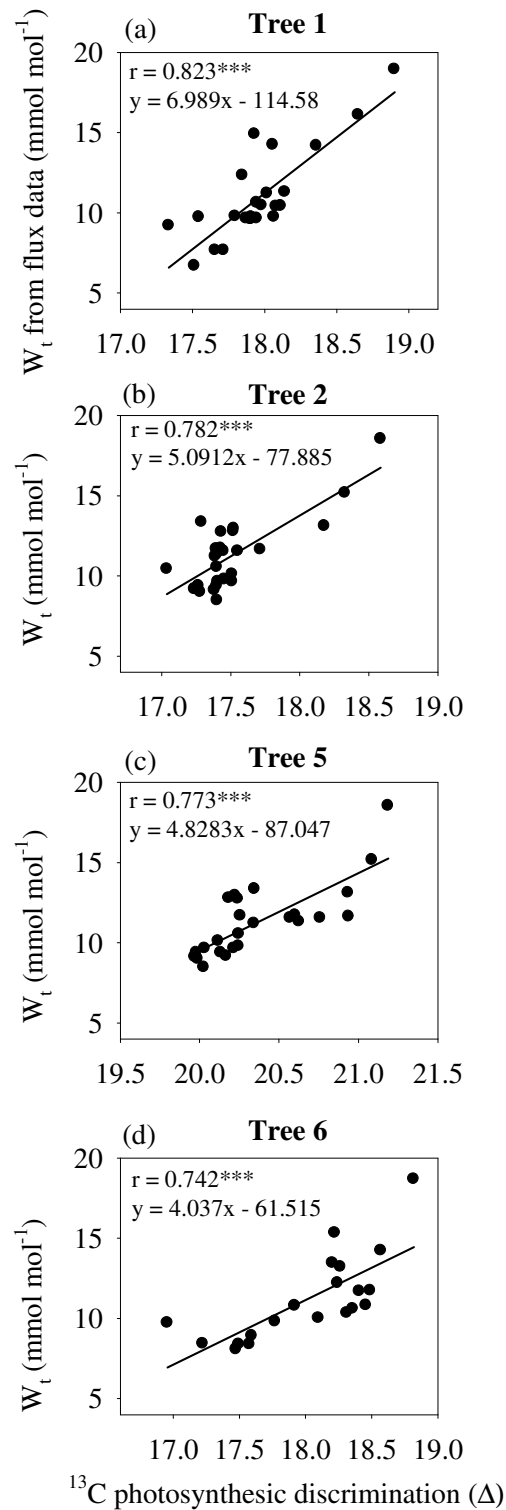


Figure 7. Relationships between ^{13}C photosynthetic discrimination (Δ) calculated from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and W_t from flux data for four oaks during latewood formation. W_t were averaged over 4 days for tree 1 ; 9 for trees 2 and 5 ; and 7 for tree 6 to have maximum correlation (see Fig. 5). Significance: *** $p < 0.001$.

III.2. Variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne

III.2.1. Présentation

Le $\delta^{13}\text{C}$ peut être mesuré dans les cernes à deux échelles temporelles différentes. Comme nous l'avons réalisé dans la **partie I.2**, il peut être mesuré à l'échelle interannuelle. Il est alors utilisé soit pour les reconstitutions climatiques soit pour déterminer la réponse des arbres aux variations climatiques interannuelles. Depuis Leavitt & Long (1991), le $\delta^{13}\text{C}$ est également mesuré à l'échelle saisonnière, à une résolution temporelle plus ou moins fine, en découpant le cerne. Le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne peut enregistrer les variables saisonnières climatiques ou bioclimatiques (e.g. Warren et al., 2001, Barbour et al., 2002, Leavitt, 2002, Eilmann et al., 2010). Sa dynamique peut être en partie reliée aux variations saisonnières de W_g (A/g), comme nous l'avons vu pour le bois final du Chêne dans la **partie III.1**. Pendant le transport des sucres solubles des feuilles jusqu'au cerne, des discriminations post-photosynthétiques interviennent au niveau foliaire et probablement dans le phloème (e.g. Duranceau et al., 1999, Terwilliger et al., 2001, Damesin & Lelarge, 2003, Gessler et al., 2004, Maunoury et al., 2007). Le $\delta^{13}\text{C}$ de la sève phloémienne est cependant un bon intégrateur des variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$ de la canopée (Scartazza et al., 2004, Rascher et al., 2010). Mais, les études qui se sont intéressées au lien entre les variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$ de la sève phloémienne et le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne sont rares et concernent à chaque fois une espèce seulement (Pate & Arthur, 1998, Cernusak et al., 2003, Cernusak et al., 2005, Gessler et al., 2009). Dans cette partie, nous avons comparé notamment les variations du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne mesuré sur la cellulose ($\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$) et celles du $\delta^{13}\text{C}$ des sucres de la sève phloémienne ($\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$) du Hêtre, du Chêne et du Pin au cours de l'année 2009. Nous avons mené cette étude en parallèle avec l'analyse de la croissance saisonnière présentée dans la **partie II** et échantillonné les mêmes arbres (5 arbres par parcelle, sur une parcelle par espèce). Pour chaque arbre, le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ a été recalé temporellement en utilisant la croissance saisonnière obtenue pour chaque individu à partir des mesures faites sur les micro-carottes (i.e. fonction de Gompertz pour les hêtres et les pins et double sigmoïde pour les chênes, **partie II**). Notre objectif ici est d'examiner la signification des variations du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne en lien avec le $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ et les variations climatiques. Plus précisément, il s'agit de :

1. Comparer les variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ et du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ pour chaque espèce ;
2. Comprendre les dynamiques saisonnières du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ et l'influence du fonctionnement de l'arbre et du climat dans ces dynamiques.
3. Explorer la variabilité inter-arbres du $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ et du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ et la relier à la phénologie foliaire, aux événements de croissance et aux paramètres structuraux mesurés sur chaque arbre.

III.2.2. Principaux résultats et discussion

Cette étude montre que :

1. Pour les trois espèces, le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ reflète les variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ (mesuré tous les 24 jours en moyenne). Toutefois, pour les chênes, l'incorporation des sucres solubles du phloème dans le cerne entraîne une atténuation significative des variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$. Nos résultats mettent en évidence une discrimination apparente contre le ^{13}C pour les espèces décidues et à l'inverse en faveur du ^{13}C pour les pins, qui aurait lieu entre le déchargement du phloème et/ou lors de l'utilisation des sucres solubles pour la formation de la matière organique totale (TOM) du cerne. Comme classiquement trouvé, la TOM est appauvrie en ^{13}C par rapport à la cellulose de -1.7 ‰ pour les hêtres, -1.1 ‰ pour les chênes et -1.6 ‰ pour les pins.

2. Les dynamiques saisonnières de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ sont différentes entre espèces et reflètent une utilisation contrastée des assimilats pour la croissance et une sensibilité au climat plus faible pour les espèces décidues. Ainsi, la dynamique saisonnière du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des chênes est probablement en grande partie déterminée par la vitesse de transition entre réserves et assimilats nouvellement synthétisés qui sont utilisés comme substrats pour la croissance. L'importance des réserves dans le pattern saisonnier est plus faible chez le Hêtre. Ce résultat est probablement dû à son début de croissance qui suit le débourrement, un début de croissance retardé par rapport à celui du Chêne et du Pin et une vitesse de croissance faible au début de la saison (cf. **partie II**). La dynamique saisonnière du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des pins est très fortement liée à celle du VPD (et de la température) et au déficit hydrique du sol (DHS). Ainsi, il semblerait que dès le début de la mise en place du cerne, le Pin utilise principalement des assimilats nouvellement synthétisés et moins les réserves accumulées la saison précédente et qu'il régule sa conductance stomatique dès l'augmentation, même faible, du VPD (0.1 à 1.5 kPa d'avril à août 2009).

3. Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ sont différentes entre arbres d'une même espèce (de -25.9 à -24.5 ‰ pour le Hêtre, de -27.5 to -25.5 ‰ pour le Chêne et de -26.0 à -23.7 ‰ pour le Pin). La variabilité d'amplitude du $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ entre arbres pour les espèces décidues est principalement reliée à la date de début de croissance. La force et le signe des corrélations entre les variables climatiques et le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des décidus sont très variables entre arbres. Chez les pins, les arbres qui ont le plus fort taux de croissance sont ceux dont le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ répond le mieux aux variations climatiques.

Ces résultats permettent d'affiner notre compréhension des liens entre fonctionnement des arbres et $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne. Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ apparaît comme un bon intégrateur des variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$. Ainsi, le Pin est l'espèce dont le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ enregistre le mieux les variations printanières et estivales du VPD, de la température et du DHS. Le $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ des pins pourrait donc être utilisé comme

proxy des variations climatiques saisonnières passées. Pour identifier la proportion de réserves utilisées au cours de la croissance, des dosages de sucres solubles, d'amidon et de lipides dans les cernes doivent être réalisés en parallèle au suivi du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne. Ces mesures sont d'ailleurs en cours d'acquisition sur les cernes prélevés au cours de l'année 2009 (cf. **conclusion**) et seront intégrées à l'article qui suit. Des mesures de $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne sur plusieurs années successives, notamment des années de sécheresse, nous renseigneraient sur la vulnérabilité de chaque arbre face aux changements climatiques en cours.

III.2.3. Article

Intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of *Fagus sylvatica*, *Quercus peatraea* and *Pinus sylvestris* in a temperate forest in relation with seasonal variations of climate and phloem sap $\delta^{13}\text{C}$

Alice Michelot^{1,2,3*} et al.

¹Univ Paris-Sud, Laboratoire Ecologie Systématique et Evolution, UMR8079, Orsay, F-91405

²CNRS, Orsay, F-91405

³AgroParisTech, Paris, F-75231

*Corresponding author:

Email: alice.michelot@u-psud.fr

Phone number: 33-1 69 15 71 37

Fax number: 33-1 69 15 72 38

Abstract

Intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ is reported to record changes in tree physiological processes in response to climatic variations. The tree carbon transfer from the leaves to the ring archive occurs via the phloem sap. However, few studies have examined the links between the seasonal variations in $\delta^{13}\text{C}$ of phloem sap and of tree rings. Here, we studied the seasonal patterns of intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of three temperate species with contrasted ecology: *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* and *Pinus sylvestris* in relation with phloem sap $\delta^{13}\text{C}$ and climatic variations. We assigned a time scale to intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ using the individual ring increment measured by microcore sampling in a previous study. Our results demonstrate that the intra-ring $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ was an integrative indicator of the seasonal dynamics of $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ for the three investigated species. For oak, the incorporation of phloem sap into the ring led to isotopic signal attenuations. Apparent discrimination against ^{13}C for the deciduous species, and against ^{12}C for pine occurred between the phloem unloading of soluble sugars and their use for ring formation. We found that the intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ pattern of oak was mainly determined by the rate of change in growth substrates from carbon reserves to photoassimilates, contrary to the beech intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ which reflected a lower use of reserves. For oak and beech, at the individual level, the amplitude of intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ was linked to the between-tree variability of growth beginning date. The intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of pine was a strong recorder of spring and summer VPD particularly for trees with a high growth rate. This study highlighted that the seasonal $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ of *Pinus sylvestris* could be used for reconstitutions of seasonal drought variations.

Keywords: intra-seasonal variations, stable carbon isotope, phloem sugars, tree ring, Sessile oak, European beech, Scots pine

Introduction

The increase of temperatures and droughts (IPCC, 2007) is expected to alter tree species physiology particularly in terms of carbon and water exchanges in temperate forests (Bréda et al., 2006). During the recent drought of 2003, decreases in forest productivity were observed in ecosystem CO_2 fluxes in a large part of Europe (Ciais et al., 2005, Granier et al., 2007, Reichstein et al., 2007). Tree-rings are natural archives of these climatic impacts on radial growth and tree carbon transfer (Fritts, 1976). Among the proxies which are measured in tree-rings (e.g. ring width, density, vessel size), the isotope carbon composition ($\delta^{13}\text{C}$) provides information on the environmental conditions prevailing during radial growth and on the ecophysiological processes affected by these conditions. Interannual variations of ring $\delta^{13}\text{C}$ give information on past climatic variations and atmospheric CO_2 trends (see review in McCarroll & Loader, 2004). The ring $\delta^{13}\text{C}$ is also measured at an intra-annual resolution (Leavitt & Long, 1991) to give more precise information on ecophysiological processes that occurred during wood formation. Several seasonal studies have shown correlations between intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and climatic variables or environmental characteristics such as soil water availability, precipitation, vapor pressure deficit or temperatures (e.g. Warren et al., 2001, Barbour et al., 2002, Leavitt, 2002, Eilmann et al., 2010).

The $\delta^{13}\text{C}$ is primarily imprinted on leaf assimilates during photosynthesis, which are then transferred throughout the tree via the phloem sap to the tree-ring archive. The photosynthetic discrimination against ^{13}C (Δ , ‰) in C_3 -type plants can be described by the simple version of the model of Farquhar et al. (1982):

$$\Delta = a + (b - a) \frac{p_i}{p_a} \quad (1)$$

where a is the discrimination against $^{13}\text{CO}_2$ during diffusion through stomata (= 4.4‰ O'Leary, 1981), b is the discrimination against $^{13}\text{CO}_2$ during RuBisCO carboxylation (= 27‰ Farquhar & Richards, 1984), p_i is the partial CO_2 pressure in leaf intercellular air spaces ($\mu\text{mol mol}^{-1}$) and p_a is the partial CO_2 pressure in the atmosphere ($\mu\text{mol mol}^{-1}$). Intrinsic water-use efficiency (W_g), the ratio of carbon assimilation and stomatal conductance (g_s), can be indirectly estimated using $\delta^{13}\text{C}$ because of the linear relationship between p_i/p_a and Δ . In the case of a drought or increase of vapour pressure deficit (VPD), leaf discrimination against ^{13}C during carboxylation is less expressed because p_i/p_a decreases. Consequently, the $\delta^{13}\text{C}$ increases in leaf organic matter but this increase was also observed in the phloem (e.g. Keitel et al., 2003) and tree-rings (e.g. Korol et al., 1999).

Post-photosynthetic discriminations can modify the $\delta^{13}\text{C}$ between newly assimilated carbon in leaves and organic matter in tree rings (e.g. Duranceau et al., 1999, Terwilliger et al., 2001, Damesin & Lelarge, 2003, Gessler et al., 2004, Maunoury et al., 2007). These post-photosynthetic discriminations can occur both in leaves before the exportation of leaf sugars and in phloem sap before

carbon incorporation into rings (reviewed in Gessler et al., 2009). Consequently, total ring organic matter is enriched compared to leaves (by 1.9‰ on average Badeck et al., 2005). Moreover, the seasonal variations of the $\delta^{13}\text{C}$ of leaf soluble sugars are more accentuated than that of phloem sap $\delta^{13}\text{C}$ because of their mixing in the phloem before their incorporation into the ring structural matter (e.g. Kagawa et al., 2006, Gessler et al., 2007a, Keel et al., 2007, Eglin et al., 2010). Nevertheless, the phloem sap $\delta^{13}\text{C}$ can be considered as an integrative tracer of the seasonal variations of leaf and canopy $\delta^{13}\text{C}$ (Scartazza et al., 2004, Rascher et al., 2010).

However, the studies examining the intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of cellulose or total organic matter in relation with seasonal variations of phloem sap $\delta^{13}\text{C}$ are scarce and do not compare species. Thus, for *Pinus sylvestris*, Gessler et al. (2009) showed that total organic matter of intra-ring was enriched in ^{13}C compared to the phloem sap but their seasonal dynamics of $\delta^{13}\text{C}$ were similar. For *Eucalyptus globulus*, Pate and Arthur (1998) and Cernusak et al. (2003, 2005) found that the $\delta^{13}\text{C}$ values of phloem sap and total organic matter of newly xylem were similar but the seasonal dynamics of intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ was shift compared to that of phloem sap $\delta^{13}\text{C}$. The comparison between the seasonal phloem sap $\delta^{13}\text{C}$ and intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ is possible provided the latter is correctly located in time. To assign an absolute time scale to cut ring slices for $\delta^{13}\text{C}$ analyses, dendrometer data are generally used (e.g. Barbour et al., 2002, Gessler et al., 2009, Michelot et al., 2011). To avoid time lags in temporal assignments due to between-tree variability generally observed in radial growth increment (e.g. Deslauriers et al., 2003b), the use of growth patterns directly measured on the studied trees seems preferable. In addition to wood cell enlargement, dendrometers measure water-related swelling and shrinking of elastic tissues located mainly in the bark (Zweifel & Häslér, 2000) which could mask growth events and lead to differences in the date of growth initiation (Makinen et al., 2008, Michelot et al., in prep.). Access to seasonal ring growth for precise estimation of the formation time of each ring slice is possible using pinning (Wolter, 1968) and more recently microcoring (Forster et al., 2000) methodologies.

The intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ patterns could depend on years, intra-specific and inter-specific physiologies. First, for the same species, the intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ pattern could change according to the climatic conditions of the year (e.g. Helle & Schleser, 2004, Skomarkova et al., 2006). Second, between-species differences in the sensitivity of stomatal conductance and carbon assimilation to climate could be reflected in the seasonal dynamics and values of soluble sugar $\delta^{13}\text{C}$. Third, between-tree variability can lead to differences in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ values and seasonal patterns (e.g. Leavitt & Long, 1986, Ponton et al., 2001, Skomarkova et al., 2006, Michelot et al., 2011). As recently underlined by Maunoury-Danger et al. (2010), this latter variability needs to be understood to improve the interpretation of intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ in terms of climatic or ecophysiological information.

Here, we investigated the seasonal variations in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of three temperate species (*Fagus sylvatica* L., *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Pinus sylvestris* L.). These species have contrasted wood anatomy, phenology and ecophysiology. The study objectives were: (1) to compare

the seasonal patterns of phloem sap and intra-ring $\delta^{13}\text{C}$, measured in cellulose and total organic matter, for each species, (2) to understand the seasonal variations in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of each species and determine the contribution of the climatic impact to these dynamics, (3) to explore the between-tree variability of intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and link it to tree growth phenology, leaf variables or structural parameters.

Material and methods

Study site and experimental design

The study was conducted in the Fontainebleau forest, which is a large forest extend over 17,000 ha in the southeast of Paris (48°25 N, 2°40 E, mean altitude 120 m). Stampian sand mixed with loam and clay forms the substrate. Fontainebleau has a temperate climate, with a mean annual temperature of 10.6°C and a mean precipitation of 750 mm fairly well distributed throughout the year. From 1960 to 2009, the mean maximal temperature from April to August (i.e. the growing season) was 21.1 ± 1.1 °C and the mean sum of precipitation was 307 ± 83 mm. The investigated species were *Fagus sylvatica* L. (beech), *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. (oak) and *Pinus sylvestris* L. (pine) which are the dominant species in the Fontainebleau forest. We selected one pure mature stand per species (beech, oak, pine) with a relatively low available water capacity (AWC, between 100 and 118 mm). Five dominant trees per stand were sampled to measure the content and $\delta^{13}\text{C}$ of the sugar phloem sap and the intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ in 2009. The seasonal growth of these trees was also followed weekly with microcore sampling from April to November 2009 in a previous study (Michelot et al., in prep.). We have used the findings of this previous study.

Climatic data and soil water content

Mean, maximal (Tmax) and minimal temperatures (Tmin) and precipitation were recorded at the Fontainebleau meteorological station from 1960 to 2009. Daily vapour pressure deficit (VPD) values were calculated from the daily mean relative air humidity (%) recorded at the Melun-Villaroche meteorological station. Soil water content at 40 cm depth (SWC) was quantified from three soil samples extracted and weighed from 29 April to 16 November 2009 for each stand (see Michelot et al., in prep.).

Tree phenology and structural parameters

Data acquisition is detailed in Michelot et al. (in prep.). Briefly, the budburst was monitored

from 1 April to 25 May 2009 on the 15 sampled trees at 3 to 7 day intervals. The tree's budburst date was determined when there were 50% of just-unfolded leaves (or needles) in the crown (**Table 1**). Wood formation was monitored by sampling microcores (2-mm diameter and 20-mm length) using a Trephor® tool (Vitzani, Perarolo di Cadore [BL], Italy) from the stem of the 15 trees on a weekly basis from 1 April to 16 November 2009. The microcore sections were prepared according to Rossi et al. (2006a). The tree's growth beginning and growth end were determined from the microcore sections by anatomical observations using an optical microscope (Orthoplan, Leitz, Germany), under visible and polarised light at $\times 125$ – 400 magnifications to distinguish lignified cells.

Circumferences at breast height (C_{130}) and tree height (H) were measured on the 15 sampled trees in March 2009. The tree's crown projected area was estimated by measuring two perpendicular diameters and then considering the crown projection as an ellipse. To describe the local neighbourhood interference around each target tree, a crowding index was calculated depend on the distance and on the size of trees located within a 15m-radius to the target tree, like in Michelot et al. (2011). For each sampled tree, leaf/needle mass per area (LMA), leaf/needle nitrogen content of the current year (N_{leaf}) and nitrogen content of the previous year's needles ($N_{\text{leaf } n-1}$) were both measured in late June 2009. LMA, N_{leaf} and $N_{\text{leaf } n-1}$ were measured on 30 sun leaves per deciduous tree and 10 sun leaves per pine. For deciduous species, leaf area was measured using an area meter (Delta-T Devices, UK). For pine, the hemisurface leaf area (HSLA) was calculated from the water volume displaced by each set of 10 needles and the mean needle length. To determine N_{leaf} and $N_{\text{leaf } n-1}$, leaf and needle powders were enclosed in tin capsules which were then combusted in an elemental analyzer (Model NA-1500; Carlo Erba, Milan, Italy). The leaf chlorophyll content was measured on 10 sun leaves per deciduous tree with a SPAD (Minolta Camera, Osaka, Japan) chlorophyll meter.

Sugar phloem sap extraction and content

Phloem sap exudates were collected on the 15 trees, on 6 dates during the growing season 2009: 21 (or 22 April for oak and pine), 19 May, 2 June, 30 June, 28 July and 18 August. The climatic conditions of all the sampling days were sunny without precipitation. The sampling occurred each time from 1030 to 1130 h for beech, from 1200 to 1300 h for oak and from 1400 to 1500 h for pine. Small piece of bark and phloem tissue were extracted at breast height using a punch of 1.4-cm diameter. Bark was removed and each phloem piece was immediately placed in 5-mL vials containing 2ml of distilled water and left to rest for 5 hours according to Renneberg et al. (1996). After exudation, each phloem piece was lyophilized and weighed. The dry phloem tissue weighed 271 ± 59 mg (mean \pm SD) for beech, 352 ± 42 mg for oak and 46 ± 7 mg for pine. The phloem sap exudates were filtered through 0.45- μm filters (HV; Nihon Millipore Kogyo, Japan). The extracts were heated at 100°C for 3 min to precipitate proteins and centrifuged ($12000 \times g$, for 5 min) according to Gessler et al. (2004).

The supernatant was used and stored at -20°C for analysis of the content and $\delta^{13}\text{C}$ of the total sugar phloem sap.

Following Maunoury et al. (2007), 25 μl of the supernatant was injected into a high-pressure liquid chromatography apparatus. Sucrose, glucose and fructose were separated by a carbohydrate precolumn (7.5 mm x 4.6 mm; Alltech, Templemars, France) and then by a Sugar Pak1 column (300 mm x 6.5 mm; Waters, Guyancourt, France). The flow was fixed at a constant value of 0.5 ml min^{-1} , pressure was maintained around 40 bars and the temperature of the column was 90°C . Peaks for the three sugars were detected using a refractometer (refractive index detector 133; Gilson, Villiers-le-Bel, France). Sugar concentrations were determined by the surface areas of the peaks, compared with a range of standards prepared with sugar-known solutions. The same method was used to prepare and isolate pure fractions of sugars to determine their $\delta^{13}\text{C}$. To obtain sufficient material (to be detectable by the mass spectrometer), 100 to 200 μl , according to the sample, was injected into the column. The total injected volume of each sample varied from 100 to 400 μl . Soluble sugars were collected and were freeze-lyophilized. They were then dissolved in 100 μl of distilled water and enclosed in tin capsules weighing between 0.1 to 1.4 mg for the isotopic analyses.

Preparation of intra-ring slices

Macrocores (10mm-diameter and 50mm length) were sampled in late December 2009 to be sure that the lignification processes were achieved. They were extracted on the 15 trees at breast height, 10 cm above the microcore sampling and stored at -20°C in the laboratory. For one tree per species, a second core was sampled to analyse the intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of the total organic matter (TOM). The ring width of 2009 and the earlywood and latewood widths (for oak and pine) were measured on the sampled cores to the nearest 1/10 mm using a magnifier (10x, Peak, Japan). Rings were cut into 15 to 60 μm -slices with a rotary microtome (HM 355S, MM France, Francheville, France). The order number of the last slice of latewood and that of the last slice of the 2009 ring were identified during the cutting. For each tree, the ring slices were pooled in 2-ml micro-tubes to have a resolution of 14 to 19 measurements per ring. The total-slice size in each tube was thus from 80 to 360 μm according to the width of the tree ring. The pooled slices were pre-ground and finely ground in the micro-tubes using a ball mill (type MM200; Retsch, Haan, Germany). $\delta^{13}\text{C}$ was measured on the ring cellulose because wood is composed of various metabolites that undergo different isotopic fractionations (Benner et al., 1987). Cellulose was extracted according to the SOXHLET method elaborated by Green (1963), modified by Leavitt and Danzer (1993) and used in Etien et al. (2009). Samples of 0.08 to 1.2 mg of the resulting cellulose were enclosed in a tin capsule (4 x 6 mm) for the isotopic analyses. For one tree per species, intra-ring TOM was also finely ground and enclosed in a capsule. For one beech, an additional core was extracted near to the previous one to analyse the intra-ring $\delta^{13}\text{C}$

variability of cellulose between two cores of the same tree. The seasonal patterns of ring cellulose $\delta^{13}\text{C}$ were similar for the two cores (data not shown).

Carbon isotope analysis

The tin capsules of total sugar phloem sap, ring cellulose and ring TOM were combusted to CO_2 in an elemental analyzer (Model NA-1500; Carlo Erba, Milan, Italy) and the CO_2 peak was sent to an isotope ratio mass spectrometer (IRMS, VG Optima; Fison, Villeurbanne, France). $\delta^{13}\text{C}$ was referred to the international standard VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite). Details of calibration and standards used are given by Michelot et al (2011). For each tree, the means and the seasonal amplitudes (i.e. the difference between highest and lowest values) of ring cellulose $\delta^{13}\text{C}$, ring TOM $\delta^{13}\text{C}$ and sugar phloem sap $\delta^{13}\text{C}$ ($\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$) were calculated.

Absolute time scale for intra-ring $\delta^{13}\text{C}$

An absolute time scale was assigned to the intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ values according to the procedure of Michelot et al (2011). The daily normalized growth used was obtained from tree-specific functions fitted on microcore measurements (i.e. Gompertz function for beech and pine and double sigmoid for oak, see Michelot et al., in prep.). The upper asymptote value of each fit was the ring width measured on the macrocore used for intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ analysis. For oak, the lower asymptote of the double sigmoid function was the measured earlywood width. The intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of cellulose and intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of total organic matter are hereafter named respectively $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{TOM}}$.

Data treatment and statistical analyses

All statistical analyses were performed using a statistical software package (Statistica; Statsoft, Tulsa, OK, USA). The comparisons of means were checked with a *t*-test at the 95% confidence level. For each species, analysis of variance (ANOVA) was performed to determine whether "date" was a factor that significantly influenced the mean content of the total sugar phloem sap during the growing season. The mean species $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ shown in figure 2 was the mean of 5 $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ values (one per tree) whose slice formation period covered the considered dates (i.e. dates of phloem sap extraction and intermediate dates). The dynamics of $\delta^{13}\text{C}_{\text{TOM}}$ shown in figure 2 was obtained considering the mean $\delta^{13}\text{C}_{\text{TOM}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ difference measured on one tree per species applicable to the other trees. Pearson correlations were performed between $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ and climatic variables or SWC. For this, the average of each climatic variable and of SWC was calculated for each period of ring slice formation. For the statistical tests, the homoscedasticity assumption was checked by a Levene-test. For each species (N=5), Pearson correlations coefficients were calculated between the tree's phenological variables (i.e.

dates of budburst, growth beginning and growth end) or structural parameters (i.e. ring width, C_{130} , tree height, crown area, LMA, N_{leaf} , $N_{\text{leaf}} n-1$, and Chl_{leaf}).

Results

Climatic conditions in 2009

The climatic conditions of the 2009 growing season, from April to August, were warmer ($+1.2^\circ\text{C}$) than the regional 1960-2008 mean, while rainfall was average (-20 mm). Monthly mean temperatures of April and August were warmer by $+2.5^\circ\text{C}$ and $+2^\circ\text{C}$, respectively, than the average of the last 49 years. August was particularly dry with a monthly precipitation of just 16 mm and VPD values which reached 1.5 kPa. For the three stands, SWC constantly decreased from mid-June to mid-October 2009 except a slight increase late July.

Total sugar content of the phloem sap

Throughout the season, the total sugar content in the phloem sap exudates (TSC) was much higher for pine (181.8 ± 36.7 mg $\text{g}^{-1}_{\text{DM}}$, mean \pm *SD*) than for beech (25.8 ± 13.4 mg $\text{g}^{-1}_{\text{DM}}$) and for oak (39.5 ± 11.5 mg $\text{g}^{-1}_{\text{DM}}$, *t*-test, $p < 0.001$, after logarithm transformation for homoscedasticity). For the three species, TSC decreased on 19 May compared to 21 April (**Fig. 1**). From 19 May to 18 August, the seasonal variations in TSC were low for the three species and showed no significant difference in TSC between dates (ANOVA for each species, $p > 0.05$).

Seasonal variations in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$

For beech and pine, the mean $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ was significantly higher than the mean $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ (**Table 2**, *t*-test, $p < 0.05$). The amplitude of $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ was higher than that of $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ for the deciduous species but the difference was only significant for oak (*t*-test, $p < 0.05$). For all investigated species, the $\delta^{13}\text{C}_{\text{TOM}}$ (measured for one tree per species) was lower than the $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ with a difference of -1.71‰ , -1.07‰ and -1.58‰ for beech, oak and pine respectively. The mean $\delta^{13}\text{C}_{\text{TOM}}$ was lower than $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ for beech (-0.78‰) and for oak (-0.89‰) whereas $\delta^{13}\text{C}_{\text{TOM}}$ was higher than $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ for pine ($+0.72\text{‰}$). For the three species, seasonal dynamics of $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ were relatively similar during the growing season (**Fig. 2**). For beech, the mean $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ decreased from 21 April to 19 May. It increased from 28 July to 18 August when the VPD values were highest. The $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ increased from mid-June to the growing season end when the VPD increased whereas the mean beech $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ remained steady from mid-June to mid-July when the SWC decreased. For oak, both mean $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ and mean $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$

decreased from April to July with a slight increase at the end of the growing season for $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$. Except in August, the seasonal trend of $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ and particularly that of $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ dynamics were opposite to the seasonal trend of VPD and followed that of SWC. For pine, mean $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ increased from April to late June. The $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ also increased from April to August but decreased mid-May and late June corresponding to the periods of low VPD values and SWC increases.

Intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ at the individual level

For each species, variability in mean $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ values was observed (i.e. mean tree values: from -25.92 to -24.46‰ for beech, from -27.53 to -25.48‰ for oak and from -26.00 to -23.69‰ for pine, **Fig. 3**). However, within the species, several trees had similar seasonal patterns of $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$. For the 5 beech trees, the seasonal variations were low (from 0.9‰ to 1.9‰ in amplitude), particularly for F2 and F11. However, $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ of F8 and F10 increased from June onwards. On the contrary, $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ of F12 tended to decrease slightly during the season. For the 5 oak trees, the $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ values were highest (except Q8) at the beginning of the growing season and slightly increased until early May, some weeks before the earlywood-latewood transition. Then, the oak $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ decreased from early May to early or mid-June and remained stable until growth end. For the 5 pine trees, the $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ values were lowest (except P4) at the start of the growing season and slightly decreased during April. Then, the pine $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ considerably increased until end of May or mid-July, depend on tree growth duration. Finally, the $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ slightly (or strongly for P4) decreased until growth stopped. The seasonal trend of $\delta^{13}\text{C}_{\text{TOM}}$ was relatively similar to that of $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ for each studied tree. However, the $\delta^{13}\text{C}_{\text{TOM}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ difference was not stable throughout the season and varied from -1.5 to -1.9‰ for beech, from -0.5‰ to -1.4‰ for oak and from -0.9‰ to -2.0‰ for pine (calculated by grouping the $\delta^{13}\text{C}_{\text{TOM}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ differences in time intervals of the mean species $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ showed in figure 2).

Correlations between intra-ring $\delta^{13}\text{C}$, climatic trend and SWC

For the three species, no significant correlation was found between intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and the mean precipitation (i.e. calculated for each period of ring slice formation). For pine trees, we observed few differences in correlations between trees. Pine was the species with the strongest correlations with climatic variables and SWC. Indeed, strong positive correlations were found between intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and respectively the seasonal trend of VPD (significant for 3 trees, $p < 0.01$) and that of Tmin (significant for 4 trees, $p < 0.01$). Intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ was also negatively correlated with SWC for 3 trees ($p < 0.10$). The intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ trees of P4 and P8, which had the lowest growth rate, showed the lowest correlations with climatic and bioclimatic data. The significant correlations with climatic variables or SWC were similar for $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{TOM}}$ measured on the tree P5.

For the deciduous species, the sign of correlations between $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ and the seasonal climatic trend or SWC could be opposite according to trees. For beech, the sign of these significant correlations was opposite between F8 and F12. For F8, correlations were significantly positive between $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ and VPD and Tmin and negative between $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ and SWC. For F12, correlations were significantly negative between $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ and VPD and Tmin. For oak, the sign of correlations between $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ and the seasonal climatic trend or SWC of tree Q8 was opposite to that of the other trees. The correlations were significantly negative between temperature and $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ for 3 trees (positive for Q8) and positive between SWC and $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ of Q1. However, the correlations between $\delta^{13}\text{C}$ and SWC were performed with few data compared to that of the other species because the growth of oak ended earlier than that of the other species (see **Table 1**). Like for beech, the correlations of the seasonal trend of VPD and Tmin with $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ and that of climatic variables with $\delta^{13}\text{C}_{\text{TOM}}$ were of opposite sign.

Between-tree variability in $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$

The amplitude of $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ of oak and beech trees were negatively correlated with the date of growth beginning and with budburst date (only for oaks). The oak amplitude of $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ was negatively correlated with the date of growth beginning (**Tab. 3**). For beech, the date of growth end and the ring width were negatively correlated with mean $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$. For pine, the mean of $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ was positively correlated with the growth rate. Concerning structural parameters, the oak trees with highest C_{130} were also trees with the highest amplitude of $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$. For beech, the crown area was negatively correlated with the amplitude of $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$. Concerning leaf parameters, for pine, N_{leaf} was negatively correlated with mean $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$.

Discussion

From phloem sap $\delta^{13}\text{C}$ to intra-ring $\delta^{13}\text{C}$

For all three species and particularly for pine, the seasonal dynamics of mean $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ were relatively similar, despite slight differences which will be discussed later. These results are in agreement with those of Pate and Arthur (1998) for *E. globulus* which showed that intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of TOM had the same seasonal dynamics than phloem sap $\delta^{13}\text{C}$ with a time lag of one month or more for both rainfed and irrigated sites. Gessler et al. (2009) also found the similar seasonal trend between intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of TOM and phloem sap $\delta^{13}\text{C}$ for *P. sylvestris*. Tree-ring $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ is thus a seasonal integrative tracer of $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$. As $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ is an indicator of seasonal variations in canopy carbon discrimination (e.g. Scartazza et al., 2004, Rascher et al., 2010), the $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ could reflect the canopy $\delta^{13}\text{C}$ at an intra-annual time scale. For oak, Michelot et al. (2011) showed that intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of

latewood recorded the seasonal variations of canopy W_g (A/g_s). For beech, the results of Helle and Schleser (2004) confirmed that the seasonal dynamics of bud and leaf $\delta^{13}\text{C}$ and intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of total organic matter are similar.

We have compared $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ whose slice formation period covered the dates of phloem sap extraction. The slight differences that we observed in the seasonal variations between $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ were probably due to differences in time integration. First, a time lag exists between the unload of phloem sugars and their incorporation for wood formation (Pate and Arthur, 1998). Second, each intra-ring slice integrates several days contrary to phloem sap which is influenced by daily weather conditions (Gessler et al., 2007a). Probably for the same reasons, we found a lower amplitude of $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ than that of $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ for oak contrary to the other species. For *P. sylvestris*, Gessler et al. (2009) also found any amplitude difference between phloem sap $\delta^{13}\text{C}$ at two weeks intervals and intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of TOM grouped in 2 week intervals. For oak, our result has never been shown to our knowledge, and suggests that the incorporation of soluble sugars by the cambial cells leads to attenuations in the seasonal intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ signal.

Concerning the $\delta^{13}\text{C}$ values, TOM of the deciduous species was depleted in ^{13}C compared to the phloem sap whereas TOM of pine was enriched in ^{13}C compared to the phloem sap. In contrast, Cernusak et al. (2005) reported similar values between $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ and $\delta^{13}\text{C}$ of newly developing xylem tissue for *E. globulus*. For our deciduous species, the finding depletion could be mainly due to apparent discrimination against ^{13}C during phloem sap unload or stem respiration. Several authors have indeed observed that CO_2 respired by oak and beech stems was generally enriched in ^{12}C compared to TOM (e.g. Damesin & Lelarge, 2003, Damesin et al., 2005, Maunoury et al., 2007). For pine, an enrichment of 1.4 ‰ in TOM compared to phloem sap was also found by Gessler et al. (2009). Presently it is difficult to determine the effect of stem respiration in this enrichment. While some studies on *P. sylvestris* showed that respired CO_2 was enriched in ^{13}C compared to TOM (Damesin et al., 2005, Brandes et al., 2006), Wingate et al. (2010) recently found that the $\delta^{13}\text{C}$ of respired CO_2 was lower by -2.3 ‰ compared to that of wood cellulose and -1 ‰ compared to the phloem sap for *Pinus maritima*. Regarding total wood, our results confirmed the well-known depletion of TOM compared to wood cellulose (see the review of Badeck et al., 2005), of 1.1 ‰ for oak, 1.6‰ for pine and 1.7 ‰ for beech due to a different biochemical composition between cellulose and TOM.

Intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and climatic impact

For each species, we found similar seasonal patterns of tree $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ despite the between-tree variability in mean $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ values, generally observed in other studies (Leavitt & Long, 1986, Ponton et al., 2001, Skomarkova et al., 2006, Michelot et al., 2011). For oak, the earlywood $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ dynamics were similar to those found and explained by Michelot et al. (2011) for the 2006 growing season. Briefly, the values of $\delta^{13}\text{C}$ were high during the beginning of the growing season probably because of

the use of reserves that were enriched in ^{13}C (Brugnoli et al., 1988). The increase in $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ until mid-April to early May, depend on the tree, may be due to the sequential use of starch layers that were synthesized at different periods of the previous vegetation season and thus have a different $\delta^{13}\text{C}$ (Lacointe et al., 1993). The $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ decrease after April or May corresponded to the change in growth substrates from carbon reserves to current-year photoassimilates or to the formation of ^{13}C enriched starch (Helle & Schleser, 2004). The decrease in oak $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ recorded in the present study occurred earlier in the season compared to our previous results for intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ in 2006 (Michelot et al., 2011). This was probably first due to warm temperatures in April 2009, which may have promoted leaf maturation and carbon assimilation and led to an earlier change in growth substrates from reserves to new assimilates. Second, the use of mean radial growth in the previous study (i.e. not measured on the studied trees) to assign a time scale for intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ may have led to an artificial time lag (see figure 3 in Michelot et al., 2011). In 2009, the $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ of latewood tended to decrease or remain stable after the earlywood-latewood transition. At a seasonal level, $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ was not sensitive to VPD (which generally influences the stomatal conductance), and was negatively correlated with T_{min} . The daily VPD values in 2009 were low (0.54 ± 0.22 kPa, mean \pm SD from mid-May to late July). Stomatal conductance of oak was less regulated and had higher values than that of beech. This difference between oak and beech is even stronger than the VPD is high as demonstrated by Aranda et al. (2005) in South of Europe. These authors showed for oak vs beech respectively that their stomatal conductance at midday in July (VPD = 1.2 kPa) was 244 vs 195 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and 347 vs 121 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in August (VPD = 2.72 kPa). Consequently, the climatic conditions of 2009 seemed to promote oak stomatal conductance and carbon assimilation. This lead to low values of $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ of leaf assimilates which were transferred to rings in formation via the phloem sap. The increase of $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ observed in August for oak seems thus not due to the increase of VPD because values of VPD were still relatively low.

For beech, the $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ decreased slightly in May, but did not increase earlier in the season like that of oak. The origin of the sugars used at the start of ring formation probably rapidly switched from the reserve pool to current assimilates. This difference in reserve use between beech and oak seems due to low growth rate of beech at the beginning of the growing season in addition to the synchronization between growth beginning and budburst (Michelot et al., in prep.). From mid-June, the $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ increased or remained stable according to trees. Different patterns of intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of beech were also highlighted by Skomarkova et al. (2006) according to the seasonal climate of the year. The slight increase of $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ for some trees seems due to the increase in VPD and temperature and to the decrease in SWC. These beech trees could have a decrease of their stomatal conductance due to stomatal regulation when VPD increase (Aranda et al., 2005). When the VPD decreased and the SWC increased in mid-July, the $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ remained stable probably because stomatal conductance was less limited. Moreover, the mean beech $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ also increased in August 2009 when VPD values were

highest. Scartazza et al. (2004) also found that an increase of VPD and a decrease of SWC led to an increase of both leaf $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ of beech.

For pine, both $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ slightly decreased in late April and generally constantly increased from early May to early July. VPD and temperature showed the same variations while SWC varied oppositely to $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$. For tree-rings, the influence of SWC on the seasonal $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ was presented in 1993 for *Pinus strobus* by Leavitt. More recently, Eilmann et al. (2010) showed the strong correspondence between the seasonal dynamics of intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ and temperature and soil moisture for *P. sylvestris*. $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ of pine thus recorded climatic information although higher sugar concentrations in phloem sap compared to the deciduous species, which could lead to low velocity of carbon transfer in pine phloem sap like in Pumpanen et al. (2009) and Dannoura et al. (2011). The response of pine $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ to drought seems mainly due to the decrease in stomatal conductance. Indeed, Zweifel et al. (2009) showed that stomata of *P. sylvestris* closed more than those of *Picea abies* and *Quercus pubescens* when VPD increase. In addition, for pine the mean $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ measured during the beginning of the growing season was similar to that of the deciduous species. This result suggests that the pine trees did not seem to use their stored lipid pools, in average depleted by -4.7 ‰ compared to total organic matter (Badeck et al., 2005). For pine, an evergreen conifer species, the needles are already photosynthetically active in winter (Guehl, 1985) so that newly assimilates could be used for the start of radial growth.

Between-tree variability in seasonal $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$

Our results highlighted a between-tree variability of $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ of the three species both in mean values and in seasonal amplitude. This variability led to differences in climatic correlations between trees of the same species. Leaf and growth phenology and structural parameters could influence the tree's isotopic signal. For beech, trees with the earliest growth beginning and lowest crown area had the highest signal amplitude and the highest correlations with the seasonal climatic trend (VPD, temperatures) and SWC. The beech trees with the best growth had the lowest $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ values and thus lowest W_g . These trees could be more vulnerable to drought but had a better growth than trees with highest W_g .

For oak, trees with the earliest budburst and growth beginning were trees with the highest amplitude and the quickest change in growth substrates from carbon reserves to current-year photoassimilates. These latter results are similar to those obtained by Eglin et al. (2010) with a modelling approach. These authors simulated quickest change in growth substrates from reserves to photoassimilates for the oak trees with earliest budburst. We concluded that the transition in substrates used for growth, from carbon reserves to current-year photoassimilates is a key factor to explain the observed pattern differences like in Michelot et al. (2011) and it is influenced by the dates of budburst and growth beginning.

Concerning pine, trees with the lowest growth rate displayed the lowest $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ values. These trees had thus lower W_g compared to the others because intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ recorded the seasonal variations of W_g (Walcroft et al., 1997 for *Pinus radiata*, Michelot et al., 2011 for *Q. petraea*). For *Picea abies*, Vaganov et al. (2009) also highlighted that slow-growing trees had low intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ values. The pine trees with lowest $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ and growth rate were those that had the least climatic impact on their $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$. To access seasonal climatic variations, the sampling of pine trees with the highest growth rate thus seems advisable.

Conclusions

This study demonstrates that the intra-ring $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ was an integrative indicator of the seasonal dynamics of $\delta^{13}\text{C}_{\text{phl}}$ for the three investigated species, despite their contrasted functioning. However, for oak, the incorporation of soluble sugars from the phloem sap to the ring led to an attenuation of the seasonal variations in the isotopic signal of ring cellulose. For pine, we highlighted that discrimination processes against ^{12}C occurred between the phloem unloading of soluble sugars and their incorporation by the cambial cells for the formation of ring TOM, conversely to the deciduous species. Seasonal measurements of the $\delta^{13}\text{C}$ of CO_2 respired by pine stems and more sampling dates of sap phloem $\delta^{13}\text{C}$ will be necessary to determine if this process could explain this result. The seasonal patterns of intra-ring $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ were different between species and reflected a contrasted use of assimilates for growth and a different climatic sensitivity. Thus, the seasonal $\delta^{13}\text{C}$ pattern of oak was mainly determined by the rate of change in growth substrates from carbon reserves to photoassimilates. On the contrary, the beech $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ reflected a lower use of reserves compared to oak, probably because of the slow growth rate during the start of growth and the synchronization of budburst and growth beginning. The pines seemed to use mainly new assimilates rather than the reserve pool for their ring growth. Consequently, the seasonal $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ of pine was a strong recorder of the spring and summer VPD, particularly for trees with a high growth rate. The seasonal $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ of *Pinus sylvestris* could be used for reconstitutions of seasonal drought variations.

Acknowledgments

All the colleagues of the ESE Laboratory are gratefully acknowledged for field-leaf samples, particularly Laurent Vanbostal and Stéphane Bazot. We thank the GLACCIOS team of the LSCE laboratory and particularly Monique Pierre for her help in cellulose extraction. Many thanks to Cyrille Raghgeber of the UMR LERFoB for the use of the microtome and Nicolas Métral and Stéphane Ponton for their technical advice in intra-ring isotopes. We also thank the Métabolisme-Métabolome platform of the IFR87 for the use of the HPLC with the advices of Caroline Mauve and for the isotope

analyses and the nitrogen concentration measurements done by Marlène Lamothe. The authors are grateful to the Office National des Forêts, especially Claude Lagarde and Gilles Defour for facilitating the experimental work in the Fontainebleau forest. This research took place within the project AFOCLIM which was financed by the French national program “GIS Climat-Environnement-Société”. Alice Michelot received a PhD grant from the French “Ministère de l’Enseignement Supérieur et de la Recherche” and the University of Paris-sud 11.

References

1. Aranda I., Gil L. & Pardos J.A. (2005) Seasonal changes in apparent hydraulic conductance and their implications for water use of European beech (*Fagus sylvatica* L.) and sessile oak [*Quercus petraea* (Matt.) Liebl] in South Europe. *Plant Ecology*, **179**, 155-167.
2. Badeck F.W., Tcherkez G., Nogués S., Piel C. & Ghashghaie J. (2005) Post-photosynthetic fractionation of stable carbon isotopes between plant organs - a widespread phenomenon. *Rapid communications in mass spectrometry*, **19**, 1381-1391.
3. Barbour M.M., Walcroft A.S. & Farquhar G.D. (2002) Seasonal variation in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ of cellulose from growth rings of *Pinus radiata*. *Plant Cell and Environment*, **25**, 1483-1499.
4. Benner R., Fogel M.L., Sprague E.K. & Hodson R.E. (1987) Depletion of $\delta^{13}\text{C}$ in lignin and its implications for stable carbon isotope studies. *Nature*, **329**, 708-710.
5. Brandes E., Kodama N., Whittaker K., Weston C., Rennenberg H., Keitel C., . . . Gessler A. (2006) Short-term variation in the isotopic composition of organic matter allocated from the leaves to the stem of *Pinus sylvestris*: effects of photosynthetic and postphotosynthetic carbon isotope fractionation. *Global Change Biology*, **12**, 1922-1939.
6. Bréda N., Huc R., Granier A. & Dreyer E. (2006) Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. *Annals of Forest Science*, **63**, 625-644.
7. Brugnoli E., Hubick K.T., Caemmerer S.v., Wong S.C. & Farquhar G.D. (1988) Correlation between the carbon isotope discrimination in leaf starch and sugars of C3-plants and the ratio of intercellular and atmospheric partial pressures of carbon dioxide. *Plant Physiology*, **88**, 1418-1424.
8. Cernusak L.A., Arthur D.J., Pate J.S. & Farquhar G.D. (2003) Water relations link carbon and oxygen isotope discrimination to phloem sap sugar concentration in *Eucalyptus globulus*. *Plant Physiology*, **131**, 1544-1554.
9. Cernusak L.A., Farquhar G.D. & Pate J.S. (2005) Environmental and physiological controls over oxygen and carbon isotope composition of *Tasmanian blue gum*, *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiology*, **25**, 129-146.
10. Ciais P., Reichstein M., Viovy N., Granier A., Ogée J., Allard V., . . . Valentini R. (2005) Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. *Nature*, **437**, 529-533.
11. Damesin C., Barbaroux C., Berveiller D., Lelarge C., Chaves M., Maguas C., . . . Pontalier J.Y. (2005) The carbon isotope composition of CO_2 respired by trunks: comparison of four sampling methods. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **19**, 369-374.
12. Damesin C. & Lelarge C. (2003) Carbon isotope composition of current-year shoots from *Fagus sylvatica* in relation to growth, respiration and use of reserves. *Plant, Cell and Environment*, **26**, 207-219.
13. Dannoura M., Maillard P., Fresneau C., Plain C., Berveiller D., Gerant D., . . . Epron D. (2011) In situ assessment of the velocity of carbon transfer by tracing ^{13}C in trunk CO_2 efflux after pulse labelling: variations among tree species and seasons. *New Phytologist*, **190**, 181-192.

14. Deslauriers A., Morin H., Urbinati C. & Carrer M. (2003) Daily weather response of balsam fir (*Abies balsamea* (L.) Mill.) stem radius increment from dendrometer analysis in the boreal forests of Quebec (Canada). *Trees-Structure and Function*, **17**, 477-484.
15. Duranceau M., Ghashghaie J., Badeck F., Deleens E. & Cornic G. (1999) $\delta^{13}\text{C}$ of CO_2 respired in the dark in relation to $\delta^{13}\text{C}$ of leaf carbohydrates in *Phaseolus vulgaris* L. under progressive drought. *Plant, Cell and Environment*, **22**, 515-523.
16. Eglin T., Francois C., Michelot A., Delpierre N. & Damesin C. (2010) Linking intra-seasonal variations in climate and tree-ring $\delta^{13}\text{C}$: A functional modelling approach. *Ecological Modelling*, **221**, 1779-1797.
17. Eilmann B., Buchmann N., Siegwolf R., Saurer M., Cherubini P. & Rigling A. (2010) Fast response of Scots pine to improved water availability reflected in tree-ring width and $\delta^{13}\text{C}$. *Plant Cell and Environment*, **33**, 1351-1360.
18. Etien N., Daux V., Masson-Delmotte V., Mestre O., Stievenard M., Guillemin M., . . . Perraud P. (2009) Summer maximum temperature in northern France over the past century: instrumental data versus multiple proxies (tree-ring isotopes, grape harvest dates and forest fires). *Climatic Change*, **94**, 429-456.
19. Farquhar G.D., O'Leary M.H. & Berry J.A. (1982) On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology*, **9**, 121-137.
20. Farquhar G.D. & Richards R.A. (1984) Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes. *Australian Journal of Plant Physiology*, **11**, 539-552.
21. Forster T., Schweingruber F.H. & Denneler B. (2000) Increment puncher - A tool for extracting small cores of wood and bark from living trees. *Iawa Journal*, **21**, 169-180.
22. Fritts H.C. (1976) Tree-ring and climate, pp. 567. Academic press, New-York.
23. Gessler A., Brandes E., Buchmann N., Helle G., Rennenberg H. & Barnard R.L. (2009) Tracing carbon and oxygen isotope signals from newly assimilated sugars in the leaves to the tree-ring archive. *Plant Cell and Environment*, **32**, 780-795.
24. Gessler A., Keitel C., Kodama N., Weston C., Winters A.J., Keith H., . . . Farquhar G.D. (2007) $\delta^{13}\text{C}$ of organic matter transported from the leaves to the roots in *Eucalyptus delegatensis*: short-term variations and relation to respired CO_2 . *Functional Plant Biology*, **34**, 692-706.
25. Gessler A., Rennenberg H. & Keitel C. (2004) Stable isotope composition of organic compounds transported in the phloem of European beech - Evaluation of different methods of phloem sap collection and assessment of gradients in carbon isotope composition during leaf-to-stem transport. *Plant Biology*, **6**, 721-729.
26. Granier A., Reichstein M., Bréda N., Janssens I.A., Falge E., Ciais P., . . . Wang Q. (2007) Evidence for soil water control on carbon and water dynamics in European forests during the extremely dry year: 2003. *Agricultural and Forest Meteorology*, **143**, 123-145.
27. Green J.W. (1963) Wood cellulose. In: *Methods in carbohydrate chemistry* (eds R.L. Whistler & J.W. Green), pp. 9-21, Academic, New York.
28. Guehl J.-M. (1985) Etude comparée des potentialités hivernales d'assimilation carbonée de trois conifères de la zone tempérée (*Pseudotsuga menziesii* Mirb, *Abies alba* Mill et *Picea excelsa* Link). *Annals of Forest Science*, **42**, 23-38.
29. Helle G. & Schleser G.H. (2004) Beyond CO_2 -fixation by Rubisco - an interpretation of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ variations in tree rings from novel intra-seasonal studies on broad-leaf trees. *Plant, Cell & Environment*, **27**, 367-380.
30. IPCC (2007) Climate change 2007: synthesis report. Cambridge University Press, pp. 52.
31. Kagawa A., Sugimoto A. & Maximov T.C. (2006) Seasonal course of translocation, storage and remobilization of ^{13}C pulse-labeled photoassimilate in naturally growing *Larix gmelinii* saplings. *New Phytologist*, **171**, 793-804.
32. Keel S.G., Siegwolf R.T.W., Jaggi M. & Korner C. (2007) Rapid mixing between old and new C pools in the canopy of mature forest trees. *Plant Cell and Environment*, **30**, 963-972.
33. Keitel C., Adams M.A., Holst T., Matzarakis A., Mayer H., Rennenberg H. & Gessler A. (2003) Carbon and oxygen isotope composition of organic compounds in the phloem sap provides a short-term measure for stomatal conductance of European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Plant Cell and Environment*, **26**, 1157-1168.

34. Korol R.L., Kirschbaum M.U.F., Farquhar G.D. & Jeffrey M. (1999) Effects of water status and soil fertility on the C-isotope signature in *Pinus radiata*. *Tree Physiology*, **19**, 551-562.
35. Lacoite A., Kajji A., Daudet F.A., Archer P. & Frossard J.S. (1993) Mobilization of carbon reserves in young walnut trees. *Acta Botanica Gallica*, **140**, 435-441.
36. Leavitt S.W. (1993) Seasonal $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ changes in tree rings - Species and site coherence, and a possible drought influence. *Canadian Journal of Forest Research*, **23**, 210-218.
37. Leavitt S.W. (2002) Prospects for reconstruction of seasonal environment from tree-ring $\delta^{13}\text{C}$: baseline findings from the Great Lakes area, USA. *Chemical Geology*, **192**, 47-58.
38. Leavitt S.W. & Danzer S.R. (1993) Method for batch processing small wood samples to holocellulose for stable-carbon isotope analysis. *Analytical Chemistry*, **65**, 87-89.
39. Leavitt S.W. & Long A. (1986) Stable-carbon isotope variability in tree foliage and wood. *Ecology*, **67**, 1002-1010.
40. Leavitt S.W. & Long A. (1991) Seasonal stable-carbon isotope variability in tree-rings-possible paleoenvironmental signals. *Chemical Geology*, **87**, 59-70.
41. Makinen H., Seo J.W., Nojd P., Schmitt U. & Jalkanen R. (2008) Seasonal dynamics of wood formation: a comparison between pinning, microcoring and dendrometer measurements. *European Journal of Forest Research*, **127**, 235-245.
42. Maunoury-Danger F., Fresneau C., Eglin T., Berveiller D., Francois C., Lelarge-Trouverie C. & Damesin C. (2010) Impact of carbohydrate supply on stem growth, wood and respired CO_2 $\delta^{13}\text{C}$: assessment by experimental girdling. *Tree Physiology*, **30**, 818-830.
43. Maunoury F., Berveiller D., Lelarge C., Pontailier J.-Y., Vanbostal L. & Damesin C. (2007) Seasonal, daily and diurnal variations in the stable carbon isotope composition of carbon dioxide respired by tree trunks in a deciduous oak forest. *Oecologia*, **151**, 268-279.
44. McCarroll D. & Loader N.J. (2004) Stable isotopes in tree rings. *Quaternary Science Reviews*, **23**, 771-801.
45. Michelot A., Eglin T., Dufrêne E., Lelarge-Trouverie C. & Damesin C. (2011) Comparison of seasonal variations in water-use efficiency calculated from the carbon isotope composition of tree rings and flux data in a temperate forest. *Plant Cell and Environment*, **34**, 230-244.
46. Michelot A., Simard S., Rathgeber C.B.K., Dufrêne E. & Damesin C. (in prep.) Comparing the seasonal wood formation of three European species (*Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* and *Pinus sylvestris*) in a temperate forest.
47. O'Leary M.H. (1981) Carbon isotope fractionation in plants. *Phytochemistry*, **20**, 553-567.
48. Pate J. & Arthur D. (1998) $\delta^{13}\text{C}$ analysis of phloem sap carbon: novel means of evaluating seasonal water stress and interpreting carbon isotope signatures of foliage and trunk wood of *Eucalyptus globulus*. *Oecologia*, **117**, 301-311.
49. Ponton S., Dupouey J.L., Bréda N., Feuillat F., Bodenes C. & Dreyer E. (2001) Carbon isotope discrimination and wood anatomy variations in mixed stands of *Quercus robur* and *Quercus petraea*. *Plant, Cell & Environment*, **24**, 861-868.
50. Pumpanen J.S., Heinonsalo J., Rasilo T., Hurme K.R. & Ilvesniemi H. (2009) Carbon balance and allocation of assimilated CO_2 in Scots pine, Norway spruce, and Silver birch seedlings determined with gas exchange measurements and ^{14}C pulse labelling. *Trees-Structure and Function*, **23**, 611-621.
51. Rascher K.G., Maguas C. & Werner C. (2010) On the use of phloem sap $\delta^{13}\text{C}$ as an indicator of canopy carbon discrimination. *Tree Physiology*, **30**, 1499-1514.
52. Reichstein M., Ciais P., Papale D., Valentini R., Running S., Viovy N., . . . Zhao M. (2007) Reduction of ecosystem productivity and respiration during the European summer 2003 climate anomaly: a joint flux tower, remote sensing and modelling analysis. *Global Change Biology*, **13**, 634-651.
53. Rennenberg H., Schneider S. & Weber P. (1996) Analysis of uptake and allocation of nitrogen and sulphur compounds by trees in the field. *Journal of Experimental Botany*, **47**, 1491-1498.
54. Rossi S., Anfodillo T. & Menardi R. (2006) Trephor: A new tool for sampling microcores from tree stems. *Iawa Journal*, **27**, 89-97.
55. Scartazza A., Mata C., Matteucci G., Yakir D., Moscatello S. & Brugnoli E. (2004) Comparisons of $\delta^{13}\text{C}$ of photosynthetic products and ecosystem respiratory CO_2 and their responses to seasonal climate variability. *Oecologia*, **140**, 340-351.

56. Skomarkova M.V., Vaganov E.A., Mund M., Knohl A., Linke P., Boerner A. & Schulze E.D. (2006) Inter-annual and seasonal variability of radial growth, wood density and carbon isotope ratios in tree rings of beech (*Fagus sylvatica*) growing in Germany and Italy. *Trees-Structure and Function*, **20**, 571-586.
57. Terwilliger V.J., Kitajima K., Le Roux-Swarthout D.J., Mulkey S. & Wright S.J. (2001) Intrinsic water-use efficiency and heterotrophic investment in tropical leaf growth of two Neotropical pioneer tree species as estimated from $\delta^{13}\text{C}$ values. *New Phytologist*, **152**, 267-281.
58. Vaganov E.A., Schulze E.-D., Skomarkova M.V., Knohl A., Brand W.A. & Roscher C. (2009) Intra-annual variability of anatomical structure and $\delta^{13}\text{C}$ values within tree rings of spruce and pine in alpine, temperate and boreal Europe. *Oecologia*, **161**, 729-745.
59. Walcroft A.S., Silvester W.B., Whitehead D. & Kelliher F.M. (1997) Seasonal changes in stable carbon isotope ratios within annual rings of *Pinus radiata* reflect environmental regulation of growth processes. *Australian Journal of Plant Physiology*, **24**, 57-68.
60. Warren C., McGrath J. & Adams M. (2001) Water availability and carbon isotope discrimination in conifers. *Oecologia*, **127**, 476-486.
61. Wingate L., Ogée J., Burrell R., Bosc A., Devaux M., Grace J., . . . Gessler A. (2010) Photosynthetic carbon isotope discrimination and its relationship to the carbon isotope signals of stem, soil and ecosystem respiration. *New Phytologist*, **188**, 576-589.
62. Wolter K.E. (1968) A new method for marking xylem growth. *Forest Science*, **14**, 102-104.
63. Zweifel R. & Häslér R. (2000) Frost-induced reversible shrinkage of bark of mature subalpine conifers. *Agricultural and Forest Meteorology*, **102**, 213-222.
64. Zweifel R., Rigling A. & Dobbertin M. (2009) Species-specific stomatal response of trees to drought - a link to vegetation dynamics? *Journal of Vegetation Science*, **20**, 442-454.

Tables

Table 1. Sampled tree characteristics (mean of 5 trees \pm SD) in 2009. Phenologic variables are expressed in julian days. Circumference at breast height (C_{130}), leaf/needle mass area (LMA), leaf/needle nitrogen content of the current year (N_{leaf}), nitrogen content of previous year's needles ($N_{\text{leaf } n-1}$), leaf chlorophyll content (Chl_{leaf}), not measured (n.m.).

Stand	Species	Growth beginning	Budburst date	Growth end	Age (years)	C_{130} (cm)	Tree height (m)	Crown area (m^2)	Crowding index	LMA (g m^{-2})	N_{leaf} ($\text{mg g}^{-1}_{\text{DM}}$)	Chl_{leaf} ($\mu\text{g cm}^{-2}$)
B12	<i>F. sylvatica</i>	112 \pm 8	109 \pm 5	224 \pm 14	93 \pm 6	159 \pm 10	26.6 \pm 1.1	106 \pm 29	2.47 \pm 0.17	91.6 \pm 13.7	23.2 \pm 0.6	46.7 \pm 2.8
O4	<i>Q. petraea</i>	89 \pm 11	103 \pm 2	206 \pm 8	152 ¹	197 \pm 26	32.1 \pm 2.9	113 \pm 24	2.55 \pm 0.15	108.4 \pm 16.3	21.7 \pm 1.9	62.5 \pm 6.9
P3	<i>P. sylvestris</i>	92 \pm 12	132 \pm 5	240 \pm 19	61 \pm 4	120 \pm 15	22.8 \pm 0.8	44 \pm 20	2.34 \pm 0.17	118.3 \pm 11.5	11.1 \pm 1.2	n.m.

¹See the details of data acquisition in a previous study (Michelot et al., submitted).

Table 2. Mean and seasonal amplitude of $\delta^{13}\text{C}$ of the ring cellulose and the phloem sap for beech, oak and pine in 2009 ($N = 5$ trees \pm *SD*). The right column is the mean difference between ring $\delta^{13}\text{C}$ of total organic matter (TOM) and ring $\delta^{13}\text{C}$ of cellulose for one tree per species. For each species value, letters indicate significant differences between ring cellulose and phloem sap (*t*-test, $p < 0.05$).

	Mean $\delta^{13}\text{C}$ (‰)		$\delta^{13}\text{C}$ amplitude (‰)		$\delta^{13}\text{C}$ difference (‰)
	Ring cellulose	Phloem sap	Ring cellulose	Phloem sap	Ring (TOM-cellulose)
Beech	$-25.31 \pm 0.58^{\text{a}}$	$-26.24 \pm 0.60^{\text{b}}$	$1.39 \pm 0.40^{\text{a}}$	$1.71 \pm 0.53^{\text{a}}$	-1.71
Oak	$-26.26 \pm 0.78^{\text{a}}$	$-26.44 \pm 0.50^{\text{a}}$	$1.39 \pm 0.46^{\text{a}}$	$2.08 \pm 0.43^{\text{b}}$	-1.07
Pine	$-24.49 \pm 0.93^{\text{a}}$	$-26.79 \pm 0.35^{\text{b}}$	$2.24 \pm 0.68^{\text{a}}$	$2.00 \pm 0.46^{\text{a}}$	-1.58

Table 3. Pearson correlation coefficients between tree isotopic variables and phenological variables or structural parameters (C_{130} : circumference at 1.30 m, N_{leaf} : leaf/needle nitrogen content, $N_{\text{leaf } n-1}$: nitrogen content of the previous year's needles, Chl_{leaf} : leaf chlorophyll content) for beech (*F*), oak (*Q*) and pine (*P*). EW or LW is indicated when only earlywood or latewood is considered in the correlation. N = 5.

	Species	Intra-ring $\delta^{13}\text{C}$		Phloem sap $\delta^{13}\text{C}$	
		Mean	Amplitude	Mean	Amplitude
Growth beginning	<i>F</i>	ns	-0.97**	ns	ns
	<i>Q</i>	ns	-0.96**	ns	-0.89*
Budburst date	<i>Q</i>	ns	-0.89*	ns	ns
	<i>P</i>	-0.90 ^{LW}	ns	ns	ns
Growth end	<i>F</i>	ns	ns	-0.94*	ns
Growth rate	<i>P</i>	0.91*	ns	ns	ns
Ring width	<i>F</i>	ns	ns	-0.99*	ns
C_{130}	<i>Q</i>	ns	0.92*	ns	0.88*
Crown area	<i>F</i>	ns	-0.97**	ns	ns
Crowding index	<i>P</i>	ns	ns	0.93* ^{EW}	ns
N_{leaf}	<i>P</i>	-0.92*	ns	ns	ns
Chl_{leaf}	<i>Q</i>	ns	ns	0.95* ^{EW}	ns

Significance: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; ns $P > 0.05$

Figures

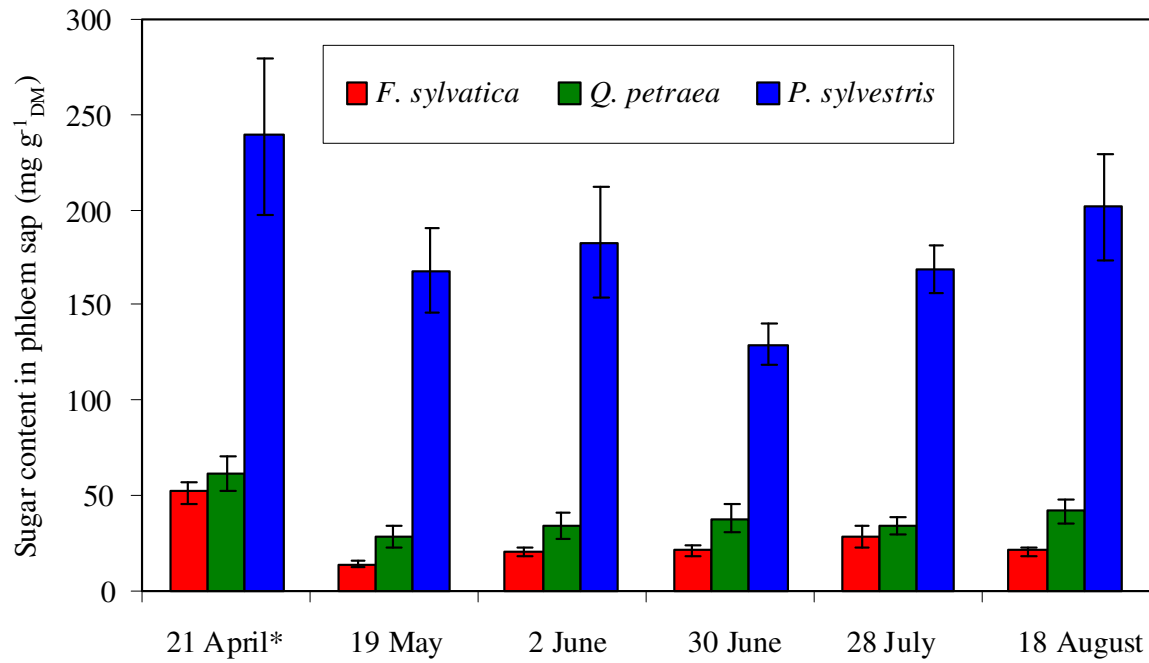


Figure 1. Seasonal variations of total sugar content (sucrose, glucose and fructose) in the phloem sap exudates for beech, oak and pine in 2009 (mean of 5 trees \pm SE). *The first sampling date was 21 April for beech and 22 April for oak and pine.

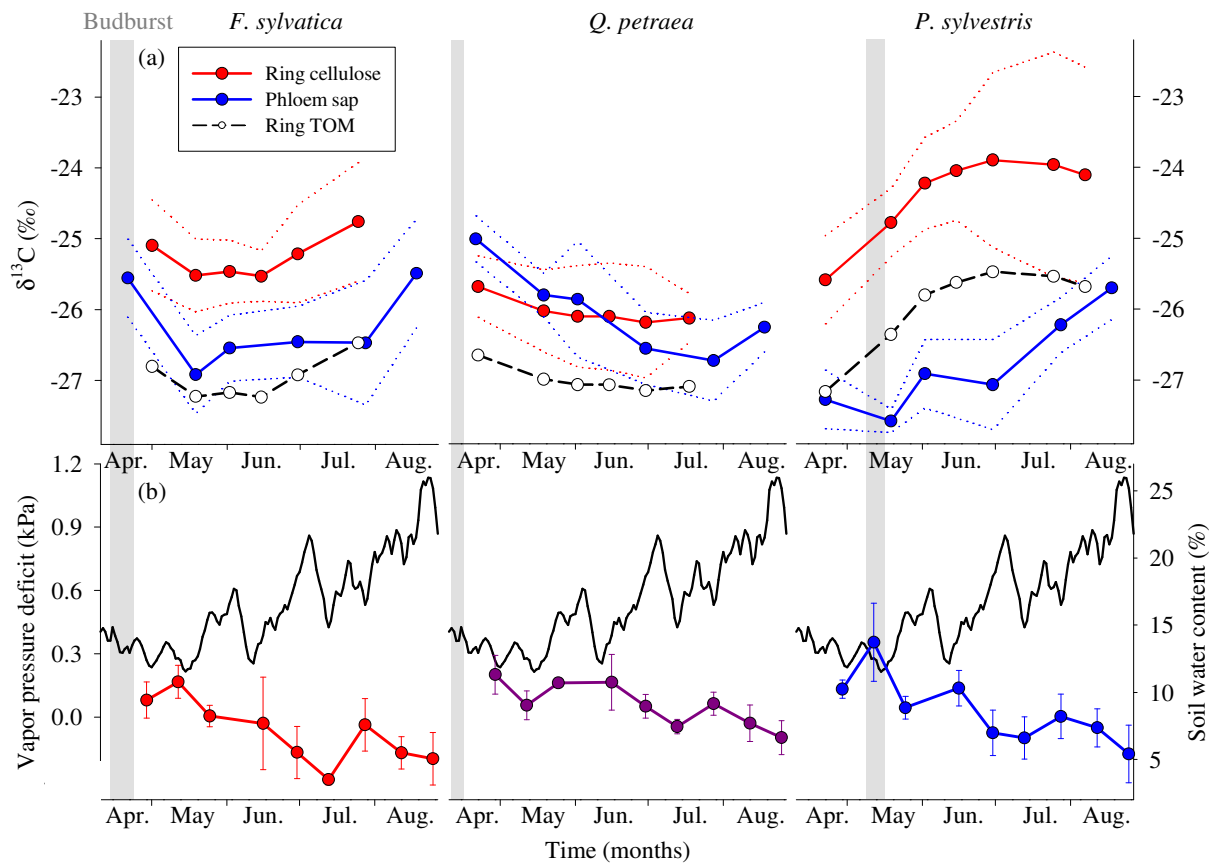


Figure 2. Seasonal variations in the mean species $\delta^{13}\text{C}$ of intra-ring cellulose (red) and total sugars of phloem sap (blue) for beech, pine and oak in 2009 (a). Seasonal vapour pressure deficit (moving average with a window size of 7 days) and mean (\pm SD) soil water content at 40 cm depth for each stand (b). The black dashed line represents the estimated $\delta^{13}\text{C}$ of intra-ring total organic matter (TOM) calculated by adding the mean difference between ring TOM $\delta^{13}\text{C}$ and cellulose $\delta^{13}\text{C}$ for one tree per species to the mean cellulose $\delta^{13}\text{C}$ values (see the values in **Table 2**). The dotted lines are the 95% confidence intervals of the mean ($N = 5$ trees per species). The grey areas indicate the mean budburst day of each species with a 95% confidence interval of the mean.

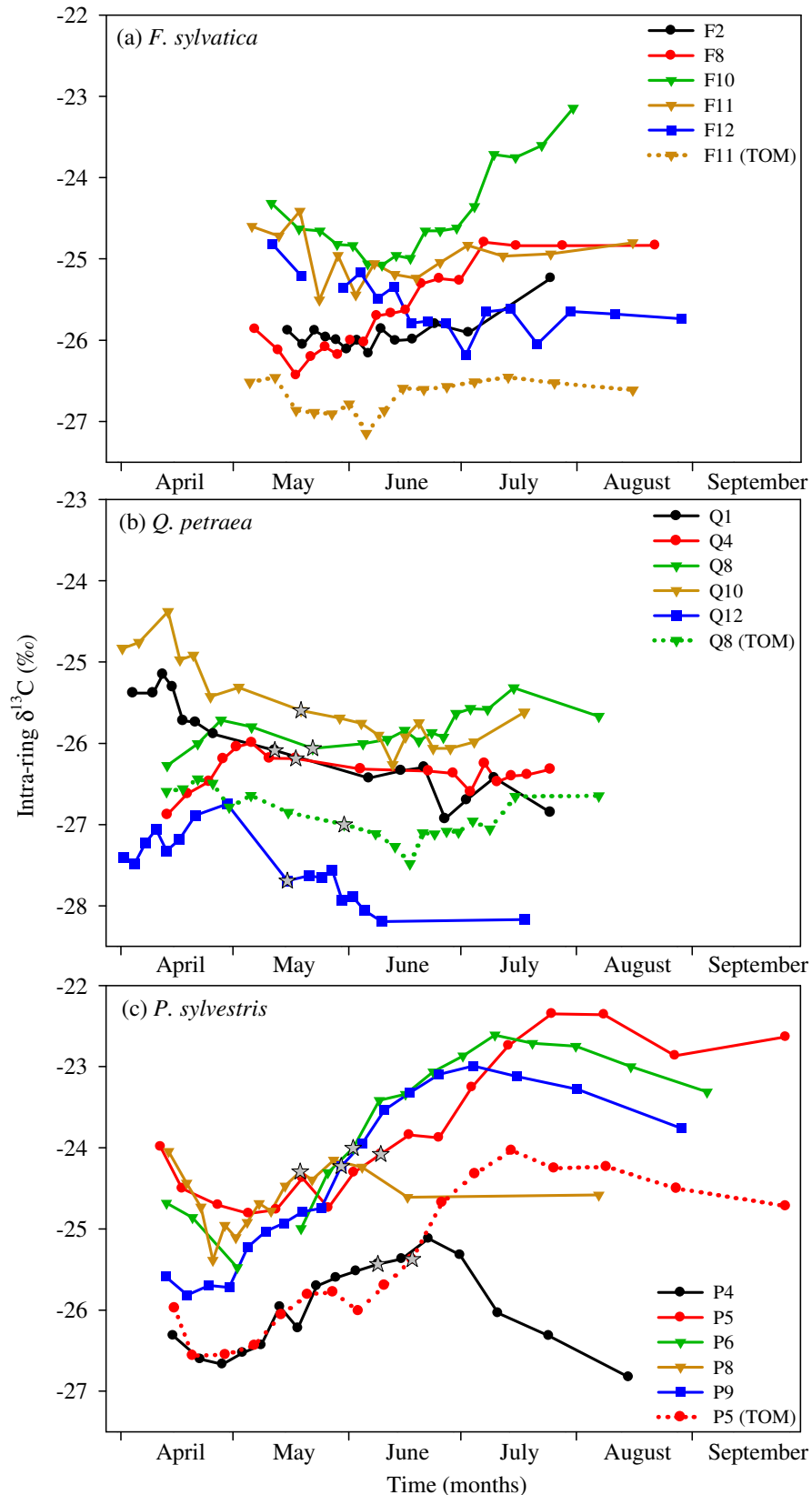


Figure 3. Seasonal variations in intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of cellulose measured during 2009 for 5 trees per species: beech (a), oak (b) and pine (c). For one tree per species, intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of total organic matter (TOM) is shown (dotted line). An absolute time scale was assigned according to the daily normalized ring increment fitted from individual microcore measurements. The dates of each value indicate the end of each slice formation. The stars represent the last slice of earlywood for oak and pine.

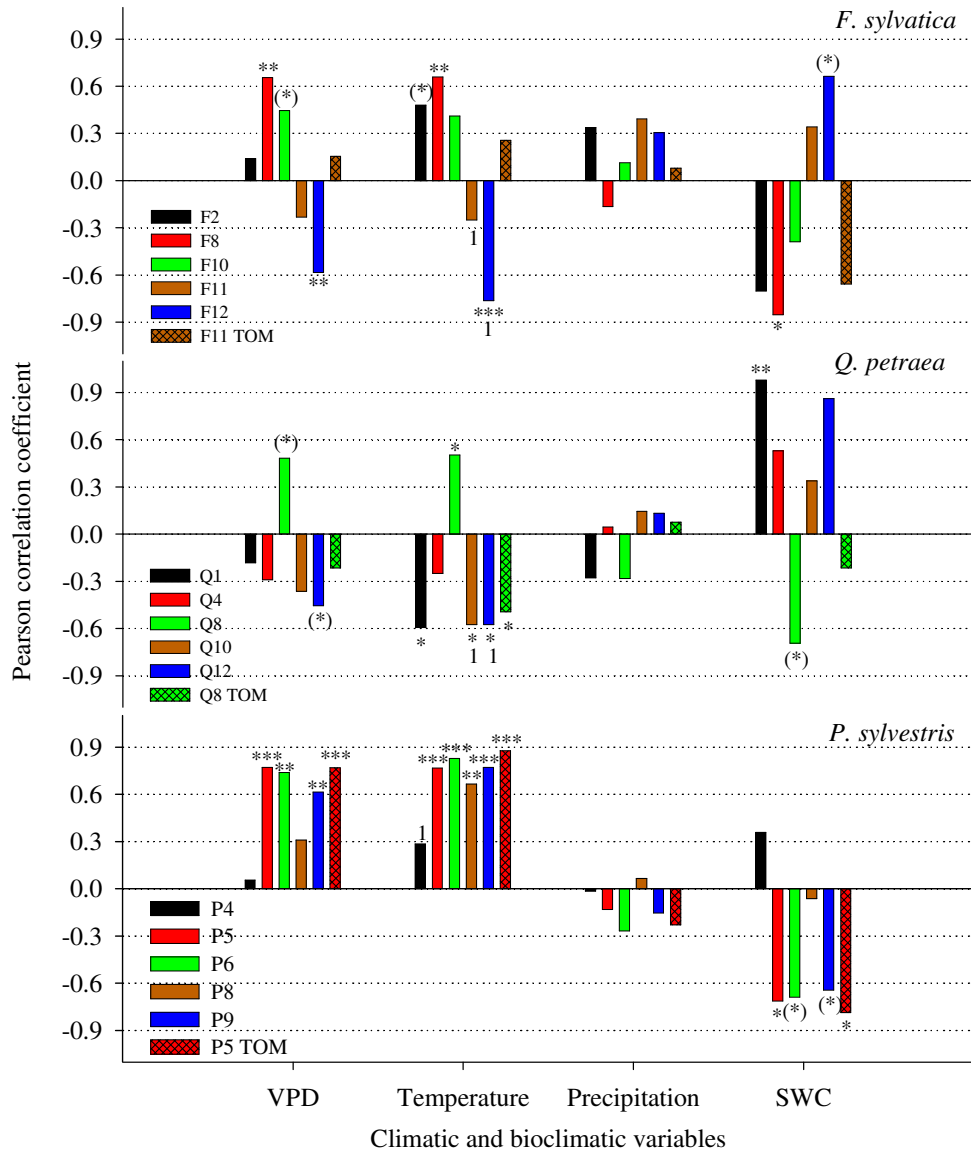


Figure 4. Pearson coefficient correlation between tree intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ of cellulose or total organic matter (TOM) and climatic or bioclimatic variables (SWC: soil water content) in 2009. Daily climatic variables (VPD: vapour pressure deficit, minimal temperature or maximal temperature, if 1 is indicated, and precipitation) are averaged over the period of each ring slice formation.

Conclusion et perspectives

1. Les cernes : indicateurs de la réponse climatique et fonctionnelle des espèces

Notre approche a mis en évidence les informations fournies par l'étude des cernes dans la caractérisation et la compréhension de la réponse climatique des espèces. Cette approche a considéré deux proxys mesurés dans les cernes : leur largeur et leur $\delta^{13}\text{C}$ à deux échelles temporelles : interannuelle et saisonnière. Pour chaque espèce, nous allons ici synthétiser les indications fournies par les cernes en mettant en évidence la complémentarité des proxys et des échelles temporelles.

1.1. Le Hêtre

L'étude de la largeur et du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes a révélé une forte réactivité interannuelle de la croissance du Hêtre au climat de l'année (printemps et été) sur la période 1960-2007. Cette forte réponse immédiate au climat peut être expliquée par une forte dépendance de la croissance du cerne à la mise en place et au fonctionnement des feuilles et une faible utilisation des réserves carbonées pour assurer le début de la croissance radiale saisonnière. L'absence de fortes valeurs ou d'augmentation du $\delta^{13}\text{C}$ en début de croissance du cerne, contrairement à ce qui est observé pour les chênes, suggère une mobilisation rapide des photoassimilats foliaires (appauvris en ^{13}C comparé aux réserves amidonnées). Les valeurs de teneur en réserves carbonées (amidon et sucres solubles) que nous avons récemment mesurées appuient cette interprétation. En effet, les quantités de réserves obtenues dans le xylème du tronc du Hêtre, entre avril en août 2009, sont nettement plus faibles que chez le Chêne (**Fig. 15 et 16**) et elles ne diminuent pas après le débourrement (cf. les valeurs pour les hêtres sains, **Fig. 15 et 16**).

Le suivi saisonnier par micro-carottes permet de déterminer les caractéristiques de la croissance radiale favorisant une faible utilisation des réserves et donc une utilisation rapide des assimilats foliaires :

1. un débourrement en moyenne deux jours avant le début de l'élargissement des cellules de xylème dans le cerne en 2009 ;
2. un début de croissance saisonnière trois semaines après celle du Chêne et du Pin ;
3. une vitesse de croissance faible au début de la saison, comparée à celle du Chêne.

La vitesse de croissance maximale du Hêtre s'observe début juin, au moment où les feuilles ont atteint leur maximum de LMA et de photosynthèse (Eglin et al., 2009). Le lien entre les variations interannuelles de $\delta^{13}\text{C}$ des cernes et les températures printanières, dont on sait qu'elles influencent considérablement le développement foliaire (e.g. Sarvas, 1972, Davi et al., 2008), confirme la forte dépendance de la mise en place du cerne au fonctionnement foliaire.

La vulnérabilité du Hêtre aux sécheresses estivales a pu être observée à l'échelle interannuelle, aussi bien via la largeur que le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes. L'approche saisonnière, nous indique que, dès l'augmentation même faible des températures et du VPD, le $\delta^{13}\text{C}$ dans les cernes et donc potentiellement W_g (A/g_s) augmente chez certains hêtres. L'augmentation de W_g à l'échelle foliaire, indiquerait une diminution de la conductance stomatique de l'arbre en réponse à la sécheresse, ce qui conduit à une baisse des entrées de carbone et donc de la croissance. A l'échelle interannuelle, la relation négative entre la largeur et le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes du Hêtre vient confirmer cette hypothèse.

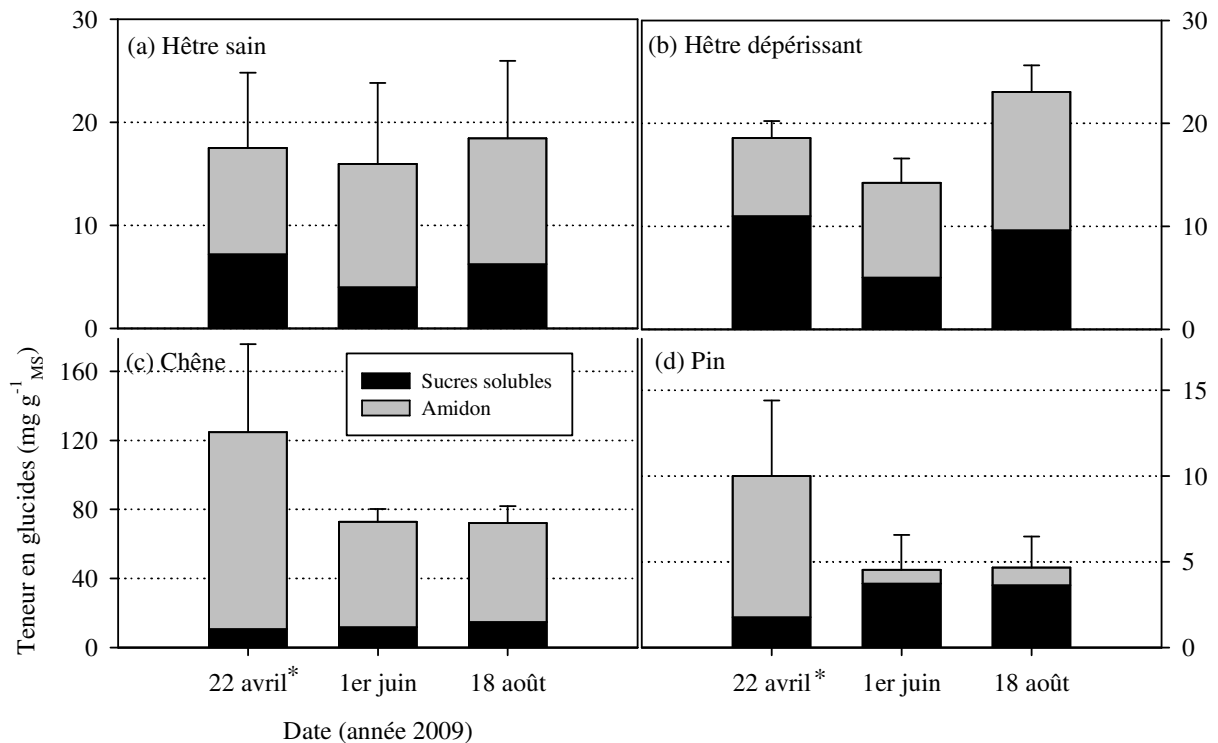


Figure 15. Concentrations moyennes en sucres solubles (glucose, fructose et saccharose) et amidon dans les cernes de hêtres sains (a), hêtres dépérissants (b), chênes (c) et pins (d) mesurées à 1.30 m dans le tronc en 2009. Pour les hêtres, les cernes considérés recouvrent la période 1977 à 2009. Pour le Chêne et le Pin, tout l'aubier est considéré. $N = 3$ arbres par espèce. Les barres d'erreur représentent l'écart-type. *Prélèvements le 21 avril pour les hêtres et le 22 avril pour les chênes et les pins. Les dates de débourrements moyennes sont le 19 avril, 22 avril, 13 avril et le 12 mai 2009, respectivement pour les hêtres sains, les hêtres dépérissants, les chênes et les pins.

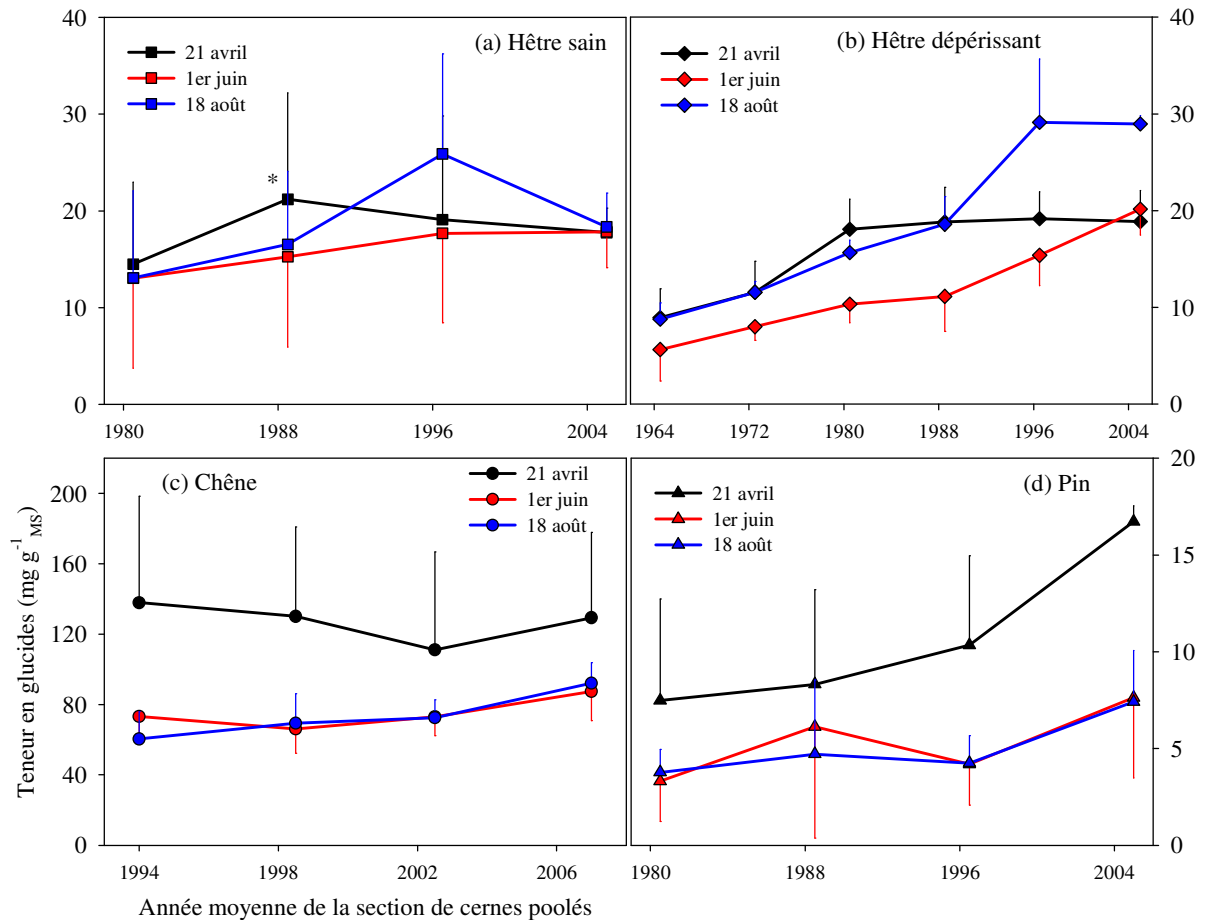


Figure 16. Concentrations moyennes en glucides totaux (sucres solubles et amidon) dans des sections de carottes regroupant plusieurs cernes de hêtres sains (a), hêtres dépérissants (b), chênes (c) et pins (d) à 1.30 m dans le tronc. N = 3 arbres par espèce. Les barres d'erreur représentent l'écart-type. *N = 2 arbres pour cette mesure.

1.2. Le Chêne

Chez le chêne, les différentes parties des cernes (bois initial et bois final) n'apportent pas la même information climatique et fonctionnelle. A l'échelle interannuelle, nous avons pu voir que, l'impact des variations climatiques de l'année même, est faible sur la croissance du bois initial comparée à celle du bois final sur la période 1960-2007. L'étude saisonnière des cernes montre que cette relative indépendance au climat de l'année est principalement due à une utilisation plus importante des réserves carbonées pour la croissance du bois initial que des photoassimilats nouvellement synthétisés. En effet, les fortes valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et leur augmentation progressive au cours de la saison indiquent une utilisation des réserves carbonées, majoritairement sous forme d'amidon. L'amidon représente effectivement chez le Chêne une part importante des réserves stockées dans les cernes (85 % des glucides stockés, cf. **Fig. 15**) et sa teneur peut atteindre jusqu'à 12 % de la matière sèche de l'aubier. D'après l'analyse de croissance saisonnière, cette utilisation importante des

réserves semble liée à un taux de croissance rapide dès le début de la saison avec la formation de la première rangée de vaisseaux de bois initial avant le débourrement et avant la synthèse des nouveaux sucres foliaires. Le dosage des glucides montre d'ailleurs que les réserves diminuent entre la semaine suivant le débourrement et le début du mois de juin, notamment dans les cernes d'aubier les plus anciens (**Fig. 15 et 16**). Ce changement progressif de substrat pour la croissance entre réserves et photosynthétats et sa vitesse peuvent être repérables sur le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne, par la chute du signal quelques jours avant la transition bois initial-bois final, qui a lieu mi-mai, comme observé sur les micro-carottes. Par exemple, lors de l'année 2007, les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne ont très rapidement et fortement chuté (cf. **annexe 3**) du fait des très bonnes conditions photosynthétiques au printemps (i.e. des fortes températures sans sécheresse). Cette influence des températures printanières est d'ailleurs également enregistrée par le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes à l'échelle interannuelle.

A l'échelle saisonnière, le lien entre les variations de W_g (A/g_s) de la canopée et le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne du Chêne met en évidence l'influence des conditions photosynthétiques pour la constitution du bois final. Cette relation a été trouvée sur les chênes du site de Barbeau, en 2006, année où les valeurs de VPD ont été très fortes mi-juillet (jusqu'à 2.3 kPa). Cependant, lors d'une année où les valeurs de VPD sont moyennes, comme en 2009 à Fontainebleau (jusqu'à 1.5 kPa mi-août) ou, plus généralement, en interannuel, le $\delta^{13}\text{C}$ du bois final des chênes est un moins bon indicateur du VPD que le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes du Hêtre et du Pin. Généralement, les chênes ont une plus forte conductance stomatique par rapport à celle des hêtres et des pins. De plus, ils ferment moins leurs stomates que les hêtres et les pins lorsque le VPD augmente (Aranda et al., 2005, Zweifel et al., 2009). Cette faible sensibilité de la conductance stomatique au VPD peut en grande partie expliquer la faible réponse du $\delta^{13}\text{C}$ du bois final des chênes au VPD. Toutefois, le lien entre $\delta^{13}\text{C}$ du bois final et VPD chez les chênes est moins fort sur la parcelle ayant le plus de contraintes hydriques (O4, réserve utile faible) que sur la parcelle humide (O19, réserve utile élevée), ce qui est surprenant.

Le proxy interannuel de croissance renseigne sur les arrières-effets climatiques qui peuvent affecter la croissance des chênes. Contrairement à ce qui est classiquement trouvé (synthétisé par Dolezal et al., 2010), la croissance du bois final dépend en partie des conditions climatiques de l'année précédente tout comme le bois initial. Une diminution du stockage des réserves due à une sécheresse peut être à l'origine de ces résultats. En effet, l'année suivant une sécheresse, l'allocation du carbone vers les réserves, qui commence l'été (Barbaroux & Bréda, 2002), pourrait augmenter pour reconstituer le pool de réserves déficitaire et ce, au dépend de la croissance du bois final.

1.3. Le Pin

L'étude des deux proxys à l'échelle interannuelle a révélé pour le Pin une sensibilité de la croissance aux températures hivernales contrairement aux deux essences décidues. D'autres études

dendrochronologiques, comme celle de Lebourgeois et al. (2010), montrent également l'influence positive des hivers chauds sur la croissance du Pin. L'activité photosynthétique hivernale par les aiguilles de l'année précédente (Guehl, 1985), pourrait permettre la synthèse d'assimilats pour le début de la croissance du cerne. Nous avons d'ailleurs observé que la reprise de croissance est indépendante de la sortie des nouvelles aiguilles, qui a lieu beaucoup plus tardivement que le début d'élargissement du cerne (un mois et demi-après). Le dosage des réserves glucidiques dans les cernes permet de mettre en évidence l'utilisation des réserves amidonnées au début de la saison mais en quantité beaucoup plus faible que les chênes (**Fig. 15 et 16**). Pour compléter nos résultats, il faudrait également suivre la dynamique saisonnière des lipides stockés, qui constituent une part importante des réserves du Pin. Cependant, plusieurs études ont déjà montré que la dynamique saisonnière des réserves lipidiques chez les pins n'est pas très marquée (Fischer & Höll, 1992, Hoch et al., 2003).

En plus des conditions hivernales, le Pin est également très sensible au climat et au DHS estivaux. Cette forte sensibilité est enregistrée par les deux proxys étudiés aux deux échelles de temps considérées. A l'échelle interannuelle, elle s'étend de mai jusqu'à août, concernant le climat, et de juin jusqu'à septembre, concernant l'intensité du DHS. L'approche saisonnière révèle que cette influence climatique est due à une fin de croissance particulièrement tardive chez le Pin comparée à celle des feuillus. Le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne des pins apparaît comme un très bon indicateur des variations saisonnières des conditions hydriques, (notamment atmosphériques via le VPD et édaphiques), et ce, même dans des gammes de faibles valeurs d'augmentation de VPD comme durant l'année 2009. Ce résultat est cohérent avec les mesures d'échanges gazeux de Zweifel et al. (2009) qui ont effectivement montré une fermeture des stomates beaucoup plus conséquente chez les pins que chez les feuillus lorsque le VPD augmente.

Les proxys mesurés dans les cernes et les deux échelles de temps sont donc complémentaires pour les trois espèces. Mais, essayons ici de retenir l'avantage de chaque proxy et de l'échelle temporelle associée en regard des autres. Les mesures des largeurs de cerne à l'échelle interannuelle révèlent les arrières-effets du climat sur la croissance. Les mesures de $\delta^{13}\text{C}$ à l'échelle interannuelle semblent, elles, d'avantage nous informer sur la sensibilité de la phénologie foliaire notamment sur les effets des températures printanières (feuillus) ou hivernales (Pin). A l'échelle saisonnière, le suivi de la croissance par micro-carottes est essentiel pour nous renseigner sur la vitesse de croissance et le calendrier de la mise en place du cerne pour chaque espèce. Enfin, le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne, est un bon indicateur de l'utilisation du carbone interne de l'arbre pour la croissance, en réserves ou en assimilats nouvellement synthétisés.

De plus, les études sur les cernes doivent être complétées par des mesures écophysiologicals, comme :

- la réponse des échanges gazeux foliaires aux variations climatiques (mesures de l'assimilation du CO_2 , de la conductance stomatique et de la respiration) ;

- la caractérisation de la dynamique de gestion interne du carbone notamment via le dosage des réserves carbonées dans les différents compartiments de l'arbre (amidon, sucres solubles et pour les conifères également les lipides) ainsi que des assimilats véhiculés par le phloème et le xylème ;
- la quantification et la localisation des discriminations post-photosynthétiques par rapport au ^{13}C , à l'échelle de l'arbre, en mesurant en parallèle le $\delta^{13}\text{C}$ des assimilats foliaires, des sucres véhiculés par le phloème, des réserves et du CO_2 respiré par les différents organes.

2. Méthodologies utilisées pour l'étude saisonnière

Dans cette partie, nous allons tout d'abord discuter de l'apport éventuel des micro-carottes pour suivre la croissance saisonnière comparé aux dendromètres. Ensuite, nous nous sommes demandé s'il valait mieux mesurer le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne sur la cellulose ou sur la matière organique totale au vu de nos résultats.

2.1. L'utilisation des micro-carottes

Pour suivre la croissance saisonnière, la préparation des micro-carottes est une méthodologie beaucoup plus lourde techniquement que les relevés dendrométriques. En effet, après extraction des micro-carottes, il faut plusieurs étapes pour obtenir des sections colorées prêtes à être observées au microscope. De plus, l'échantillonnage hebdomadaire peut altérer la croissance à terme, s'il est réalisé sur plusieurs années par exemple. Les observations sur les micro-carottes sont cependant essentielles pour déterminer précisément (à la semaine près dans notre cas) le début et l'arrêt de la croissance saisonnière sur chaque arbre. L'installation des dendromètres est, elle, rapide et leurs relevés permet de mesurer l'accroissement en circonférence à pas de temps fin (jusqu'à intervalles de 15 minutes). Cependant, les dendromètres mesurent l'accroissement de deux tissus en plus du xylème : le phloème et l'écorce. Nous avons montré que les mesures dendrométriques sur les chênes et les pins étaient très sensibles aux pluies et à l'humidité dues aux effets hydratation/déhydratation de leur écorce épaisse. Ainsi, les dendromètres ne mesurent pas seulement la croissance cellulaire et peuvent masquer les évènements de croissance.

Pour les hêtres et les pins, la dynamique de croissance issus des dendromètres et des micro-carottes étant similaires (fonction de Gompertz), des micro-carottes pourraient être prélevées uniquement au début et à la fin de la saison pour préciser la phénologie de croissance. En revanche, pour les chênes, les dendromètres et les micro-carottes montrent des mesures de dynamiques de croissance différentes. Nos résultats sur les micro-carottes ont montré deux dynamiques de croissance différentes du bois initial et du bois final séparées par une période de transition (fonction double sigmoïde) contrairement aux dendromètres (fonction de Gompertz). Ainsi, pour accéder à la

dynamique de croissance du cerne pour le Chêne, il est préférable de mesurer la dynamique saisonnière à l'aide des micro-carottes. De plus, l'échantillonnage de ces dernières doit commencer plusieurs semaines avant le débourrement pour pouvoir observer la reprise exacte de l'activité cambiale.

Les micro-carottes offrent également des perspectives au niveau du suivi des proxys anatomiques, qui sont de plus en plus utilisés aussi bien à l'échelle saisonnière que interannuelle pour comprendre la réponse des arbres au climat (Fonti et al., 2010). Ainsi, cette méthodologie permet notamment de suivre l'évolution de :

- la largeur et de la structure du phloème qui semblent être reliées au dépérissement des arbres (Gricar et al., 2009) ;
- l'élargissement des vaisseaux pour les bois à zone poreuse, qui est peut être modifié en réponse à la sécheresse saisonnière, ce qui peut avoir des implications dans la circulation hydraulique dans le tronc (Eilmann et al., 2009) ;
- ou encore la progression fine de la lignification, qui permet la maturation cellulaire et peut entraîner des différences dans le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes puisque la lignine est appauvrie en ^{13}C .

2.2. Matière organique ou cellulose pour le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne ?

Depuis que Wilson et Grinsted (1977) ont montré que les composants du bois (cellulose, lignine) ont des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ différentes, les analyses isotopiques se sont majoritairement développées sur la cellulose plutôt que sur la matière organique totale (MOT) des cernes. Chez les végétaux, la lignine et la cellulose sont en moyenne respectivement appauvrie de 3.2 ‰ et enrichie de 1.3 ‰ par rapport à la MOT (Badeck et al., 2005). La composition du bois et la proportion cellulose/lignine peuvent varier sur de longues échelles de temps du fait d'une dégradation plus rapide de la cellulose par rapport à la lignine (Spiker & Hatcher, 1987). Cette dégradation peut donc entraîner des différences de $\delta^{13}\text{C}$ du bois total sur les anciennes chronologies utilisées surtout par les paléoclimatologues.

A l'échelle saisonnière, de nombreuses études montrent qu'il n'y a pas de différences de dynamique saisonnière entre le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne mesuré sur la MOT et celui mesuré sur la cellulose (e.g. Warren et al., 2001, Helle & Schleser, 2004, Skomarkova et al., 2006). Par conséquent, il serait plus pratique d'analyser le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne sur la MOT plutôt que sur la cellulose, ceci principalement: (1) pour éviter la perte de matière et la complication méthodologique dues à l'extraction de la cellulose sur des lamelles de cernes qui sont déjà très petites ; (2) pour détecter des discriminations apparentes directement entre les sucres utilisés pour la croissance, véhiculés par le phloème, et la MOT du cerne formée à partir de ces sucres (qui est donc la MOT dans son ensemble et non la cellulose seule).

Cependant, Helle et Schleser (2004) soulignent que l'écart de valeurs entre le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne de la MOT et celui de la cellulose ($\delta^{13}\text{C}_{\text{MOT-cell}}$) peut varier d'une année à l'autre. De plus, leurs résultats sur le Hêtre montrent qu'en 1995, l'écart $\delta^{13}\text{C}_{\text{MOT-cell}}$ diminue progressivement au cours de l'année et remonte seulement à la fin de la saison de croissance. Nous avons calculé l'écart $\delta^{13}\text{C}_{\text{MOT-cell}}$ mesuré sur un arbre par espèce (**Fig. 17**). Pour cela, nous avons moyenné les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{MOT}}$ et $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ sur les périodes considérées (6 à 7 périodes dans l'année) et calculé les différences $\delta^{13}\text{C}_{\text{MOT-cell}}$ sur ces périodes. Même si la tendance saisonnière est proche entre $\delta^{13}\text{C}_{\text{MOT}}$ et $\delta^{13}\text{C}_{\text{cell}}$ dans notre étude, l'écart $\delta^{13}\text{C}_{\text{MOT-cell}}$ n'est pas constant au cours de la saison. Si les écarts ne varient pas beaucoup chez le Hêtre, cet écart est plus variable chez le Pin et a une tendance marquée chez le Chêne. Chez ce dernier l'écart diminue d'environ 1 ‰ entre avril et juin avant de se stabiliser autour de -1.3 ‰ en fin de saison. Pour le Chêne, nous pouvons penser que le dépôt de lignine est plus faible autour des vaisseaux de bois initial ce qui pourrait aboutir à diminuer l'écart $\delta^{13}\text{C}_{\text{MOT-cell}}$ et que ce dépôt augmente progressivement jusqu'en juin. Cette interprétation pourrait sembler être en contradiction avec les résultats d'Eglin et al. (2008) qui ne montrent pas de variations de composition biochimique au sein du cerne. En fait, cette précédente étude n'a pas considéré isolément les parties du bois initial du cerne (mais uniquement les parties du cerne construites à partir du mois de juin). Il serait intéressant de réussir à faire des analyses biochimiques sur de très faibles quantités afin de détecter des variations spatiales de la composition à des échelles plus fines qu'actuellement.

Ainsi, il n'est pas systématiquement nécessaire d'extraire la cellulose pour analyser le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne, le choix entre analyse de la MOT ou de la cellulose dépend donc des objectifs de l'étude.

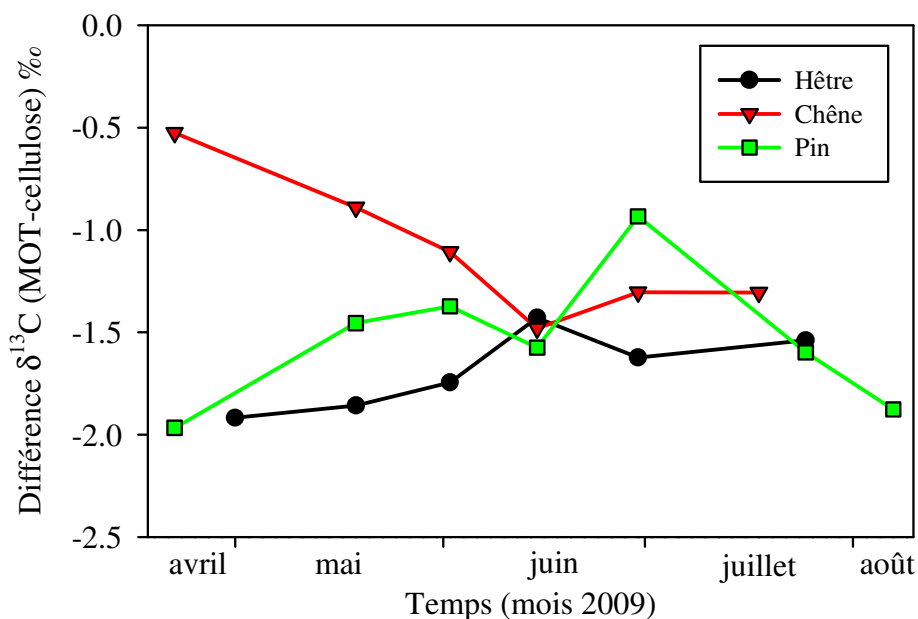


Figure 17. Evolution des écarts entre le $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne de la matière organique totale et celui de la cellulose en 2009 pour un hêtre, un chêne et un pin.

3. La vulnérabilité des espèces aux changements climatiques

Dans le contexte du réchauffement climatique et de l'augmentation de la fréquence et de l'intensité des sécheresses (en hiver : + 2 à 2.5°C et + 5 à 10 % de précipitations ; en été : + 3.5 à 4.0°C et - 20 à 30 % de précipitations, valeurs prévues en 2080-2099 à partir des moyennes de 1980-1999, cf. **introduction**), nos résultats permettent de mettre en évidence la vulnérabilité de chaque espèce. La croissance radiale du Hêtre est très sensible aux sécheresses estivales mais aussi très réactive d'une année à l'autre, ce qui permet généralement au Hêtre de recouvrer une bonne croissance après une année sèche (ex : 1975 après 1974). Cependant, l'augmentation de la fréquence des sécheresses pourrait empêcher ces reprises interannuelles de croissance et ainsi entraîner des dépérissements du Hêtre, réduisant son aire de répartition. Néanmoins, le réchauffement climatique avance aussi la date de débourrement et accélère le développement foliaire (Cleland et al., 2007). La croissance du Hêtre, particulièrement dépendante du fonctionnement foliaire, pourrait aussi bénéficier de ce changement, comme ce fût le cas en 2007. D'ailleurs, même si en 2055, les modèles prédisent une réduction d'aire de répartition en France, les modèles phénologiques sont ceux qui prédisent une disparition moins importante du Hêtre (Cheaib et al., in prep.). Mais comme nous le verrons dans la prochaine partie, le Hêtre semble être en limite d'aire de répartition à Fontainebleau et des dépérissements sont déjà constatés sur les parcelles à faible réserve utile comme la parcelle B12.

Concernant le Chêne, en plus de l'influence des sécheresses estivales de l'année, nous avons mis en évidence les arrières-effets climatiques des sécheresses automnales et hivernales sur sa croissance. Les changements climatiques pourraient diminuer la quantité de réserves stockées chaque année par les chênes et entraîner un dépérissement progressif. A Fontainebleau, sur la chênaie O3, les résultats montrent d'ailleurs une diminution quasi-constante de la croissance du cerne total depuis la sécheresse de 1996. En 2009, nous avons également pu remarquer un début de dépérissement en observant une légère transparence et des rameaux sans feuille dans les houppiers de la parcelle O4.

Pour les pins, le réchauffement climatique pourrait favoriser la photosynthèse hivernale si les précipitations ne diminuent pas. De plus, la longueur de sa saison de croissance pourrait être un avantage par rapport aux feuillus. Cependant, cette étude a nettement montré la forte sensibilité du Pin aux sécheresses mêmes modérées, probablement via la régulation de la conductance stomatique lors de l'augmentation du VPD. Par conséquent, avec l'augmentation des températures et la diminution des précipitations estivales, l'aire du Pin sylvestre pourrait considérablement se réduire dans les plaines françaises comme récemment montré par Cheaib et al. (in prep.) par modélisation.

Pour compléter les informations fonctionnelles sur la vulnérabilité des espèces aux changements climatiques fournies par les cernes, de nombreux autres proxys pourraient être mesurés, comme par exemple :

- l'infra-densité des cernes, qui apportent des informations notamment sur la vitesse de formation du cerne et les sécheresses (e.g. Bouriaud et al., 2005, Skomarkova et al., 2006) ;
- la largeur des vaisseaux, qui renseigne sur la conductivité hydraulique et la plasticité des arbres à la sécheresse (e.g. Ponton et al., 2001, Eilmann et al., 2009) ;
- le $\delta^{18}\text{O}$ des cernes, qui est fortement relié aux variations climatiques et notamment à la température et qui est utilisé pour les reconstitutions paléoclimatologiques (e.g. McCarroll & Loader, 2004, Etien et al., 2009). Les analyses du $\delta^{18}\text{O}$ des cernes de 1960 à 2007 sont d'ailleurs en cours et réalisées par le LSCE, en collaboration, pour compléter nos données dendro-isotopiques sur les trois essences à Fontainebleau. Dans les études paléoclimatiques, les proxys sont d'ailleurs souvent associés pour reconstruire le mieux possible les variations climatiques.

4. Le dépérissement

En forêt de Fontainebleau, le dépérissement est observé depuis la fin des années 90 et le début des années 2000 sur les feuillus et surtout sur les hêtres (Defour, ONF, com. pers.). Ce dépérissement n'est pas dû à une attaque pathogène et serait sans doute d'origine climatique. Dans notre étude, la parcelle B12 présentait des zones où les hêtres étaient dépérissants. Afin de mieux comprendre les processus impliqués dans le dépérissement des arbres, nous avons comparé deux lots d'arbres sur la hêtraie B12. Nous avons choisi 5 arbres sains (que nous avons étudiés lors de l'approche saisonnière au cours de cette thèse) et 5 arbres dépérissants, d'après l'état de leur houppier (Nagelesein, 1996). Sur les 5 hêtres dépérissants, nous avons réalisé les mêmes expérimentations saisonnières en 2009 que sur les trois espèces. Il s'agit du suivi de la croissance saisonnière et de la phénologie foliaire (cf. **partie II**), du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne et des sucres de la sève phloémienne (cf. **partie III.2**) ainsi que du suivi des teneurs en glucides du xylème dans le tronc (cf. **Fig. 15 et 16**). Les premiers résultats montrent des différences importantes dans la croissance saisonnière des hêtres dépérissants comparés aux hêtres sains, c'est-à-dire : un taux de croissance plus faible en circonférence (**Fig. 18**), un début de croissance plus tardive, une fin de croissance plus précoce et par conséquent une durée de croissance réduite d'un mois et demi (**Tab. 6**). Ainsi les arbres dépérissants sont caractérisés par une plus faible durée de croissance et une largeur de cerne plus petite.

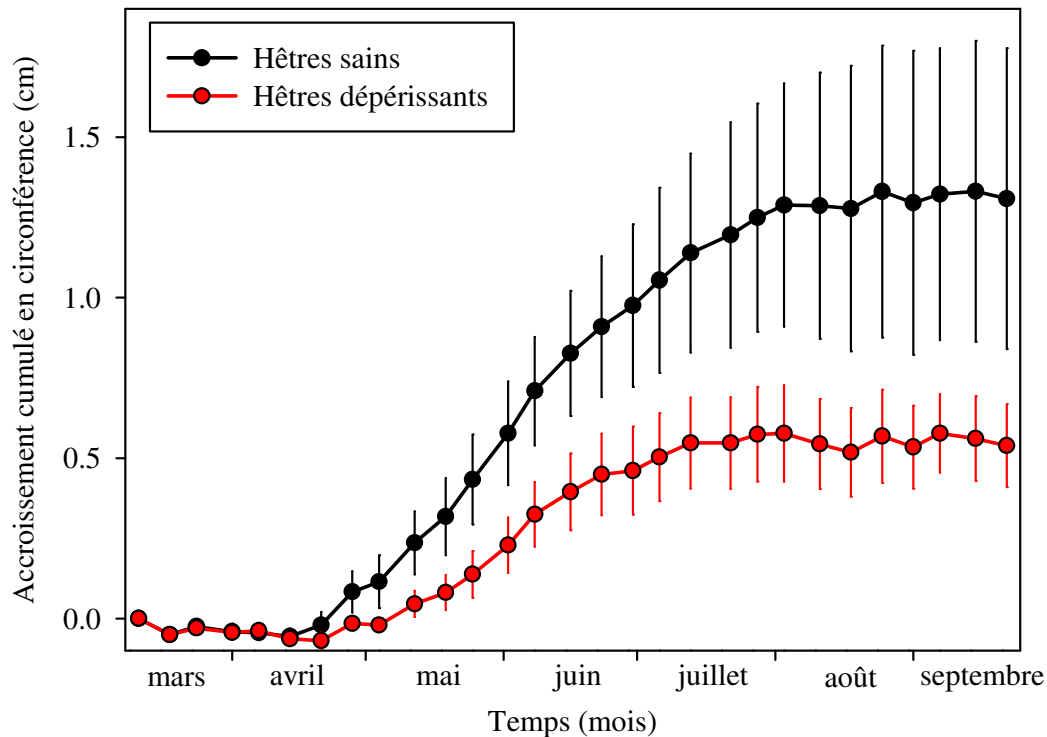


Figure 18. Moyenne de l'accroissement cumulé en circonférence mesuré par les dendromètres sur 5 hêtres sains et 5 hêtres dépérissants de la parcelle B12 en 2009. Les barres d'erreurs représentent \pm l'écart-type.

Tableau 6. Moyenne des variables phénologiques et des variables isotopiques mesurées sur 5 hêtres sains et 5 hêtres dépérissants en 2009 (\pm ET). Les variables phénologiques de croissance sont issues des observations sur des micro-carottes. Les variables isotopiques sont la moyenne et l'amplitude mesurées sur le $\delta^{13}\text{C}$ de la cellulose du cerne et le $\delta^{13}\text{C}$ de la sève phloémienne. Les lettres indiquent des différences significatives à 5 % entre les valeurs moyennes des sains et celles des dépérissants (t -test).

		Hêtres sains	Hêtres dépérissants
Variables phénologiques (jour julien)	Débourrement	109 \pm 5 a	112 \pm 5 a
	Début de croissance	112 \pm 8 a	124 \pm 8 b
	Fin de croissance	224 \pm 14 a	192 \pm 6 b
	Durée de croissance	112 \pm 17 a	68 \pm 14 b
$\delta^{13}\text{C}$ de la cellulose du cerne (‰)	Moyenne	-25.3 \pm 0.6 a	-26.6 \pm 1.0 b
	Amplitude	1.4 \pm 0.4 a	1.2 \pm 0.5 a
$\delta^{13}\text{C}$ de la sève phloémienne (‰)	Moyenne	-26.2 \pm 0.6 a	-26.9 \pm 0.7 a
	Amplitude	1.7 \pm 0.5 a	1.9 \pm 0.7 a

D'après notre étude, le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes semble aussi être un indicateur du dépérissement puisqu'il est significativement plus faible de 1.3 ‰ sur les hêtres dépérissants comparé aux hêtres sains. Le $\delta^{13}\text{C}$ de la sève phloémienne des dépérissants est aussi plus faible que celui des sains mais la différence n'est pas significative. Si pour le Hêtre, le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes est relié à W_g de la canopée, comme nous l'avons montré pour le bois final des chênes (Michelot et al., 2011), les hêtres dépérissants présenteraient donc une plus faible W_g . Ainsi les arbres les plus vulnérables dans le contexte des changements climatiques, seraient ceux qui ont une plus faible W_g actuellement. L'étude

de la croissance interannuelle, réalisée sur la même parcelle B12 par Daniel E Silva (2010) montre que le décrochage de croissance annuelle entre sains et dépérissants n'est pas récent mais qu'il commence en fait dès la sécheresse de 1959 et que les différences de croissance entre sains et dépérissements augmentent à chaque sécheresse (1976 et 1996) puis perdurent. La dendrochronologie permet donc d'identifier le dépérissement bien avant de le constater via l'état des houppiers.

La plus faible W_g des hêtres dépérissants aurait pu favoriser leurs entrées de carbone avant leur dépérissement. Ces arbres sont d'ailleurs effectivement ceux qui avaient une meilleure croissance annuelle au jeune âge (de 1910 à 1959, E Silva, 2010). Ces différences de W_g pourraient être liées à des différences génotypiques et/ou des variations spatiales de conditions hydriques. Les résultats obtenus par E Silva (2010), montrent en effet que les arbres dépérissants sont ceux qui poussent sur les sols les moins profonds ayant donc une moins forte réserve utile en eau. Il semblerait alors que la régulation de la conductance stomatique, visible via le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes, soit un facteur clé de la survie des hêtres face aux changements climatiques et aux contraintes hydriques. Il serait intéressant d'analyser les variations interannuelles de $\delta^{13}\text{C}$ des cernes pour voir si le signal des hêtres dépérissants comparé aux hêtres sains est plus faible depuis longtemps. A l'échelle saisonnière, il serait intéressant d'étudier la dynamique saisonnière du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne lors des années de fortes sécheresses (ex : 1996, 2003) et/ou de fortes températures pour voir si elle diffère entre les arbres dépérissants et les arbres sains. Une difficulté sera cependant que les patterns du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne ne pourront pas être recalés temporellement sans les mesures de la croissance saisonnière.

Enfin, nos récents résultats montrent que contrairement à ce qui est attendu, le dépérissement ne semble pas entraîner une diminution des réserves carbonées dans le tronc (**Fig. 15**). Ceci peut être spécifique au Hêtre, qui, comme nous l'avons vu, utilise peu de réserves dans les cernes pour sa croissance. La proportion de sucres solubles sur les glucides totaux (amidon et sucres solubles) semble légèrement plus forte chez les hêtres dépérissants que chez les hêtres sains (45 vs 33 %, respectivement). Tout un ensemble de données obtenues sur les hêtres dépérissants (non présentées ici) sera analysé par la suite et fera l'objet d'une future publication.

Conclusion générale

A travers cette thèse, nous avons mis en évidence une sensibilité de la croissance et du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes des trois essences aux sécheresses estivales. Grâce à la complémentarité des proxys et des échelles temporelles, nous avons également trouvé des réponses climatiques contrastées entre espèces. La croissance du Hêtre est la plus réactive au climat d'une année à l'autre. Cette croissance, ainsi que le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes, sont fortement sensibles aux températures maximales de juillet, en plus des précipitations printanières et estivales. Cette réponse immédiate au climat peut être expliquée par une forte dépendance de la croissance au fonctionnement foliaire et une faible utilisation des réserves

carbonées pour assurer le début de la croissance radiale saisonnière. Le Chêne, contrairement aux deux autres espèces, présente des arrières-effets climatiques sur sa croissance, via une forte sensibilité aux sécheresses de l'automne précédent. Ce résultat est à mettre en relation avec l'utilisation importante de réserves carbonées par rapport aux assimilats pour la croissance du bois initial, croissance qui est très rapide, comme nous l'avons observée grâce à l'analyse saisonnière de la croissance. Concernant le Pin, la croissance, parce qu'elle dure plus longtemps que celle des décidues, est influencée par les températures et les précipitations du mois de juin jusqu'au mois d'août. Contrairement aux feuillus, la croissance et le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes de Pin sont également sensibles aux températures hivernales qui peuvent influencer l'activité photosynthétique des conifères pendant l'hiver. Enfin, le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes de Pin est celui qui enregistre le plus la réponse au VPD, aussi bien à l'échelle saisonnière que interannuelle, probablement du fait d'une forte sensibilité de la conductance stomatique à ce paramètre.

La sensibilité de chaque espèce, détectée ici via les cernes, reflète en fait leurs réponses fonctionnelles aux contraintes climatiques. L'approche interannuelle permet de déterminer, comme nous l'avons montré, à quelles variables climatiques (températures, précipitation, VPD) ou bioclimatique (déficit hydrique du sol), les espèces répondent le plus en termes de croissance et de $\delta^{13}\text{C}$ des cernes. L'approche saisonnière permet de mieux comprendre comment ces deux proxys climatiques (largeur et $\delta^{13}\text{C}$ des cernes) enregistrent les réponses fonctionnelles des arbres. Ces réponses peuvent être des adaptations (au sens large) des espèces aux contraintes climatiques, comme par exemple la fermeture des stomates lors d'une sécheresse, qui limite les pertes en eau et entraîne une augmentation du $\delta^{13}\text{C}$ dans les cernes. La vulnérabilité de l'espèce sera davantage détectée par les baisses de croissance face aux contraintes climatiques et édaphiques qui, si elles deviennent très fortes et/ou fréquentes, vont alors nettement diminuer les entrées de carbone de l'arbre et avoir des conséquences sur la survie des individus. Dans ce cas, comme pour le Hêtre à Fontainebleau, des dépérissements, plus ou moins progressifs, peuvent se mettre en place. Le $\delta^{13}\text{C}$ des cernes indique davantage les réponses fonctionnelles des arbres face aux variations climatiques, notamment à l'échelle foliaire. Chez les feuillus par exemple, contrairement à la croissance radiale, le $\delta^{13}\text{C}$ interannuel est très sensible aux températures printanières qui peuvent favoriser le développement et la maturation rapide des feuilles.

D'un point de vue méthodologique, l'étude des cernes est très intéressante car elle fournit des informations variées, chronologiques et rétrospectives de ces réponses fonctionnelles. Cependant, pour interpréter au mieux les indications enregistrées par les cernes, il est indispensable de mener en parallèle des études sur l'écophysiole des espèces, comme : la réponse des échanges gazeux foliaires aux variations climatiques, la caractérisation de la dynamique de gestion interne du carbone ou la quantification et la localisation des discriminations post-photosynthétiques par rapport au ^{13}C à l'échelle de l'arbre. Par ailleurs, il serait intéressant d'étudier d'autres proxys dans les cernes, comme

le $\delta^{18}\text{O}$, l'infradensité ou encore la taille des vaisseaux, afin de compléter les informations déjà obtenues dans cette thèse sur les trois espèces. Les dynamiques saisonnières et interannuelles de croissance et de $\delta^{13}\text{C}$ obtenues chez les trois essences permettront de développer des modèles mécanistes, notamment ceux du laboratoire ESE (e.g. Dufrêne et al., 2005 pour le modèle CASTANEA, Eglin et al. 2010 pour le modèle ISOCASTANEA, résumé en **annexe 4**) et de les valider à différentes échelles de temps. La prise en considération des arrières-effets climatiques dans le modèle CASTANEA permet d'améliorer la prédiction de l'aire de répartition future des espèces, notamment celles que nous avons étudiées (Cheaib et al., in prep.). L'étude fonctionnelle des dépérissements liés au climat, que nous avons amorcée à Fontainebleau, permettra également d'affiner les prédictions de la disparition des espèces dans certaines régions. Elle renseignera ainsi sur les besoins d'anticiper les changements d'aire de répartition dans la gestion des plantations forestières.

Références

1. Anderson W.T., Bernasconi S.M., McKenzie J.A. & Saurer M. (1998) Oxygen and carbon isotopic record of climatic variability in tree ring cellulose (*Picea abies*): An example from central Switzerland (1913-1995). *Journal of Geophysical Research-Atmospheres*, **103**, 31625-31636.
2. Andreu L., Gutierrez E., Macias M., Ribas M., Bosch O. & Camarero J.J. (2007) Climate increases regional tree-growth variability in Iberian pine forests. *Global Change Biology*, **13**, 804-815.
3. Aranda I., Gil L. & Pardos J.A. (2005) Seasonal changes in apparent hydraulic conductance and their implications for water use of European beech (*Fagus sylvatica* L.) and sessile oak [*Quercus petraea* (Matt.) Liebl] in South Europe. *Plant Ecology*, **179**, 155-167.
4. Aubinet M., Clement R., Elberts J.A., Foken T., Grelle A., Ibrom A., . . . Rebmann C. (2003) Methodology for data acquisition, storage and treatment in: fluxes of carbon, water and energy of European forests. In: *Ecological studies*, pp. 9-33. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
5. Badeau V., Bréda N. & Landmann G. (1997) La récente crise de vitalité du hêtre en plaine semble largement liée aux déficits hydriques. In: *La Santé des forêts, France 1996, Les Cahiers du D.S.F.*, pp. 60-63. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche.
6. Badeck F.W., Tcherkez G., Nogués S., Piel C. & Ghashghaie J. (2005) Post-photosynthetic fractionation of stable carbon isotopes between plant organs - a widespread phenomenon. *Rapid communications in mass spectrometry*, **19**, 1381-1391.
7. Ball J.T., Woodrow I.E. & Berry J.A. (1987) A model predicting stomatal conductance and its contribution to the control of photosynthesis under different environmental conditions. *Progress in photosynthesis research*, **4**, 221-224.
8. Barbaroux C. (2002) Analyse et modélisation des flux de carbone de peuplements forestiers pour la compréhension de la croissance de deux espèces feuillues *Quercus petraea* et *Fagus sylvatica*, Université Paris-sud 11, pp. 183 + annexes.
9. Barbaroux C. & Bréda N. (2002) Contrasting distribution and seasonal dynamics of carbohydrate reserves in stem wood of adult ring-porous sessile oak and diffuse-porous beech trees. *Tree Physiology*, **22**, 1201-1210.
10. Barbour M.M., Walcroft A.S. & Farquhar G.D. (2002) Seasonal variation in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ of cellulose from growth rings of *Pinus radiata*. *Plant Cell and Environment*, **25**, 1483-1499.
11. Becker M., Nieminen T.M. & Gérémia F. (1994) Short-term variations and long-term changes in oak productivity in northeastern France. The role of climate and atmospheric CO_2 . *Annals of Forest Science*, **51**, 477-492.
12. Begum S., Nakaba S., Oribe Y., Kubo T. & Funada R. (2007) Induction of cambial reactivation by localized heating in a deciduous hardwood hybrid poplar (*Populus sieboldii* x *P. grandidentata*). *Annals of Botany*, **100**, 439-447.
13. Benner R., Fogel M.L., Sprague E.K. & Hodson R.E. (1987) Depletion of $\delta^{13}\text{C}$ in lignin and its implications for stable carbon isotope studies. *Nature*, **329**, 708-710.
14. Bigler C., Braker O.U., Bugmann H., Dobbertin M. & Rigling A. (2006) Drought as an inciting mortality factor in Scots pine stands of the Valais, Switzerland. *Ecosystems*, **9**, 330-343.
15. Biondi F. & Waikul K. (2004) DENDROCLIM2002: A C++ program for statistical calibration of climate signals in tree-ring chronologies. *Computers & Geosciences*, **30**, 303-311.
16. Bond-Lamberty B., Wang C. & Gower S.T. (2003) The use of multiple measurement techniques to refine estimates of conifer needle geometry. *Canadian Journal of Forest Research*, **33**, 101-105.
17. Bouriaud O., Bréda N., Le Moguédec G. & Nepveu G. (2004) Modelling variability of wood density in beech as affected by ring age, radial growth and climate. *Trees-Structure and Function*, **18**, 264-276.
18. Bouriaud O., Leban J.-M., Bert D. & Deleuze C. (2005) Intra-annual variations in climate influence growth and wood density of Norway spruce. *Tree Physiology*, **25**, 651-660.
19. Brandes E., Kodama N., Whittaker K., Weston C., Rennenberg H., Keitel C., . . . Gessler A. (2006) Short-term variation in the isotopic composition of organic matter allocated from the leaves to the stem of *Pinus sylvestris*: effects of photosynthetic and postphotosynthetic carbon isotope fractionation. *Global Change Biology*, **12**, 1922-1939.
20. Bréda N. & Badeau V. (2008) Forest tree responses to extreme drought and some biotic events: Towards a selection according to hazard tolerance? *Comptes Rendus Geoscience*, **340**, 651-662.

21. Bréda N. & Granier A. (1996) Intra- and interannual variations of transpiration, leaf area index and radial growth of a sessile oak stand (*Quercus petraea*). *Annals of Forest Science*, **53**, 521-536.
22. Bréda N., Huc R., Granier A. & Dreyer E. (2006) Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. *Annals of Forest Science*, **63**, 625-644.
23. Brugnoli E., Hubick K.T., Caemmerer S.v., Wong S.C. & Farquhar G.D. (1988) Correlation between the carbon isotope discrimination in leaf starch and sugars of C₃-plants and the ratio of intercellular and atmospheric partial pressures of carbon dioxide. *Plant Physiology*, **88**, 1418-1424.
24. Cernusak L.A., Arthur D.J., Pate J.S. & Farquhar G.D. (2003) Water relations link carbon and oxygen isotope discrimination to phloem sap sugar concentration in *Eucalyptus globulus*. *Plant Physiology*, **131**, 1544-1554.
25. Cernusak L.A., Farquhar G.D. & Pate J.S. (2005) Environmental and physiological controls over oxygen and carbon isotope composition of *Tasmanian blue gum*, *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiology*, **25**, 129-146.
26. Cheaib A., Badeau V., Boe J., Chuine I., Delire C., Dufrière E., . . . Leadley P. (in prep.) Climate change induced shifts in tree ranges: how model inter-comparison facilitates understanding and quantification of uncertainty.
27. Cheng C. & Gordon I.L. (2000) The Richards function and quantitative analysis of germination and dormancy in meadowfoam (*Limnanthes alba*). *Seed Science Research*, **10**, 265-277.
28. Christensen J.H., Hewitson B., Busuioc A., Chen A., Gao X., Held I., . . . Whetton P. (2007) Regional Climate Projections. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (ed S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor and H.L. Miller), pp. 849-940. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
29. Chuine I. (2000) A unified model for budburst of trees. *Journal of Theoretical Biology*, **207**, 337-347.
30. Ciais P., Reichstein M., Viovy N., Granier A., Ogée J., Allard V., . . . Valentini R. (2005) Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. *Nature*, **437**, 529-533.
31. Cleland E.E., Chuine I., Menzel A., Mooney H.A. & Schwartz M.D. (2007) Shifting plant phenology in response to global change. *Trends in Ecology & Evolution*, **22**, 357-365.
32. Cochard H. (1992) Vulnerability of several conifers to air-embolism. *Tree Physiology*, **11**, 73-83.
33. Cochard H., Bréda N., Granier A. & Aussenac G. (1992) Vulnerability to air embolism of three European oak species (*Quercus petraea* (Matt) Liebl, *Q. pubescens* Willd, *Q. robur* L.). *Annals of Forest Science*, **49**, 225-233.
34. Cochard H., Lemoine D., Améglio T. & Granier A. (2001) Mechanisms of xylem recovery from winter embolism in *Fagus sylvatica*. *Tree Physiology*, **21**, 27-33.
35. Cook E.R. (1985) A time series analysis approach to tree-ring standardization, University of Arizona, pp. 171.
36. Cook E.R. & Peters K. (1981) The smoothing spline: a new approach to standardizing forest interior tree-ring width series for dendroclimatic studies. *Tree-ring bulletin*, **41**, 45-53.
37. Cufar K., Prislán P. & Gricar J. (2008) Cambial activity and wood formation in Beech (*Fagus sylvatica*) during the 2006 growth season. *Wood Research*, **53**, 1-12.
38. Damesin C., Barbaroux C., Berveiller D., Lelarge C., Chaves M., Maguas C., . . . Pontailleur J.Y. (2005) The carbon isotope composition of CO₂ respired by trunks: comparison of four sampling methods. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **19**, 369-374.
39. Damesin C. & Lelarge C. (2003) Carbon isotope composition of current-year shoots from *Fagus sylvatica* in relation to growth, respiration and use of reserves. *Plant, Cell and Environment*, **26**, 207-219.
40. Damesin C., Rambal S. & Joffre R. (1997) Between-tree variations in leaf $\delta^{13}\text{C}$ of *Quercus pubescens* and *Quercus ilex* among Mediterranean habitats with different water availability. *Oecologia*, **111**, 26-35.

41. Dannoura M., Maillard P., Fresneau C., Plain C., Berveiller D., Gerant D., . . . Epron D. (2011) In situ assessment of the velocity of carbon transfer by tracing ^{13}C in trunk CO_2 efflux after pulse labelling: variations among tree species and seasons. *New Phytologist*, **190**, 181-192.
42. Daux V., Edouard J.L., Masson-Delmotte V., Stievenard M., Hoffmann G., Pierre M., . . . Guibal F. (in prep.) Can climate variations be inferred from tree-ring parameters and stable isotopes from *Larix decidua*? Juvenile effects, budmoth outbreaks, and divergence problem.
43. Davi H., Barbaroux C., Dufrêne E., Francois C., Montpied P., Bréda N. & Badeck F. (2008) Modelling leaf mass per area in forest canopy as affected by prevailing radiation conditions. *Ecological Modelling*, **211**, 339-349.
44. Davi H., Dufrêne E., Francois C., Le Maire G., Loustau D., Bosc A., . . . Moors E. (2006) Sensitivity of water and carbon fluxes to climate changes from 1960 to 2100 in European forest ecosystems. *Agricultural and Forest Meteorology*, **141**, 35-56.
45. Davi H., Dufrêne E., Granier A., Le Dantec V., Barbaroux C., Francois C. & Bréda N. (2005) Modelling carbon and water cycles in a beech forest Part II: Validation of the main processes from organ to stand scale. *Ecological Modelling*, **185**, 387-405.
46. Delpierre N., Soudani K., Francois C., Kostner B., Pontailier J.Y., Nikinmaa E., . . . Dufrêne E. (2009) Exceptional carbon uptake in European forests during the warm spring of 2007: a data-model analysis. *Global Change Biology*, **15**, 1455-1474.
47. Deslauriers A., Morin H. & Begin Y. (2003a) Cellular phenology of annual ring formation of *Abies balsamea* in the Quebec boreal forest (Canada). *Canadian Journal of Forest Research*, **33**, 190-200.
48. Deslauriers A., Morin H., Urbinati C. & Carrer M. (2003b) Daily weather response of balsam fir (*Abies balsamea* (L.) Mill.) stem radius increment from dendrometer analysis in the boreal forests of Quebec (Canada). *Trees-Structure and Function*, **17**, 477-484.
49. Deslauriers A., Rossi S., Anfodillo T. & Saracino A. (2008) Cambial phenology, wood formation and temperature thresholds in two contrasting years at high altitude in southern Italy. *Tree Physiology*, **28**, 863-871.
50. Dittmar C., Zech W. & Elling W. (2003) Growth variations of Common beech (*Fagus sylvatica* L.) under different climatic and environmental conditions in Europe - a dendroecological study. *Forest Ecology and Management*, **173**, 63-78.
51. Dolezal J., Mazurek P. & Klimesova J. (2010) Oak decline in southern Moravia: the association between climate change and early and late wood formation in oaks. *Preslia*, **82**, 289-306.
52. Douglass A.E. (1920) Evidence of climatic effects in the annual rings of trees. *Ecology*, **1**, 24-32.
53. Dufrêne E. & Bréda N. (1995) Estimation of deciduous forest Leaf-Area Index using direct and indirect methods. *Oecologia*, **104**, 156-162.
54. Dufrêne E., Davi H., Francois C., Le Maire G., Le Dantec V. & Granier A. (2005) Modelling carbon and water cycles in a beech forest. Part I: Model description and uncertainty analysis on modelled NEE. *Ecological Modelling*, **185**, 407-436.
55. Dupouey J.L., Leavitt S., Choisnel E. & Jourdain S. (1993) Modeling carbon isotope fractionation in tree-rings based upon effective evapotranspiration and soil-water status. *Plant Cell and Environment*, **16**, 939-947.
56. Duquesnay A., Bréda N., Stievenard M. & Dupouey J.L. (1998) Changes of tree-ring $\delta^{13}\text{C}$ and water-use efficiency of beech (*Fagus sylvatica* L.) in north-eastern France during the past century. *Plant, Cell and Environment*, **21**, 565-572.
57. Duranceau M., Ghashghaie J., Badeck F., Deleens E. & Cornic G. (1999) $\delta^{13}\text{C}$ of CO_2 respired in the dark in relation to $\delta^{13}\text{C}$ of leaf carbohydrates in *Phaseolus vulgaris* L. under progressive drought. *Plant, Cell and Environment*, **22**, 515-523.
58. E Silva D. (2010) Ecologie du hêtre (*Fagus sylvatica* L.) en marge sud-ouest de son aire de distribution., Université Henri Poincaré, pp. 196.
59. Eglin T., Francois C., Michelot A., Delpierre N. & Damesin C. (2010) Linking intra-seasonal variations in climate and tree-ring $\delta^{13}\text{C}$: A functional modelling approach. *Ecological Modelling*, **221**, 1779-1797.
60. Eglin T., Fresneau C., Lelarge-Trouverie C., Francois C. & Damesin C. (2009) Leaf and twig $\delta^{13}\text{C}$ during growth in relation to biochemical composition and respired CO_2 . *Tree Physiology*, **29**, 777-788.

61. Eglin T., Maunoury-Danger F., Fresneau C., Lelarge C., Pollet B., Lapiere C., . . . Damesin C. (2008) Biochemical composition is not the main factor influencing variability in carbon isotope composition of tree rings. *Tree Physiology*, **28**, 1619-1628.
62. Eilmann B., Buchmann N., Siegwolf R., Saurer M., Cherubini P. & Rigling A. (2010) Fast response of Scots pine to improved water availability reflected in tree-ring width and $\delta^{13}\text{C}$. *Plant Cell and Environment*, **33**, 1351-1360.
63. Eilmann B., Zweifel R., Buchmann N., Fonti P. & Rigling A. (2009) Drought-induced adaptation of the xylem in Scots pine and pubescent oak. *Tree Physiology*, **29**, 1011-1020.
64. Etien N. (2008) Variabilité climatique récente en France : l'apport des isotopes de la cellulose du bois final des chênes de Fontainebleau, Université Paris 6, pp. 211 + annexes.
65. Etien N., Daux V., Masson-Delmotte V., Mestre O., Stievenard M., Guillemain M., . . . Perraud P. (2009) Summer maximum temperature in northern France over the past century: instrumental data versus multiple proxies (tree-ring isotopes, grape harvest dates and forest fires). *Climatic Change*, **94**, 429-456.
66. FAO (2007) State of the World's Forests 2007. Food and Agriculture Organization of the United Nations. pp. 144.
67. Farquhar G.D., Caemmerer S.v. & Berry J.A. (1980) A Biochemical-model of photosynthetic CO_2 assimilation in leaves of C-3 species. *Planta*, **149**, 78-90.
68. Farquhar G.D., Ehleringer J.R. & Hubick K.T. (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **40**, 503-537.
69. Farquhar G.D., O'Leary M.H. & Berry J.A. (1982) On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology*, **9**, 121-137.
70. Farquhar G.D. & Richards R.A. (1984) Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes. *Australian Journal of Plant Physiology*, **11**, 539-552.
71. Fischer C. & Höll W. (1992) Food reserves of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) II. Seasonal changes and radial distribution of carbohydrate and fat reserves in pine wood. *Trees - Structure and Function*, **6**, 147-155.
72. Flexas J., Ribas-Carbo M., Diaz-Espejo A., Galmes J. & Medrano H. (2008) Mesophyll conductance to CO_2 : current knowledge and future prospects. *Plant Cell and Environment*, **31**, 602-621.
73. Fonti P., Solomonoff N. & Garcia-Gonzalez I. (2007) Earlywood vessels of *Castanea sativa* record temperature before their formation. *New Phytologist*, **173**, 562-570.
74. Fonti P., von Arx G., Garcia-Gonzalez I., Eilmann B., Sass-Klaassen U., Gartner H. & Eckstein D. (2010) Studying global change through investigation of the plastic responses of xylem anatomy in tree rings. *New Phytologist*, **185**, 42-53.
75. Forster T., Schweingruber F.H. & Denneler B. (2000) Increment puncher - A tool for extracting small cores of wood and bark from living trees. *Iawa Journal*, **21**, 169-180.
76. Foster J.R. & Leblanc D.C. (1993) A physiological approach to dendroclimatic modeling of Oak radial growth in the Midwestern United-States. *Canadian Journal of Forest Research*, **23**, 783-798.
77. Frankenstein C., Eckstein D. & Schmitt U. (2005) The onset of cambium activity - A matter of agreement? *Dendrochronologia*, **23**, 57-62.
78. Freyer H.D. & Belacy N. (1983) $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ records in Northern Hemispheric trees during the past 500 years: anthropogenic impact and climatic superpositions. *Journal of Geophysical Research-Oceans and Atmospheres*, **88**, 6844-6852.
79. Fritts H.C. (1976) Tree-ring and climate, pp. 567. Academic press, New-York.
80. Gessler A., Brandes E., Buchmann N., Helle G., Rennenberg H. & Barnard R.L. (2009) Tracing carbon and oxygen isotope signals from newly assimilated sugars in the leaves to the tree-ring archive. *Plant Cell and Environment*, **32**, 780-795.
81. Gessler A., Keitel C., Kodama N., Weston C., Winters A.J., Keith H., . . . Farquhar G.D. (2007a) $\delta^{13}\text{C}$ of organic matter transported from the leaves to the roots in *Eucalyptus delegatensis*: short-term variations and relation to respired CO_2 . *Functional Plant Biology*, **34**, 692-706.

82. Gessler A., Keitel C., Kreuzwieser J., Matyssek R., Seiler W. & Rennenberg H. (2007b) Potential risks for European beech (*Fagus sylvatica* L.) in a changing climate. *Trees - Structure and Function*, **21**, 1-11.
83. Gessler A., Rennenberg H. & Keitel C. (2004) Stable isotope composition of organic compounds transported in the phloem of European beech - Evaluation of different methods of phloem sap collection and assessment of gradients in carbon isotope composition during leaf-to-stem transport. *Plant Biology*, **6**, 721-729.
84. Ghashghaie J., Tcherkez G., Cornic G. & Deleens E. (2001) Utilisation de la spectrométrie de masse isotopique en physiologie végétale. *Ecole thématique Biologie Végétale*, 97-104.
85. Granier A. (1985) Une nouvelle méthode pour la mesure du flux de sève dans le tronc des arbres. *Annals of Forest Science*, **42**, 193-200.
86. Granier A. (1987) Mesure de flux de sève brute dans le tronc du Douglas par une nouvelle méthode thermique. *Annals of Forest Science*, **44**, 1-14.
87. Granier A., Bréda N., Biron P. & Villette S. (1999) A lumped water balance model to evaluate duration and intensity of drought constraints in forest stands. *Ecological Modelling*, **116**, 269-283.
88. Granier A., Reichstein M., Bréda N., Janssens I.A., Falge E., Ciais P., . . . Wang Q. (2007) Evidence for soil water control on carbon and water dynamics in European forests during the extremely dry year: 2003. *Agricultural and Forest Meteorology*, **143**, 123-145.
89. Green J.W. (1963) Wood cellulose. In: *Methods in carbohydrate chemistry* (eds R.L. Whistler & J.W. Green), pp. 9-21, Academic, New York.
90. Gricar J. (2010) Xylem and phloem formation in Sessile oak from Slovenia in 2007. *Wood Research*, **55**, 15-22.
91. Gricar J., Krze L. & Cufar K. (2009) Number of cells in xylem, phloem and dormant cambium in Silver fir (*Abies alba*), in trees of different vitality. *Iawa Journal*, **30**, 121-133.
92. Griffiths H. (1992) Carbon isotope discrimination and the integration of carbon assimilation pathways in terrestrial cam plants. *Plant Cell and Environment*, **15**, 1051-1062.
93. Guehl J.-M. (1985) Etude comparée des potentialités hivernales d'assimilation carbonée de trois conifères de la zone tempérée (*Pseudotsuga menziesii* Mirb, *Abies alba* Mill et *Picea excelsa* Link). *Annals of Forest Science*, **42**, 23-38.
94. Guehl J.-M., Fort C. & Ferhi A. (1995) Differential response of leaf conductance, carbon isotope discrimination and water-use efficiency to nitrogen deficiency in maritime pine and pedunculate oak plants. *New Phytologist*, **131**, 149-157.
95. Guiot J. (1991) The bootstrapped response function. *Tree-ring bulletin*, **51**, 39-41.
96. Hacke U. & Sauter J.J. (1996) Xylem dysfunction during winter and recovery of hydraulic conductivity in diffuse-porous and ring-porous trees. *Oecologia*, **105**, 435-439.
97. Helle G. & Schleser G.H. (2004) Beyond CO₂-fixation by Rubisco - an interpretation of ¹³C/¹²C variations in tree rings from novel intra-seasonal studies on broad-leaf trees. *Plant, Cell & Environment*, **27**, 367-380.
98. Hemming D.L., Switsur V.R., Waterhouse J.S., Heaton T.H.E. & Carter A.H.C. (1998) Climate variation and the stable carbon isotope composition of tree ring cellulose: an intercomparison of *Quercus robur*, *Fagus sylvatica* and *Pinus silvestris*. *Tellus Series B-Chemical and Physical Meteorology*, **50**, 25-33.
99. Hoch G., Richter A. & Körner C. (2003) Non-structural carbon compounds in temperate forest trees. *Plant Cell and Environment*, **26**, 1067-1081.
100. Holmes R.L. (1994) Dendrochronology program library user's manual. Laboratory of Tree-Ring Research. University of Arizona, Tucson.
101. I.F.N. (2008) La Forêt en chiffres et en cartes, pp. 28.
102. IPCC (2007) Climate change 2007: Synthesis report. Cambridge University Press, pp. 52.
103. IUSS Working Group (2007) World Reference Base for Soil Resources 2006. FAO, pp. 145.
104. Jany J.-L., Martin F. & Garbaye J. (2003) Respiration activity of ectomycorrhizas from *Cenococcum geophilum* and *Lactarius* sp. in relation to soil water potential in five beech forests. *Plant and Soil*, **255**, 487-494.

105. Kagawa A., Sugimoto A. & Maximov T.C. (2006) Seasonal course of translocation, storage and remobilization of ^{13}C pulse-labeled photoassimilate in naturally growing *Larix gmelinii* saplings. *New Phytologist*, **171**, 793-804.
106. Keel S.G., Siegwolf R.T.W., Jaggi M. & Korner C. (2007) Rapid mixing between old and new C pools in the canopy of mature forest trees. *Plant Cell and Environment*, **30**, 963-972.
107. Keitel C., Adams M.A., Holst T., Matzarakis A., Mayer H., Rennenberg H. & Gessler A. (2003) Carbon and oxygen isotope composition of organic compounds in the phloem sap provides a short-term measure for stomatal conductance of European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Plant Cell and Environment*, **26**, 1157-1168.
108. Klein T., Hemming D., Lin T.B., Grunzweig J.M., Maseyk K., Rotenberg E. & Yakir D. (2005) Association between tree-ring and needle $\delta^{13}\text{C}$ and leaf gas exchange in *Pinus halepensis* under semi-arid conditions. *Oecologia*, **144**, 45-54.
109. Korol R.L., Kirschbaum M.U.F., Farquhar G.D. & Jeffreys M. (1999) Effects of water status and soil fertility on the C-isotope signature in *Pinus radiata*. *Tree Physiology*, **19**, 551-562.
110. Lacoite A., Kajji A., Daudet F.A., Archer P. & Frossard J.S. (1993) Mobilization of carbon reserves in young walnut trees. *Acta Botanica Gallica*, **140**, 435-441.
111. Le Dantec V. (2000) Modélisation des échanges carbonés et hydriques dans un écosystème forestier : un modèle couplé sol-plante., Université paris-sud 11, pp. 183 + annexes.
112. Le Dantec V., Dufrêne E. & Saugier B. (2000) Interannual and spatial variation in maximum leaf area index of temperate deciduous stands. *Forest Ecology and Management*, **134**, 71-81.
113. Le Maire G. (2005) Détermination du bilan de carbone de la forêt de Fontainebleau : apport de la télédétection pour la spatialisation des paramètres d'entrée, Université Paris-sud 11, pp. 201 + annexes.
114. Le Roux X., Bariac T., Sinoquet H., Genty B., Piel C., Mariotti A., . . . Richard P. (2001) Spatial distribution of leaf water-use efficiency and carbon isotope discrimination within an isolated tree crown. *Plant Cell and Environment*, **24**, 1021-1032.
115. Leavitt S.W. (1993) Seasonal $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ changes in tree rings - Species and site coherence, and a possible drought influence. *Canadian Journal of Forest Research*, **23**, 210-218.
116. Leavitt S.W. (2002) Prospects for reconstruction of seasonal environment from tree-ring $\delta^{13}\text{C}$: baseline findings from the Great Lakes area, USA. *Chemical Geology*, **192**, 47-58.
117. Leavitt S.W. (2010) Tree-ring C-H-O isotope variability and sampling. *Science of the Total Environment*, **408**, 5244-5253.
118. Leavitt S.W. & Danzer S.R. (1993) Method for batch processing small wood samples to holocellulose for stable-carbon isotope analysis. *Analytical Chemistry*, **65**, 87-89.
119. Leavitt S.W. & Long A. (1986) Stable-carbon isotope variability in tree foliage and wood. *Ecology*, **67**, 1002-1010.
120. Leavitt S.W. & Long A. (1991) Seasonal stable-carbon isotope variability in tree-rings-possible paleoenvironmental signals. *Chemical Geology*, **87**, 59-70.
121. Leavitt S.W. & Newberry T. (1992) Systematics of stable-carbon isotopic differences between gymnosperm and angiosperm trees. *Plant Physiology*, **11**, 257-262.
122. Lebourgeois F. (2005) Approche dendroécologique de la sensibilité du Hêtre (*Fagus sylvatica* L.) au climat en France et en Europe. *Revue Forestiere Francaise*, **1**, 33-50.
123. Lebourgeois F. (2006) Sensibilité au climat des Chênes sessile et pédonculé dans le réseau RENECOFOR. Comparaison avec les hêtraies. *Revue Forestiere Francaise*, **58**, 29-44.
124. Lebourgeois F., Bréda N., Ulrich E. & Granier A. (2005) Climate-tree-growth relationships of European beech (*Fagus sylvatica* L.) in the French Permanent Plot Network (RENECOFOR). *Trees-Structure and Function*, **19**, 385-401.
125. Lebourgeois F., Differt J., Granier A., Bréda N. & Ulrich E. (2002) Premières observations phénologiques des peuplements du réseau national de suivi à long terme des écosystèmes forestiers (RENECOFOR). *Revue Forestiere Francaise*, **54**, 407-418.
126. Lebourgeois F., Rathgeber C.B.K. & Ulrich E. (2010) Sensitivity of French temperate coniferous forests to climate variability and extreme events (*Abies alba*, *Picea abies* and *Pinus sylvestris*). *Journal of Vegetation Science*, **21**, 364-376.

127. Levanic T., Gricar J., Gagen M., Jalkanen R., Loader N.J., McCarroll D., . . . Robertson I. (2009) The climate sensitivity of Norway spruce *Picea abies* (L.) Karst. in the southeastern European Alps. *Trees-Structure and Function*, **23**, 169-180.
128. Linares J.C., Camarero J.J. & Carreira J.A. (2009) Plastic responses of *Abies pinsapo* xylogenesis to drought and competition. *Tree Physiology*.
129. Lipp J. & Trimborn P. (1991) Long-term records and basic principles of tree-ring isotope data with emphasis on local environmental conditions. *Paläoklimaforschung*, **6**, 105-117.
130. Liu X., Shao X., Liang E., Zhao L., Chen T., Qin D. & Ren J. (2007) Species-dependent responses of juniper and spruce to increasing CO₂ concentration and to climate in semi-arid and arid areas of northwestern China. *Plant Ecology*, **193**, 195-209.
131. Liu Y., Wu Z.D., Leavitt S.W. & Hughes M.K. (1996) Stable carbon isotope in tree rings from Huangling, China and climatic variation. *Science in China Series D-Earth Sciences*, **39**, 152-161.
132. Livingston N.J., Whitehead D., Kelliher F.M., Wang Y.P., Grace J.C., Walcroft A.S., . . . Millard P. (1998) Nitrogen allocation and carbon isotope fractionation in relation to intercepted radiation and position in a young *Pinus radiata* D. Don tree. *Plant Cell and Environment*, **21**, 795-803.
133. Loader N.J. & Switsur V.R. (1996) Reconstructing past environmental change using stable isotopes in tree-rings. *Botanical Journal of Scotland*, **48**, 65-78.
134. Loader N.J., Switsur V.R. & Field E.M. (1995) High-resolution stable isotope analysis of tree rings: Implications of "microdendroclimatology" for paleoenvironmental research. *Holocene*, **5**, 457-460.
135. Loustau D., Bosc A., Colin A., Ogée J., Davi H., Francois C., . . . Delage F. (2005) Modeling climate change effects on the potential production of French plains forests at the sub-regional level. *Tree Physiology*, **25**, 813-823.
136. Lupi C., Morin H., Deslauriers A. & Rossi S. (2010) Xylem phenology and wood production: resolving the chicken-or-egg dilemma. *Plant Cell and Environment*, **33**, 1721-1730.
137. Makinen H., Nojd P. & Saranpaa P. (2003) Seasonal changes in stem radius and production of new tracheids in Norway spruce. *Tree Physiology*, **23**, 959-968.
138. Makinen H., Seo J.W., Nojd P., Schmitt U. & Jalkanen R. (2008) Seasonal dynamics of wood formation: a comparison between pinning, microcoring and dendrometer measurements. *European Journal of Forest Research*, **127**, 235-245.
139. Martín-Benito D., Del Río M., Heinrich I., Helle G. & Cañellas I. (2010) Response of climate-growth relationships and water use efficiency to thinning in a *Pinus nigra* afforestation. *Forest Ecology and Management*, **259**, 967-975.
140. Martinez-Vilalta J., Vanderklein D. & Mencuccini M. (2007) Tree height and age-related decline in growth in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Oecologia*, **150**, 529-544.
141. Maunoury-Danger F., Fresneau C., Eglin T., Berveiller D., Francois C., Lelarge-Trouverie C. & Damesin C. (2010) Impact of carbohydrate supply on stem growth, wood and respired CO₂ δ¹³C: assessment by experimental girdling. *Tree Physiology*, **30**, 818-830.
142. Maunoury F., Berveiller D., Lelarge C., Pontailler J.-Y., Vanbostal L. & Damesin C. (2007) Seasonal, daily and diurnal variations in the stable carbon isotope composition of carbon dioxide respired by tree trunks in a deciduous oak forest. *Oecologia*, **151**, 268-279.
143. McCarroll D. & Loader N.J. (2004) Stable isotopes in tree rings. *Quaternary Science Reviews*, **23**, 771-801.
144. McCarroll D. & Pawellek F. (1998) Stable carbon isotope ratios of latewood cellulose in *Pinus sylvestris* from northern Finland: variability and signal-strength. *Holocene*, **8**, 675-684.
145. Meinzer F.C., Rundel P.W., Goldstein G. & Sharifi M.R. (1992) Carbon isotope composition in relation to leaf gas exchange and environmental conditions in Hawaiian *Metrosideros polymorpha* populations. *Oecologia*, **91**, 305-311.
146. Mérian P. & Lebourgeois F. (2011) Size-mediated climate-growth relationships in temperate forests: A multi-species analysis. *Forest Ecology and Management*, **261**, 1382-1391.
147. Michelot A., Bréda N., Damesin C. & Dufrêne E. (submitted) Differing growth responses to climatic variations and soil water deficits of *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* and *Pinus sylvestris* in a temperate forest.

148. Michelot A., Eglin T., Dufrêne E., Lelarge-Trouverie C. & Damesin C. (2011) Comparison of seasonal variations in water-use efficiency calculated from the carbon isotope composition of tree rings and flux data in a temperate forest. *Plant Cell and Environment*, **34**, 230-244.
149. Michelot A., Simard S., Rathgeber C.B.K., Dufrêne E. & Damesin C. (in prep.) Comparing the seasonal wood formation of three European species (*Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* and *Pinus sylvestris*) in a temperate forest.
150. Monteith J.-L. (1965) Evaporation and environment. In : The state and movement of water in living organisms, XIX TII Symposium of the Society for Experimental biology. *Cambridge University Press, New-York*, 205-233.
151. Morgan J.A., Lecain D.R., McCaig T.N. & Quick J.S. (1993) Gas-exchange, carbon isotope discrimination, and productivity in winter-wheat. *Crop Science*, **33**, 178-186.
152. Nagelesein L.-M. (1996) Méthode d'évaluation du houppier (protocole DEPEFEU). Département de Santé des Forêts - Echelon technique nord-est, pp. 11.
153. O'Leary M.H. (1981) Carbon isotope fractionation in plants. *Phytochemistry*, **20**, 553-567.
154. O'Leary M.H., Madhavan S. & Paneth P. (1992) Physical and chemical basis of carbon isotope fractionation in plants. *Plant, Cell & Environment*, **15**, 1099-1104.
155. Ogée J., Barbour M.M., Wingate L., Bert D., Bosc A., Stievenard M., . . . Dewar R.C. (2009) A single-substrate model to interpret intra-annual stable isotope signals in tree-ring cellulose. *Plant Cell and Environment*, **32**, 1071-1090.
156. Ogle N. & McCormac F.G. (1994) High-resolution $\delta^{13}\text{C}$ measurements of oak show a previously unobserved spring depletion. *Geophysical Research Letters*, **21**, 2373-2375.
157. Oribe Y., Funada R., Shibagaki M. & Kubo T. (2001) Cambial reactivation in locally heated stems of the evergreen conifer *Abies sachalinensis* (Schmidt) masters. *Planta*, **212**, 684-691.
158. Osmond C.B., Winter K. & Ziegler Z. (1982) Functional significance of different pathways of CO_2 fixation in photosynthesis In: *Encyclopedia of Plant Physiology*, pp. 479-547, Springer-Verlag, New-York.
159. Panek J.A. & Waring R.H. (1997) Stable carbon isotopes as indicators of limitations to forest growth imposed by climate stress. *Ecological Applications*, **7**, 854-863.
160. Papale D., Reichstein M., Aubinet M., Canfora E., Bernhofer C., Kutsch W., . . . Yakir D. (2006) Towards a standardized processing of Net Ecosystem Exchange measured with eddy covariance technique: algorithms and uncertainty estimation. *Biogeosciences*, **3**, 571-583.
161. Pate J. & Arthur D. (1998) $\delta^{13}\text{C}$ analysis of phloem sap carbon: novel means of evaluating seasonal water stress and interpreting carbon isotope signatures of foliage and trunk wood of *Eucalyptus globulus*. *Oecologia*, **117**, 301-311.
162. Penman H.L. (1948) Natural evaporation from open water, bare soil and grass. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences*, **193**, 120-145.
163. Pignard G. & Dupouey J.L. (2002) Les flux de carbone dans les forêts françaises et européennes : apport des inventaires forestiers. *Comptes rendus de l'Académie d'Agriculture de France*, **88**, 5-17.
164. Ponton S., Dupouey J.L., Bréda N., Feuillat F., Bodenes C. & Dreyer E. (2001) Carbon isotope discrimination and wood anatomy variations in mixed stands of *Quercus robur* and *Quercus petraea*. *Plant, Cell & Environment*, **24**, 861-868.
165. Ponton S., Flanagan L.B., Alstad K.P., Johnson B.G., Morgenstern K., Kljun N., . . . Barr A.G. (2006) Comparison of ecosystem water-use efficiency among Douglas-fir forest, aspen forest and grassland using eddy covariance and carbon isotope techniques. *Global Change Biology*, **12**, 294-310.
166. Porte A. & Loustau D. (2001) Seasonal and interannual variations in carbon isotope discrimination in a maritime pine (*Pinus pinaster*) stand assessed from the isotopic composition of cellulose in annual rings. *Tree Physiology*, **21**, 861-868.
167. Pumpanen J.S., Heinonsalo J., Rasilo T., Hurme K.R. & Ilvesniemi H. (2009) Carbon balance and allocation of assimilated CO_2 in Scots pine, Norway spruce, and Silver birch seedlings determined with gas exchange measurements and ^{14}C pulse labelling. *Trees-Structure and Function*, **23**, 611-621.
168. Raffalli-Delerce G., Masson-Delmotte V., Dupouey J.L., Stievenard M., Bréda N. & Moisselin J.M. (2004) Reconstruction of summer droughts using tree-ring cellulose isotopes: a

- calibration study with living oaks from Brittany (western France). *Tellus Series B-Chemical and Physical Meteorology*, **56**, 160-174.
169. Rameau J.C., Mansion D., Dumé G., Timbal J., Lecoite A., Dupont P. & Keller R. (1989) Flore forestière française (guide écologique illustré), tome 1 : Plaines et collines, pp. 1785. Institut pour le développement forestier.
170. Rascher K.G., Maguas C. & Werner C. (2010) On the use of phloem sap $\delta^{13}\text{C}$ as an indicator of canopy carbon discrimination. *Tree Physiology*, **30**, 1499-1514.
171. Rathgeber C.B.K., Longuetaud F., Mothe F., Cuny H. & Le Moguédec G. (in press-a) Phenology of wood formation: Data processing, analysis and visualisation using R (package CAVIAR). *Dendrochronologia*.
172. Rathgeber C.B.K., Rossi S. & Bontemps J.-D. (in press-b) Tree size influences cambial activity in a mature silver fir plantation. *Annals of Botany*.
173. Reich P.B. & Oleksyn J. (2008) Climate warming will reduce growth and survival of Scots pine except in the far north. *Ecology Letters*, **11**, 588-597.
174. Reichstein M., Ciais P., Papale D., Valentini R., Running S., Viovy N., . . . Zhao M. (2007) Reduction of ecosystem productivity and respiration during the European summer 2003 climate anomaly: a joint flux tower, remote sensing and modelling analysis. *Global Change Biology*, **13**, 634-651.
175. Reichstein M., Falge E., Baldocchi D., Papale D., Aubinet M., Berbigier P., . . . Valentini R. (2005) On the separation of net ecosystem exchange into assimilation and ecosystem respiration: review and improved algorithm. *Global Change Biology*, **11**, 1424-1439.
176. Rennenberg H., Schneider S. & Weber P. (1996) Analysis of uptake and allocation of nitrogen and sulphur compounds by trees in the field. *Journal of Experimental Botany*, **47**, 1491-1498.
177. Rigling A., Braker O., Schneiter G. & Schweingruber F. (2002) Intra-annual tree-ring parameters indicating differences in drought stress of *Pinus sylvestris* forests within the Erico-Pinion in the Valais (Switzerland). *Plant Ecology*, **163**, 105-121.
178. Rigling A., Waldner P.O., Forster T., BraSker O.U. & Pouttu A. (2001) Ecological interpretation of tree-ring width and intraannual density fluctuations in *Pinus sylvestris* on dry sites in the central Alps and Siberia. *Canadian Journal of Forest Research*, **31**, 18-31.
179. Robert M. & Saugier B. (2003) Contribution of terrestrial ecosystems to carbon sequestration. *Comptes-rendus Geosciences*, **335**, 577-595.
180. Robin A.-M. (1993) Catalogue des principales stations forestières de la forêt de Fontainebleau. Université Pierre et Marie Curie, Paris 6 / ONF, pp. 371.
181. Rossi S., Anfodillo T. & Menardi R. (2006a) Trephor: A new tool for sampling microcores from tree stems. *Iawa Journal*, **27**, 89-97.
182. Rossi S., Deslauriers A. & Anfodillo T. (2006b) Assessment of cambial activity and xylogenesis by microsampling tree species: An example at the alpine timberline. *Iawa Journal*, **27**, 383-394.
183. Rossi S., Deslauriers A., Anfodillo T. & Carraro V. (2007) Evidence of threshold temperatures for xylogenesis in conifers at high altitudes. *Oecologia*, **152**, 1-12.
184. Rossi S., Deslauriers A., Anfodillo T., Morin H., Saracino A., Motta R. & Borghetti M. (2006c) Conifers in cold environments synchronize maximum growth rate of tree-ring formation with day length. *New Phytologist*, **170**, 301-310.
185. Rossi S., Deslauriers A. & Morin H. (2003) Application of the Gompertz equation for the study of xylem cell development. *Dendrochronologia*, **21**, 33-39.
186. Rossi S., Rathgeber C.B.K. & Deslauriers A. (2009) Comparing needle and shoot phenology with xylem development on three conifer species in Italy. *Annals of Forest Science*, **66**.
187. Rubino D.L. & McCarthy B.C. (2000) Dendroclimatological analysis of white oak (*Quercus alba* L., Fagaceae) from an old-growth forest of southeastern Ohio, USA. *Journal of the Torrey Botanical Society*, **127**, 240-250.
188. Sabine C.L., Heimann M., Artaxo P. & al. e. (2004) Current status and past trends of the global carbon cycle. In: *The Global Carbon Cycle: Integrating Humans, Climate and the Natural World* (eds C. Field & M. Raupach). Island Press, Washington.
189. Samuels A.L., Kaneda M. & Rensing K.H. (2006) The cell biology of wood formation: from cambial divisions to mature secondary xylem. *Canadian Journal of Botany*, **84**, 631-639.

190. Sarvas R. (1972) Investigations on the annual cycle of development of forest trees. I Active period. *Communicationes Instituti Forestalis Fenniae*, **76**, 1-110.
191. Sass-Klaassen U., Sabajo C.R. & den Ouden J. (2011) Vessel formation in relation to leaf phenology in pedunculate oak and European ash. *Dendrochronologia*, **29**, 171-175.
192. Saugier B. & Roy J. (2001) Estimations of global terrestrial productivity: converging towards a single number? In: *Global terrestrial productivity: past, present and future* (eds J. Roy, H.A. Mooney, & B. Saugier). Academic Press, New York.
193. Saurer M., Borella S., Schweingruber F. & Siegwolf R. (1997) Stable carbon isotopes in tree rings of beech: Climatic versus site-related influences. *Trees-Structure and Function*, **11**, 291-297.
194. Saurer M., Siegenthaler U. & Schweingruber F. (1995) The climate-carbon isotope relationship in tree-rings and the significance of site conditions. *Tellus Series B-Chemical and Physical Meteorology*, **47**, 320-330.
195. Saurer M., Siegwolf R.T.W. & Schweingruber F.H. (2004) Carbon isotope discrimination indicates improving water-use efficiency of trees in northern Eurasia over the last 100 years. *Global Change Biology*, **10**, 2109-2120.
196. Saxe H., Cannell M.G.R., Johnsen O., Ryan M.G. & Vourlitis G. (2001) Tree and forest functioning in response to global warming. *New Phytologist*, **149**, 369-399.
197. Saxton K.E., Rawls W.J., Romberger J.S. & Papendick R.I. (1986) Estimating generalized soil-water characteristics from texture. *Soil Science Society of America Journal*, **50**, 1031-1036.
198. Scartazza A., Mata C., Matteucci G., Yakir D., Moscatello S. & Brugnoli E. (2004) Comparisons of $\delta^{13}\text{C}$ of photosynthetic products and ecosystem respiratory CO_2 and their responses to seasonal climate variability. *Oecologia*, **140**, 340-351.
199. Schaber J. & Badeck F.W. (2003) Physiology-based phenology models for forest tree species in Germany. *International Journal of Biometeorology*, **47**, 193-201.
200. Schleser G.H. (1992) $\delta^{13}\text{C}$ pattern in a forest tree as an indicator of carbon transfer in trees. *Ecology*, **73**, 1922-1925.
201. Schmitt U., Jalkanen R. & Eckstein D. (2004) Cambium dynamics of *Pinus sylvestris* and *Betula* spp. in the northern boreal forest in Finland. *Silva Fennica*, **38**, 167-178.
202. Schmitt U., Moller R. & Eckstein D. (2000) Seasonal wood formation dynamics of beech (*Fagus sylvatica* L.) and black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) as determined by the "pinning" technique. *Journal of Applied Botany-Angewandte Botanik*, **74**, 10-16.
203. Schweingruber F.H. (1996) Tree Rings and Environment: Dendroecology, pp. 609. Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research, and Paul Haupt Verlag.
204. Seibt U., Rajabi A., Griffiths H. & Berry J.A. (2008) Carbon isotopes and water use efficiency: sense and sensitivity. *Oecologia*, **155**, 441-454.
205. Seo J.-W., Eckstein D., Jalkanen R., Rickebusch S. & Schmitt U. (2008) Estimating the onset of cambial activity in Scots pine in northern Finland by means of the heat-sum approach. *Tree Physiology*, **28**, 105-112.
206. Seo J.-W., Eckstein D., Jalkanen R. & Schmitt U. (in press) Climatic control of intra- and inter-annual wood-formation dynamics of Scots pine in northern Finland. *Environmental and Experimental Botany*.
207. Sheu D.D., Kou P., Chiu C.H. & Chen M.J. (1996) Variability of tree-ring $\delta^{13}\text{C}$ in Taiwan fir: Growth effect and response to May-October temperatures. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **60**, 171-177.
208. Skomarkova M.V., Vaganov E.A., Mund M., Knohl A., Linke P., Boerner A. & Schulze E.D. (2006) Inter-annual and seasonal variability of radial growth, wood density and carbon isotope ratios in tree rings of beech (*Fagus sylvatica*) growing in Germany and Italy. *Trees-Structure and Function*, **20**, 571-586.
209. Spiker E.C. & Hatcher P.G. (1987) The effects of early diagenesis on the chemical and stable carbon isotopic composition of wood. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **51**, 1385-1391.
210. Stenberg P., Linder S., Smolander H. & Flowerellis J. (1994) Performance of the LAI-2000 plant canopy analyzer in estimating Leaf-Area Index of some Scots pine stands. *Tree Physiology*, **14**, 981-995.

211. Stuiver M. & Braziunas T.F. (1987) Tree cellulose $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios and climatic change. *Nature*, **328**, 58-60.
212. Suzuki M., Yoda K. & Suzuki H. (1996) Phenological comparison of the onset of vessel formation between ring-porous and diffuse-porous deciduous trees in a Japanese temperate forest. *Iawa Journal*, **17**, 431-444.
213. Takahashi K. (1996) Plastic response of crown architecture to crowding in understory trees of two co-dominating conifers. *Annals of Botany*, **77**, 159-164.
214. Tcherkez G., Nogues S., Bleton J., Cornic G., Badeck F. & Ghashghaie J. (2003) Metabolic origin of carbon isotope composition of leaf dark-respired CO_2 in French bean. *Plant Physiology*, **131**, 237-244.
215. Terwilliger V.J., Kitajima K., Le Roux-Swarthout D.J., Mulkey S. & Wright S.J. (2001) Intrinsic water-use efficiency and heterotrophic investment in tropical leaf growth of two Neotropical pioneer tree species as estimated from $\delta^{13}\text{C}$ values. *New Phytologist*, **152**, 267-281.
216. Thimonier A., Dupouey J.L., Bost F. & Becker M. (1994) Simultaneous eutrophication and acidification of a forest ecosystem in Northeast France. *New Phytologist*, **126**, 533-539.
217. Treydte K., Frank D., Esper J., Andreu L., Bednarz Z., Berninger F., . . . Schleser G.H. (2007) Signal strength and climate calibration of a European tree-ring isotope network. *Geophysical Research Letters*, **34**.
218. Vaganov E.A., Schulze E.-D., Skomarkova M.V., Knohl A., Brand W.A. & Roscher C. (2009) Intra-annual variability of anatomical structure and $\delta^{13}\text{C}$ values within tree rings of spruce and pine in alpine, temperate and boreal Europe. *Oecologia*, **161**, 729-745.
219. van der Werf G.W., Sass-Klaassen U.G.W. & Mohren G.M.J. (2007) The impact of the 2003 summer drought on the intra-annual growth pattern of beech (*Fagus sylvatica* L.) and oak (*Quercus robur* L.) on a dry site in the Netherlands. *Dendrochronologia*, **25**, 103-112.
220. Vincke C., Bréda N., Granier A. & Devillez F. (2005) Evapotranspiration of a declining *Quercus robur* (L.) stand from 1999 to 2001. I. Trees and forest floor daily transpiration. *Annals of Forest Science*, **62**, 503-512.
221. Voltas J., Serrano L., Hernández M. & Pemán J. (2006) Carbon isotope discrimination, gas exchange and stem growth of four Euramerican hybrid poplars under different watering regimes. *New Forests*, **31**, 435-451.
222. Walcroft A.S., Silvester W.B., Whitehead D. & Kelliher F.M. (1997) Seasonal changes in stable carbon isotope ratios within annual rings of *Pinus radiata* reflect environmental regulation of growth processes. *Australian Journal of Plant Physiology*, **24**, 57-68.
223. Wang T., Zhang Q.B. & Ma K.P. (2006) Treeline dynamics in relation to climatic variability in the central Tianshan Mountains, northwestern China. *Global Ecology and Biogeography*, **15**, 406-415.
224. Warren C., McGrath J. & Adams M. (2001) Water availability and carbon isotope discrimination in conifers. *Oecologia*, **127**, 476-486.
225. Weber P., Bugmann H. & Rigling A. (2007) Radial growth responses to drought of *Pinus sylvestris* and *Quercus pubescens* in an inner-Alpine dry valley. *Journal of Vegetation Science*, **18**, 777-792.
226. Weiner J. (1984) Neighbourhood interference amongst *Pinus rigida* individuals. *Journal of Ecology*, **72**, 183-195.
227. Wigley T.M.L., Briffa K.R. & Jones P.D. (1984) On the average value of correlated time series, with applications in dendroclimatology and hydrometeorology. *Journal of Climate and Applied Meteorology*, **23**, 201-213.
228. Wilson A.T. & Grinsted M.J. (1977) $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ in cellulose and lignin as paleothermometers. *Nature*, **265**, 133-135.
229. Wingate L., Ogée J., Burrell R., Bosc A., Devaux M., Grace J., . . . Gessler A. (2010) Photosynthetic carbon isotope discrimination and its relationship to the carbon isotope signals of stem, soil and ecosystem respiration. *New Phytologist*, **188**, 576-589.
230. Wodzicki T.J. (1971) Mechanism of xylem differentiation in *Pinus sylvestris* L. *Journal of Experimental Botany*, **22**, 670-687.
231. Wolter K.E. (1968) A new method for marking xylem growth. *Forest Science*, **14**, 102-104.

-
232. Wullschleger S.D., Hanson P.J. & Todd D.E. (2001) Transpiration from a multi-species deciduous forest as estimated by xylem sap flow techniques. *Forest Ecology and Management*, **143**, 205-213.
233. Zahner R. & Stage A.R. (1966) A procedure for calculating daily moisture stress and its utility in regressions of tree growth on weather. *Ecology*, **47**, 64-74.
234. Zasada J.C. & Zahner R. (1969) Vessel element development in earlywood of red oak (*Quercus rubra*). *Canadian Journal of Botany*, **47**, 1965-1971.
235. Zweifel R. & Häsler R. (2000) Frost-induced reversible shrinkage of bark of mature subalpine conifers. *Agricultural and Forest Meteorology*, **102**, 213-222.
236. Zweifel R., Rigling A. & Dobbertin M. (2009) Species-specific stomatal response of trees to drought - a link to vegetation dynamics? *Journal of Vegetation Science*, **20**, 442-454.
237. Zweifel R., Zimmermann L. & Newbery D.M. (2005) Modeling tree water deficit from microclimate: an approach to quantifying drought stress. *Tree Physiology*, **25**, 147-156.
238. Zweifel R., Zimmermann L., Zeugin F. & Newbery D.M. (2006) Intra-annual radial growth and water relations of trees: implications towards a growth mechanism. *Journal of Experimental Botany*, **57**, 1445-1459.

Annexes

Annexe 1. Croissance interannuelle par parcelle

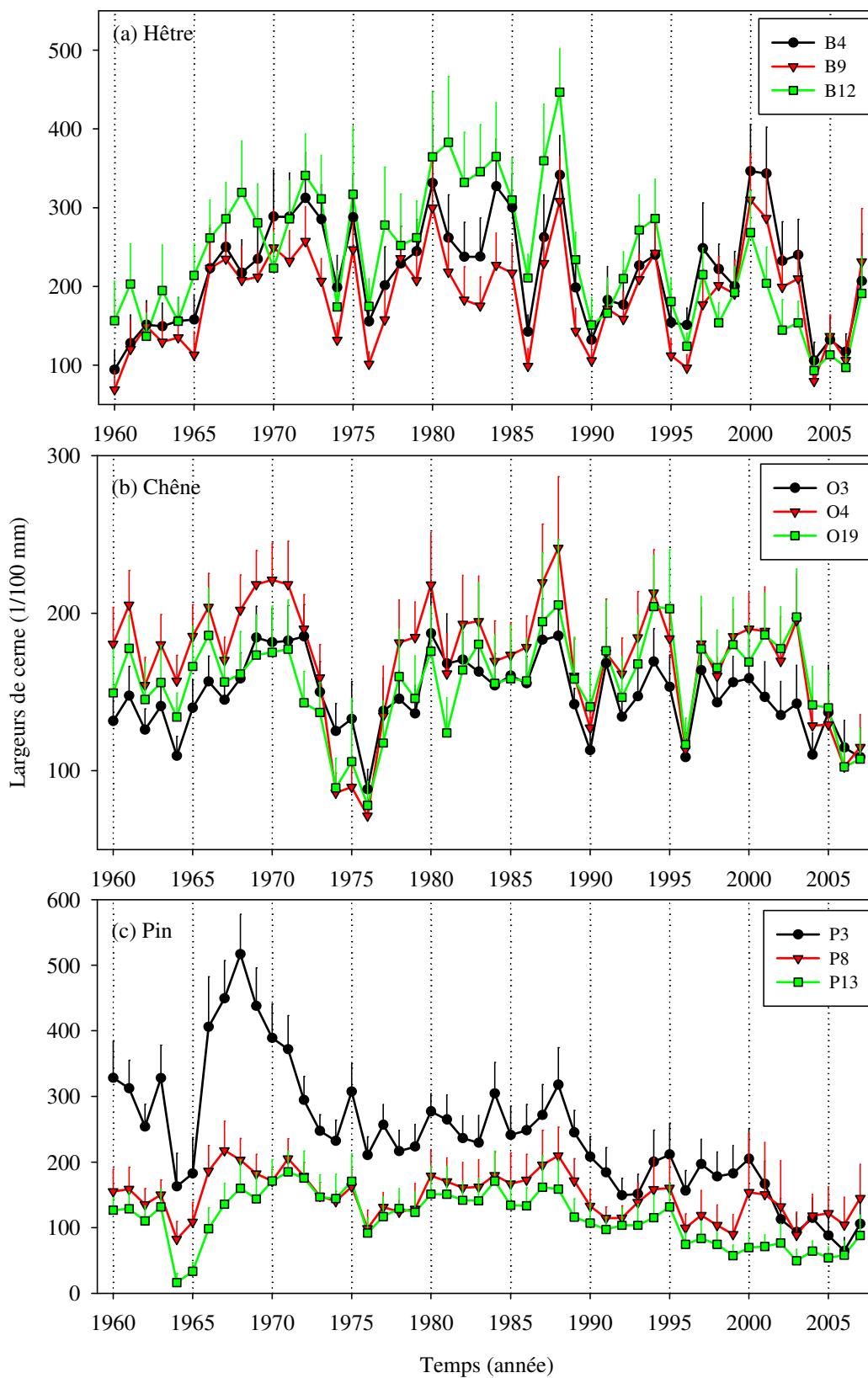


Figure A.1. Moyenne des variations interannuelles de largeurs de cerne par parcelle de Hêtre (a), Chêne (b) et Pin (c) de 1960 à 2007. Les barres d'erreurs représentent \pm l'écart-type. N = 15 arbres par parcelle pour les hêtraies et les chênaies, N = 14 arbres pour la parcelle P3, N = 13 pour P8 et pour P13.

Annexe 2. Méthode d'extraction de la cellulose au SOXLET

La méthode au SOXHLET a été utilisée pour extraire la cellulose- α à partir des poudres de bois pour l'analyse du $\delta^{13}\text{C}$ des cernes sur la période 1960-2007 (**Partie I.2**) et pour l'analyse du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne de l'année 2009 (**Partie III.2**) des trois essences. Cette méthode a été élaborée par Green (1963), modifiée par Leavitt & Danzer (1993) et utilisée par Etien et al. (2009). Nous avons fait toutes les extractions de cellulose au LSCE.

Méthode d'extraction de la cellulose au SOXHLET

1. Peser 10 à 100 mg de broyat de cernes et les placer dans un filtre Millipore de 47 mm de diamètre (pores de 10 μm).
2. Fermer en forme de sac avec du ruban de Téflon et y attacher le n° en Téflon.

Elimination des graisses et des résines

3. Mettre les sacs par 25 ou 30 (maxi) dans un soxhlet avec 40 mL de toluène et 20 mL d'éthanol.
4. Mettre dans chaque ballon 100 mL de toluène et 50 mL d'éthanol.
5. Mettre à chauffer les ballons à 70°C pendant 10 heures.
6. Vider les solvants puis mettre dans le soxhlet avec 50mL d'éthanol et 150 mL dans le ballon.
7. Mettre à chauffer les ballons à 70°C pendant 10 heures.

Elimination des molécules hydrosolubles (sels inorganiques, polysaccharides légers, quelques gommés et résines)

8. Mettre les échantillons (sans les sécher) dans un grand Erlenmeyer contenant 1 L d'eau permutée. Faire bouillir pendant 6h.

Elimination de la lignine

9. Dans un erlenmeyer de 1,5 L : mettre les échantillons + 700 mL d'eau permutée + 7 g de NaClO_2 + 1 mL d'acide acétique glacial. Chauffer à 70°C pendant une nuit sous la hotte aspirante avec un verre de montre sur l'erlenmeyer (dégagement de Cl_2).
10. Le matin : faire 3 ajouts successifs de 7g de NaClO_2 + 1 mL d'acide acétique glacial à 2 heures d'intervalle chacun.
11. Chauffer 3 à 4 heures après le dernier ajout.
12. Transvaser les échantillons dans un bécher d'eau permutée et placer ce bécher dans un bac à ultrasons pendant 30 minutes puis vider l'eau. Faire ainsi 7 à 8 rinçages.

Elimination des hémicelluloses :

13. Mettre les petits sacs dans de la soude à 17 % pendant 1 heure dans un flacon bien fermé. Agiter de temps en temps.
14. Rincer à l'eau permutée 6 fois 30 minutes aux ultrasons.
15. Plonger les sacs dans de l'acide acétique à 10 % pendant 10 minutes.
16. Rincer à nouveau les échantillons à l'eau permutée 8 fois aux ultrasons.
17. Mettre à l'étuve à 70°C pendant une nuit ou deux jours.

Annexe 3. Variabilité intra-arbre du $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne chez le Chêne

Des carottes ont été extraites en janvier 2008 sur un Chêne dominant en forêt de Barbeau. Ces carottes ont été prélevées dans différentes directions à 1.30 m et à différentes hauteurs dans le tronc. Les cernes 2006 et 2007 ont été découpés au microtome et le $\delta^{13}\text{C}$ de la matière organique totale de chaque lamelle a été analysée et replacée dans le temps (cf. la méthodologie détaillée dans Michelot et al., 2011). Les données de croissance utilisées pour recalibrer les patterns de $\delta^{13}\text{C}$ intra-cerne dans le temps ont été mesurées à 1.30 m sur deux autres chênes par des dendromètres automatiques.

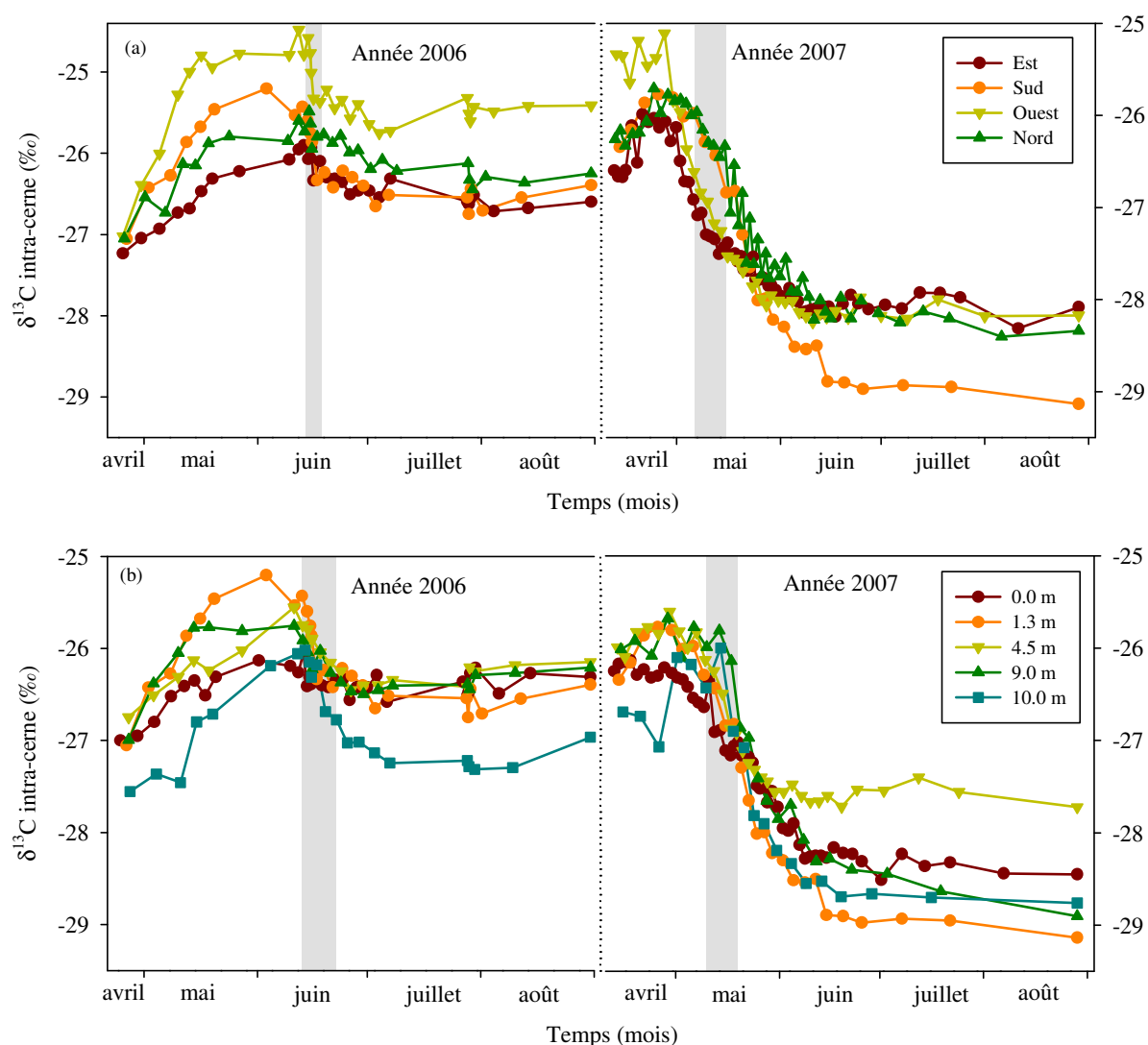


Figure A.2. Variations saisonnières du $\delta^{13}\text{C}$ de la matière organique des cernes 2006 et 2007 d'un Chêne, prélevés dans différentes directions à 1.30 m (a) et à différentes hauteurs (b) dans le tronc. Les zones grisées indiquent l'intervalle de confiance à 95 % autour de la date moyenne de la dernière lamelle de bois initial.

Annexe 4. Résumé d'un article en collaboration

Ecological Modelling (2010) **221**: 1779–1797

Linking intra-seasonal variations in climate and tree-ring $\delta^{13}\text{C}$: A functional modelling approach

Thomas Eglin^{1,2,3}, Christophe François^{1,2,3}, Alice Michelot^{1,2,3}, Nicolas Delpierre^{1,2,3} and Claire Damesin^{1,2,3}

¹Univ Paris-Sud, Laboratoire Ecologie Systématique et Evolution, UMR8079, Orsay, F-91405

²CNRS, Orsay, F-91405

³AgroParisTech, Paris, F-75231

Stable carbon isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$) in tree rings is a widely recognized tool for climate reconstruction, and several works suggest that seasonal information can be extracted from intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ variations. In this study, we explored the link between climate and intra-seasonal oak ring $\delta^{13}\text{C}$ using a process-based modelling approach. The ISOCASTANEA model was developed to compute the seasonal dynamics of tree-ring $\delta^{13}\text{C}$ for deciduous species from half-hourly climatic data by accounting for photosynthetic discrimination and carbon translocation and allocation at the tree scale and in tree rings.

The model was applied from March 2005 to December 2007 in a 150-year-old deciduous oak forest. Canopy photosynthesis and stomatal conductance were calibrated using H_2O and CO_2 fluxes measured by the eddy flux technique, and simulated $\delta^{13}\text{C}$ values were compared to seasonal patterns of total organic matter $\delta^{13}\text{C}$ measured in tree rings for 2006 and 2007 at the same site. With the inclusion of carbon translocation and with regard to ^{13}C enrichment of starch compared to soluble sugars, the model can reasonably simulate the intra-seasonal and inter-annual variability of tree-ring $\delta^{13}\text{C}$ using the same parameter values for 2006 and 2007. The amplitude of the seasonal carbon isotope pattern in tree rings was influenced by both photosynthetic and post-photosynthetic processes (starch enrichment and reserve use). The $\delta^{13}\text{C}$ variations in the early part of the ring, i.e., mainly in the earlywood, were related mostly to carbohydrate metabolism, although diluted information about environmental conditions during the previous year could also be found. The last part of the ring, consisting mainly of latewood, was found to be a good recorder of current-year environmental conditions, in particular relative humidity, at a fine temporal resolution when the growth rate was high. The sensitivity of the $\delta^{13}\text{C}$ in the early part of the ring to carbohydrate metabolism suggests that intra-ring $\delta^{13}\text{C}$ could be used to explore the relationship between tree decline or mortality and carbohydrate deficiency.

Keywords: Stable carbon isotope discrimination, tree ring, process-based model, intra-seasonal variation, *Quercus petraea*

Nom et prénom de l'auteur

Melle MICHELOT Alice

Titre de la thèse

**CROISSANCE ET 13C DES CERNES DE TROIS ESSENCES FORESTIERES
TEMPEREES
(FAGUS SYLVATICA, QUERCUS PETRAEA ET PINUS SYLVESTRIS) FACE AUX
VARIATIONS CLIMATIQUES A L'ECHELLE INTERANNUELLE ET SAISONNIERE.**

Membres du jury

Mme CLAIRE DAMESIN
M. ERIC DUFRENE
M. DANIEL EPRON
M. PAUL LEADLEY
M. STÉPHANE PONTON
M. ROLF SIEGWOLF



Président du jury : Paul LEADLEY

Date de soutenance


01/07/2011

Mention Très Honorable

13 juillet 2011

Avis du jury concernant la soutenance de thèse de Alice MICHELOT

Alice MICHELOT a, selon l'ensemble des membres du jury, réalisé une excellente présentation de son travail de thèse sur l'utilisation des isotopes stables du carbone pour étudier les réponses des arbres forestiers aux variations climatiques. Sa présentation orale était claire, bien structurée et très pédagogique. Au cours de sa thèse, elle a clairement acquis une maîtrise parfaite de l'utilisation des isotopes stables, de la physiologie des arbres et de la dendrochronologie. Son travail de thèse est d'excellente qualité, montrant beaucoup de rigueur dans la conception et l'exécution. Elle a travaillé avec plusieurs laboratoires en France dans le cadre de sa thèse, dont tous ont apprécié sa capacité de travail et sa rigueur. Ses résultats seront sans aucun doute une contribution importante à notre compréhension du fonctionnement des arbres face aux changements climatiques. Lors de la présentation orale et des réponses aux questions du jury, Alice a montré une compréhension très approfondie de son sujet. Elle a également fait preuve d'une bonne capacité de réflexion et de recul par rapport à son travail de thèse. Ce dernier est bien valorisé par un article publié dans "Plant, Cell and Environment", un journal phare dans le domaine, et par quatre autres articles en révision ou en préparation.



Paul Leadley
Président du Jury
Professeur d'Ecologie
Université Paris-Sud 11