



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Université de Nancy
U.F.R. Sciences et
Techniques Biologiques
G.F.D. Sciences du bois,
Biologie Végétale et Forestière

I.N.R.A.
Centre de Recherches
Forestières de Nancy
Laboratoire de Bioclimatologie
et Ecophysiologie Forestière

Effets des déficits hydriques et des forts éclaircissements sur
la photosynthèse de jeunes semis de chênes en conditions
contrôlées et de chênes adultes en conditions naturelles.

Doctorat de l'Université de Nancy I

spécialité : Ecophysiologie végétale

Thèse présentée à l'Université de Nancy I par

Daniel EPRON

Soutenue le 12 février 1993,
devant un jury composé de :

MM. -P. Dizengremel (Président)
 -G. Cornic (Rapporteur)
 -F.A. Daudet (Rapporteur)
 -G. Aussenac
 -E. Dreyer
 -B. Genty
 -P. Grieu

"Aussi nous paraît-il douteux qu'on découvre jamais à la plante des éléments nerveux, si rudimentaires qu'on les suppose. Ce qui correspond, chez elle, à la volonté directrice de l'animal, c'est, croyons-nous, la direction où elle infléchit l'énergie de la radiation solaire quand elle s'en sert pour rompre les attaches du carbone avec l'oxygène dans l'acide carbonique. Ce qui correspond, chez elle, à la sensibilité de l'animal, c'est l'impressionnabilité toute spéciale de sa chlorophylle à la lumière. Or, un système nerveux étant, avant tout, un mécanisme qui sert d'intermédiaire entre des sensations et des volitions, le véritable "système nerveux" de la plante nous paraît être le mécanisme ou plutôt le chimisme *sui generis* qui sert d'intermédiaire entre l'impressionnabilité de sa chlorophylle à la lumière et la production de l'amidon. Ce qui revient à dire que la plante ne doit pas avoir d'éléments nerveux, et que le même élan qui a porté l'animal à se donner des nerfs et des centres nerveux a dû aboutir, dans la plante, à la fonction chlorophyllienne."

Henri BERGSON, L'évolution créatrice, 1941

A mes Parents,

Je remercie toutes les personnes, nombreuses, qui ont contribué à la réalisation de ce travail et, en particulier, toute l'équipe du laboratoire de Bioclimatologie & Ecophysiologie forestière.

Table des Matières

Introduction.....	4
I. Niveaux d'approche et techniques d'étude.....	8
1. Matériel végétal et sites expérimentaux	8
2. Mesure de l'état hydrique des plants.....	9
3. Echanges gazeux foliaires.....	10
4. Le dégagement photosynthétique d'oxygène	12
5. La fluorescence de la chlorophylle in vivo	13
II. La fluorescence de la chlorophylle: un outil pour analyser l'influence des contraintes de l'environnement sur l'appareil photosynthétique... 15	
1. La conversion photochimique de l'énergie lumineuse	15
2. Fluorescence et rendement quantique du PS II	15
3. Dissipation non photochimique de l'énergie reçue par le photosystème II.....	18
4. Confirmation de la validité du modèle retenu pour le chêne.	20
III. Effets de la sécheresse sur la photosynthèse des chênes et sensibilité aux excès d'éclairement.....	23
1. Quelques caractéristiques écophysiologiques des chênes en condition d'alimentation hydrique non limitante et variation entre espèces.	24
2. Effet de la sécheresse sur les échanges gazeux foliaires des chênes	27
3. Effets d'un dessèchement du sol sur le fonctionnement de l'appareil photosynthétique	29
4. Sécheresse et susceptibilité à la photoinhibition	34
5. Mécanismes d'évitement de la photoinhibition	35
IV. Conclusions et perspectives.	40
Références bibliographiques	42
Annexes A à G.....	58

Introduction

Les forêts, bien qu'elles ne couvrent qu'à peine le dixième de la surface de notre planète, assurent près de la moitié de la production primaire de la biosphère et représentent 90% de l'ensemble de la biomasse. La disponibilité en eau est un des principaux facteurs qui déterminent la distribution, la composition spécifique et la production primaire des écosystèmes forestiers (Kozłowski, 1982).

Le climat de type océanique tempéré de l'Europe occidentale se caractérise par un niveau de précipitations relativement élevé. Néanmoins, les forêts sont soumises périodiquement à des épisodes de sécheresse plus ou moins intense, pouvant affecter les processus physiologiques qui régissent la croissance et la survie des arbres. La sécheresse de 1976, par exemple, a provoqué des dégâts considérables, notamment dans les jeunes plantations où la mortalité fut importante, et entraîné une réduction d'accroissement dans la majorité des peuplements (Aussenac, 1978). L'augmentation de la concentration atmosphérique en gaz carbonique, et l'élévation de température qui devrait l'accompagner, pourraient augmenter la probabilité de ces accidents climatiques.

L'apparition de dépérissements dans les massifs forestiers européens ou nord-américains est fréquemment corrélée à des épisodes de sécheresse plus ou moins intense (Delatour, 1983 ; Bonneau & Landmann, 1988). Une succession d'années à fort déficit pluviométrique pourrait être à l'origine des dépérissements observés depuis le début des années 80 (Bonneau, 1989). Les dépérissements de *Q. robur* en France (Becker & Lévy, 1982 ; Durand *et al.*, 1983 ; Macaire, 1984), de nombreuses espèces du genre *Quercus* aux Etats-Unis (Tainter *et al.*, 1983) ou de *Q. cerris* en Italie (Vannini, 1990) semblent résulter en grande partie de l'affaiblissement des arbres induit par une sécheresse. Néanmoins, notre connaissance des mécanismes physiologiques à l'origine de cet affaiblissement est encore très partielle, malgré l'importance des chênes pour le patrimoine forestier européen.

Une sécheresse édaphique peut se définir comme une restriction de la disponibilité en eau du sol, résultant de la combinaison d'un déficit de pluviosité et d'un accroissement de la demande évaporative. L'état hydrique de la plante dépendant à la fois des apports d'eau par l'appareil racinaire et des pertes de vapeur d'eau par la transpiration foliaire à travers le continuum sol-plante-atmosphère, la diminution des réserves en eau du sol peut aboutir à une dégradation de l'état hydrique du végétal et à une déshydratation plus ou moins prononcée des tissus.

Une déshydratation sévère des tissus peut entraîner une modification de la conformation des protéines, une altération de la structure lamellaire de la bi-couche phospho-lipidique des membranes ou l'augmentation passive de la concentration de certains solutés au dessus d'un seuil de toxicité (Stewart, 1989), et donc occasionner une inhibition plus ou moins réversible de l'ensemble des processus physiologiques. Pour éviter une déshydratation fatale de leurs tissus, les végétaux mettent en oeuvre un certain nombre de réponses morphologiques, anatomiques ou physiologiques, couvrant deux grands types de stratégies de résistance à la sécheresse (Levitt, 1972 ; Ludlow, 1989) permettant, soit de limiter les pertes en eau (*Dehydration Avoidance Strategy*), soit de tolérer la déshydratation (*Dehydration Tolerance Strategy*). Bien qu'ils soient capable de tolérer des niveaux plus ou moins élevés de déshydratation selon les espèces (Martin *et al.*, 1987), c'est essentiellement en développant des mécanismes permettant une meilleure rétention de l'eau, une croissance soutenue de l'appareil racinaire, une absorption et des transferts hydriques efficaces et une réduction des pertes en eau par une diminution des surfaces évaporantes et/ou une augmentation de la résistance à la diffusion de la vapeur d'eau des feuilles vers l'atmosphère, que les arbres vont répondre à une diminution de la disponibilité en eau du sol (Ludlow, 1989).

Les stomates représentent la principale voie de sortie d'eau de la plante et jouent un rôle important dans la limitation des échanges de vapeur d'eau entre la plante et l'atmosphère, et permettent la prévention de la déshydratation des tissus foliaires et des dysfonctionnements du système conducteur (cavitation des vaisseaux du xylème). La régulation stomatique des pertes d'eau, initialement attribuée à la perte de turgescence des cellules de garde en réponse à la déshydratation des tissus foliaires, apparaît aujourd'hui plus comme une réponse de la plante au dessèchement du sol (Turner *et al.*, 1985 ; Gollan *et al.*, 1985 ; Gollan *et al.*, 1986). L'acide abscissique, synthétisé dans les apex

racinaires et transporté par le flux transpiratoire jusqu'aux feuilles, jouerait le rôle d'un signal inducteur de la fermeture des stomates (Zhang *et al.*, 1987; Zhang et Davies, 1989).

Les pertes en eau se faisant par les mêmes pores que l'absorption de CO₂, la fermeture des stomates va se traduire par une augmentation de la résistance à la diffusion du CO₂ depuis la couche limite jusqu'aux espaces intracellulaires. Chez les plantes en C₃, donc pour les espèces ligneuses, la concentration ambiante en CO₂ est limitante pour la photosynthèse. En évitant les risques de déshydratation et de dysfonctionnement hydrique, la fermeture des stomates va aussi réduire l'assimilation nette de CO₂.

Les premiers travaux ayant permis de mettre en évidence une diminution de l'assimilation nette de CO₂ lors d'une sécheresse remontent à la fin du siècle dernier (revue de Boyer, 1976). L'importance de la fermeture des stomates dans la réduction de la photosynthèse lors d'une sécheresse édaphique se traduit très fréquemment par un parallélisme entre diminution de l'assimilation nette de CO₂ et réduction de la conductance stomatique. Certains auteurs ont suggéré que l'ouverture stomatique puisse être contrôlée par la capacité photosynthétique des feuilles afin d'optimiser le coût en eau pour la fixation du CO₂ (Wong *et al.*, 1979). Si le contrôle stomatique du flux transpiratoire apparaît essentiel à la survie de l'arbre, il convient en effet de s'interroger sur l'efficacité de ce mécanisme en terme de protection de l'appareil photosynthétique contre la déshydratation des tissus foliaires. Les premiers effets de la déshydratation sur l'appareil photosynthétique pourraient être une inhibition réversible de l'activité des enzymes chloroplastiques du fait de l'augmentation passive de la concentration de certains solutés en réponse à une diminution du volume protoplasmique (Kaiser, 1987) ou de l'acidification du stroma (Berkowitz & Whalen, 1985). Dans une synthèse déjà ancienne, Boyer (1976) recensait un certain nombre d'expériences mettant en évidence une inhibition de l'activité de diverses enzymes et du transport photosynthétique d'électrons mesurée *in vitro* sur des extraits foliaires de plantes soumises à sécheresse. L'existence de ces effets non stomatiques semblait confirmée par le calcul de la concentration intercellulaire en CO₂ (C_i), fait à partir des mesures d'échanges gazeux en appliquant des modèles basés sur la loi de Fick pour la diffusion des gaz (Von Caemmerer & Farquhar, 1981 ; Jones, 1985). En effet, dans la plupart des situations de sécheresse, la diminution de C_i n'est pas aussi prononcée que celle attendue si la réduction de l'assimilation de CO₂ était exclusivement due à la fermeture des stomates (Bunce, 1977 ; Briggs *et al.*, 1986 ; Jeskey *et al.*, 1986 ; Cornic *et al.*, 1987 ; Grieb *et al.*, 1988). Mais l'interprétation de ces résultats est aujourd'hui controversée du fait des incertitudes sur le calcul de C_i, notamment lorsque la fermeture des stomates ne se fait pas de façon homogène sur toute la surface de la feuille (Laisk, 1983 ; Terashima *et al.*, 1988).

Au cours des dernières années, un certain nombre d'expériences ont au contraire révélé une forte résistance de l'appareil photosynthétique aux déficits hydriques. Des mesures de dégagement photosynthétique d'O₂ faites à des concentrations de CO₂ suffisamment élevées pour s'affranchir de la résistance à la diffusion ont permis de mettre en évidence une très grande résistance de l'appareil photosynthétique aux déficits hydriques foliaires (Kaiser, 1987 ; Cornic *et al.*, 1989). De même, la relative stabilité des composantes photochimiques et non photochimiques de l'extinction de fluorescence chez *Digitalis lanata*, suggère le maintien de la consommation de l'ATP et du pouvoir réducteur, jusqu'à des déficits hydriques conduisant à une inhibition complète des échanges gazeux (Stuhlfauth *et al.*, 1988).

Ces quelques résultats semblent indiquer que l'effet majeur d'un déficit hydrique foliaire résulterait essentiellement de la fermeture des stomates, les niveaux de déshydratation couramment atteints étant insuffisants pour altérer le fonctionnement de l'appareil photosynthétique. Néanmoins, la fermeture des stomates ayant pour effet de réduire les pertes en eau induit un certain nombre de contraintes supplémentaires auxquelles la plante doit faire face, notamment en conditions naturelles où d'autres facteurs environnementaux peuvent agir en synergie avec la diminution de la disponibilité en eau du sol. La transpiration, grâce à la grande chaleur de vaporisation de l'eau, permet aux plantes de perdre une partie de l'énergie apportée par le rayonnement solaire et donc de limiter l'échauffement excessif des feuilles (Hanson & Hitz, 1982).

La diminution de l'assimilation nette de CO₂ peut entraîner un déséquilibre entre les besoins en NADPH et en ATP nécessaire à la fixation du CO₂ dans le stroma des chloroplastes et la quantité d'énergie reçue par les centres réactionnels des photosystèmes. Cette situation est notamment probable en conditions naturelles durant la dépression de midi de la photosynthèse, la fixation de CO₂

étant faible alors que la fourniture en énergie lumineuse est maximale. Un excès d'énergie d'excitation est susceptible d'induire des dommages à l'appareil photosynthétique : c'est la photoinhibition, qui peut se définir comme une réduction de l'efficacité quantique de la photosynthèse lors d'une exposition à un éclairage excessif (Powles, 1984). Un éclairage est excessif, soit parce qu'il est très élevé, soit parce que les besoins énergétiques du chloroplaste sont faibles. En effet, une feuille placée dans une atmosphère sans CO₂ et pauvre en O₂ subit une photoinhibition à des niveaux d'éclairage qui ne sont pas excessifs pour des plantes placées dans une atmosphère normale (Powles *et al.*, 1984). Les principaux sites d'action des excès d'éclairage semblent être les premières étapes des réactions photochimiques, mais les mécanismes moléculaires qui conduisent à son altération sont peu connus. Il est probable que le site affecté soit la protéine D1, identifiée comme une protéine de 32kD, impliquée dans le transfert des électrons entre l'accepteur primaire (QA) et les plastoquinones (Kyle, 1987).

L'augmentation de la susceptibilité à la photoinhibition lors d'une sécheresse est controversée (Boyer *et al.*, 1987). Björkman & Powles (1984) ont pu mettre en évidence une prédisposition de *Nerium oleander* à la photoinhibition lors d'une sécheresse. Des résultats similaires ont été obtenus sur le saule (Ögren & Öquist, 1985). L'absence d'une susceptibilité accrue à la photoinhibition est en revanche observée chez le tournesol (Sharp & Boyer, 1986), le cotonnier (Genty *et al.*, 1987) et l'Eucalyptus (Kirschbaum, 1987). Ces différences de sensibilité sont probablement dues à des mécanismes de protection qui peuvent s'avérer plus ou moins efficaces selon les espèces et les conditions de croissance des plants. Des différences morphologiques et anatomiques (position des feuilles, structure de la surface foliaire, taille des antennes chlorophylliennes, répartition des chloroplastes) vont modifier la quantité d'énergie collectée par l'appareil photochimique (Krause, 1988). La présence d'O₂ peut au moins partiellement compenser la réduction de la disponibilité en CO₂, une fraction du flux d'électrons étant alors utilisée par la photorespiration et la fixation du CO₂ dégagé par l'oxydation du Ribulose 1,5 bisphosphate (Krause & Cornic, 1987). Ce rôle protecteur de l'oxygène est sans doute important dans le cas d'une plante soumise à sécheresse, notamment si la diminution de la photosynthèse résulte de la fermeture des stomates et non d'une inhibition des processus biochimiques responsables de la fixation du CO₂ et de la photorespiration. L'efficacité des systèmes de détoxification et leur réponse à la sécheresse pourraient aussi expliquer des différences de sensibilité (Krause, 1988), une liaison entre stress oxydatifs et photoinhibition étant probable. Enfin, une augmentation de la dissipation thermique de l'excitation lumineuse conduisant à une réduction réversible du rendement quantique du PS II lorsque les besoins énergétiques du chloroplaste sont limités est sans doute un mécanisme important permettant d'éviter les dommages potentiels causés par les excès d'éclairage (Demmig *et al.*, 1988).

Le genre *Quercus* comporte environ 450 espèces réparties sur une grande partie de l'hémisphère nord tempéré (Etats-Unis, Bassin Méditerranéen, moitié sud du continent eurasien), jusqu'à l'équateur en Amérique centrale et en Asie du sud-est (Krüssmann, 1978). Les différences de disponibilité en eau entre ces zones climatiques sont sans doute à la source d'une importante variabilité interspécifique. Comme les chênes nord-américains, les chênes européens, largement distribués sur le continent, présentent des exigences écologiques variables d'une espèce à l'autre, même entre des espèces taxonomiquement très proches comme *Q. robur* plus exigeant en eau et en éléments nutritifs que *Q. petraea* (Becker & Lévy, 1982). Les différences de plasticité entre ces deux espèces semblent expliquer pourquoi, même en peuplement mixte, *Q. robur* a été préférentiellement affecté par la sécheresse de 1976 et la crise de dépérissement qui a suivi. Néanmoins, les connaissances sur l'écophysiologie des chênes et leurs réactions à la sécheresse sont limitées, notamment pour les essences européennes, les espèces nord-américaines ayant fait l'objet d'un certain nombre d'études. Parmi six espèces ligneuses nord-américaines, les semis de trois espèces de chênes (*Q. alba*, *Q. rubra*, *Q. velutina*) présentaient la plus faible perte d'électrolytes en réponse à une déshydratation foliaire (Martin *et al.*, 1987), mais aussi des caractéristiques hydriques foliaires et une tolérance de la photosynthèse au déficit hydrique traduisant une bonne résistance de ces espèces à la sécheresse (Bahari *et al.*, 1985). L'étude des relations hydriques de *Q. acutissima*, *Q. alba*, *Q. stellata* et *Q. macrocarpa* a montré que ces espèces nord-américaines sont capables d'un important ajustement osmotique et d'une augmentation de l'élasticité des tissus foliaires en réponse à une sécheresse édaphique (Parker & Pallardy, 1988 ; Kwon & Pallardy, 1989). L'étude des échanges gazeux de *Q. alba* en conditions naturelles lors d'une sécheresse édaphique intense a permis de mettre en évidence la capacité de cette espèce à maintenir une photosynthèse non négligeable (Dougherty & Hinckley, 1981), en dépit de l'existence de dépressions de midi bien marquées (Aubuchon *et al.*, 1978). Néanmoins, une augmentation de la concentration intercellulaire en CO₂ lors d'une sécheresse

édaphique en conditions naturelles pourrait indiquer une inhibition non stomatique de l'assimilation de CO₂ chez *Q. rubra* (Briggs *et al.*, 1986). Les essences méditerranéennes (*Q. suber*, *Q. coccifera*) sont également sujettes à des dépressions de midi des échanges gazeux durant les épisodes de sécheresse estivale, accompagnées le plus souvent d'une inhibition non stomatique de la photosynthèse (Tenhunen *et al.*, 1984, 1985). Il existe peu de travaux concernant les réactions à la sécheresse des espèces européennes non spécifiquement méditerranéennes. Comme dans le cas des chênes nord-américains, les semis de *Q. robur* semblent eux aussi capables d'accumuler activement des solutés, permettant de maintenir la turgescence des tissus foliaires et une conductance stomatique élevée durant une sécheresse édaphique (Osonubi & Davies, 1978). En conditions naturelles, l'écart substantiel qui persiste entre le potentiel hydrique des feuilles mesuré en fin de nuit et à midi indique le maintien d'échanges gazeux jusqu'à des niveaux de sécheresse élevés chez *Q. pubescens* (Aussenac & Valette, 1982). Dans un travail préliminaire (Epron, 1989, DEA de Biologie Végétale et Forestière, Université de Nancy I ; voir aussi Epron & Dreyer, 1990), la capacité de jeunes plants de *Q. petraea*, *Q. pubescens* et *Q. ilex* à maintenir des échanges gazeux non négligeables jusqu'à un niveau élevé de dessèchement du sol a été confirmée. De même, une forte résistance de l'appareil photosynthétique au déficit hydrique a pu être suspectée du fait de l'absence d'effet de la sécheresse sur la phase décroissante des cinétiques d'induction de fluorescence. Les deux premières espèces ont malgré tout montré une augmentation de la susceptibilité à la photoinhibition des feuilles soumises à un déficit hydrique.

De manière générale, les chênes semblent donc capables de prévenir la déshydratation de leurs tissus foliaires par osmorégulation, et de maintenir des échanges gazeux jusqu'à des niveaux de sécheresse importants, tout en présentant fréquemment des dépressions de midi en conditions naturelles. Néanmoins, certaines espèces au moins semblent sensibles aux excès d'éclairement, et l'existence de limitations non stomatiques de la photosynthèse pendant un déficit hydrique ne peut être exclue.

L'objectif de ce travail était triple. Il s'agissait, d'une part, de caractériser l'effet de l'état hydrique foliaire sur le fonctionnement photosynthétique afin de confirmer que, sur les chênes au moins, les niveaux de déshydratation habituellement atteints lors de sécheresses édaphiques sont insuffisants pour affecter par eux seuls le fonctionnement de l'appareil photosynthétique. D'autre part, l'impact des forts éclaircissements sur l'appareil photosynthétique a été étudié en liaison avec l'état hydrique des feuilles et la disponibilité en CO₂ afin de vérifier si la susceptibilité des feuilles à la photoinhibition augmente en conditions de sécheresse, et si une éventuelle inhibition de l'activité chloroplastique lors d'une sécheresse peut résulter de ces dommages induits par l'éclairement. Une partie de ces travaux a été réalisée sur des semis élevés en serre et soumis à sécheresse en conditions contrôlées au laboratoire, afin notamment de comparer le comportement de plusieurs espèces de chêne choisies sur la base d'exigences en eau contrastées. Le dernier objectif était donc d'évaluer l'influence réelle d'un dessèchement du sol sur le fonctionnement de l'appareil photosynthétique d'arbres adultes durant la période estivale où le rayonnement solaire est maximal, en essayant d'apprécier l'efficacité des éventuels mécanismes de protection. Ce travail s'inscrit dans un programme de recherche initié par le laboratoire de Bioclimatologie & Ecophysiologie forestière sur la physiologie des chênes et leurs réactions à la sécheresse. Nos résultats seront donc intégrés dans une réflexion plus large sur la signification écologique du contrôle stomatique des pertes en eau, et ses conséquences pour la croissance et la survie de l'arbre.

Dans la première partie, les différentes techniques mises en oeuvre pour déterminer l'état hydrique des plants, les échanges gazeux entre la feuille et l'atmosphère et l'activité photosynthétique foliaire, ainsi que les différents niveaux d'approches, seront présentés. L'intérêt de la fluorescence de la chlorophylle pour étudier le fonctionnement et les perturbations de l'appareil photosynthétique sera analysé dans la seconde partie. Enfin, les résultats publiés ou soumis à publication, seront analysés et discutés dans une troisième partie, sous un angle écophysiologique, plus précisément dans le cadre des études sur le comportement et l'adaptation des chênes à une restriction de la disponibilité en eau.

I. Niveaux d'approche et techniques d'étude

Etudier l'influence des déficits hydriques sur la photosynthèse des feuilles et sur leur susceptibilité aux forts éclaircissements suppose d'être capable de décrire l'état hydrique des plants, de mesurer les échanges gazeux foliaires et de caractériser le fonctionnement de l'appareil photosynthétique. L'objectif de ce chapitre est donc de présenter et de discuter les principales techniques mises en oeuvre au cours de ce travail. Les différents protocoles seront quant à eux présentés, soit dans la partie matériels et méthodes des six articles (annexes A à F), soit, le cas échéant, dans le texte accompagnant les figures originales (chapitre II et annexe G).

1. Matériel végétal et sites expérimentaux

Cette étude a été réalisée, soit sur des semis âgés de quelques mois et élevés en serre, soit sur des arbres adultes en conditions naturelles, en forêt domaniale d'Amance (Meurthe & Moselle, France), et dans le parc régional du Monte Rufeno (Province de Viterbo, Italie).

a. Origine et culture des semis de chêne

Chaque année, au mois de mars, des glands conservés au froid (-1°C), sont mis à germer et plantés dans des pots en plastique de 5 litres, contenant un mélange 1:1 (V/V) de tourbe blonde et de sable. Une fertilisation par engrais à libération lente (Nutricote 100 ; N, P, K ; 13, 13, 13 ; + oligoéléments) est apportée dès le début de la saison de végétation à raison de 24 grammes par pot. Un apport de poudre de calcaire magnésien (4 grammes) est aussi effectué, excepté pour certaines espèces réputées calcifuges (*Q. rubra*, *Q. cerris*). Un système d'irrigation automatique assure un arrosage journalier des plants.

Cinq espèces ont été sélectionnées pour ce travail :

- *Quercus rubra* (L.), le chêne rouge d'Amérique, est une espèce nord-américaine largement utilisée comme essence de reboisement en France depuis quelques décennies et appartient au sous-genre *Erythrobalanus* section *rubraea* ;

- *Quercus cerris* (L.) et *Quercus pubescens* (Willd.), le chêne chevelu et le chêne pubescent, sont toutes deux originaires d'Europe du Sud et d'Asie mineure, et appartiennent au sous-genre *Lepidobalanus*, la première à la section *cerris*, la seconde à la section *robur* ;

- *Quercus robur* (L.) et *Quercus petraea* ([Matt.] Liebl.), le chêne pédonculé et le chêne sessile, sont des espèces médio-européennes et appartiennent au sous genre *Lepidobalanus*, section *robur* (Krüssmann, 1978).

Les glands utilisés dans ce travail provenaient de :

- Manoncourt en Woëvre (Meurthe & Moselle, France) pour *Q. robur* ;
- Cestas (Gironde, France) pour *Q. pubescens* ;
- Schopperten (Moselle, France) pour *Q. rubra* ;
- Saint Dizier (Haute Marne, France) pour *Q. petraea* ;
- Vilmorin (lot commercial) pour *Q. cerris*.

b. Sites expérimentaux en conditions naturelles

Le premier site, situé en Forêt de Champenoux (Meurthe & Moselle, France, 48°44'N, 6°14'E) à une altitude de 237 mètres, est un peuplement mixte de *Q. robur* et *Q. petraea* d'environ 30 ans, au stade

de haut-perchis (hauteur dominante, 15 mètres environ). Le climat est de type continental tempéré sous influence océanique (Aussenac *et al.*, 1981). L'accès à la couronne des arbres se fait par deux échafaudages, l'un situé au sein d'un bouquet d'arbres témoins (arrosés en cas de nécessité durant l'été), l'autre au sein d'un bouquet d'arbres situé dans une cuve lysimétrique simplifiée, protégée des précipitations incidentes par un toit en plexiglas placé sous le couvert, et des apports d'eau (drainage latéral) par une tranchée de 1 mètre de profondeur. Les conditions microclimatiques (température de l'air, humidité relative et rayonnement global) sont mesurées toutes les 30 minutes durant toute la saison à deux mètres au dessus du couvert. Une description détaillée du site peut être trouvée dans Bréda (1990, DEA de Biologie Végétale et Forestière, Université de Nancy I).

Le second site, situé dans le parc régional du Monte Rufeno (Province de Viterbo, Italie, 42°49'N, 11°33'E) à une altitude de 700 mètres, est un taillis vieillissant de *Q. cerris* d'environ 30 ans, d'une hauteur dominante de 12 mètres environ. Le climat est de type méditerranéen, mais tamponné par l'altitude. Un échafaudage permet l'accès à un bouquet d'arbres.

2. Mesure de l'état hydrique des plants

L'état hydrique d'un végétal peut être défini par deux principaux paramètres qui sont la teneur en eau relative et le potentiel hydrique.

a. Teneur en eau relative (RWC) et déficit hydrique (D)

La teneur en eau relative (RWC, Relative Water Content) représente le rapport entre la masse d'eau contenue dans un tissu ou organe végétal et la masse d'eau qu'il peut contenir à pleine turgescence.

$$RWC = (PF-PS)/(PT-PS)$$

$$D = 1-RWC$$

avec PF, PT et PS respectivement la masse fraîche, à pleine turgescence et sèche de l'organe considéré.

Le principal problème que soulève la détermination de RWC est la mesure précise de la masse à pleine turgescence. Les techniques de réhydratation couramment employées peuvent conduire à une sursaturation en eau des tissus, celle-ci envahissant les espaces intercellulaires. Il s'agit néanmoins d'un paramètre caractérisant bien l'état d'hydratation des tissus (Barrs, 1968).

b. Potentiel hydrique foliaire (Ψ_w)

Le potentiel hydrique d'une feuille traduit essentiellement la résultante des forces d'origine osmotique (substances dissoutes) et de turgescence (élasticité pariétale) qui lient l'eau au tissu végétal. Il représente le travail nécessaire pour amener une unité de masse d'eau liée au tissu à l'état libre, celui de l'eau pure ($\Psi_w = 0$). Le potentiel est exprimé comme l'opposé de la pression qu'il faut exercer sur un organe végétal (feuille, rameau) pour faire apparaître un ménisque d'eau à l'extrémité de cet organe soumis à la pression atmosphérique.

En fin de nuit (predawn, avant l'aube), le potentiel hydrique du végétal peut être assimilé au potentiel d'équilibre qui s'établit entre le sol et la plante (Aussenac & Granier, 1978). Il s'agit du potentiel de base (Ψ_{wp}), fréquemment utilisé comme une estimation du potentiel hydrique moyen du sol (Ψ_s). Contrairement à la teneur en eau relative qui permet d'estimer l'état hydrique du végétal, le potentiel hydrique de base renseigne sur l'alimentation hydrique de la plante, donc sur la contrainte qui lui est imposée (Aussenac & Finkelstein, 1983). En cours de journée, le potentiel hydrique dépend à la fois de l'alimentation hydrique du végétal (Ψ_s estimé par Ψ_{wp}) et des pertes en eau par transpiration (F, flux hydrique à travers l'arbre). Un modèle simplifié établissant une analogie avec la loi d'Ohm permet de décrire cette relation :

$$F \text{ (mol s}^{-1}\text{)} = (\Psi_s - \Psi_w) * g_L$$

g_L (mol s⁻¹ MPa⁻¹) représente la conductance hydraulique du système sol-arbre et dépend à la fois de la nature et de l'état du système conducteur de la sève brute, et des propriétés hydrauliques de l'interface sol-racine.

A un instant donné, le potentiel hydrique peut être relié à l'état d'hydratation des tissus végétaux, selon les relations présentées ci-dessous.

c. Relations entre potentiel hydrique et RWC.

Le potentiel hydrique foliaire étant la résultante entre une composante osmotique (Π) et une composante de turgescence (P), la relation existant entre le potentiel hydrique d'un tissu et son état d'hydratation (RWC) dépend des propriétés d'élasticité des parois cellulaires et de la concentration en solutés dans les vacuoles. Une concentration en soluté plus élevée se traduit par une plus faible variation de RWC pour une variation de Ψ_w donnée. De même, une plus grande élasticité pariétale (faible module d'élasticité) se traduira par une moindre perte de turgescence lors d'une diminution du potentiel hydrique (Tyree & Jarvis 1982 ; voir figure I.1).

Le potentiel osmotique à pleine turgescence (Π_0), le potentiel hydrique à perte de turgescence (Ψ_0) et le déficit hydrique correspondant (D_0) permettent donc de caractériser les degrés de tolérance d'un tissu foliaire à une réduction du potentiel hydrique. Ces paramètres peuvent être déterminés à partir de courbes pression-volume (Tyree & Hammel 1972). Celles-ci ont été réalisées en mesurant Ψ_w et D de rameaux coupés et réhydratés, au cours de leur déshydratation par transpiration (Dreyer *et al.*, 1990).

d. Conclusions

L'existence d'une relation entre Ψ_w et RWC pourrait conduire à utiliser indifféremment l'un ou l'autre pour caractériser l'état hydrique d'un plant. Mais cette relation n'est pas unique puisqu'elle dépend des propriétés d'élasticité des parois cellulaires et de la concentration en solutés dans les vacuoles, qui peuvent varier entre différentes espèces ou provenances, en liaison avec les conditions de croissance ou en réponse à la sécheresse (Turner & Jones, 1980 ; Morgan, 1984 ; Dreyer *et al.*, 1990).

Kramer (1988) et Boyer (1989) défendent l'utilisation du potentiel hydrique, arguant du fait que cette grandeur thermodynamique s'applique à tous les compartiments du continuum sol-plante-atmosphère et régit la circulation de l'eau entre eux. Mais Sinclair & Ludlow (1985) et Passioura (1988), constatant la difficulté de mettre en relation les processus métaboliques et le potentiel hydrique, suggèrent l'utilisation du RWC pour les approches physiologiques, celui-ci étant un meilleur index d'hydratation des tissus et de volume des cellules. Comme d'autre part un grand nombre d'expériences montrent que le degré d'ouverture des stomates, et par là même les échanges gazeux foliaires, sont contrôlés par la disponibilité en eau du sol *via* un signal non hydraulique d'origine racinaire (Gollan *et al.*, 1985 ; Turner *et al.*, 1985 ; Gollan *et al.*, 1986 ; Schulze, 1986), nous utiliserons le potentiel hydrique de base et/ou la teneur en eau relative pour exprimer soit le niveau de contrainte globale subi par les plants, soit l'état d'hydratation des tissus foliaires.

3. Echanges gazeux foliaires

Les échanges gazeux entre la feuille et l'atmosphère correspondent à un flux sortant de vapeur d'eau, la transpiration (E) et à un flux entrant de CO₂, l'assimilation nette de CO₂ (A), qui est le bilan de la photosynthèse et des pertes par respiration et photorespiration.

Ces différents flux se font au travers de la couche limite à la surface de la feuille et des stomates par un processus de diffusion en phase gazeuse, auquel s'opposent respectivement une résistance aérodynamique de couche limite (R_a) et une résistance stomatique (R_s) placées en série. La diffusion du CO₂ depuis les espaces intercellulaires jusqu'aux sites de carboxylation s'effectue en phase liquide

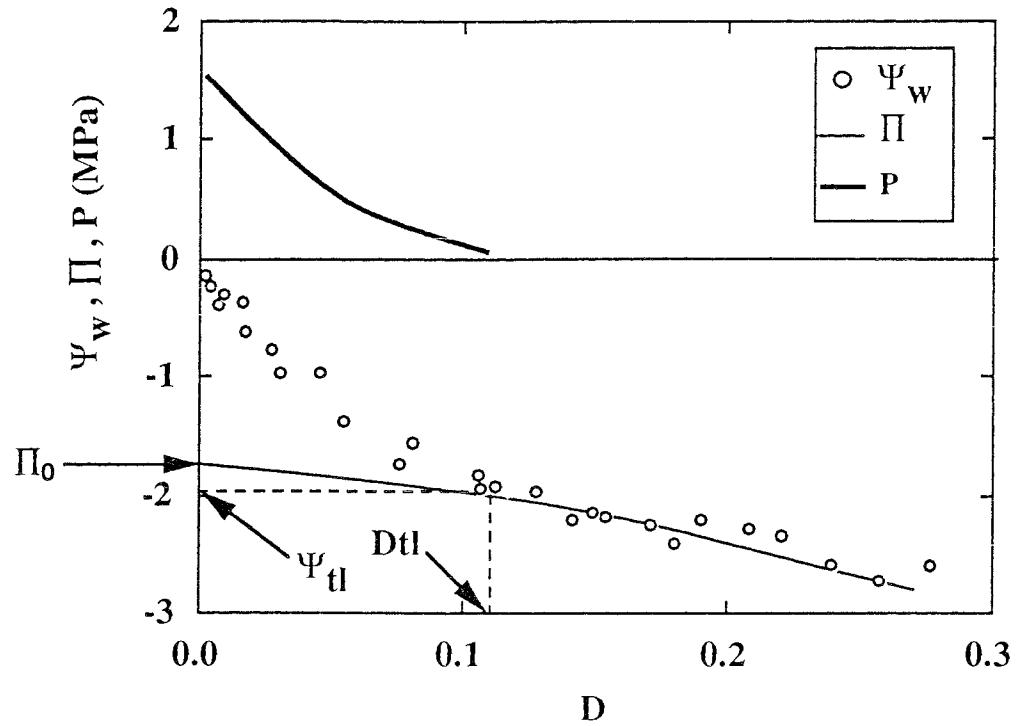


Figure I.1: Exemple de courbe pression-volume obtenue sur des semis de *Quercus pubescens*. Evolution du potentiel hydrique mesuré (Ψ_w), du potentiel osmotique calculé (Π) et du potentiel de turgescence calculé (P) en fonction du déficit hydrique (D). Les points remarquables sont indiqués par des flèches : potentiel osmotique à pleine turgescence (Π_0), potentiel hydrique à perte de turgescence (Ψ_{tl}) et déficit hydrique à perte de turgescence (D_{tl}). Ces courbes ont été réalisées en suivant régulièrement l'évolution de la teneur en eau relative et du potentiel hydrique de rameaux soumis à une déshydratation lente par transpiration.

à travers le mésophylle, à laquelle s'oppose une résistance appelée mésophyllienne (R_m) (Loreto *et al.*, 1992).

La notion de conductance est préférable à celle de résistance ($g = 1/R$) pour des raisons d'unité, conductance et flux s'exprimant tous deux en densités de flux molaire.

a. Mesure de la transpiration et de l'assimilation nette de CO_2

Dans ce travail, les échanges gazeux ont été mesurés à l'aide d'un système portable (Li 6200, Li-Cor, U.S.A.), fonctionnant en circuit fermé. Les flux sont calculés d'après la variation de la fraction molaire du gaz considéré (CO_2 , vapeur d'eau) en fonction du temps. Néanmoins, pour minimiser les variations d'humidité durant la mesure, une fraction connue du flux d'air circulant dans le circuit traverse un dessiccant. Les équations, propres à ce système de mesure, peuvent être trouvées dans Li-Cor (1987) et Leuning & Sands (1989).

b. Calcul de la conductance

La conductance foliaire pour la vapeur d'eau (g_w) est le facteur de proportionnalité qui relie la transpiration à la différence de fraction molaire de vapeur d'eau entre l'air et la cavité sous-stomatique. Les équations de Von Caemmerer & Farquhar (1981) ont été utilisées pour la calculer.

$$E = g_w (w_i - w_a) + (w_i + w_a) * E/2$$

w_i et w_a représentant respectivement les fractions molaires de vapeur d'eau dans les espaces sous-stomatiques et dans l'air. w_i est calculé à partir de la température foliaire, en considérant que les espaces intercellulaires sont saturés en vapeur d'eau. Le terme $(w_i + w_a) * E/2$ est introduit pour tenir compte des interactions entre flux sortant de vapeur d'eau et flux entrant de CO_2 .

La conductance stomatique (g_{sw}) peut être calculée (additivité des résistances) à partir de la conductance foliaire et de la conductance de la couche limite (g_{bw}).

$$1/g_{sw} = 1/g_w - 1/g_{bw}$$

g_{bw} dépend de la géométrie de la feuille, de sa surface et des conditions de ventilation régnant dans la chambre de mesure. Elle doit donc être déterminée en mesurant l'évaporation d'empreintes foliaires découpées dans du papier buvard humidifié. Une relation entre R_{bw} ($= 1/g_{bw}$) et la surface de l'empreinte foliaire (SF , cm^2) a pu être établie pour des feuilles de type chêne. R_{bw} ($s\ m^2\ mol^{-1}$) = $0,025 * SF + 0,257$ ($r = 0,81$; Dreyer, communication personnelle).

La conductance foliaire pour le CO_2 (g_c) peut être calculée à partir de g_w , mais il faut prendre en compte les différences d'encombrement stérique des deux molécules. Le rapport des coefficients de diffusion du CO_2 et de H_2O (D_w/D_c) est égal à 1,6. La conductance stomatique pour le CO_2 (g_{sc}) est donc égale à

$$g_{sc} = g_{sw}/(D_w/D_c)$$

Pour la conductance de la couche limite, du fait de l'existence d'un flux d'air laminaire à la surface de la feuille, il faut prendre la puissance $2/3$ de D_w/D_c

$$g_{bc} = g_{bw}/(D_w/D_c)^{2/3}$$

Donc,

$$1/g_c = 1/g_{bc} + 1/g_{sc}$$

En fait, quel que soit l'état hydrique du plant, la conductance aérodynamique reste constante pour une feuille donnée dans un système de mesure donné. Les variations de conductance totale sont donc essentiellement attribuables à des variations du degré d'ouverture des stomates. De plus, g_{bw} (ou g_{bc}) étant généralement très supérieure à g_{sw} (ou g_{sc}), c'est bien la résistance stomatique à la diffusion des gaz qui limite l'assimilation nette de CO_2 ou la transpiration. La connaissance de A et de g_w ne permet

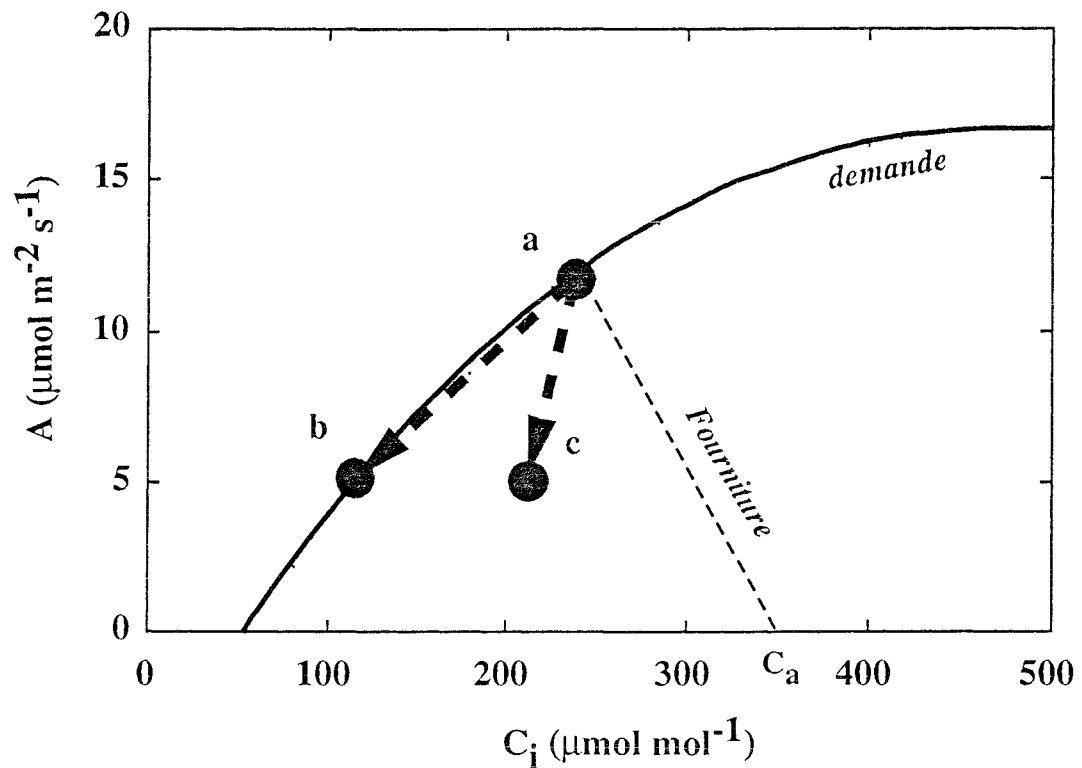


Figure I.2: Représentation schématique de la relation entre assimilation nette de CO₂ (A) et fraction molaire de CO₂ dans les espaces intercellulaires (C_i), obtenue en faisant varier la fraction molaire de CO₂ dans l'air de 600 à 50 $\mu\text{mol mol}^{-1}$. Le point **a** correspond à une mesure effectuée à 350 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ (C_a) sur un plant bien hydraté. Le point **b** représente une situation où la diminution de l'assimilation nette de CO₂ est d'origine stomatique : la diminution de A se fait le long de la fonction de demande. Le point **c** correspond à une situation où la fermeture des stomates ne suffit pas à expliquer la réduction de A.

cependant pas de vérifier si les diminutions de A induites par une contrainte résultent exclusivement d'une fermeture des stomates ou d'autres mécanismes non stomatiques.

c. La concentration intercellulaire de CO_2 (C_i)

L'analyse des relations entre l'assimilation nette de CO_2 et la fraction molaire de CO_2 dans la cavité sous-stomatique (C_i) permet théoriquement de déterminer l'existence de limitations non stomatiques de A .

Si seule g_c limite A , C_i doit diminuer lorsque les stomates se ferment. La relation entre A et C_i (fonction de demande) doit être similaire à celle observée lorsque la fourniture en CO_2 est réduite, par exemple en abaissant la fraction molaire de CO_2 dans l'air (C_a). Si, à l'inverse, des mécanismes non stomatiques entrent en jeu lors d'une contrainte, pour une valeur donnée de A , la valeur calculée de C_i sera supérieure à celle prédite par la fonction de demande obtenue par réduction de la fourniture en CO_2 (Figure I.2).

Le calcul de C_i est effectué d'après les équations de Von Caemmerer & Farquhar (1981)

$$A = g_c (C_a - C_i) + (C_a + C_i) * E/2$$

$$C_i = [(g_c - E/2) * C_a - A] / (g_c + E/2)$$

Ce calcul peut conduire à une surestimation de C_i si le CO_2 n'est pas réparti uniformément dans les espaces intercellulaires, ce qui peut être le cas si les échanges gazeux ne sont pas uniformes sur toute la surface de la feuille (fermeture des stomates par îlot) et s'il existe d'importantes barrières internes à la diffusion latérale du CO_2 (Terashima *et al.*, 1988). Les feuilles de chêne étant fortement hétérobariques, l'existence de telles hétérogénéités peut être à priori suspectée.

Compte tenu de ce possible artefact et de la difficulté à estimer avec précision la température foliaire (Tyree & Wilmot, 1990), donc la conductance et C_i , l'interprétation des variations de C_i au cours d'une contrainte requiert beaucoup de prudence. De plus, le calcul de C_i renseigne sur l'existence de composantes non stomatiques pour expliquer l'inhibition de A , c'est à dire sur des altérations de la capacité du mésophylle à fixer le CO_2 , mais aussi, ce qui a fréquemment été négligé, sur une éventuelle augmentation de la résistance à la diffusion du CO_2 depuis les cavités sous-stomatiques jusqu'au site de carboxylation dans le chloroplaste (Loreto *et al.*, 1992).

4. Le dégagement photosynthétique d'oxygène

L'intérêt de mesurer le dégagement photosynthétique d' O_2 , qui est stoechiométriquement corrélé à l'assimilation de CO_2 , est essentiellement de pouvoir travailler à des concentrations externes en CO_2 très élevées (Delieu & Walker, 1981). Cela permet, quelle que soit l'importance des résistances à la diffusion du CO_2 , d'avoir une concentration en CO_2 saturante au niveau des sites de carboxylation, et d'inhiber très fortement la photorespiration. Dans le cas des chênes, nous avons aussi pu constater une très forte inhibition de la respiration mitochondriale mesurée à l'obscurité. Dans ces conditions, la mesure du dégagement net d' O_2 peut être assimilée à une mesure de photosynthèse. Pour les plantes en C_3 , cette saturation semble atteinte pour une fraction molaire de CO_2 dans les chloroplastes de 0.1 % (Sharkey, 1985). Si l'éclairement fourni à la feuille est lui aussi saturant, la mesure de dégagement d'oxygène permet alors d'estimer la capacité photosynthétique de la feuille (A_{max}). Néanmoins, si la contrainte imposée au végétal entraîne une importante augmentation de la résistance à la diffusion du CO_2 (stomatique ou mésophyllienne), des concentrations en CO_2 nettement supérieures à 5% (jusqu'à 17%) peuvent être nécessaires pour obtenir la saturation (Cornic *et al.*, 1989).

Principe de l'électrode à O_2

L'oxygène présent en phase gazeuse dans la chambre close (LD2, Hansatech, Grande-Bretagne) est détecté par une électrode de Clark. Il s'agit d'une cathode en platine reliée à une anode en argent par un "pont" de KCl. Les échanges gazeux entre l'air de la chambre et l'électrode se font au travers d'une membrane en Téflon. L'imposition d'une différence de potentiel de l'ordre de 700mV entre la

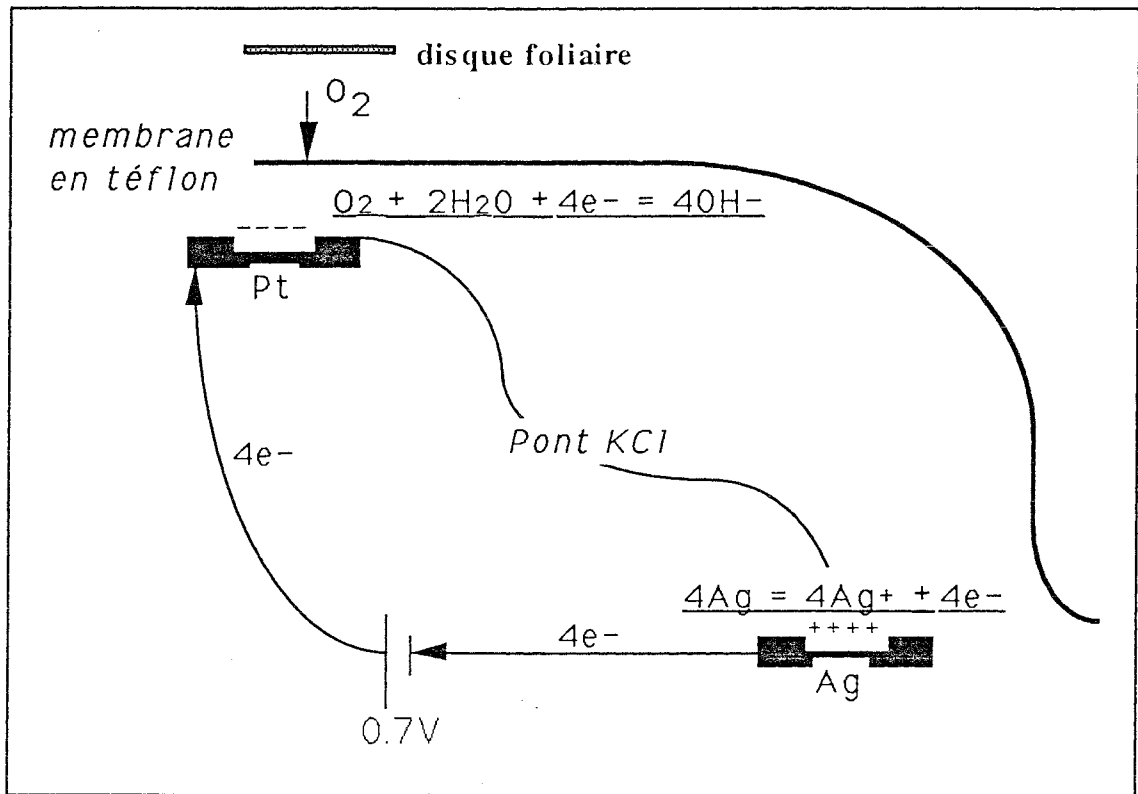


Figure I.3: Représentation schématique d'une électrode à oxygène. L'application d'une différence de potentiel entre les deux électrodes entraîne une accumulation de charges négatives au niveau de la cathode en platine, tandis que l'anode en argent devient positive. Les électrons présents à la cathode permettent la réduction de l'oxygène qui diffuse depuis le disque foliaire à travers une membrane en téflon, engendrant un flux d'électrons proportionnel à la quantité d'oxygène consommée. Un pont de KCl assure la continuité électrique entre les deux électrodes.

cathode et l'anode (Figure I.3) polarise l'électrode, c'est à dire apporte un excès de charges négatives au niveau de la cathode. L'oxygène moléculaire présent au voisinage de la cathode est alors réduit par ces électrons, entraînant un flux d'électrons. L'intensité de ce courant induit est proportionnelle à la quantité d'O₂ consommée à la cathode. La mesure de dégagement photosynthétique d'O₂ est effectuée en fermant hermétiquement la chambre éclairée et en suivant l'augmentation de la quantité d'oxygène pendant quelques minutes (Delieu & Walker, 1981).

5. La fluorescence de la chlorophylle *in vivo*

A température ambiante, la fluorescence provient essentiellement des molécules de chlorophylle a associées au photosystème II, avec une faible participation du PS I aux longueurs d'onde supérieures à 700 nm. La fluorescence peut être mesurée par des photodiodes (ou photomultiplicateurs), dans la région spectrale proche du maximum d'émission de fluorescence, situé autour de 690 nm (Bolhar-Nordenkampf *et al.*, 1989). L'interprétation des mesures de fluorescence fera l'objet du chapitre suivant, l'objectif de ce paragraphe étant uniquement de présenter la technique de mesure de la fluorescence chlorophyllienne *in vivo*.

Initialement, la fluorescence résultant de l'application d'une lumière photosynthétiquement active était mesurée. Mais cette technique soulevait deux problèmes majeurs. D'une part, elle impliquait l'utilisation de source lumineuse ayant un spectre d'émission réduit pour qu'il n'y ait pas interférence entre fluorescence et réflexion de la lumière incidente. D'autre part, il était difficile de séparer l'effet physiologique des variations d'intensité lumineuse, des effets directs sur l'intensité de fluorescence, qui est proportionnelle à la quantité d'énergie absorbée par le PS II (cf chapitre II).

Principe des mesures avec un fluorimètre modulé

L'utilisation d'un fluorimètre modulé (P.A.M., Walz, Allemagne) permet de s'affranchir de ces deux problèmes. Le principe repose sur l'utilisation de deux types de sources différentes. La première, analytique, utilisée pour mesurer la fluorescence, est d'intensité trop faible pour modifier l'état du PS II. Il s'agit d'une L.E.D. ayant un maximum d'émission autour de 660 nm. Les longueurs d'onde supérieures à 665 nm sont éliminées par filtrage. Le second type, utilisé comme source de lumière actinique, est une lumière blanche, d'intensité variable, provenant d'une source halogène ou directement du soleil. C'est ce second type de source qui est utilisé pour conduire la photosynthèse et/ou changer l'état du PS II. L'absence d'interférence entre les deux types de sources résulte du fait que la première est modulée. Les impulsions de lumière ont une durée de 1µs, à une fréquence de 1,6 ou 100 kHz. Le fait d'augmenter la fréquence de 1,6 à 100kHz améliore le rapport signal-bruit mais augmente la quantité de photons reçus par la feuille. La fréquence de modulation est donc choisie en fonction du type de mesure à effectuer (priorité à la qualité du signal ou à la faible intensité lumineuse). Seule la partie modulée du signal reçu par la photodiode ($\lambda > 700$ nm) est amplifiée par le fluorimètre (P.A.M. 101, figure I.4).

L'analyse de l'état du photosystème II (voir chap II) nécessite de connaître la quantité de fluorescence émise par les chlorophylles qui lui sont associées lorsque tous les centres réactionnels du PS II sont ouverts (susceptibles de recevoir une excitation en provenance des antennes du PS II), lorsqu'ils sont fermés (incapables de recevoir une excitation en provenance des antennes du PS II) ou lorsqu'ils sont dans un état intermédiaire correspondant à celui d'une feuille soumise à un rayonnement photosynthétiquement actif. Ces trois niveaux de fluorescence sont couramment appelés F_0 , F_m et F .

Le niveau de fluorescence F_0 est obtenu en éclairant la feuille avec la lumière modulée uniquement, d'intensité très faible (inférieure à $0,1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Le niveau F est obtenu lorsque la feuille reçoit un éclairage actinique provenant d'une source halogène, dont l'intensité peut être ajustée par interposition de filtres neutres, ou directement de la lumière solaire. Le niveau F_m est obtenu par addition d'un flash de lumière sursaturant ($> 6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) provenant d'une source halogène. La fréquence et la durée des flash peuvent être imposées par une unité de contrôle P.A.M. 103, qui assure aussi le changement automatique de la fréquence de modulation à 100kHz pendant la durée du flash. Deux détails techniques méritent d'être soulignés. D'une part, le fluorimètre utilisé détecte la fluorescence aux longueurs d'onde supérieures à 700 nm. A ces longueurs d'onde, une probable

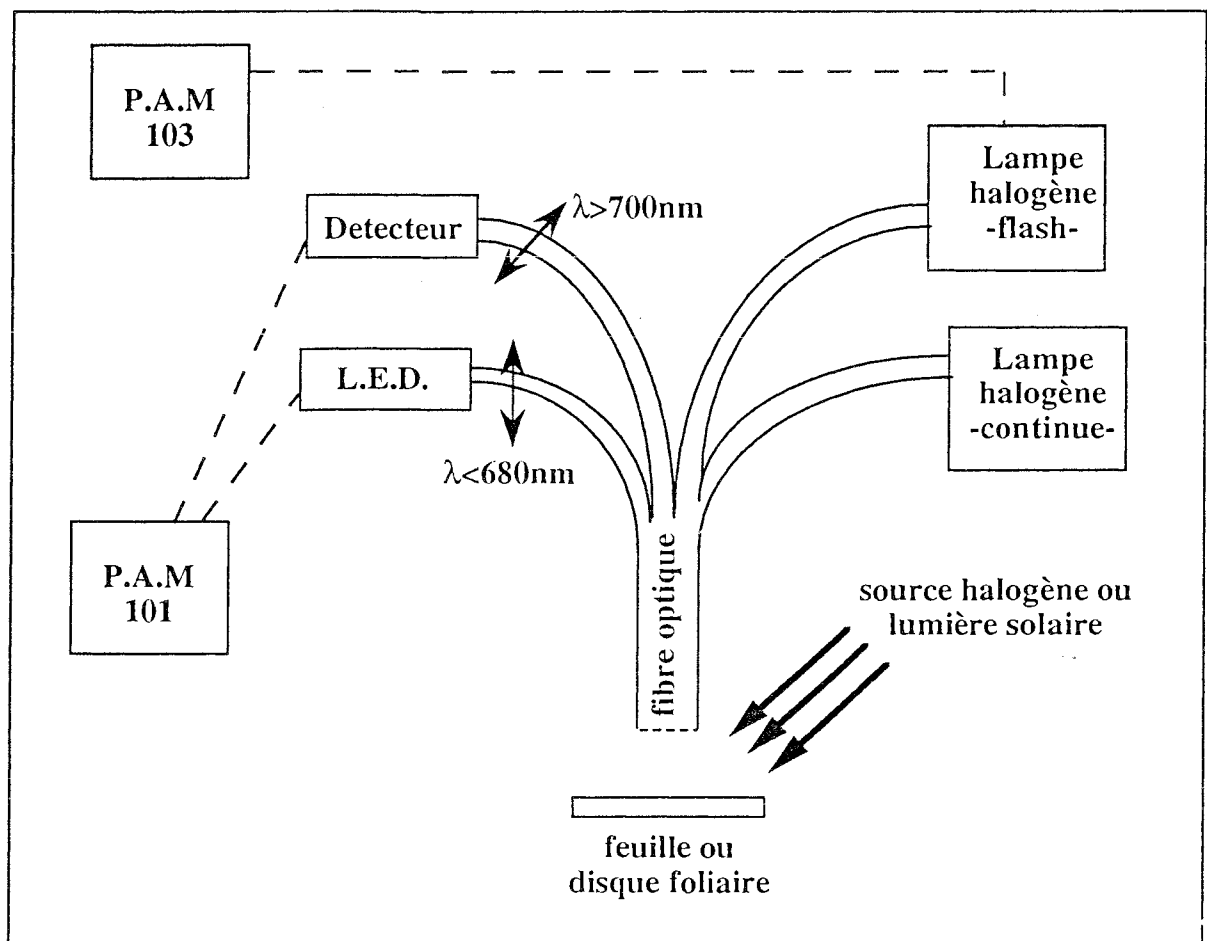


Figure I.4: Représentation schématique du système de mesure modulé de fluorescence de la chlorophylle. Un disque foliaire (ou une feuille *in situ*) est excité périodiquement à une fréquence de 1,6 ou 100 kHz par une diode électro-luminescente (LED, émission maximale autour de 650 nm). Les longueurs d'onde supérieures à 680 nm sont éliminées par un filtre. Le détecteur est constitué d'une photodiode protégée par un filtre éliminant les longueurs d'onde inférieures à 700nm. L'unité PAM 101 amplifie sélectivement le signal modulé qu'il reçoit, et qui correspond à la fluorescence induite par la LED. Une lampe halogène permet de surimposer des flash de forte intensité dont la fréquence et la durée sont programmées à l'aide de l'unité PAM 103. L'éclairement nécessaire à la photosynthèse est apporté soit par une source halogène (directement ou via la fibre optique), soit par la lumière solaire.

contribution du PS I à l'émission de fluorescence peut conduire à une surestimation de F_0 (Genty *et al.*, 1990a). D'autre part, les variations d'émissivité de la photodiode avec la température doivent être prises en compte (annexe B).

Trois types de protocoles ont été appliqués au cours de ce travail (voir les articles et les légendes pour de plus amples détails). Le premier consiste en des mesures isolées de F_0 et F_m après adaptation de plusieurs minutes à l'obscurité. Le second, communément appelé cinétique d'induction de fluorescence, consiste à suivre F en continu et F_m périodiquement sur une feuille préalablement adaptée à l'obscurité et illuminée par une lumière actinique. Le troisième consiste à mesurer F et F_m sur des feuilles à l'état stationnaire de photosynthèse avec, fréquemment, une détermination simultanée de l'assimilation nette de CO_2 ou du dégagement photosynthétique d' O_2 . Dans les deux derniers cas, F_0 est déterminé après retour à l'obscurité.

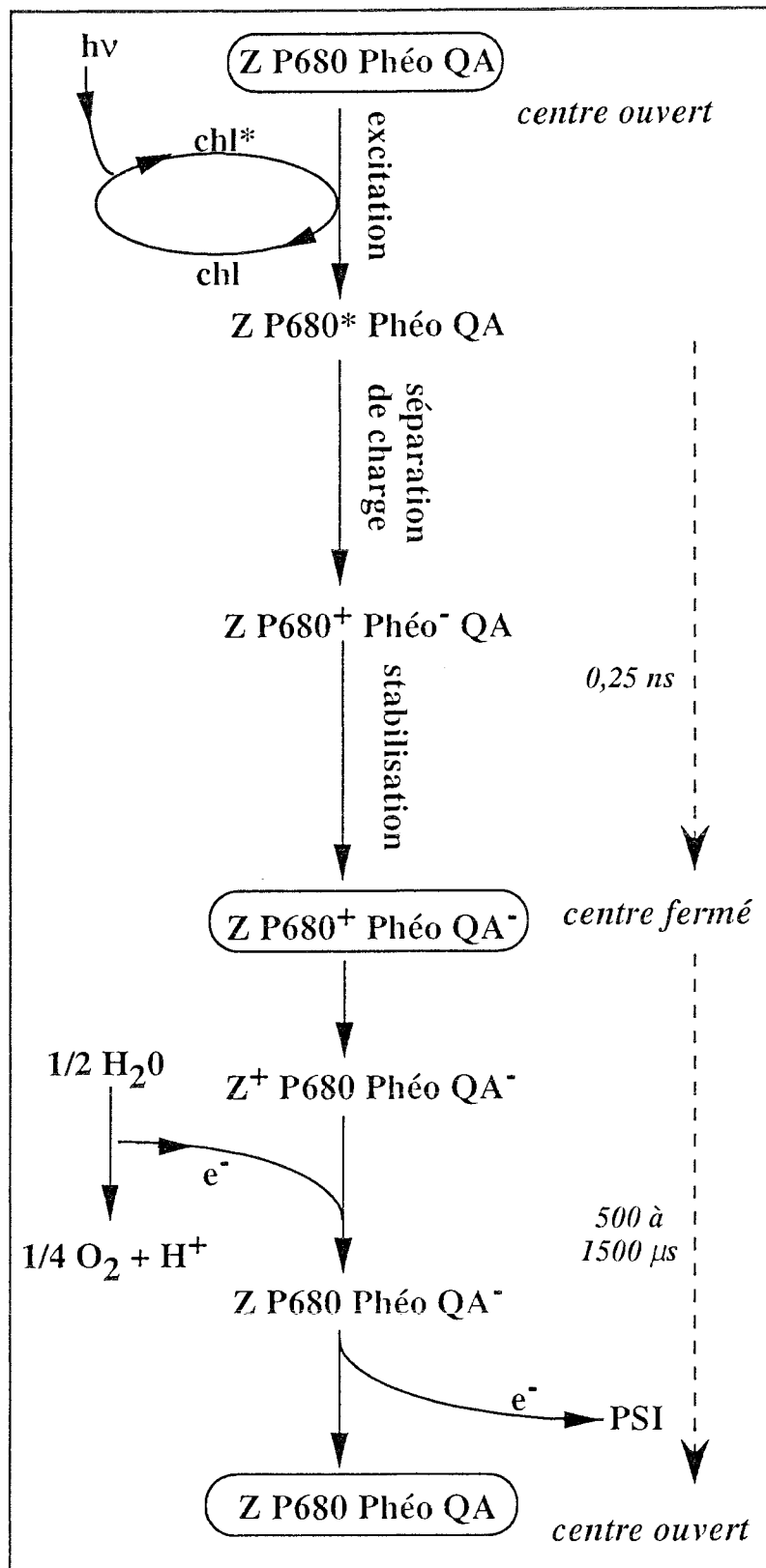


Figure II-1: Représentation schématique du fonctionnement du photosystème II. Le transfert de l'excitation (*) d'une molécule de chlorophylle de l'antenne collectrice (chl) à celle du centre réactionnel du PS II (P680) provoque le transfert d'un électron à la phéophytine a (phéo), puis à l'accepteur primaire (QA). Le P680 est réduit par un électron provenant de la photolyse de l'eau via un donneur secondaire (Z), tandis que QA est réoxydé par transfert des électrons vers le PS I (d'après Andréasson & Vänngård, 1988 ; Krause & Weis, 1991).

II. La fluorescence de la chlorophylle: un outil pour analyser l'influence des contraintes de l'environnement sur l'appareil photosynthétique.

La fluorescence de la chlorophylle représente une fraction de l'énergie lumineuse collectée par les antennes collectrices du photosystème II, qui n'est pas convertie en énergie chimique par les chloroplastes. Elle peut être mesurée et utilisée pour étudier le fonctionnement du PS II et, comme l'ensemble des processus élémentaires qui constituent la photosynthèse sont fortement interdépendants, elle peut servir d'outil d'analyse de la photosynthèse (Papageorgiou, 1975; Briantais *et al.*, 1986).

1. La conversion photochimique de l'énergie lumineuse

L'énergie nécessaire à la fixation photosynthétique du CO_2 est fournie au cycle de réduction du carbone par l'adénosine tri-phosphate (ATP) et le NADPH, H^+ . Ceux-ci proviennent de la conversion de l'énergie lumineuse dans les thylakoïdes. Cette conversion est assurée par les photosystèmes (PS), constitués d'une antenne collectrice et d'un centre réactionnel. Les antennes collectrices collectent les photons et transfèrent l'énergie d'excitation aux centres réactionnels, lesquels effectuent la séparation de charge. Cette séparation de charge résulte de la donation d'un électron d'une chlorophylle du centre réactionnel, appelée P680 (absorption maximale autour de 680 nm.) à un accepteur primaire, lorsque cette molécule de chlorophylle spécialisée est excitée. Le P680 oxydé est à nouveau réduit par les électrons provenant de la photolyse de l'eau (figure II-1). Les électrons provenant du PS II sont transférés jusqu'au PS I par une chaîne de transporteurs d'électrons. L'accepteur primaire du PS II, appelé QA, est en fait précédé par une phéophytine. Le centre réactionnel du PS I (P700) libère aussi des électrons lorsqu'il est excité, qui vont servir à réduire le NADP^+ en NADPH, H^+ . Cette perte d'électrons au niveau du P700 est compensée par le gain de ceux provenant du P680 (figure II-2).

Le transfert de deux électrons depuis une molécule d'eau jusqu'au NADP^+ nécessite deux photons au niveau de chaque photosystème et s'accompagne d'un transfert net de 4 protons dans la lumière des thylakoïdes. La dissipation du gradient de H^+ ainsi formé est assurée par un transporteur membranaire couplé à une ATPase. La production d'une molécule d'ATP nécessitant 3 protons, chaque paire d'électrons transférée le long de la chaîne permet la synthèse de 1,3 molécule d'ATP. La régénération du ribulose biphosphate (RubP), molécule sur laquelle se fixe le CO_2 , nécessite 2 NADPH, H^+ et 3 ATP, soit 4 électrons donc 8 photons. Les phosphorylations non cycliques ne fournissant que 2,6 ATP pour deux NADPH, H^+ il faut sans doute tenir compte des photons utilisés pour effectuer la phosphorylation cyclique ou pseudo-cyclique (réaction de Mehler) de 0.4 ATP supplémentaire (Sharkey, 1985).

2. Fluorescence et rendement quantique du PS II

Une molécule de chlorophylle recevant soit un photon, soit l'énergie d'excitation transmise par une molécule voisine, se trouve dans un état excité instable et retourne à l'état stable, soit en transférant l'énergie d'excitation à une molécule voisine, soit en dissipant cette énergie par émission de chaleur (dé-excitation non radiative) ou en émettant un photon (fluorescence), soit enfin en cédant un électron à une molécule de phéophytine. La fluorescence chlorophyllienne émise par une feuille provient très majoritairement, à température ambiante, du PS II. Elle dépend de l'activité des processus susceptibles de participer à la dé-excitation de la chlorophylle (Krause & Weis, 1984).

a. Modélisation de la fluorescence chlorophyllienne

Dans une revue de synthèse, Butler (1978) a repris les bases de modèles permettant de rendre compte des liens existant entre fluorescence et performance des autres voies de dé-excitation de la chlorophylle (figure II-3). Ces modèles postulent que l'émission de fluorescence provient de l'antenne collectrice, ce qui est aujourd'hui largement admis (Krause & Weis, 1991). L'utilisation de

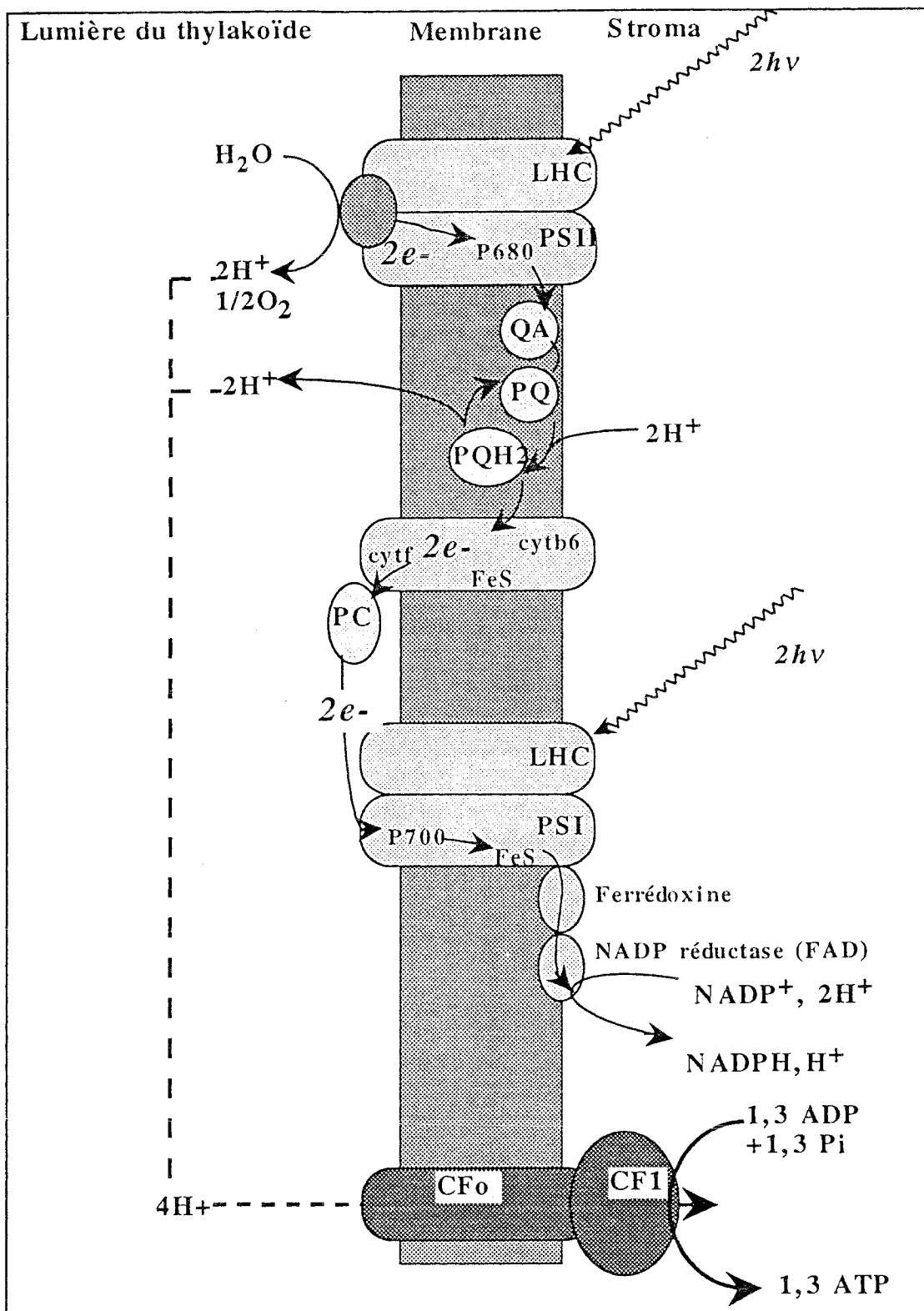


Figure II-2: Représentation schématique de la chaîne de transporteurs d'électrons insérée dans la membrane des thylakoïdes, dont les principaux composants sont : LHC, antennes collectrices ; PS I et PS II, photosystèmes I et II ; P680 et P700, centre réactionnel du PS II et du PS I ; QA, accepteur primaire ; PQ et PQH₂, plastoquinone à l'état oxydé et réduit ; CF₀ et CF₁, facteur de couplage (ATPase pompe à protons).

ces équations est d'un grand intérêt pour analyser les variations de fluorescence *in vivo* (Björkman, 1987; Genty *et al.*, 1989).

La fluorescence (F) émise par le PS II est proportionnelle à l'énergie absorbée par le PS II (J) et au rapport de la constante de vitesse de la voie fluorescence qui est invariable sur la somme des constantes de vitesse de l'ensemble des processus impliqués dans la dé-excitation des molécules de chlorophylle :

k_F , pour la fluorescence (invariable) ;
 k_P , très largement supérieure aux autres, pour la voie photochimique ;
 k_D pour la dissipation thermique ;
 k_T pour le transfert de l'énergie d'excitation au PS I.

Ce rapport est en fait la probabilité que l'énergie reçue d'un photon par le PS II soit dissipée par fluorescence.

$$F = J \cdot k_F / (k_F + k_D + k_T + k_P) \text{ pour un centre ouvert} \quad (1)$$

$$F = J \cdot k_F / (k_F + k_D + k_T) \text{ pour un centre fermé} \quad (2)$$

De façon générale, l'intensité de la fluorescence émise par une feuille dépend donc de la valeur des constantes de vitesse de l'ensemble des processus impliqués dans la dé-excitation des molécules de chlorophylle, de la fraction des centres PS II ouverts (B) et de la densité de flux de photons reçue par le PS II.

$$F = J \cdot [B \cdot k_F / (k_F + k_D + k_T + k_P) + (1-B) \cdot k_F / (k_F + k_D + k_T)] \quad (3)$$

dans l'hypothèse où il n'y a pas de migration d'excitation entre unité PSII (absence de connectivité)

$$F = J \cdot [k_F / (k_F + k_D + k_T + B \cdot k_P)] \quad (4)$$

dans l'hypothèse inverse.

Lorsque tous les centres réactionnels du PS II sont ouverts ($B=1$), c'est à dire susceptibles de recevoir une excitation en provenance des antennes chlorophylliennes, la fluorescence est minimale (F_0). Cet état est observé lorsque la feuille est illuminée par une lumière de très faible intensité.

$$F_0 = J \cdot k_F / (k_F + k_D + k_T + k_P) \quad (5)$$

Au contraire, lorsque la feuille est violemment éclairée par un flash de lumière saturante, les centres PS II sont tous fermés ($B=0$), le pool d'accepteurs primaires d'électrons, QA, est complètement réduit, la fluorescence atteint une valeur maximale F_m .

$$F_m = J \cdot k_F / (k_F + k_D + k_T) \quad (6)$$

Dans le cas particulier de notre système de mesure, J représente la densité de flux de photons reçue par le PS II en provenance de la LED pulsée.

b. Détermination de l'efficacité photochimique du photosystème II

L'efficacité photochimique du PS II (Φ_{II}) peut se définir comme le rendement quantique de l'acte photochimique, c'est à dire du transfert d'un électron du P680 à l'accepteur primaire QA.

L'efficacité photochimique des centres PS II ouverts (Φ_P) peut se définir comme le rapport de la constante de vitesse des processus photochimiques sur la somme des constantes de vitesse de l'ensemble des processus impliqués dans la dé-excitation des molécules de chlorophylle,

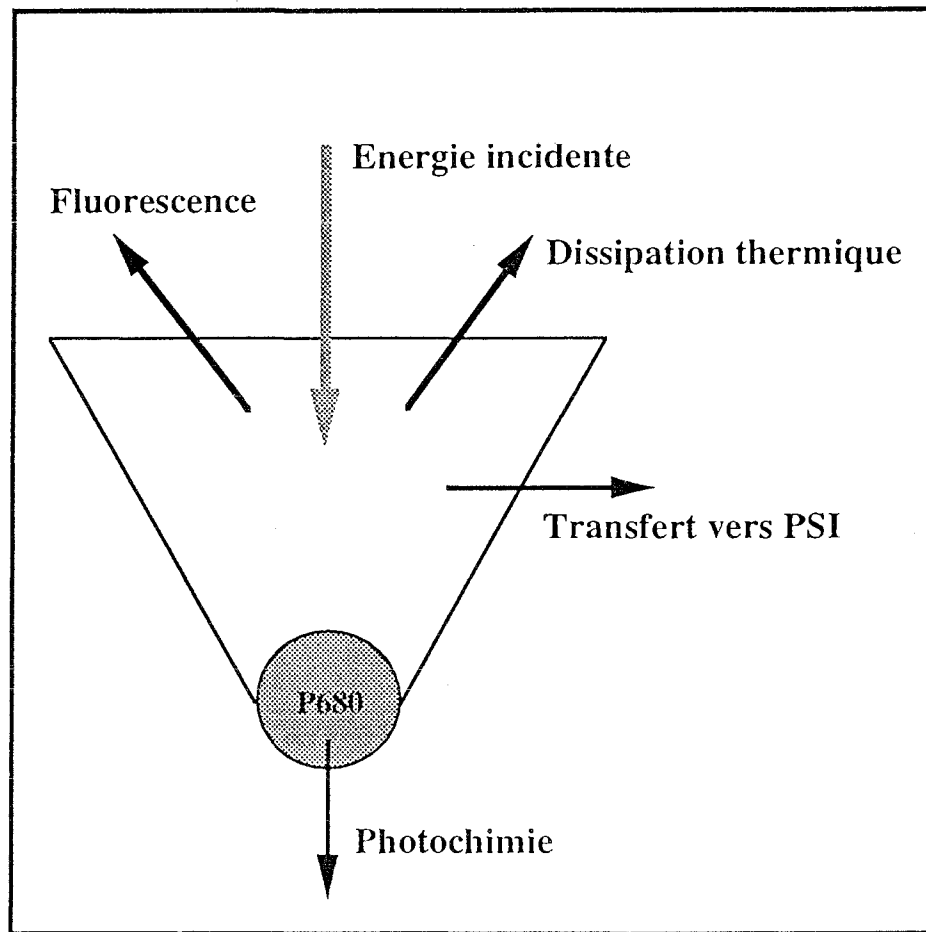


Figure II-3: Représentation schématique des différentes voies d'utilisation de l'énergie reçue par le photosystème II (P680, centre réactionnel du photosystème II).

$$\Phi_P = k_P / (k_P + k_F + k_D + k_T) \quad (7)$$

et être estimé par le rapport,

$$\Phi_P = (F_m - F_0) / F_m = F_v / F_m \quad (8)$$

F_v étant la fluorescence variable, c'est à dire la différence entre F_0 et F_m .

Pour des feuilles préalablement adaptées à l'obscurité, l'ensemble des centres PS II étant ouvert, il apparaît que $\Phi_{II} = \Phi_P$. Dans ces conditions, F_v / F_m représente l'efficacité photochimique optimale du PS II. Björkman & Demmig (1987) ont montré que ce paramètre, mesuré sur un grand nombre d'espèces, est relativement constant (0,834 $\pm$ 0,004). Cette valeur peut être comparée à celle du rendement quantique du dégagement photosynthétique d'oxygène (0,106 μmol d' O_2 μmol^{-1} de photon). Si on admet qu'une molécule O_2 correspond à 4 électrons et qu'il faut autant de photons au niveau du PS I que du PS II pour assurer un transport linéaire de ces électrons, cette mesure du rendement quantique permet d'estimer à 0,848 le nombre d'électrons quittant le PS II par photon reçu, confirmant le fait que F_v / F_m est un bon indicateur de l'efficacité photochimique des centres PS II.

Il convient de distinguer, pour plus de clarté, les valeurs de fluorescence mesurées sur des feuilles adaptées à l'obscurité et celles mesurées sur des feuilles adaptées à la lumière, qui seront identifiées par une apostrophe (F_0' , F_m' , F' , F_v'). A la lumière, Φ_P se mesure donc par F_v' / F_m' .

Pour une feuille adaptée à la lumière, une fraction seulement des centres réactionnels sont ouverts. L'efficacité photochimique du photosystème II (Φ_{II}) est donc proportionnelle à l'efficacité des centres ouverts et à un facteur prenant en compte les variations relatives de l'efficacité photochimique du PS II dépendant de la fraction de centres ouverts. Il s'agit du quenching de la fluorescence d'origine photochimique (q_P), qui représente l'atténuation de la fluorescence attribuable à la fraction de centres PS II ouverts (Genty *et al.*, 1989) et qui est égal (Schreiber *et al.*, 1986) à

$$(F_m' - F') = q_P \cdot (F_m' - F_0') \quad (9)$$

$$q_P = (F_m' - F') / (F_m' - F_0') \quad (10)$$

Donc

$$\Phi_{II} = q_P \cdot \Phi_P \quad (11)$$

$$\Phi_{II} = (F_m' - F') / F_m' = \Delta F / F_m' \quad (12)$$

Remarquons que d'après l'équation (3),

$$B = (F_m' - F') / (F_m' - F_0') \quad (13)$$

L'expression du quenching photochimique est en fait celle de B (la fraction de centres ouverts), à condition que l'hypothèse faite, à savoir l'absence de migrations d'excitation entre unités PS II (absence de connectivité), soit vérifiée. Plus qu'une mesure directe de la fraction de centre ouvert, q_P doit donc être considéré comme un estimateur qualitatif (Havaux *et al.*, 1991).

c. Visualisation du modèle par une simulation numérique

Une simulation numérique de l'évolution de F_0 , F_m et F_v / F_m lorsque k_P ou k_D varient permet de mieux comprendre l'analyse qui peut être faite des variations de ces deux paramètres en situation de contraintes. Dans cette simulation, on néglige k_T , ou plus exactement on inclut k_T dans k_D (k_{DT}).

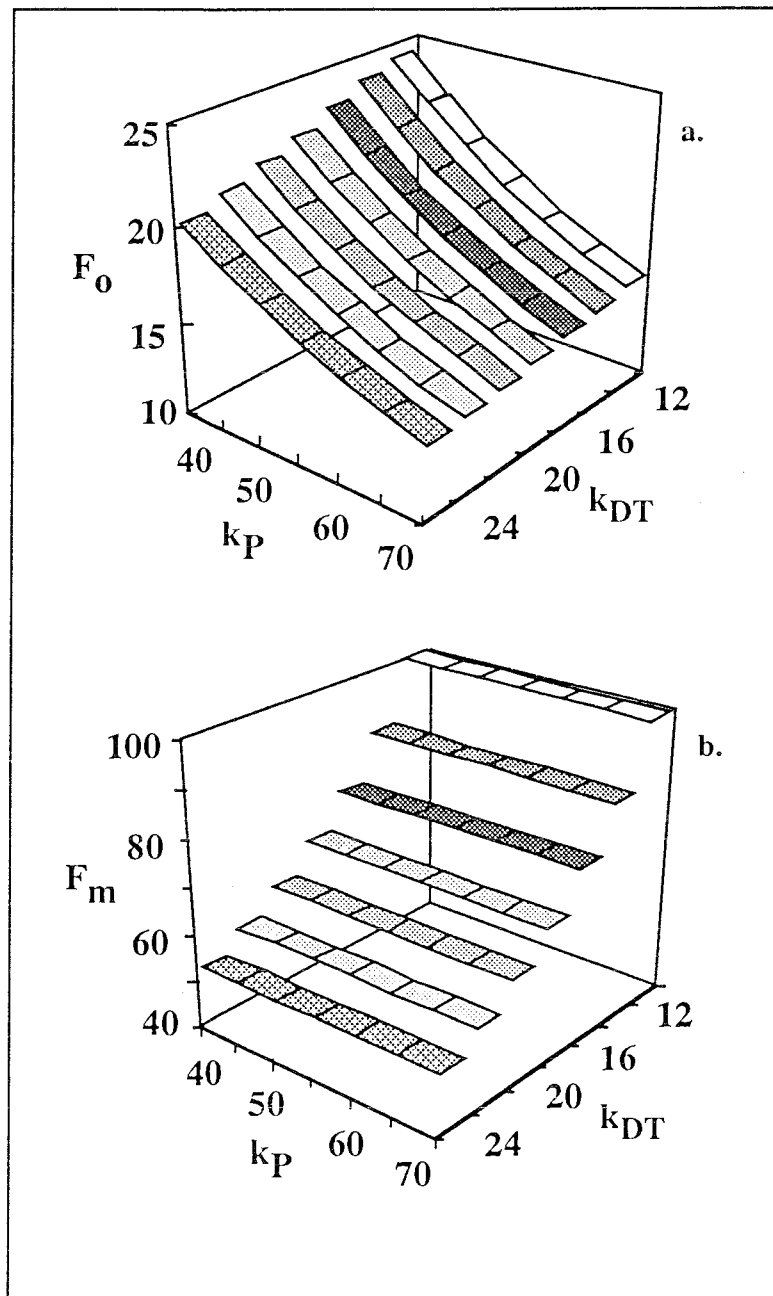


Figure II-4: Simulation de l'évolution de la fluorescence minimale (F_0 , a.) et de la fluorescence maximale (F_m , b.) en réponse aux variations de la constante de vitesse des processus de dissipation thermique et de transfert de l'excitation vers le PSI (k_{DT}) et de la constante de vitesse de la voie photochimique (k_P). Voir les hypothèses dans le texte.

En prenant une valeur optimale de F_v/F_m égale à 0.834 (Björkman & Demmig, 1987) et en fixant k_F égal à 1 et F_m optimal égal à 100, les autres constantes en conditions optimales doivent être égales à 70 pour k_P et 12 pour k_{DT} . Sachant que J et k_F restent constantes (base du modèle), il est possible de simuler les variations de F_o , F_m et F_v/F_m lorsque k_P ou k_{DT} varient. Les hypothèses retenues pour cette simulation sont proches de celles proposées par Björkman (1987).

La figure II-4 montre l'évolution de F_o et F_m en réponse aux variations de k_{DT} et de k_P . Une augmentation de k_{DT} entraîne à la fois une diminution de F_m et de F_o , celle de F_m étant nettement plus marquée que celle de F_o . Si k_{DT} augmente et k_P diminue, la diminution de F_m est la même que celle observée précédemment, alors que F_o a tendance à augmenter. Néanmoins, cette augmentation de F_o est plus faible que celle attendue lorsque k_P uniquement varie. De même, dans ces conditions, aucune variation de F_m n'est observée. La figure II-5 montre les relations entre F_v/F_m et, d'une part F_m , d'autre part F_o , en fonction des différentes hypothèses définies précédemment. Il apparaît clairement que la diminution de F_v/F_m qui correspond soit à une augmentation de k_{DT} , soit à une diminution de k_P , se traduit par une diminution plus ou moins importante de F_m , et surtout par une évolution divergente de F_o . Il est donc théoriquement possible de déterminer, à partir de ce modèle, les processus qui sont à l'origine d'une diminution de l'efficacité photochimique des centres PS II.

d. Relations entre efficacité photochimique du PS II et photosynthèse.

Genty *et al.* (1989) ont mis en évidence la très bonne corrélation existant entre l'efficacité photochimique du PS II ($\Delta F/F_m'$) et le rendement quantique de l'assimilation de CO_2 en absence de photorespiration, qui est alors proportionnelle au rendement quantique du transfert non cyclique d'électrons. Cette corrélation a été confirmée avec *Helianthus annuus* (Plesnicar et Pankovic, 1991), *Zea mays* (Krall & Edwards, 1991), *Flavellia sp.* (Krall *et al.*, 1991). Le rendement quantique du transfert d'électrons est donc déterminé, d'une part par l'efficacité photochimique des centres PS II ouverts, d'autre part par la fraction de centre PS II ouvert (Genty *et al.*, 1989; Baker, 1991; Havaux *et al.*, 1991). Par contre, Öquist et Chow (1992) n'ont pas observé cette linéarité sur un certain nombre d'espèces, et ont considéré que ce modèle n'était probablement pas universel.

L'existence d'une relation entre efficacité photochimique du PS II et rendement quantique de l'assimilation de CO_2 en absence de photorespiration est particulièrement intéressante dans le cas des plantes en C3, car la différence entre le rendement quantique du transfert d'électrons utilisé pour l'assimilation de CO_2 et le rendement quantique du transfert d'électrons total estimé par fluorescence permet d'estimer la fraction du flux total d'électrons qui est utilisée par la photorespiration (Peterson, 1990; Cornic & Briantais, 1991).

3. Dissipation non photochimique de l'énergie reçue par le photosystème II

L'efficacité photochimique du PS II est donc proportionnelle au quenching photochimique et à l'efficacité photochimique des centres ouverts. Or, *in vivo*, la diminution de Φ_{II} ne résulte pas uniquement d'une diminution de q_P , mais aussi d'une diminution de Φ_P (Genty *et al.*, 1989). Ce phénomène a été attribué principalement à des processus non photochimiques, décrits par le terme de quenching non photochimique (q_N). Il s'agit d'un paramètre descriptif qui caractérise la dissipation non radiative de l'énergie d'excitation qui entre en compétition avec l'utilisation de l'énergie par la voie photochimique (Havaux *et al.*, 1991).

Une augmentation de la quantité d'énergie reçue en excès par le PS II doit donc se traduire par un effet sur q_P et q_N . Schreiber et Bilger (1987) montrent en effet que la suppression du CO_2 , l'un des deux substrats de la Rubisco avec O_2 , entraîne une forte augmentation de q_N et une diminution de q_P . La suppression simultanée de CO_2 et O_2 provoque une réduction drastique de q_P . L'utilisation d'inhibiteurs qui bloquent plus ou moins directement le fonctionnement du cycle de réduction du CO_2 , se traduit aussi par une augmentation de q_N et une diminution de q_P . Le quenching non photochimique permet donc de maintenir l'activité photochimique du PS II, donc le flux d'électrons, en équilibre avec les besoins du métabolisme du carbone sans induire une diminution marquée de q_P , donc une réduction massive du pool d'accepteurs d'électrons (QA), afin de limiter les risques de

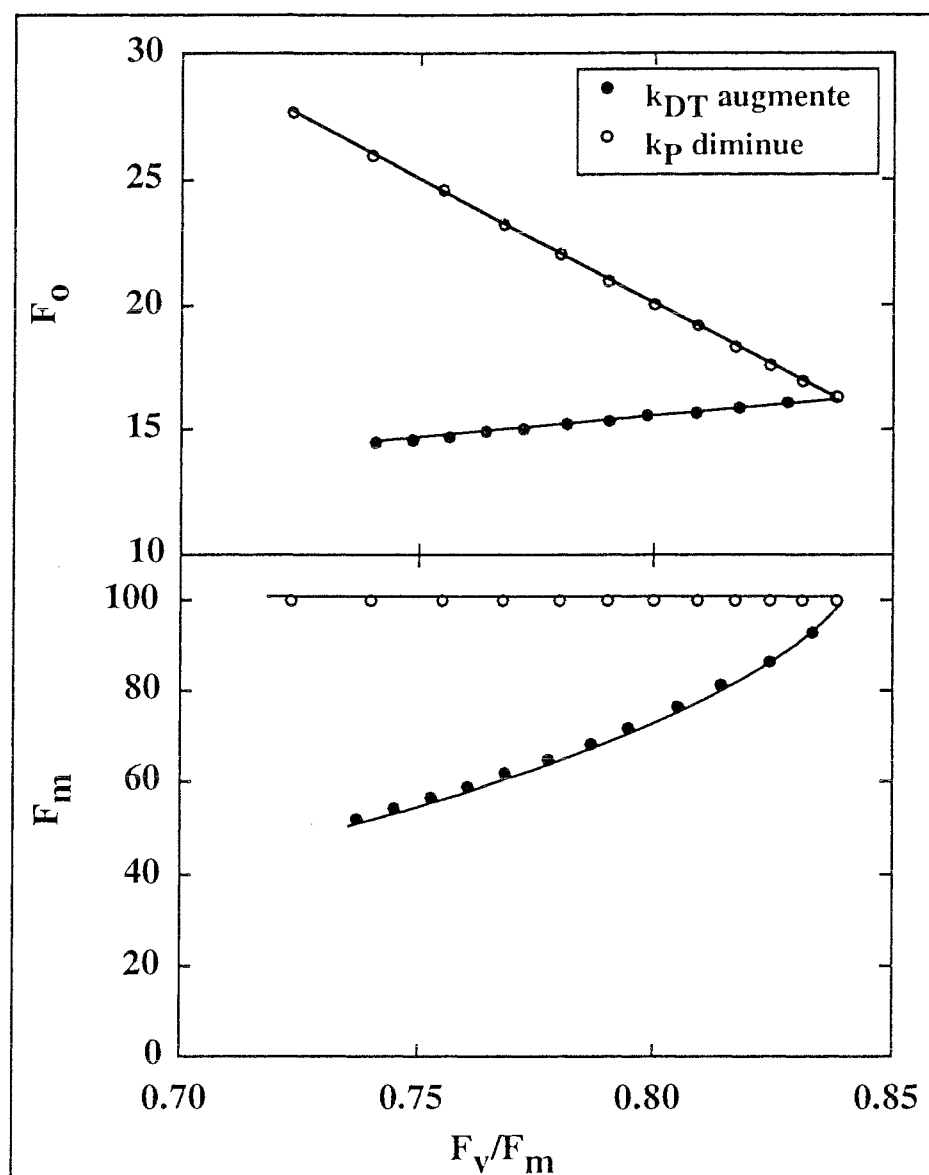


Figure II-5: Simulation des relations entre efficacité photochimique des centres du photosystème II (F_v/F_m) et fluorescence minimale (F_o) ou maximale (F_m) lorsque, soit la constante de vitesse des processus de dissipation thermique et de transfert de l'excitation vers le PS I (k_{DT}), soit la constante de vitesse de la voie photochimique (k_p), varient. La diminution de F_v/F_m est provoquée, soit par une augmentation de k_{DT} , soit par une diminution de k_p . Voir figure II.4 pour les taux de variation.

dommages à l'appareil photosynthétique induits par les excès d'énergie d'excitation (Sharkey *et al.*, 1988).

a. Détermination du quenching non photochimique

Il est théoriquement possible de distinguer deux composantes de ce quenching sur la base de leur vitesse de relaxation (Horton & Hague, 1988), une partie se dissipant rapidement, en moins de 100 secondes (q_{Nfast}), et une partie persistant après plus de 300 secondes d'obscurité (q_{Nslow}). Ces différents coefficients ont été calculés d'après Schreiber *et al.* (1986), Bilger et Schreiber (1986) et Demmig et Winter (1988), comme cela est rappelé sur la figure II-6, en considérant que q_N correspond à la réduction de fluorescence variable résultant du passage d'un état adapté à l'obscurité à un état adapté à la lumière.

Donc, il est possible d'écrire :

$$(F_m' - F_o') = (F_m - F_o) - q_N \cdot (F_m - F_o) \quad (14)$$

$$(F_m' - F_o') = (F_{md100} - F_{od100}) - q_{Nfast} \cdot (F_{md100} - F_{od100}) \quad (15)$$

$$(F_{md300} - F_{od300}) = (F_m - F_o) - q_{Nslow} \cdot (F_m - F_o) \quad (16)$$

et de formuler le calcul des différents quenchings sous la forme :

$$q_N = 1 - [(F_m' - F_o') / (F_m - F_o)] \quad (17)$$

$$q_{Nfast} = 1 - [(F_m' - F_o') / (F_{md100} - F_{od100})] \quad (18)$$

$$q_{Nslow} = 1 - [(F_{md300} - F_{od300}) / (F_m - F_o)] \quad (19)$$

Une autre expression, moins utilisée, consiste à calculer le quenching non photochimique comme le rapport de la partie de la fluorescence émise par les centres PS II fermés qui est "quenchée" lors du passage d'un état adapté à l'obscurité à un état adapté à la lumière, sur la fluorescence émise lorsque les centres PS II sont fermés. Ce calcul est basé sur les équations de Stern-Volmer, identifiées par l'indice q_N (Krause et Weis, 1991; Gilmore & Yamamoto, 1991).

$$q_N(SV) = (F_m - F_m') / F_m' \quad (20)$$

Exprimé de la sorte, le quenching non photochimique est un indicateur de l'évolution de la constante de vitesse k_D , d'après le modèle développé dans le paragraphe 2 (équation 5). En effet,

$$q_N(SV) = (F_m - F_m') / F_m' = \Delta(K_D) / (K_F + K_D) \quad (21)$$

b. Mécanismes à l'origine du quenching non-photochimique

Les différents mécanismes susceptibles d'expliquer l'origine du quenching non photochimique ont fait l'objet d'une revue récente (Krause & Weis, 1991), mais les mécanismes qu'ils impliquent sont encore très controversés. C'est donc avec prudence que ces mécanismes seront présentés. Le modèle développé dans le paragraphe 2 suppose que la dissipation non photochimique de l'énergie reçue se fasse au niveau des pigments des antennes collectrices. Elle est en compétition avec son utilisation pour effectuer la séparation de charge au niveau des centres PS II ouverts (Genty *et al.*, 1989).

Une composante majoritaire de ce quenching (q_E) apparaît associée au développement d'un gradient de protons transmembranaire qui pourrait entraîner des modifications ultrastructurales au niveau des thylakoïdes (Briantais *et al.*, 1986). Ce quenching pourrait faire intervenir la zéaxanthine constitutive des antennes collectrices, de nombreuses expériences ayant montré une étroite relation entre la teneur en zéaxanthine (issue de la dé-époxydation de la violaxanthine) et la capacité des feuilles à dissiper l'excès d'énergie reçue (Demmig *et al.*, 1987 ; Demmig Adams *et al.*, 1989b ; Adams *et al.*, 1990 ; Bilger & Björkman, 1990 ; Gilmore & Yamamoto, 1991). Dans cette hypothèse, le gradient de

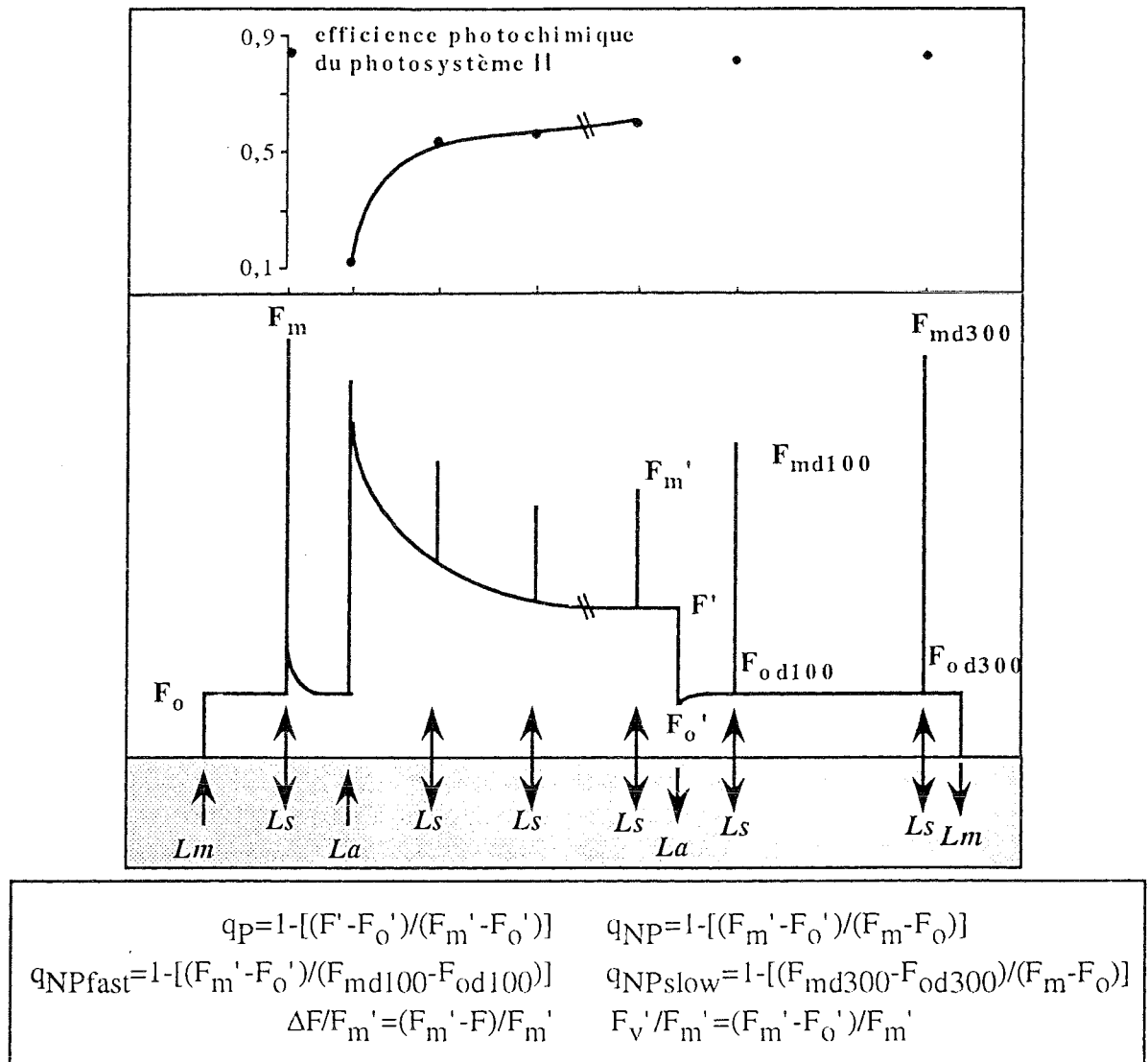


Figure II-6: Représentation schématique d'une cinétique d'induction de fluorescence. Une rondelle foliaire adaptée à l'obscurité est illuminée avec une lumière modulée de très faible intensité (L_m) afin de mesurer la fluorescence minimale (F_0). Puis un flash de lumière blanche saturante (L_s ; 0.7s ; 4000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) est surimposé afin de mesurer la fluorescence maximale (F_m). Une lumière actinique blanche (L_a) est allumée pour induire la cinétique de fluorescence. L'addition d'un flash saturant (L_s) à l'équilibre (F') permet de mesurer la fluorescence maximale (F_m'). Après extinction de la lumière actinique, le niveau de fluorescence minimale F_0' est déterminé. Au bout de 100 puis 300 secondes d'obscurité, des flash saturants (L_s) sont effectués pour déterminer la fluorescence maximale (F_{md100} et F_{md300}) correspondant au niveau de fluorescence minimale F_{od100} et F_{od300} . Les formules de calcul des différents quenching ainsi que de l'efficacité photochimique du PS II et des centres PS II ouverts sont rappelées. L'évolution de l'efficacité photochimique du PS II au cours de la cinétique est représentée schématiquement dans la partie haute du graphique.

protons transmembranaire pourrait être impliqué en favorisant l'association zéaxanthine-chlorophylle indispensable au transfert de l'excitation entre les deux molécules (Demmig-Adams *et al.*, 1989c). Le fait que le DTT inhibe à la fois la synthèse de zéaxanthine et q_N confirme le fort couplage entre les deux processus (Demmig Adams *et al.*, 1990 ; Adams *et al.*, 1990 ; Gilmore et Yamamoto, 1991).

Une autre composante de q_N , appelée q_I (I pour inhibition parce qu'elle persiste plusieurs minutes voire plusieurs heures après retour à l'obscurité), a été observée en réponse à des éclaircissements excessifs (Horton & Hague, 1988 ; Schaffer & Björkman, 1989). Ce quenching pourrait en fait être de même nature que le précédent, intervenant lorsque le premier est saturé (Demmig & Winter, 1988 ; Horton *et al.*, 1988), la différence entre les deux résultant de l'utilisation de pools de violaxanthine localisés dans différentes parties du chloroplaste (Schaffer & Björkman, 1989).

Une autre hypothèse pour expliquer le quenching non-photochimique a été proposée par Weis & Berry (1987). Elle repose sur la transformation sous contrôle du gradient de protons de centres PS II actifs en centres PS II inactifs, mais ayant une forte capacité à dissiper l'énergie qu'ils reçoivent. La dissipation n'aurait donc plus lieu dans l'antenne, mais au niveau des centres réactionnels.

De ces deux hypothèses, Genty *et al.* (1990b) ont montré que celle d'un quenching non photochimique diminuant la capture de l'énergie par les centres PS II ouverts était la plus vraisemblable, compte-tenu d'un effet direct de q_N sur la vitesse de réduction de l'accepteur primaire QA.

Quelle que soit l'origine de q_N , l'efficacité photochimique du PS II est contrôlée par l'activité de la chaîne de transfert des électrons via probablement le gradient de protons, donc par l'activité du cycle de Calvin et la photorespiration.

Il existe un autre type de quenching non photochimique (q_T) résultant de la transition état 1- état 2, c'est à dire de la migration d'une partie des antennes collectrices du PS II vers le PS I non fluorescent. La participation de ce quenching à la décroissance de la fluorescence est en général faible et relativement constante (Horton & Hague, 1988). De plus, ce quenching affecte l'absorption de l'énergie par le PS II (modification de la taille des antennes), donc la quantité de fluorescence émise par une feuille, mais n'entre pas en compétition avec la photochimie, donc ne contribue pas à la diminution de l'efficacité photochimique du PS II.

4. Confirmation de la validité du modèle retenu pour le chêne.

a. Matériel et méthodes

Les feuilles de chêne sessile (*Q. petraea*) ont été obtenues soit sur des arbres en conditions naturelles (feuilles du haut des houppiers, pleinement exposées à la lumière solaire), soit sur des semis d'un an cultivés à une concentration en CO₂ normale (350 vpm) ou élevée (700 vpm) dans des tunnels en PVC situés dans une serre sans éclairage additionnel. Ces traitements ont été choisis afin de tester la validité du modèle présenté dans le paragraphe 2 et les éventuelles influences des conditions de croissance sur ce modèle.

La photosynthèse a été déterminée en mesurant le dégagement photosynthétique d'oxygène dans 5% de CO₂ et à différents niveaux d'éclairement. Le rendement quantique du dégagement photosynthétique d'O₂ est calculé comme le rapport du dégagement photosynthétique d'O₂ sur la densité de flux de photons incident. Dans ces conditions, nous avons vérifié l'absence d'absorption d'oxygène à l'obscurité (inhibition de la respiration mitochondriale). De plus, la photorespiration doit être fortement limitée, la concentration en CO₂ dans le stroma étant supposée largement saturante. La fluorescence chlorophyllienne a été mesurée simultanément à l'aide d'un fluorimètre P.A.M. (voir chap. I) et analysée comme présenté dans les parties 2 et 3 de ce chapitre.

b. Résultats et discussion

La Figure II-7a représente la relation entre l'efficacité photochimique du PS II et le rendement quantique apparent du dégagement photosynthétique d'O₂ qui, mesuré en absence de

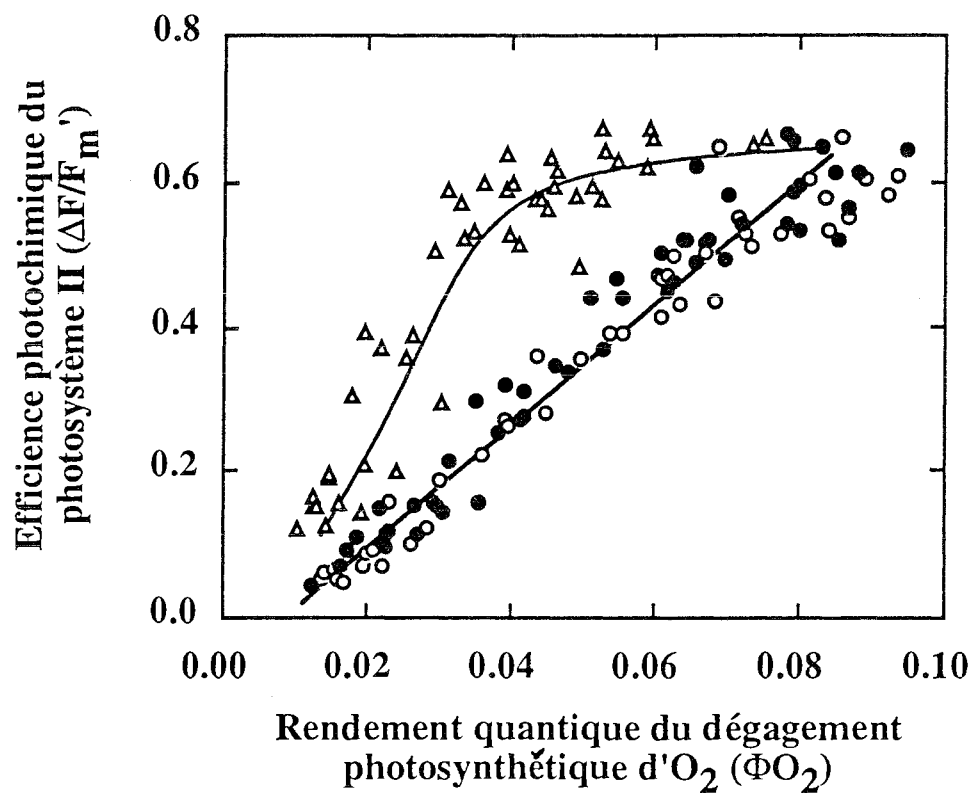


Figure II.7: Relations entre rendement quantique apparent du dégagement photosynthétique d'O₂ et efficacité photochimique du photosystème II. Semis de chêne sessile cultivés à 350 vpm de CO₂ (disques blancs), semis de chêne sessile cultivés à 700 vpm de CO₂ (disques noirs), chênes sessiles adultes en conditions naturelles (triangles).

photorespiration, représente le rendement quantique apparent du flux d'électrons. La relation entre les deux paramètres est linéaire et identique pour les deux types de semis de chênes. Néanmoins la droite ne passe pas par 0, et présente une pente faible. En prenant arbitrairement pour hypothèse qu'il y ait 4 électrons par molécule d'O₂, une absorbance de la feuille de 80%, et une répartition équilibrée de l'énergie entre les deux photosystèmes, la pente devrait être dans ce cas de $[4 / (0.50 * 0.80)]$, soit 10. Elle n'est que de 8 dans le cas des semis, ce qui peut s'expliquer par une distribution de l'énergie plus en faveur du PS II, et/ou par une absorbance plus élevée. Une sous estimation de F_m' due à l'utilisation d'une lumière non suffisamment saturante sur toute la surface de la rondelle foliaire pour fermer tous les centres PS II peut aussi être avancée pour expliquer ce résultat, la fibre optique étant présentée obliquement par rapport à la surface de la feuille.

Néanmoins, une non-linéarité de cette relation aux rendements quantiques élevés a pu être observée sur des feuilles de la partie supérieure de la couronne de chênes sessiles adultes, ainsi que sur le chêne chevelu au cours d'une cinétique journalière en conditions naturelles (annexe G). En absence de photorespiration, l'interprétation de ce résultat est difficile, et peut traduire soit l'existence d'un transfert d'électrons sans dégagement net d'oxygène qui sature aux éclaircissements élevés (réaction de Mehler, transfert cyclique d'électrons au niveau du PS II), soit une modification de la répartition des photons entre le PS II et le PS I, soit une modification des propriétés optiques des feuilles en réponse à l'augmentation de l'éclaircissement. Sur ce dernier point, Brugnoli & Björkman (1992) ont mis en évidence une réorganisation rapide de la disposition des chloroplastes en réponse à des variations d'éclaircissement, susceptible d'induire une modification des propriétés optiques des feuilles. Evans *et al.* (1993) ont très récemment mis en évidence qu'un gradient d'absorption lumineuse dans la feuille différent du gradient de la capacité photosynthétique pouvait induire une telle distorsion de la relation entre l'efficacité photochimique du PS II et le rendement quantique du dégagement photosynthétique d'O₂.

Quelles que soient les causes de cette non-linéarité, il devient difficile d'estimer le flux linéaire total d'électrons à éclaircissement non saturant à partir de cette relation. L'utilisation du modèle afin de calculer la fraction du flux linéaire d'électrons utilisée pour la photorespiration par la différence entre le flux total et le flux utilisé pour l'assimilation du CO₂ (Cornic & Briantais, 1991) n'est donc pas simple sur ce type de matériel végétal.

Il apparaît clairement que, dans le cas des semis de chênes au moins, le modèle de Genty *et al.* (1989) prévoyant un contrôle de l'efficacité du PS II par la fraction de centres ouverts d'une part, et l'efficacité photochimique des centres ouverts d'autre part, explique bien nos résultats.

La figure II-8 montre une grande différence entre les feuilles des arbres en condition naturelles et les feuilles des semis élevés en serre. Dans le cas de ces dernières, la contribution de q_p à la diminution de $\Delta F/F_m'$ est prépondérante tandis que, dans le cas des premières, la diminution de l'efficacité des centres ouverts est aussi une composante importante de la réduction d'efficacité photochimique du PS II. Ceci traduit certainement la faible acclimatation des feuilles de semis cultivés sous éclaircissement limitant aux variations d'éclaircissement, et suggère une sensibilité supérieure aux excès d'éclaircissement. Dans le cas des semis de chênes, q_p apparaît comme un estimateur assez pertinent du rendement quantique de l'efficacité photochimique du PSII, donc du transfert non cyclique des électrons. Cela démontre aussi que les processus non photochimiques ne sont pas des processus universels du contrôle du transfert des électrons, et dépendent des conditions d'éclaircissement durant l'ontogenèse des feuilles.

La figure II-9 confirme néanmoins que, quelque soit le processus qui intervient de façon prépondérante dans le contrôle du transfert des électrons, la diminution de l'efficacité des centres ouverts est bien illustrée par l'augmentation du quenching non photochimique, et que l'expression de ce quenching à l'aide des équations de Stern-Volmer rend mieux compte de l'accroissement de la dissipation non photochimique de l'énergie reçue en excès par les antennes collectrices du PS II. Ceci est cohérent avec la bonne corrélation entre cette expression du quenching et la teneur en zéaxanthine dans les chloroplastes (Gilmore & Yamamoto, 1991).

En conclusion, le modèle de Genty *et al.* (1989) semble valide pour les semis de chênes mais son extension aux feuilles d'arbres qui se sont développées en conditions naturelles est délicate. L'application de ce modèle pour estimer le flux d'électrons utilisé par la photorespiration ne peut donc pas être aisément généralisée. D'autre part, la contribution relative de l'augmentation de la dissipation

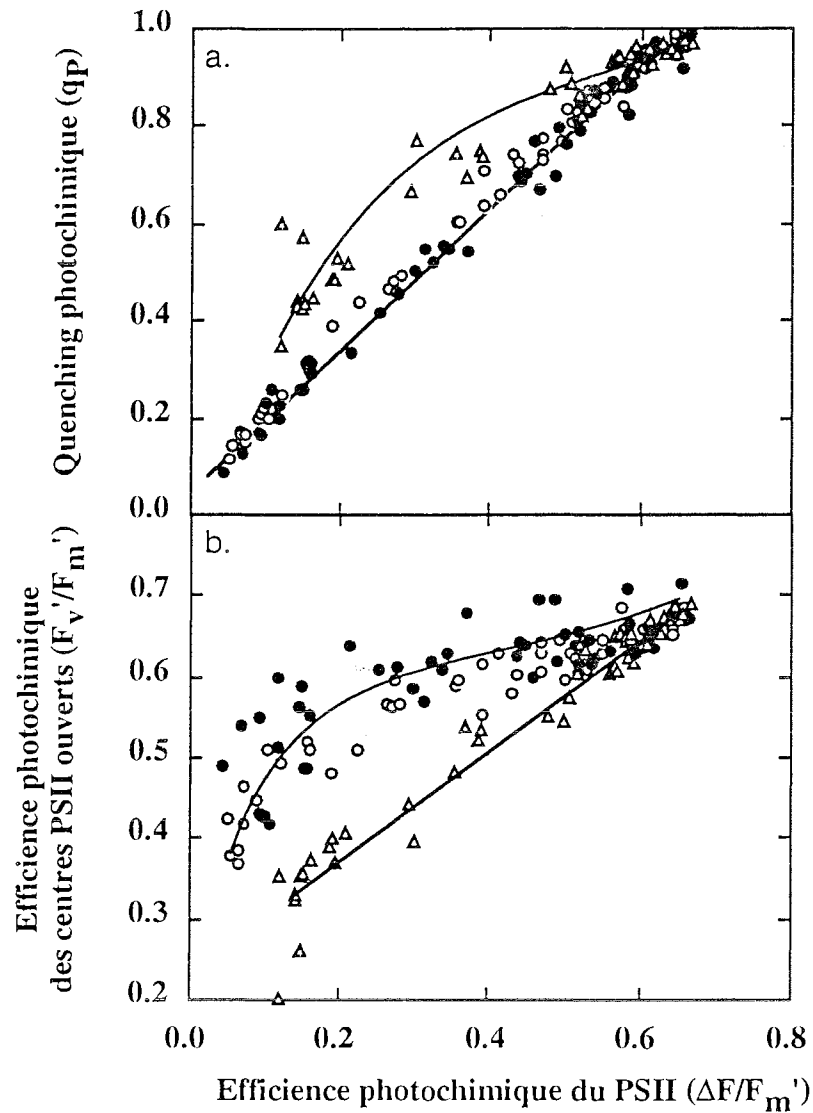


Figure II.8: Relations entre l'efficacité photochimique du photosystème II et le quenching photochimique (a.) ou l'efficacité photochimique des centres PS II ouverts (b.). Semis de chêne sessile cultivés à 350 vpm de CO_2 (disques blancs), semis de chêne sessile cultivés à 700 vpm de CO_2 (disques noirs), chênes sessiles adultes en conditions naturelles (triangles).

thermique à la régulation de l'activité du PS II, donc au transport non cyclique des électrons, est fortement conditionnée par la nature des feuilles et les conditions environnementales (climat lumineux) pendant leur croissance. Cela pourrait s'expliquer en partie par des différences de teneur en xanthophylle et de capacité à synthétiser la zéaxanthine, entre des feuilles développées à pleine lumière et des feuilles développées sous un éclairage limitant, comme l'ont montré Demmig *et al.* (1987) et Thayer & Björkman (1989).

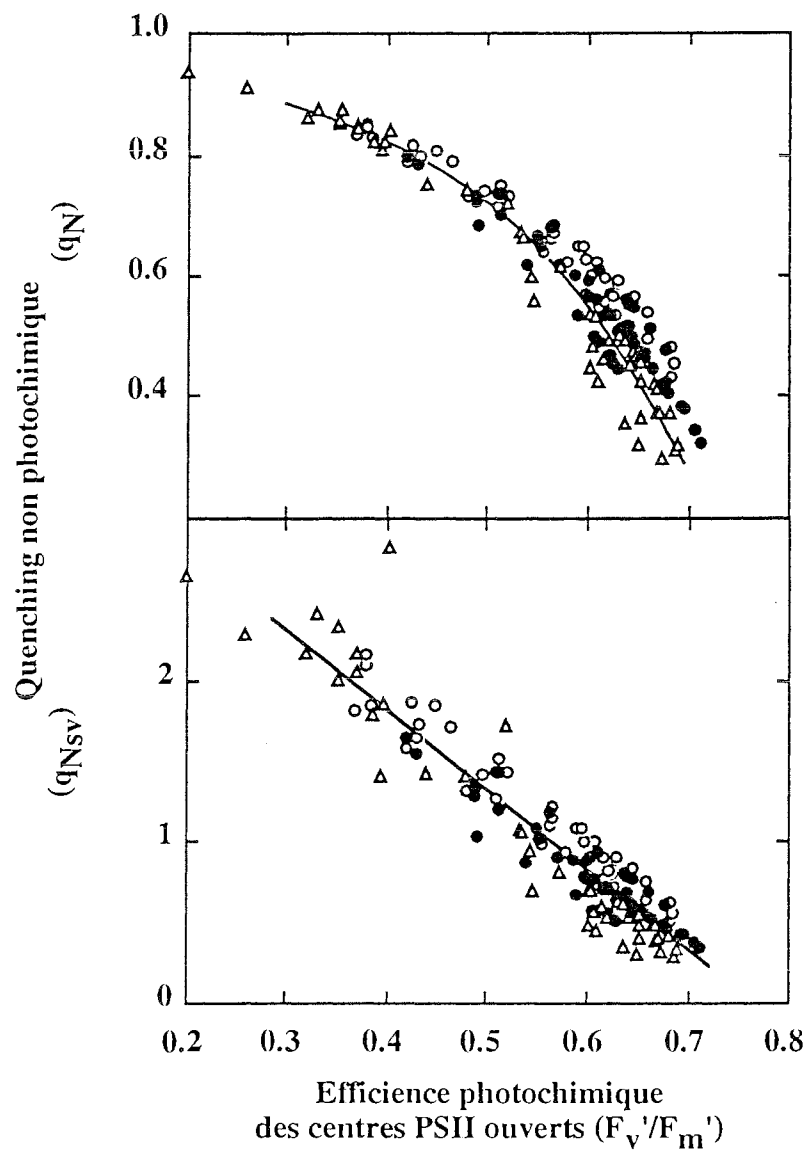


Figure II.9: Relations entre l'efficience photochimique des centres ouverts et quenching non photochimique de la fluorescence calculé d'après Schreiber *et al.*, 1986(a.) et d'après les équations de Stern-Volmer (Krause & Weis, 1991; b.). Semis de chêne sessile cultivés à 350 vpm de CO₂ (disques blancs), semis de chêne sessile cultivés à 700 vpm de CO₂ (disques noirs), chênes sessiles adultes en conditions naturelles (triangles).

III. Effets de la sécheresse sur la photosynthèse des chênes et sensibilité aux excès d'éclairement.

Le renvoi aux annexes fait référence aux articles constituant le corps de ce travail :

ANNEXE A: Epron D. & Dreyer E. (1992) Effects of severe dehydration on leaf photosynthesis in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.: photosystem II efficiency, photochemical and nonphotochemical fluorescence quenching and electrolyte leakage. *Tree Physiology* 10, 273-284.

ANNEXE B: Epron D., Dreyer E. & Bréda N. (1992) Photosynthesis of oak trees [*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.] during drought under field conditions: diurnal course of net CO₂ assimilation and photochemical efficiency of photosystem II. *Plant, Cell & Environment* 15, 809-820.

ANNEXE C: Epron D., Dreyer E. & Aussenac G. (1993) A comparison of photosynthetic response to water stress in seedlings from three oak species: *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Q. rubra* L. and *Q. cerris* L. *Annales des Sciences Forestières*, sous presse.

ANNEXE D: Epron D. & Dreyer E. Photosynthesis of oak leaves under water stress: maintenance of high photochemical efficiency of photosystem II and occurrence of non-uniform CO₂ assimilation. *Tree Physiol.*, accepté.

ANNEXE E: Epron D. & Dreyer E. Compared effects of drought on photosynthesis of adult oak trees (*Quercus petraea* [Matt.] Liebl. and *Quercus robur* L.) in a natural stand. *New Phytologist*, soumis.

ANNEXE F: Dreyer E., Epron D. & Eyog-Matig O. (1992) Photochemical efficiency of photosystem II in rapidly dehydrating leaves of 11 temperate and tropical tree species differing in their tolerance to drought. *Annales des Sciences Forestières*, 49, 615-625..

ANNEXE G: Données non publiées obtenues en Italie lors d'une campagne de mesure en juillet 1992 dans un taillis vieillissant de *Q. cerris*. Une fiche technique présente le protocole adopté et les résultats.

L'étude des caractéristiques écophysiological des chênes européens et de leurs comportements en situation d'alimentation hydrique défavorable n'a réellement débuté que depuis quelques années, du fait d'épisodes de dépérissement massif survenus après des sécheresses exceptionnelles comme celle de 1976 (Becker & Lévy, 1982).

La capacité d'une plante à maximiser la fixation de CO_2 tout en minimisant ces pertes d'eau apparaît comme une des caractéristiques importantes de l'adaptation des espèces à la contrainte hydrique (Schulze & Hall, 1982). La fermeture des stomates, contribuant à contrôler le flux transpiratoire lors d'un déficit hydrique, limite aussi la fixation de CO_2 . Des limitations supplémentaires de l'assimilation de CO_2 résultant notamment d'une inhibition de certaines réactions biochimiques, auraient des effets négatifs sur cette capacité, mais sont controversées (Kaiser, 1987; Cornic *et al.*, 1989). Parallèlement aux discussions sur ces possibles limitations métaboliques, l'hypothèse d'une augmentation des risques de photoinhibition résultant d'une inhibition de la photosynthèse était renforcée (Björkman & Powles, 1984; Powles *et al.*, 1984). Les objectifs des travaux qui vont être discutés dans cette partie étaient de confirmer ou d'infirmer l'existence d'éventuelles perturbations du fonctionnement de l'appareil photosynthétique en situation de contraintes hydriques, afin d'approfondir nos connaissances sur l'écophysiology des chênes européens.

Après avoir relevé quelques caractéristiques écophysiological des chênes, nous analyserons les effets de la sécheresse sur les échanges gazeux foliaires et discuterons d'éventuelles limitations non stomatiques de la photosynthèse. Puis nous aborderons les interactions entre sécheresse et excès d'éclairement, et discuterons de la nature et de l'efficacité des mécanismes de protection contre la photoinhibition mis en oeuvre.

1. Quelques caractéristiques écophysiological des chênes en condition d'alimentation hydrique non limitante et variation entre espèces.

a. Photosynthèse

Les valeurs d'assimilation nette de CO_2 mesurée en conditions naturelles sur *Q. petraea* et *Q. robur* ($15 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; annexes B et E) montrent, par comparaison avec des mesures publiées pour d'autres espèces (tableau I), que ces deux espèces présentent des valeurs élevées, proches de celles mesurées sur des espèces à croissance rapide, et supérieures à celles d'autres espèces forestières. Quant à *Q. cerris*, il présente, en conditions naturelles (Italie centrale, annexe G), des taux d'assimilation nette de CO_2 similaires voire supérieures à ceux des deux autres espèces. Au stade semis, dans des conditions de croissance identiques, l'assimilation nette de CO_2 en condition d'éclairement limitant atteint des valeurs plus faibles pour *Q. rubra* que pour *Q. petraea*, intermédiaires pour *Q. cerris* (respectivement 7, 10 et $8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; annexe C). Bien qu'il soit difficile d'expliquer l'origine de ces différences, remarquons tout de même qu'elles confirment la faible performance de *Q. rubra* par rapport à *Q. petraea* déjà observée (Vivin *et al.*, 1993).

Les valeurs obtenues en conditions naturelles restent malgré tout inférieures à celles généralement observées sur des plantes non ligneuses en C3. Par exemple, Di Marco *et al.* (1988) rapportent des valeurs de $20\text{-}25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pour *Triticum aestivum*, Fredeen *et al.* (1991) des valeurs de $35\text{-}40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pour *Helianthus annuus* et Dingkuhn *et al.* (1989) des valeurs de $40\text{-}45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pour *Oryza sativa*. En fait, les valeurs de A des feuilles d'arbres sont souvent plus faibles que celles mesurées sur des plantes annuelles (Ceulemans & Saugier, 1991). Les raisons fréquemment invoquées sont une résistance plus élevée à la diffusion du CO_2 jusqu'au site de carboxylation, une plus faible capacité de l'appareil photosynthétique et la conséquence d'une croissance plus lente se répercutant, via les relations existant entre les organes "puits" et le métabolisme du carbone dans les organes "sources", sur l'activité photosynthétique des feuilles. Loreto *et al.* (1992) ont estimé que la résistance mésophyllienne à la diffusion du CO_2 était cinq fois plus élevée pour *Q. rubra* que pour *Triticum aestivum*.

b. Conductance foliaire et efficience de l'eau

Les valeurs de g_w mesurées sur les semis sont toujours supérieures à celles mesurées sur les arbres en conditions naturelles (annexes C et E). En condition d'alimentation hydrique non limitante et en conditions naturelles, les valeurs mesurées sur *Q. cerris* et sur *Q. robur* sont très similaires (autour de $250 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), alors qu'elles sont plus faibles pour *Q. petraea* (environ $180 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Pour *Q. rubra*, des valeurs proches de celles mesurées sur les deux premières espèces ont été observées (Reich & Hinckley, 1989; Weber & Gates, 1990). Ces valeurs mesurées en conditions naturelles sur différentes espèces de chêne sont, comme pour A, élevées par rapport à celles habituellement trouvées sur les ligneux forestiers, mais néanmoins plus faibles que celles fréquemment mesurées sur des végétaux non ligneux ($1200 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ pour *Helianthus annuus* par exemple, Fredeen *et al.*, 1991).

Le rapport A/g_w , considéré par Schulze & Hall (1982) comme un estimateur de l'efficience intrinsèque de l'utilisation de l'eau, est plus faible pour les semis de *Q. rubra* que pour ceux de *Q. cerris* et *Q. petraea*. Les valeurs obtenues sur des semis élevés en serre et mesurées en condition d'éclairement limitant sont d'environ 50% inférieures à celles mesurées sur des arbres en conditions naturelles ($57,4 \text{ } \mu\text{mol CO}_2/\text{mol}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ pour *Q. robur*, et $69,5$ pour *Q. petraea*; annexe E). Les différences existant entre *Q. robur* et *Q. petraea* situés dans un même peuplement pourraient traduire une meilleure adaptation de la seconde espèce aux conditions d'alimentation hydrique limitantes. Néanmoins, les résultats obtenus en comparant différentes provenances de *Pinus pinaster* montrent une absence de corrélation entre leur efficience d'utilisation de l'eau et leurs exigences écologiques (Guehl, communication personnelle).

Tableau I: Assimilation nette de CO₂ (A, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et conductance foliaire pour la vapeur d'eau (g_w , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de différentes espèces ligneuses en conditions naturelles, à éclaircissement saturant et CO₂ ambiant. (*) Egalement cité dans la revue de Ceulemans et Saugier, 1991.

Espèces	A	g_w	Références bibliographiques
<u>Résineux:</u>			
<i>Larix decidua</i>	5	50	Benecke <i>et al.</i> , 1981 (*)
<i>Picea abies</i>	2		Schulze <i>et al.</i> , 1990
<i>Picea abies</i>	7	80	Rinderle, 1990
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	4		Leverenz, 1981
<u>Feuillus à croissance rapide:</u>			
<i>Eucalyptus globulus</i>	18	350	Pereira <i>et al.</i> , 1986
<i>Eucalyptus pauciflora</i>	16	260	Küppers <i>et al.</i> , 1986 (*)
<i>Populus deltoides x nigra</i>	18		Nelson <i>et al.</i> , 1982
<i>Populus euramericana</i>	17		Nelson & Ehlers, 1984 (*)
<i>Populus grandidentata</i>	10	130	Briggs <i>et al.</i> , 1986
<i>Populus grandidentata</i>	14		Jurik, 1986
<i>Populus tristis x basalmifera</i>	21		Nelson & Ehlers, 1984 (*)
<u>Feuillus forestiers:</u>			
<i>Acer campestre</i>	10	200	Küppers, 1984 (*)
<i>Acer rubrum</i>	6	120	Briggs <i>et al.</i> , 1986
<i>Acer rubrum</i>	8		Reich <i>et al.</i> , 1991
<i>Acer saccharum</i>	6		Reich <i>et al.</i> , 1991
<i>Acer saccharum</i>	7		Amthor <i>et al.</i> , 1990
<i>Betula alleghaniensis</i>	13		Amthor <i>et al.</i> , 1990
<i>Castanea dentata</i>	6	150	Abrams <i>et al.</i> , 1990
<i>Cistus salvifolius</i>	20	700	Harley <i>et al.</i> , 1987
<i>Fagus grandifolia</i>	9		Amthor <i>et al.</i> , 1990
<i>Fagus silvatica</i>	8	120	Rinderle, 1990
<i>Prunus pennsylvanica</i>	17		Amthor <i>et al.</i> , 1990
<i>Prunus spinosa</i>	10	320	Küppers, 1984 (*)
<i>Quercus alba</i>	10		Dougherty & Hinckley, 1981
<i>Quercus coccifera</i>	9	170	Tenhunen <i>et al.</i> , 1985 (*)
<i>Quercus ellipsoides</i>	13		Reich <i>et al.</i> , 1991
<i>Quercus ilicifolia</i>	9	190	Abrams <i>et al.</i> , 1990
<i>Quercus prinus</i>	9	210	Abrams <i>et al.</i> , 1990
<i>Quercus rubra</i>	7	150	Abrams <i>et al.</i> , 1990
<i>Quercus rubra</i>	10	140	Briggs <i>et al.</i> , 1986
<i>Quercus rubra</i>	12		Jurik, 1986
<i>Quercus rubra</i>	11	250	Weber & Gates, 1990
<i>Quercus suber</i>	15	250	Tenhunen <i>et al.</i> , 1987

c. Paramètres hydriques foliaires et tolérance à la déshydratation

Les paramètres hydriques foliaires (Π_0 , D_{11} , Ψ_{w11}) mesurés sur des semis de six espèces de chêne (annexe F) ont montré qu'il existait une faible corrélation, au sein du genre *Quercus* entre Π_0 et Ψ_{w11} d'une part et les exigences écologiques de ces espèces d'autre part. Les écarts existant entre ces espèces se sont néanmoins révélés faibles (0,7 MPa au maximum). Une comparaison avec des données publiées pour des arbres en conditions naturelles montre que, pour les espèces où la comparaison est possible, Π_0 et Ψ_{w11} mesurés sur des semis sont plus élevés que ceux obtenus en conditions naturelles (Bahari *et al.*, 1985; Guyon, 1987; Dreyer *et al.*, 1990; Salleo & Lo Gullo, 1990), indiquant une grande influence des conditions de croissance. La comparaison des valeurs obtenues pour ces six espèces de chêne avec celles mesurées sur des semis ou des jeunes plants d'espèces très différentes (annexe F) ne montre plus aucune corrélation entre les paramètres hydriques et les exigences écologiques de ces espèces, ce qui confirme les conclusions formulées par Lo Gullo & Salleo (1988) et Dreyer *et al.* (1990).

Les pertes d'électrolytes étudiées en réponse à une déshydratation rapide de feuilles de chêne sessile adulte (annexe A), utilisée comme indicateur de la tolérance des membranes à la déshydratation (Kaiser, 1987), sont restées faibles jusqu'à des déficits hydriques très élevés. Cela confirme la bonne tolérance à la déshydratation des chênes par rapport à d'autres espèces ligneuses, en accord avec Martin *et al.* (1987) sur *Q. alba*, *Q. rubra* et *Q. velutina* par la même technique.

2. Effet de la sécheresse sur les échanges gazeux foliaires des chênes

a. Limitation des échanges gazeux foliaires

Toutes les espèces étudiées, aussi bien au stade semis en conditions contrôlées qu'à l'âge adulte en conditions naturelles, répondent à une diminution de la disponibilité en eau du sol, évaluée à l'aide du potentiel hydrique de base, par une réduction concomitante de g_w et A (annexes C, D et E). L'hypothèse d'un contrôle de l'ouverture stomatique par l'état hydrique du sol (Gollan *et al.*, 1985; Turner *et al.*, 1985; Gollan *et al.*, 1986), via une communication hormonale entre les racines et les feuilles (Davies *et al.*, 1990) est souvent avancée. L'acide abscissique joue probablement un rôle dans la régulation de l'ouverture stomatique des chênes puisque d'une part, l'apport d'acide abscissique exogène provoque une réaction des échanges gazeux similaire à celle d'une sécheresse (Dreyer & Scuiller, 1989) et d'autre part, la quantité d'ABA présente dans la sève brute extraite de racines et de feuilles de jeunes semis de chênes augmente avec l'intensité de la contrainte hydrique (Scuiller, 1990, Thèse de Doctorat de l'Université de Nancy I en Biologie Végétale & Forestière). Reich & Hinckley (1989) ont pu mettre en évidence une relation linéaire entre Ψ_{wp} et g_{wmax} pour *Q. marilandica* et *Q. rubra*, confirmant les bonnes corrélations obtenues sur les conifères par Running (1980), tandis que d'autres (Acherar *et al.*, 1991), comme nous, trouvent une décroissance de g_w beaucoup plus rapide en début de dessèchement qu'à la fin. L'absence de relation linéaire entre Ψ_{wp} et g_w pourrait s'expliquer par un contrôle de g_w par l'état hydrique des feuilles au moment de la mesure (Boyer, 1989). Néanmoins, dans le cas de *Q. petraea* et *Q. robur* en conditions naturelles, la liaison entre g_w et Ψ_{wmin} n'est pas meilleure que celle avec Ψ_{wp} (Bréda, communication personnelle).

Il est possible que Ψ_{wp} ne soit pas un bon estimateur de la disponibilité en eau du sol, notamment pour des plants soumis à sécheresse. En effet, Bréda (communication personnelle) a pu mettre en évidence une liaison entre Ψ_{wp} et le potentiel hydrique des horizons profonds (les moins secs) du sol. Or, l'alimentation hydrique de l'arbre va dépendre de l'état hydrique des différents horizons, du profil d'enracinement et des caractéristiques des transferts hydriques entre le sol et les racines pour chaque horizon. Des modifications importantes de l'intensité de la contrainte hydrique subie par le végétal peuvent donc avoir un effet très limité sur Ψ_{wp} au début du dessèchement. Nous avons aussi pu montrer, en maintenant à l'obscurité des jeunes plants non alimentés en eau, que la stabilisation du potentiel hydrique foliaire n'était pas atteinte après vingt heures. Il est probable que l'équilibre recherché entre le potentiel hydrique foliaire mesuré en fin de nuit et le potentiel hydrique de l'eau

dans le sol n'est pas atteint pour des arbres mal alimentés en eau. De plus, la relation entre le potentiel hydrique de l'eau dans le sol et l'humidité du sol n'est pas linéaire mais exponentielle.

Enfin, la valeur de g_w mesurée, notamment sur des arbres non alimentés en eau en conditions naturelles, ne correspond pas nécessairement à g_{wmax} , car la sécheresse n'entraîne pas uniquement une diminution de g_w mais modifie aussi l'allure de son évolution journalière (Tenhunen *et al.*, 1982; Tenhunen *et al.*, 1987). Nous avons pu en effet montrer une dépression de midi des échanges gazeux systématique sur les chênes sessiles soumis à sécheresse tandis que, dans le cas des arbres témoins, la dépression de midi n'était observée que lorsque les conditions atmosphériques étaient défavorables (annexe B). Tenhunen *et al.* (1987) suggèrent une plus grande sensibilité des plantes soumises à une sécheresse édaphique aux températures et aux déficits de pression partielle de vapeur d'eau élevés.

b. Comparaisons intra-spécifiques

Les résultats présentés, aussi bien en conditions naturelles qu'en conditions contrôlées, ne permettent pas de mettre en évidence une quelconque différence de sensibilité à la sécheresse entre les espèces étudiées, comme l'ont aussi remarqué Vivin *et al.* (1993) pour des semis de *Q. robur*, *Q. petraea* et *Q. rubra*. Ni & Pallardy (1991) ont au contraire pu mettre en évidence une différence de sensibilité des échanges gazeux foliaires entre deux espèces nord-américaines, *Q. stellata* étant plus résistante que *Q. alba*, tandis que *Q. rubra* paraît plus sensible que les deux précédentes (Bahari *et al.*, 1985). En région méditerranéenne, la conductance foliaire des chênes caducifoliés est plus sensible à la diminution de Ψ_{wp} que celle des chênes sempervirents (Acherar *et al.*, 1991). Bien que *Q. cerris* soit écologiquement adapté à des zones à alimentation hydrique estivale plus limitante que celles de *Q. petraea* ou *Q. rubra*, l'absence de différence marquée entre les trois espèces est cohérente avec le fait qu'il s'agit d'espèces à feuilles caduques.

Bien qu'il soit difficile de déterminer avec précision les seuils de sensibilité des échanges gazeux à la baisse de Ψ_{wp} , il apparaît (annexe C) que l'assimilation nette de CO_2 des semis des trois espèces de chêne était maintenue non nulle jusqu'à des valeurs de Ψ_{wp} inférieures à -3MPa. En conditions naturelles (annexes B et E) des valeurs non négligeables de A , en particulier en cours de matinée, ont été mesurées jusqu'à des Ψ_{wp} inférieures à -2MPa. Ces résultats confirment ceux déjà obtenus sur des jeunes plants dans le cadre d'un travail préliminaire (Epron & Dreyer, 1990), ou par d'autres auteurs sur des espèces proches (Vivin *et al.*, 1993) ou nord-américaines (Dougherty & Hinckley, 1981; Bahari *et al.*, 1985; Abrams, 1990). Sur huit espèces étudiées par Hinckley *et al.* (1979) lors de la forte sécheresse de 1976 dans une forêt du Missouri, les trois espèces de chênes présentes (*Q. alba*, *Q. rubra* et *Q. velutina*) sont celles qui ont maintenu leurs stomates ouverts le plus tard dans la saison. Cette capacité des chênes à maintenir des échanges gazeux non nuls jusqu'à des valeurs de Ψ_{wp} faibles contraste avec les résultats obtenus sur de nombreuses autres espèces ligneuses, comme *Abies bornmulleriana* (Guehl *et al.*, 1991), *Acer rubrum* (Abrams & Kubiske, 1990) ou *Juglans nigra* (Ni & Pallardy, 1991; Parker & Pallardy, 1991). Le comportement des chênes est à rapprocher de celui de *Cedrus atlantica* (Guehl *et al.*, 1991; Aussenac & Finkelstein, 1983), *Acer saccharum* (Ellsworth & Reich, 1992) ou *Eucalyptus globulus* (Pereira *et al.*, 1987). De ce point de vue, les espèces du genre *Quercus* apparaissent comme tolérantes à la sécheresse.

c. Efficience de l'utilisation de l'eau

La diminution de g_w en réponse à un dessèchement du sol (annexes C, D et E) est beaucoup plus marquée que celle de A , ce qui a pour conséquence une augmentation substantielle de l'efficience intrinsèque de l'utilisation de l'eau (A/g_w) aux premiers stades d'un déficit hydrique. Une telle réponse est habituellement considérée comme étant un caractère adaptatif à des conditions de faible disponibilité en eau (Schulze & Hall, 1982) et se retrouve fréquemment (Joly & Hahn, 1989; Hensen *et al.*, 1989; Ni & Pallardy, 1991). Le rapport A/g_w reste ensuite constant dans les phases suivantes de dessèchement, entraînant une linéarité des relations entre assimilation nette et conductance foliaire. Le rapport A/g_w dans la zone linéaire est plus élevé pour les semis de *Q. petraea* que *Q. cerris* et *Q. rubra* (126, 88 et 64 $\mu mol CO_2/mol^{-1} H_2O$; d'après annexe C). Les différences entre *Q. petraea* et *Q. cerris* au stade semis ne confirment pas l'idée développée par Schulze & Hall (1982) selon laquelle un rapport A/g_w élevé serait le signe d'une meilleure adaptation à la sécheresse, comme le contestent d'ailleurs Ni & Pallardy (1991).

Les valeurs de la pente des relations A versus g_w obtenues sur des semis de chêne sessile âgés de 7 mois, cultivés dans des conditions similaires (en serre) à partir de glands de même origine mais pendant deux saisons différentes (1990 et 1991) sont très similaires (126 et 130 $\mu\text{mol CO}_2/\text{mol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ respectivement, annexes C et D). Cette forte conservation de l'efficacité intrinsèque de l'utilisation de l'eau est en accord avec l'hypothèse d'un déterminisme génétique de ce paramètre (Farquhar *et al.*, 1989).

La différence d'efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau observée entre *Q. petraea* et *Q. robur* lors d'une sécheresse en conditions naturelles (annexe E) est très significative (81 et 68 $\mu\text{mol CO}_2/\text{mol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ respectivement), et pourrait expliquer les meilleures performances de la première espèce dans ce peuplement sur sol non hydromorphe où les deux sont en compétition. Néanmoins, ce résultat obtenu sur deux arbres de chaque espèce ne peut être généralisé à l'ensemble du peuplement, et encore moins être considéré comme caractéristique des deux espèces.

3. Effets d'un dessèchement du sol sur le fonctionnement de l'appareil photosynthétique

Bien que simultanée à la diminution de la conductance foliaire (annexes C, D et E), la réduction de l'assimilation nette de CO_2 pourrait aussi résulter d'une altération de la capacité des chloroplastes à fixer le CO_2 . Ces inhibitions non stomatiques ont souvent été qualifiées de mésophylliennes. Néanmoins, ce terme est ambigu car il intègre aussi les éventuelles augmentations de résistances internes à la diffusion du CO_2 . Dans la suite de cet exposé, nous utiliserons préférentiellement la notion de limitation d'origine biochimique ou biophysique pour évoquer les altérations potentielles de la capacité des chloroplastes à fixer le CO_2 .

a. Effets de la sécheresse sur le fonctionnement du photosystème II et de la membrane photosynthétique.

Des études faites *in vitro* à partir d'extraits foliaires de plantes soumises à sécheresse ont souvent conduit à désigner la chaîne de transfert des électrons, et plus particulièrement le photosystème II (Boyer, 1976; Matthews & Boyer, 1984) ou le photosystème I (Genty *et al.*, 1987) comme la principale cible des déficits hydriques. Au contraire, pour obtenir des effets similaires sur des extraits foliaires de plantes bien alimentées en eau, il fallait recourir à des stress osmotiques *in vitro* très sévères (Boyer, 1976). Ces différences de résultats entre des mesures *in vitro* sur du matériel stressé *in vivo* ou *in vitro* laissent supposer que le facteur inhibant l'activité de la chaîne de transport des électrons dans ces expériences était extrachloroplastique. Il n'est donc pas certain que l'effecteur ait un accès direct aux chloroplastes *in vivo* du fait de la compartimentation cellulaire; les mesures *in vitro* nécessitent donc une confirmation *in vivo*.

Le rendement quantique de l'assimilation nette de CO_2 ou du dégagement photosynthétique d' O_2 , mesuré en éclaircissement limitant et considéré comme un bon indicateur de l'activité de la chaîne de transfert des électrons, diminue en cours de sécheresse (Mohanty & Boyer, 1976; Matthews & Boyer, 1984; Ögren & Öquist, 1985; Sharp & Boyer, 1986; Ben *et al.*, 1987; Kirschbaum, 1987). Au contraire, Cornic *et al.* (1989) observent une grande stabilité du rendement quantique du dégagement photosynthétique d' O_2 en utilisant une forte concentration en CO_2 durant la mesure, afin de s'assurer que l'éclaircissement est bien le seul facteur limitant.

L'efficacité photochimique du photosystème II pour des feuilles adaptées à l'obscurité peut être estimée par le rapport F_v/F_m (voir chap.II) et est fortement corrélée au rendement quantique du dégagement photosynthétique d'oxygène (Björkman & Demmig, 1987). Cette efficacité reste stable au cours d'une déshydratation rapide de feuilles de chênes sessiles adultes jusqu'à des pertes en eau atteignant 80% (annexe A). La très grande résistance du PS II à la déshydratation a été confirmée sur 11 espèces présentant des degrés de tolérance à la sécheresse très variés (annexe F). Par contre, au cours d'une sécheresse édaphique imposée à des semis de chêne (annexe C), le seuil de résistance est apparu moindre ($\Psi_{wp} = -4.0 \text{ MPa}$, $D=0.35$), mais malgré tout élevé. La comparaison de ces résultats confirme la difficulté de distinguer spécifiquement les effets du déficit hydrique subi par les tissus foliaires sur l'appareil photosynthétique des effets secondaires induits par les conséquences d'une sécheresse sur d'autres processus physiologiques ou par l'interaction avec d'autres contraintes de

l'environnement lors d'une réduction de l'alimentation en eau. Néanmoins, ces résultats, ainsi que ceux obtenus en conditions naturelles (annexe E), ou par d'autres auteurs (Schreiber & Bilger, 1987; Ben *et al.*, 1987; Cornic *et al.*, 1987; Genty *et al.*, 1987; Di Marco *et al.*, 1988) indiquent une grande résistance du PS II aux déficits hydriques.

Les résultats obtenus au cours des expériences de déshydratation rapide (annexe A) ont montré que la vitesse d'induction de quenching non photochimique n'était pas affectée jusqu'à plus de 50% de perte en eau, confirmant les résultats obtenus sur *Arbutus unedo* par Schreiber & Bilger (1987). Ce résultat suggère l'absence d'altération de la capacité de la chaîne de transfert des électrons, mais n'exclut pas une inhibition de l'activité du transfert d'électrons due à une inhibition de la consommation des équivalents réducteurs (Schreiber & Bilger, 1987).

L'absence de dommage au PS II ou à la chaîne de transfert des électrons est cohérente avec l'absence de dommage aux membranes, révélée par l'étude des fuites d'électrolytes de disques foliaires déshydratés (annexe A, voir aussi Kaiser, 1987) qui restent très faibles tant que les pertes en eau n'ont pas atteint 60%.

b. Nature des éventuelles limitations d'origine biochimique de l'assimilation nette de CO₂

Les causes envisagées sont multiples pour expliquer d'éventuelles limitations d'origine biochimique. La première pourrait être un effet de l'acide abscissique, l'apport exogène d'ABA simulant les perturbations induites par une sécheresse édaphique (Cornic & Miginiac, 1983; Fischer *et al.*, 1986; Bunce, 1987; Dreyer & Sculler, 1989). Néanmoins, les tentatives mises en oeuvre pour détecter les sites d'action de l'ABA, en comparant l'action de l'ABA avec celle d'inhibiteurs spécifiques de certaines réactions chloroplastiques (Seeman & Sharkey, 1987), ont échoué.

La seconde résulterait de l'arrêt de croissance induit par la sécheresse (arrêt de croissance des organes puits), qui se répercuterait sur les translocations des assimilats et, par une boucle de rétrocontrôle négatif, sur l'activité des enzymes chloroplastiques (Kaiser, 1987). Mais le fait que le carbone nouvellement fixé soit retrouvé préférentiellement sur le saccharose et non sur l'amidon lors de déficits hydriques appliqués par stress osmotique, déshydratation rapide ou sécheresse édaphique courte (Quick *et al.*, 1989; Vasey & Sharkey, 1989; Bensari *et al.*, 1990; Vasey *et al.*, 1991; Zrenner & Stitt, 1991; Quick *et al.*, 1992) ne confirme pas cette hypothèse car la diminution de la demande des organes "puits" en saccharose devrait stimuler la synthèse d'amidon (Stitt & Quick, 1989). Néanmoins, le manque de données concernant des sécheresses appliquées sur des périodes plus longues (sécheresse estivale) nécessite de nouvelles investigations avant de pouvoir rejeter cette hypothèse.

La troisième cause possible d'une limitation d'origine biochimique lors d'un déficit hydrique pourrait être une acidification du stroma (Berkowitz & Gibbs, 1983). L'effet protecteur des fortes concentrations en potassium pourrait accréditer cette hypothèse, une concentration extrachloroplastique en K⁺ favorisant l'alcalinisation du stroma (Berkowitz & Whalen, 1985; Pier & Berkowitz, 1987).

Enfin, Kaiser (1982) a suggéré que l'inhibition des enzymes chloroplastiques résultait d'une augmentation de la concentration des solutés du fait de la déshydratation. Plus que la concentration totale en soluté, c'est la composition, et notamment la teneur en certains anions (HPO₄²⁻ et NO₃⁻), qui pourrait avoir un effet délétère sur les enzymes chloroplastiques (Kaiser, 1987). La constatation (Rao *et al.*, 1987) qu'une forte concentration foliaire en magnésium (résultant d'une surfertilisation magnésienne) accroît la sensibilité à la sécheresse de la capacité photosynthétique d'*Helianthus annuus* est cohérente avec l'effet délétère de l'augmentation de la concentration en certains solutés lors d'une déshydratation des tissus foliaires. Cette hypothèse est confortée par l'étroite corrélation existant entre perte de volume protoplasmique ou chloroplastique et décroissance de la capacité photosynthétique, et par le fait qu'il n'y ait que peu de variations génotypiques (différence entre espèce ou cultivar; Kaiser, 1982; Sen Gupta & Berkowitz, 1987; Santakumari & Berkowitz, 1990) ou phénotypiques (préconditionnement; Berkowitz & Kroll, 1988; Santakumari & Berkowitz, 1991). L'effet protecteur des fortes concentrations en potassium pourrait s'expliquer par un effet de K⁺ sur le potentiel osmotique foliaire, donc par le maintien d'un volume protoplasmique plus élevé lors d'une diminution du potentiel hydrique (Sen Gupta *et al.*, 1989).

c. Mise en évidence de limitations d'origine biochimique de l'assimilation nette de CO₂

Quelque soit le ou les mécanismes responsables d'éventuelles limitations biochimiques de l'activité des enzymes chloroplastiques, il convient de déterminer à partir de quel seuil de déficit hydrique ils interviennent, afin d'évaluer leur contribution à l'inhibition de l'assimilation nette de CO₂.

Les mesures *in vitro*, dont l'interprétation nécessite beaucoup de prudence comme nous venons de le discuter (4.a), indiquent fréquemment une inhibition par la sécheresse des enzymes du cycle de Calvin, dont la Rubisco (Jones, 1973; Boyer, 1976; Vu *et al.*, 1987; Castrillo & Calcagno, 1989; Majumdar *et al.*, 1991). Sharkey & Seeman (1989) ne constatent quant à eux aucun effet de la sécheresse sur l'activité Rubisco de *Phaseolus vulgaris*.

L'évolution, au cours d'une sécheresse, des concentrations foliaires en métabolites directement impliqués dans la fixation du CO₂ aboutissent à des résultats contradictoires. La diminution des teneurs en ribulose 1,5 bisphosphate (RUBP) observée par Santakumari & Berkowitz (1991) pourrait suggérer une diminution de la capacité à régénérer le RUBP chez *Spinacia oleracea*, d'autant plus que le rapport triose phosphate/RUBP augmente légèrement pour cette espèce (Quick *et al.*, 1989). Au contraire, la diminution de la concentration en RUBP est moins prononcée chez *Phaseolus vulgaris*, bien moins que la diminution du rapport triose phosphate/RUBP (Sharkey & Seeman, 1989), indiquant que la régénération du RUBP n'est pas le facteur limitant la fixation du CO₂. Dans ce cas, comme la Rubisco n'était pas non plus affectée par le déficit hydrique (voir paragraphe précédent), le facteur qui semble limiter la fixation du CO₂ est la disponibilité en CO₂.

La plupart des résultats indiquant l'existence de limitations d'origine non stomatique au cours d'une sécheresse édaphique ont été obtenus à partir du calcul de la fraction molaire de CO₂ dans les espaces intercellulaires (C_i) et de l'analyse des relation entre A et C_i. Dans une majorité de situations, C_i augmente, reste constant ou diminue trop faiblement pour expliquer la réduction observée de l'assimilation nette de CO₂ (Jones & Fanjul, 1983; Cornic *et al.*, 1983; Matthews & Boyer, 1984; Ögren & Öquist, 1985; Bunce, 1986; Briggs *et al.*, 1986; Teskey *et al.*, 1986; Sharp & Boyer, 1986; Cornic *et al.*, 1987; Stuhlfauth *et al.*, 1988; Grieu *et al.*, 1988; Di Marco *et al.*, 1988; Frederick *et al.*, 1990; Dingkuhn *et al.*, 1989; Frederick *et al.*, 1990; Epron & Dreyer, 1990; Weber & Gates, 1990; Wise *et al.*, 1990). Dans le cas des semis de chêne sessile en conditions contrôlées, la diminution du potentiel hydrique induit une diminution de A et de C_i, mais cette dernière est moins marquée que celle prédite dans l'hypothèse d'une simple réduction de la fourniture en CO₂ (annexe D). En conditions naturelles (annexe E), la diminution de l'assimilation nette de CO₂ des arbres soumis à sécheresse ne se traduit pas par une quelconque diminution significative de C_i en comparaison avec les arbres témoins.

Ces résultats ont dans un premier temps été confirmés par des mesures d'assimilation nette de CO₂ ou de dégagement photosynthétique d'O₂ à des teneurs en CO₂ supposées suffisamment élevées (3 à 5%) pour surpasser les limitations induites par l'augmentation de la résistance à la diffusion du CO₂ (Ben *et al.*, 1987; Di Marco *et al.*, 1988; Graan & Boyer, 1990). Mais en fait, plusieurs auteurs ont montré, en utilisant des concentration en CO₂ supérieures (5 à 17%), l'absence d'effet d'une déshydratation jusqu'à des pertes en eau de l'ordre de 30% (Kaiser, 1987; Cornic *et al.*, 1989; Chaves, 1991; Quick *et al.*, 1992). Nos résultats, obtenus à 5% de CO₂ (annexe D), indiquent une légère diminution de la capacité photosynthétique des feuilles de chênes sessiles issus de plants soumis à sécheresse, sans qu'une corrélation entre le degré d'inhibition et l'état hydrique du plant puisse être observée. D'autres résultats, présentés plus loin, nous ont amené à conclure que, au cours de ces expériences, les concentrations en CO₂ n'étaient probablement pas saturantes.

La fluorescence de la chlorophylle a souvent été présentée comme un outil intéressant pour analyser l'effet des contraintes, et en particulier de la contrainte hydrique, sur le fonctionnement de l'appareil photosynthétique (Ögren, 1990). Les résultats obtenus lors d'une déshydratation rapide imposée à des rondelles foliaires de *Q. petraea* (annexe A) et de nombreuses autres espèces (annexe F) indiquent clairement l'absence d'effet des déshydratations modérées (D ≤ 25%) sur l'efficacité photochimique du PS II mesurée à l'état stationnaire des cinétiques d'induction de fluorescence. Lorsque le déficit hydrique devient plus marqué (après la perte de turgescence), l'effet de la déshydratation se traduit par une augmentation du quenching non-photochimique sans altération du quenching photochimique, conformément aux observations de Schreiber & Bilger (1987) sur *Arbutus unedo*. Cette inhibition de

l'efficience photochimique du PS II traduit une régulation de l'activité du PS II, donc du flux d'électrons, par une diminution de la demande en pouvoir réducteur au niveau du cycle de Calvin. Il est néanmoins impossible de déterminer si l'inhibition concerne les photophosphorylations ou directement l'activité des enzymes du cycle de Calvin. Des mesures *in vivo* des photophosphorylations, par des cinétiques de relaxation des modifications d'absorption autour de 515 nm après un flash de lumière, indiquent une absence d'altération des photophosphorylations chez *Helianthus annuus* lors d'une sécheresse sévère (Wise *et al.*, 1990; Ortiz-Lopez *et al.*, 1991). Il est probable qu'à de tels niveaux de déficit hydrique, l'effet observé résulte d'une inhibition de l'activité des enzymes du cycle de Calvin du fait de l'augmentation de la concentration des solutés.

L'analyse des mesures de fluorescence foliaire obtenues en cours de sécheresses édaphiques apparaît souvent plus délicate. Les mesures d'efficience photochimique du PS II et/ou des quenching photochimiques ou non photochimiques (qui déterminent cette efficience) à des teneurs en CO₂ suffisamment élevées pour surpasser les limitations induites par l'augmentation de la résistance à la diffusion du CO₂ indiquent l'absence d'effet de la sécheresse sur le flux d'électrons donc sur la capacité photosynthétique des feuilles (annexe D; Cornic & Ghashghaie, 1991; Quick *et al.*, 1992). A concentration en CO₂ normale, l'absence d'effet est confirmée pour certaines espèces comme *Q. cerris* (annexe C), *Digitalis lanata* (Stuhlfauth *et al.*, 1988, 1990b), mais pas chez *Malus domestica* (Massacci & Jones, 1990), *Gossypium hirsutum* (Genty *et al.*, 1987) ou *Q. petraea* et *Q. rubra* (annexe C). Une explication possible est que, pour ces dernières espèces et contrairement aux premières, l'activité photorespiratoire et de réassimilation du CO₂ libéré par photorespiration sont insuffisantes pour compenser la diminution de la consommation d'équivalents réducteurs résultant de la diminution de la fixation de CO₂. Le fait que la suppression de la photorespiration dans une atmosphère à 2,5% d'O₂ entraîne une diminution de q_p et une augmentation de q_N chez les plantes soumises à sécheresse appuie cette hypothèse (Scheuermann *et al.*, 1991).

L'augmentation de l'utilisation du flux d'électrons par la photorespiration a été mise en évidence, soit par des mesures directes d'absorption de ¹⁸O₂ (Thomas & André, 1982; André, 1986; Renou *et al.*, 1990), soit en calculant le flux d'électrons utilisés par la photorespiration (différence entre le flux total estimé d'après l'efficience photochimique du PS II et le flux utilisé par la photosynthèse, Cornic & Briantais, 1991). La stimulation de la photorespiration observée au cours d'une sécheresse (Thomas & André, 1982; André, 1986; Renou *et al.*, 1990; Cornic & Briantais, 1991) signifie, soit que le rapport de la concentration en CO₂ sur la concentration en O₂ dans le stroma diminue, ce qui remet en cause la validité ou la signification de la valeur de C_i calculée à partir des échanges gazeux (constantes dans ces expériences), soit qu'il y ait une inhibition spécifique de la fonction carboxylase sans effet sur la fonction oxygénase, ce qui est fort improbable compte tenu du fait que le facteur de spécificité de la Rubisco (τ) est insensible aux variations de pH, de concentration en RUBP ou de l'état d'activation de la Rubisco (Woodrow & Berry, 1988). Le seul facteur qui puisse agir sur τ lors d'une sécheresse est l'augmentation de la température foliaire du fait de la réduction de la transpiration. Néanmoins, l'augmentation de la température foliaire est très limitée lors de ce type d'expériences effectuées en conditions contrôlées, donc la première hypothèse paraît être la plus vraisemblable.

d. Conclusions

Les résultats contradictoires concernant l'existence d'une limitation biochimique de l'assimilation nette de CO₂ conduisent à poser deux types de questions. N'y aurait-il pas des artefacts résultant de biais expérimentaux ? N'y aurait-il pas "des" sécheresses, certaines, mais pas toutes, se caractérisant par des limitations biochimiques de A ?

La majorité des résultats amenant à conclure à l'existence d'une limitation non stomatique de l'assimilation nette de CO₂ provient du fait que C_i augmente, reste constant, ou diminue moins que prévu en réponse à une sécheresse édaphique. Un grand nombre d'auteurs ont montré que les échanges gazeux, lors d'une sécheresse ou d'un apport exogène d'ABA, n'étaient pas répartis de façon homogène sur toute la surface de la feuille (Terashima *et al.*, 1988; Downton *et al.*, 1988ab, Sharkey & Seeman, 1989; Ni & Pallardy, 1992) et que cette hétérogénéité pouvait conduire à une surestimation de C_i. Une telle distribution non homogène des échanges gazeux a aussi été observée sur des semis de chêne sessile (annexe D), mais ne conduit pas à une modification importante de l'allure des relations A versus C_i. Cheeseman (1991) souligne d'ailleurs que cet effet doit être assez faible si la distribution statistique des ouvertures stomatiques se fait selon une loi normale, ainsi que

l'a montré Laisk (1983). La deuxième source d'erreur concernant l'analyse des relations A versus C_i résulte du fait que C_i calculé correspond à celui existant au niveau des cavités sous stomatiques, et qu'il peut être différent de celui existant au niveau du stroma, comme l'ont montré Renou *et al.* (1990) et Cornic & Briantais (1991) si la résistance à la diffusion du CO_2 à l'intérieur de la feuille augmente lors d'une contrainte hydrique. Une telle augmentation des résistances à la diffusion du CO_2 pourrait aussi rendre compte du fait que l'utilisation de concentrations en CO_2 inférieures ou égales à 5% ne suffit pas à saturer le dégagement photosynthétique d' O_2 (Cornic *et al.*, 1989; Chaves, 1991; Quick *et al.*, 1992). C'est probablement pourquoi nous observons une légère diminution de la capacité photosynthétique des feuilles de chênes sessiles issus de plants soumis à sécheresse, sans qu'une corrélation entre le degré d'inhibition et l'état hydrique du plant puisse être observée, alors que l'efficacité photochimique du PS II, c'est à dire le flux d'électrons, reste constant (annexe D). En effet, si la concentration en CO_2 dans le stroma n'est pas saturante, une faible photorespiration persiste et explique le maintien d'un flux d'électrons constant. Dans la majorité des situations de sécheresse, il n'y aurait donc pas de limitation d'origine biochimique de l'assimilation nette de CO_2 , celle-ci n'étant limitée que par une augmentation de la résistance à la diffusion du CO_2 entre l'air et le stroma. Afin de réconcilier cette hypothèse avec les observations de diminutions d'activités enzymatiques ou de modifications des pools de métabolites, il est possible d'envisager un rétrocontrôle négatif de la privation en CO_2 résultant de la fermeture des stomates sur l'ensemble des réactions biochimiques foliaires. L'inhibition de certaines activités enzymatiques induite par la sécheresse peut en effet être simulée par une suppression du CO_2 dans l'air, et être annulée en quelques heures lorsque la feuille est placée dans une atmosphère très enrichie en CO_2 (Vassey *et al.*, 1991).

La dépression de midi de l'assimilation nette de CO_2 , observée fréquemment lors d'une sécheresse édaphique en conditions naturelles (Tenhunen *et al.*, 1987) a été attribuée à une inhibition non stomatique de l'assimilation nette de CO_2 par Bunce (1990ab) puisqu'elle n'était pas corrélée à une fermeture des stomates chez le maïs. Dans le cas des chênes néanmoins (annexe B), l'inhibition de A était accompagnée d'une fermeture des stomates. La dépression de midi de A et g_w a fréquemment été corrélée à un maintien de C_i constant (Tenhunen *et al.*, 1984; Lange *et al.*, 1985; Tenhunen *et al.*, 1985; Pereira *et al.*, 1986; Chaves *et al.*, 1987; Correia *et al.*, 1990). Néanmoins, Beyschlag *et al.* (1990) et Beyschlag & Pfanz (1990) ont montré que la fermeture des stomates ne se faisait pas de façon homogène lors d'une dépression de midi ou en réponse aux variations des facteurs impliqués dans cette dépression de midi (humidité de l'air et température foliaire; Tenhunen *et al.*, 1981). Le maintien d'une valeur constante de C_i lors de la dépression de midi des échanges gazeux n'est donc pas un argument suffisant pour conclure à l'existence d'une inhibition non stomatique. Au contraire, Quick *et al.* (1992) ont montré que, chez le lupin, l'eucalyptus et le tournesol, la réduction de l'assimilation nette en cours de journée chez les plantes privées d'eau ne s'accompagnait pas d'une inhibition du dégagement photosynthétique d' O_2 mesuré à 15% de CO_2 .

Néanmoins, dans le cas particulier d'arbres adultes en conditions naturelles (annexe E), contrairement aux expériences sur semis (annexe D), nous observons une diminution de A sans effet significatif sur C_i au cours de la saison. L'existence de limitations d'origine biochimique ne peut être exclue dans ces conditions. Quick *et al.* (1992) rapportent également une inhibition de la capacité photosynthétique (mesurée à 15% CO_2) des feuilles de jeunes plants de *Vitis vinifera* élevés en conditions naturelles. Dans le cas de sécheresse en conditions naturelles, persistant plusieurs mois, les niveaux de déshydratation des tissus foliaires sont trop faibles pour envisager une inhibition résultant d'une augmentation de la concentration en solutés du fait de la réduction du volume protoplasmique, d'autant plus que les chênes présentent une certaine capacité d'osmorégulation lors de sécheresses longues (Osonubi & Davies, 1978; Bahari *et al.*, 1985; Parker & Pallardy, 1988; Abrams, 1990). Une interaction avec d'autres conditions environnementales, ou un effet indirect résultant d'un arrêt prolongé de la croissance, sont envisageables.

4. Sécheresse et susceptibilité à la photoinhibition.

Les sécheresses en conditions naturelles atteignent fréquemment leur maximum d'intensité durant la période estivale, c'est à dire durant des périodes de forte insolation. L'interaction entre un faible taux d'assimilation nette de CO₂ et des forts éclaircissements se traduit par la réception, au niveau des antennes collectrices des photosystèmes, d'un excès d'énergie d'excitation susceptible d'occasionner des dommages à l'appareil photosynthétique, et donc une photoinhibition durable de la photosynthèse (Boyer *et al.*, 1987). Le photosystème II semble être le site le plus sensible aux excès d'énergie d'excitation, mais d'autres éléments de la chaîne de transport des électrons peuvent aussi être altérés (Powles, 1984). Pour les plantes en C₃, les conclusions de la précédente partie sont d'une importance capitale. Les conséquences d'une réduction de l'assimilation nette de CO₂ seront différentes si cette réduction résulte exclusivement d'une fermeture des stomates, auquel cas une fraction de l'énergie reçue en excès sera consommée par la photorespiration et la réassimilation du carbone libéré par photorespiration, ou si elle résulte aussi d'une limitation d'origine biochimique de la capacité du chloroplaste à fixer le CO₂ car, dans ces conditions, la limitation affecte à la fois les carboxylations et les oxydations photosynthétiques.

a. Evidences d'une augmentation de la susceptibilité à la photoinhibition lors d'un déficit hydrique

L'un des premiers travaux faisant état d'une interaction entre déficit hydrique et fort éclaircissement, et mettant en évidence une prédisposition des plantes soumises à sécheresse à la photoinhibition est celui de Björkman & Powles (1984), effectué sur *Nerium oleander*. Des expériences similaires réalisées sur *Pennisetum glauca* et *Sorghum bicolor* ont conduit Mazojidek *et al.* (1991) aux mêmes conclusions. Ces travaux ont aussi mis en évidence le fait que la fluorescence de la chlorophylle était un bon outil pour diagnostiquer d'éventuelles perturbations du PS II liées au processus de photoinhibition (Björkman, 1987; Krause & Somersalo, 1989).

Des mesures de rendement quantique de l'assimilation nette de CO₂ ou du dégagement photosynthétique d'O₂ à faible éclaircissement ont aussi permis de mettre en évidence un effet délétère des forts éclaircissements sur l'appareil photosynthétique de jeunes plants de *Salix sp.* (Ögren & Öquist, 1985), d'*Eucalyptus pauciflora* (Kirschbaum, 1987) ou de *Phaseolus vulgaris* et *Elatostema repens* (Cornic *et al.*, 1989). L'augmentation de la susceptibilité à la photoinhibition a été confirmée pour de jeunes semis de *Q. petraea* et *Q. rubra* (annexe C). Des rondelles foliaires, prélevées sur des plants soumis à un déficit hydrique sévère, et exposées à un éclaircissement excessif montrent une diminution plus marquée de F_v/F_m que des rondelles prélevées sur des plants correctement alimentés en eau. Le fait qu'une augmentation de F_0 ait été observée dans ces expériences, et qu'elle ait persisté après 90 minutes d'obscurité, pourrait indiquer des dommages au PS II (Demmig & Björkman, 1987).

La nature des dommages occasionnés au PS II par un excès d'éclaircissement est encore mal établie. Dans une synthèse récente, Kyle (1987) a suggéré que le site de fixation de l'accepteur d'électrons (QB) sur la protéine D1 (32kD) serait le site le plus vulnérable aux excès d'énergie d'excitation. Gong & Nilsen (1989) sur *Lemna gibba* et Richter *et al.* (1990a) sur des thylakoïdes de *Spinacia oleracea* ont constaté une inactivation et une dégradation de cette protéine. Le mécanisme d'altération du site QB de la protéine D1 reste hypothétique, mais semble résulter d'une attaque par des radicaux hydroxyl (Kyle, 1987; Richter *et al.*, 1990b), soit que la production de ces radicaux augmente lorsque la feuille reçoit de l'énergie en excès, soit que la sensibilité de la protéine D1 s'accroît lorsqu'il y a réduction importante du pool d'accepteurs primaires. Le rôle joué par les stress oxydatifs dans la photoinhibition a été mis en évidence chez le blé, par l'existence d'une relation linéaire entre l'inhibition de l'activité de la chaîne de transfert des électrons et la peroxydation des lipides (Mishra & Singhal, 1992). Le fait que des inhibiteurs de la synthèse des protéines chloroplastiques inhibent la récupération après photoinhibition conforte l'hypothèse d'une altération de protéines chloroplastiques (Greer *et al.*, 1986; Le Gouallec & Cornic, 1988; Huse & Nilsen, 1989). En fait, la photoinhibition apparente, mesurée à l'échelle de la feuille, apparaît comme un déséquilibre entre vitesse de dommage et vitesse de réparation de cette protéine. Néanmoins, d'autres auteurs (Cleland *et al.*, 1990) considèrent que la dégradation de la protéine D1 n'est qu'un phénomène secondaire, conséquence d'une altération d'autres composants des centres réactionnels du PS II impliqués dans la séparation de charge. Dans un certain nombre de cas, la photoinhibition pourrait affecter le PS II dans sa partie amont (site donneur d'électrons), comme l'ont montré Le Gouallec *et al.* (1991) sur *Elatostema*

repens. Cette hypothèse n'est pas en contradiction avec celle d'une altération de la protéine D1, le donneur secondaire des électrons (Z) étant une tyrosine de la protéine D1 (Andréasson & Vänngård, 1988).

b. Significations physiologiques de l'augmentation de la susceptibilité à la photoinhibition lors d'un déficit hydrique

L'augmentation observée de la susceptibilité aux forts éclaircissements lors d'un déficit hydrique ne signifie pas qu'il y ait réellement photoinhibition de la photosynthèse lors d'une sécheresse, donc contribution de la photoinhibition à la réduction de croissance. En effet, à part les travaux de Björkman & Powles (1984), confirmés par Genty *et al.* (1987), qui montrent une diminution durable de F_v/F_m induite par des éclaircissements similaires à ceux que connaît la plante durant sa croissance, les autres résultats (Ögren & Öquist, 1985; Kirschbaum, 1987; Cornic *et al.*, 1989; Mazojidek *et al.*, 1991; annexe C) ont été obtenus en utilisant des éclaircissements supérieurs à ceux reçus par les feuilles durant leur développement. Même en utilisant des éclaircissements deux fois supérieurs à ceux de croissance, Sharp & Boyer (1986) n'observent pas de photoinhibition de la photosynthèse d'*Helianthus annuus* au cours du dessèchement. Nos résultats sur des rondelles foliaires de *Q. cerris*, prélevées sur des plants soumis à un déficit hydrique sévère, et exposées à un éclaircissement excessif sont similaires (annexe C).

Les résultats de Björkman & Powles (1984) et les nôtres (annexe C) montrent que lorsque les conditions lumineuses durant la sécheresse ne sont pas plus fortes que celles connues par la feuille pendant sa croissance, il n'y a pas photoinhibition tant que les échanges gazeux ne sont pas totalement inhibés. Les résultats de Genty *et al.* (1987) sur *Gossypium hirsutum*, qui ne montrent pas de diminution de F_v/F_m pour des Ψ_w supérieurs à -2.2 MPa, s'expliquent peut-être par le maintien d'une assimilation nette de CO_2 résiduelle jusqu'à un tel niveau de sécheresse chez cette espèce. La diminution de F_v/F_m que nous observons à des déficits hydriques élevés (35%) n'est probablement pas un effet direct de la déshydratation mais d'une interaction entre déficit hydrique et éclaircissement car, lors d'une déshydratation rapide effectuée à l'obscurité, une diminution de F_v/F_m n'est observée que pour des déficits hydriques supérieurs à 70% (annexes A et F).

Les résultats obtenus en conditions naturelles (annexe E) indiquent un maintien à des valeurs optimales tout au long de la saison de F_v/F_m mesurée à l'aube, y compris pour des arbres soumis à des niveaux de sécheresse pouvant conduire à une forte inhibition de A, notamment à midi. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Ben *et al.* (1987) sur *Helianthus annuus* et *Xanthium strumarium*, Di Marco *et al.* (1988) sur *Triticum aestivum* et Gamon & Pearcy (1990a) sur *Vitis californica*.

L'analyse de ces quelques résultats indique clairement que, même en conditions naturelles, la photoinhibition ne contribue pas à l'inhibition de l'assimilation nette de CO_2 en réponse à une sécheresse. Néanmoins il n'est pas exclu que, pour des plantes ayant été soumises à une sécheresse intense, la photoinhibition qui a pu se développer lorsque l'assimilation nette de CO_2 était fortement inhibée limite la récupération de la fonctionnalité totale de l'appareil photosynthétique. C'est ce qu'ont observé Björkman & Powles (1984) sur *Nerium oleander*. Pour des espèces réputées sensibles à la sécheresse, (*Helianthus annuus* et *Xanthium strumarium*), Ben *et al.* (1987) ont montré que seules les feuilles incapables de survivre après la réhydratation montraient des signes de photoinhibition. Il est néanmoins impossible de savoir, dans cette expérience, si la photoinhibition est la cause de cette non-récupération. Nous n'avons pas étudié ces éventuelles différences de capacité de récupération après réhydratation chez des plants ayant plus ou moins souffert de photoinhibition durant les dernières phases d'une sécheresse édaphique sévère. Néanmoins, cet aspect paraît important et devrait faire l'objet de recherches futures.

5. Mécanismes d'évitement de la photoinhibition

L'absence de photoinhibition observée lors d'une sécheresse édaphique tant que l'assimilation nette de CO_2 n'est pas totalement inhibée, ou tant que la feuille n'est pas soumise à des niveaux d'éclaircissements supérieurs à ceux qu'elle a connus durant son développement implique que les feuilles disposent de mécanismes permettant de limiter, de dissiper ou d'utiliser l'excès d'énergie résultant

d'une moindre utilisation de l'énergie reçue pour la fixation du CO₂. Avant d'analyser les éventuels mécanismes mis en jeu, il convient d'estimer ce que représente cet excès d'énergie. En prenant une valeur de rendement quantique apparent de la photosynthèse de CO₂ de 0,07 mole CO₂ par mole de photon incident lorsque l'éclairement est le facteur limitant de la photosynthèse, il apparaît que, pour une assimilation nette de CO₂ élevée (15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et une densité de flux de photon de 1800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (valeur fréquemment mesurée à midi en conditions naturelles), 88% de l'énergie potentiellement absorbée par une feuille n'est pas utilisée pour l'assimilation nette de CO₂. Pour une feuille d'un arbre soumis à sécheresse, présentant une assimilation nette réduite (3 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), cette quantité atteint 98%. Donc, bien que la fraction de l'énergie potentiellement absorbée par une feuille non utilisée pour l'assimilation nette de CO₂ augmente lors d'un déficit hydrique, celle-ci est déjà importante en conditions naturelles lorsque les conditions d'alimentation en eau sont favorables. Il est donc probable que les mécanismes recherchés existent en conditions naturelles pour des feuilles d'arbres bien alimentés en eau et que, lors d'une sécheresse édaphique, il y ait essentiellement stimulation de ces mécanismes.

a. Augmentation de la dissipation thermique de l'énergie reçue en excès

Les résultats obtenus en conditions naturelles sur *Q. petraea* et présentés dans l'annexe B indiquent une très faible diminution en milieu de journée de l'efficacité photochimique du PS II mesurée après quelques minutes d'obscurité, et une diminution plus marquée de F_0 et surtout de F_m . D'après le modèle développé dans le chapitre II, cela indique une augmentation de la dissipation thermique de l'énergie reçue par les antennes collectrices du PS II. Néanmoins, la fluorescence ayant été mesurée après une période d'obscurité de plusieurs minutes, nous n'avons pas observé la totalité de cette augmentation de dissipation thermique, mais celle associée au quenching non photochimique lentement réversible. Les résultats obtenus sur *Q. cerris* (annexe G) en conditions naturelles montrent une très forte diminution en cours de journée de l'efficacité photochimique du PS II mesurée à la lumière. Cette inhibition a résulté en partie d'une augmentation du quenching non photochimique exprimé d'après les équations de Stern-Volmer. Une telle diminution réversible de l'efficacité photochimique au cours de la journée apparaît relativement fréquente en conditions naturelles (Ben *et al.*, 1987; Adams *et al.*, 1988; Adams *et al.*, 1990; Gamon & Pearcy, 1990a; Baker, 1991; Maxwell *et al.*, 1992). Une diminution de l'efficacité photochimique en réponse à une augmentation de l'éclairement, corrélée à une diminution de l'efficacité des centres ouverts donc à une augmentation de la dissipation thermique au niveau des antennes collectrices, a aussi été mise en évidence chez les semis (annexe C).

Les mécanismes à l'origine d'une augmentation de la dissipation thermique, c'est à dire du quenching non photochimique ont déjà été discutés dans le chapitre II. L'hypothèse d'une intervention des zéaxanthines, qui contribueraient à une augmentation de la dissipation non radiative de l'énergie reçue par les antennes collectrices du PS II (Young, 1991), est confortée par le fait que la teneur en zéaxanthine des feuilles d'*Arbutus unedo* augmente au cours de la dépression de midi de F_0 , de F_m et de l'efficacité photochimique du PS II (Demmig Adams *et al.*, 1989a), et durant une exposition à un excès d'éclairement chez *Populus basalmifera* et *Hedera helix* (Demmig *et al.*, 1987). Des résultats similaires ont été obtenus sur d'autres espèces (Bilger & Björkman, 1990; Foyer *et al.*, 1989). Nos résultats (annexe B) qui montrent une plus forte inhibition de F_v/F_m et une augmentation de F_0 en cours de journée pour des feuilles de rameau de chêne alimenté avec une solution de dithiothreitol, confortent la probable implication du métabolisme des xanthophylles dans la protection du PS II contre la photoinhibition.

Les résultats obtenus dans les annexes B et C montrent que la diminution de l'assimilation nette de CO₂ associée à une sécheresse édaphique augmente la diminution de l'efficacité du photosystème II, traduisant une dissipation accrue de l'énergie reçue par le PS II. Les résultats de Demmig *et al.* (1988) obtenus sur *Nerium oleander* indiquent que la diminution de l'efficacité photochimique en cours de sécheresse est linéairement corrélée à la teneur des feuilles en zéaxanthine.

Parallèlement à une augmentation de la dissipation de l'énergie au niveau des antennes collectrices, une protection du centre réactionnel du PS II par les β carotènes pourrait intervenir. Stuhlfauth *et al.* (1990a) ont montré une augmentation de la teneur en β carotène des feuilles de *Digitalis lanata* en réponse à une sécheresse édaphique.

L'augmentation de la dissipation thermique de l'énergie reçue par le PS II permet donc de réduire l'activité photochimique du PS II, donc le flux d'électrons, pour le maintenir en équilibre avec les besoins du métabolisme du carbone sans induire une diminution marquée de q_p , limitant ainsi les risques de dommages à l'appareil photosynthétique. Du fait du couplage existant entre le PS II et le PS I (Genty *et al.*, 1990c), toute régulation de l'activité du PS II par une augmentation de la dissipation thermique se traduit par une modification similaire de l'activité du PS I.

b. Maintien d'une activité photochimique élevée

Dans le cas des semis de chêne chevelu (annexe C), la sécheresse, malgré une forte inhibition de l'assimilation nette de CO_2 , n'entraîne aucune réduction supplémentaire de l'efficacité photochimique du PS II par rapport aux témoins, même lorsque l'éclairement augmente. Cela indique qu'il n'y a pas réduction de la consommation des électrons libérés au niveau du PS II. De même, pour les semis des autres espèces, la diminution de l'efficacité du PS II reste faible comparée à la diminution de l'assimilation nette de CO_2 . La diminution de l'efficacité photochimique du PS II en milieu de journée en conditions naturelles est modeste comparée à la forte inhibition de l'assimilation nette de CO_2 (annexe B). La photorespiration, ainsi qu'éventuellement la réaction de Mehler et un transfert cyclique des électrons autour du PS II, pourraient contribuer à la consommation de l'énergie reçue par le PS II, et limiter les besoins en protection du PS II.

Les résultats de l'annexe G montrent que, même en absence de stress hydrique, la photorespiration contribue de façon non négligeable à la dé-excitation par voie photochimique du PS II, puisqu'une partie importante de flux d'électrons n'est pas utilisée pour l'assimilation nette de CO_2 . La suppression de la photorespiration (feuille dans une atmosphère pauvre en O_2) induit une décroissance marquée de l'efficacité photochimique du PS II. En l'absence de photorespiration, la feuille semble incapable de tirer profit de la totalité de cette fraction du flux d'électrons mise à la disposition de la photosynthèse. Néanmoins, il est impossible de conclure que la photorespiration est nécessaire à la protection de l'appareil photosynthétique contre les excès d'éclairement. En effet, les résultats de l'annexe G indiquent clairement que la diminution de l'efficacité photochimique du PS II que l'on observe en inhibant la photorespiration se traduit en fait par une augmentation du quenching non photochimique, donc de la dissipation thermique de l'énergie reçue en excès.

Si l'inhibition de l'assimilation nette de CO_2 lors d'une sécheresse résulte essentiellement d'une fermeture des stomates comme le suggèrent les résultats discutés dans le paragraphe 4., le rapport des concentrations O_2/CO_2 dans le stroma doit augmenter. Donc, lors d'une sécheresse, l'utilisation du flux d'électrons par la voie oxydative et par le recyclage dans le cycle de Calvin du CO_2 libéré par la photorespiration doit être stimulé, évitant ainsi un trop fort déséquilibre entre la quantité d'énergie reçue par la feuille et la demande biochimique en ATP et NADPH (Osmond *et al.*, 1980; Krause & Cornic, 1987). La contribution de la photorespiration à la protection contre la photoinhibition lorsque les stomates sont fermés a pu être mise en évidence en privant les feuilles de *Phaseolus vulgaris* de CO_2 tout en maintenant normale la concentration en O_2 (Powles *et al.*, 1984), mais le fait qu'elle soit indispensable reste à démontrer.

La nitrate réductase, la nitrite réductase, la glutamine synthase et la glutamate synthase utilisent l'ATP et les électrons générés par la chaîne de transfert photosynthétique des électrons. L'assimilation des nitrates est donc aussi un mécanisme susceptible de consommer une partie du flux d'électrons lors d'un excès d'énergie (Smirnoff & Stewart, 1985). Néanmoins, l'importance de l'assimilation des nitrates dans les feuilles des végétaux ligneux est controversée. De plus, les déficits de nutrition azotée ne semblent pas favoriser la photoinhibition (Ludlow *et al.*, 1988, Khamis *et al.*, 1990). La réduction des nitrates apparaît donc comme une voie marginale d'utilisation du pouvoir réducteur chloroplastique.

La réaction de Mehler, c'est à dire la réduction de l'oxygène moléculaire par les électrons provenant du PS II, peut aussi contribuer à la dissipation par voie photochimique de l'énergie reçue en excès, notamment lorsque l'assimilation nette de CO_2 est inhibée par la sécheresse (Krause & Cornic, 1987). De plus, la réaction de Mehler se traduit par une consommation d'électrons sans consommation d'ATP, donc conduit à une augmentation du gradient de protons interthylakoïdal susceptible de favoriser la stimulation de la dissipation thermique de l'excès d'énergie (Krause & Cornic, 1987; Schreiber & Neubauer, 1990). De fait, les conséquences d'un excès d'éclairement en conditions d'anaérobiose sont souvent plus drastiques qu'en présence d'une faible concentration en

O₂ (Krause & Cornic, 1987). Néanmoins, la réaction de Mehler conduit à la production de superoxide susceptible de former des radicaux hydroxyl potentiellement dangereux pour la membrane photosynthétique (Salin, 1987; Asada & Takahashi, 1987). L'effet protecteur de la réaction de Mehler dépend donc de l'efficacité des systèmes de détoxification (superoxide dismutase, catalase, peroxidase, système ascorbate-gluthation). Foyer *et al.* (1989) ont montré que l'état redox du système ascorbate-gluthation restait élevé durant un traitement par les forts éclaircements, donc que le système ascorbate-gluthation assurait une bonne protection de l'appareil photosynthétique contre les dommages éventuellement induits par une stimulation de la réaction de Mehler. De même, l'augmentation de l'activité gluthation réductase chez le blé en réponse à un déficit hydrique indique un bon niveau de protection (Gamble & Burke, 1984). Néanmoins, l'augmentation par génie génétique du pool de gluthation réductase ne réduit pas les risques de photoinhibition chez le tabac (Foyer *et al.*, 1991), ce qui suggère un rôle limité de la réaction de Mehler dans la protection contre la photoinhibition. Quoi qu'il en soit, la photorespiration apparaît plus efficace que la réaction de Mehler pour protéger l'appareil photosynthétique contre la photoinhibition, les dommages induits par les forts éclaircements étant plus élevés à faible qu'à forte teneur en O₂ (Wu *et al.*, 1991).

Les résultats présentés dans le chapitre II.4 et dans l'annexe G pourraient suggérer une augmentation de la consommation des électrons par d'autres réactions que la photosynthèse et la photorespiration (réaction de Mehler, transfert cyclique autour du PS II) lorsque la quantité d'énergie reçue en excès augmente. En effet, en l'absence de photorespiration, les relations entre l'efficacité photochimique du PS II et le rendement quantique du dégagement photosynthétique d'O₂ ou de l'assimilation nette de CO₂ ne sont pas linéaires sur les feuilles d'arbres adultes. L'augmentation de l'éclairement, soit artificiellement au laboratoire, soit naturellement en conditions naturelles, se traduit par une réduction plus marquée du rendement quantique du flux linéaire d'électrons que de l'efficacité du PS II à fournir des électrons. Cela pourrait indiquer une contribution de la réaction de Mehler ou d'un transfert cyclique autour du PS II au maintien d'une activité photochimique élevée.

c. Diminution de la quantité d'énergie reçue par le PS II

L'absence de linéarité des relations entre l'efficacité photochimique du PS II et le rendement quantique du transfert linéaire des électrons peut aussi s'expliquer par des changements d'absorption intervenant lorsque l'éclairement augmente, l'efficacité photochimique dépendant de l'énergie absorbée par le PS II (Φ_{II}) et le rendement quantique du transfert linéaire d'électrons (Φ_{e-}) étant calculé sur la base de l'énergie incidente reçue à la surface de la feuille. Le facteur de proportionnalité entre Φ_{e-} et Φ_{II} dépend donc de l'absorbance relative de la feuille (α) et de la fraction de l'énergie absorbée utilisée par le PS II (β).

$$\Phi_{e-} = \alpha * \beta * \Phi_{II} \quad \text{et} \quad \Phi_{II} / \Phi_{e-} = 1 / (\alpha * \beta)$$

L'augmentation de la pente des relations entre l'efficacité photochimique du PS II et le rendement quantique du dégagement photosynthétique d'O₂ (chap II.4) lorsque l'éclairement augmente peut donc résulter, soit d'une diminution de la fraction de l'énergie absorbée délivrée au photosystème II, soit d'une diminution de l'absorbance relative des feuilles. Une diminution de 15% de l'un des deux paramètres suffit à expliquer le changement de pente observé. Deux types de mécanismes permettent de réduire la quantité d'énergie arrivant sur le PS II. D'une part, Brugnoli & Björkman (1992) ont récemment montré qu'un réarrangement des chloroplastes induit par la lumière pouvait occasionner des modifications d'absorbance de 2 à 19 % selon les espèces. D'autre part, la phosphorylation des protéines constitutives des antennes collectrices est un mécanisme connu pour réduire la taille des antennes collectrices du PS II (Baker, 1991), et entraîne une diminution de la fraction d'énergie absorbée délivrée au PS II.

Ces mécanismes permettant de diminuer la quantité d'énergie absorbée par la feuille et/ou par le PS II pourraient aussi contribuer à protéger la feuille contre les excès d'éclairement. Bien que Smith *et al.* (1990) constatent une diminution de la taille des antennes collectrices du PS II et du PS I lorsque l'algue *Dunaliella salina* est élevée à fort éclairement, la contribution de la diminution de la taille d'antenne à la protection de l'appareil photosynthétique est sans doute limitée, car d'une part les protéines constitutives des antennes collectrices sont peu phosphorylées lors d'une exposition à des forts éclaircements (Baker, 1991) et d'autre part, la sensibilité des thylakoides de *Cucurbita pepo* aux excès d'éclairement ne dépend pas de la taille des antennes collectrices (Tyystjärvi *et al.*, 1991). En

fait, Horton *et al.* (1988) ont montré qu'il y avait antagonisme entre phosphorylation des protéines constitutives des antennes collectrices et développement du quenching non photochimique.

La décroissance d'amplitude semblable de F_0 et F_m au cours de l'été, mesurée sur des feuilles de *Q. petraea* et *Q. robur* en conditions naturelles, ne peut aussi s'expliquer que par des modifications des propriétés optiques des feuilles engendrant une diminution de la fraction d'énergie absorbée (voir équations 4 et 5, chap. II). Néanmoins, ce phénomène est de la même amplitude quel que soit l'état d'alimentation hydrique des arbres. Ce type de réponse est donc peu spécifique, sans doute génétiquement programmé et se développant indépendamment du niveau de contrainte lumineuse réellement perçue par la feuille.

Les mouvements foliaires parahéliotropiques, contribuant à limiter l'interception de l'énergie par les feuilles, en particulier en conditions d'alimentation hydrique défavorables (Powles, 1984; Gamon & Pearcy, 1989; Berg & Heuchelin, 1990), constituent un autre mécanisme de protection. Néanmoins, un tel phénomène semble absent chez les chênes.

d. Conclusions

Même en conditions d'alimentation hydrique non limitante, la quantité d'énergie reçue se trouve en excès par rapport à la capacité des feuilles à assimiler le CO_2 , ce qui revient à dire que le rendement quantique de l'assimilation de CO_2 est faible. La fraction d'énergie utilisée par le transfert linéaire d'électrons (photosynthèse + photorespiration) reste faible en comparaison du flux potentiellement attendu si le rendement quantique du flux d'électrons mesuré le matin était maintenu toute la journée (annexe G). Une très large fraction de l'énergie reçue par le PS II doit donc être dissipée par voie thermique. La contribution de la réaction de Mehler et d'un transfert cyclique des électrons autour du PS II reste largement hypothétique. De même, l'importance des modifications de propriétés optiques des feuilles, à court terme aussi bien qu'à long terme, reste à quantifier.

La sécheresse, en limitant l'assimilation nette de CO_2 , accroît la quantité d'énergie reçue en excès pour assimiler le CO_2 . Bien qu'une augmentation de la dissipation thermique ait pu être observée, nos résultats tendent à montrer que la diversion du flux d'électrons vers la photorespiration, et son utilisation pour la réassimilation du CO_2 ainsi libéré, se traduit par une faible diminution de l'efficacité photochimique du PS II, donc par le maintien d'un flux d'électrons relativement élevé. La possibilité d'éviter un trop fort déséquilibre entre la quantité d'énergie reçue par la feuille et la demande biochimique en ATP et NADPH par la photorespiration lors d'une sécheresse édaphique explique probablement pourquoi certaines contraintes environnementales connues pour affecter directement les processus biochimiques de la photosynthèse (froid, forte température), et donc pour inhiber à la fois la photosynthèse et la photorespiration, accroissent beaucoup plus fortement les risques de photoinhibition (Steffen & Palta, 1989; Gamon & Pearcy, 1990b; Groom *et al.*, 1991). Cette interprétation est en accord avec l'hypothèse que nous avons formulée dans le paragraphe 4 : la réduction de l'assimilation nette de CO_2 en réponse à une sécheresse édaphique résulte essentiellement de la fermeture des stomates.

IV. Conclusions et perspectives.

Les résultats obtenus sur les chênes confirment la forte tolérance de l'appareil photosynthétique à la déshydratation des tissus foliaires et à la diminution des réserves hydriques du sol. La limitation de l'assimilation nette de CO_2 en réponse à une diminution de la disponibilité en eau du sol résulte essentiellement de la diminution de la fourniture en CO_2 aux chloroplastes induite par la fermeture des stomates. La contradiction entre les résultats obtenus en utilisant, d'une part le calcul de la fraction molaire intercellulaire de CO_2 , et d'autre part d'autres méthodes permettant un accès plus direct au fonctionnement de l'appareil photosynthétique, n'est sans doute pas entièrement expliquée par la distribution non-homogène des échanges gazeux sur la surface de la feuille. Afin de clarifier cet aspect, la composante mésophyllienne de la résistance à la diffusion de CO_2 , et sa réponse à la sécheresse, devront être évaluées. Néanmoins, l'existence d'inhibitions d'origine biochimique résultant d'une altération des relations source-puits (arrêt de croissance) ou d'une altération de la nutrition minérale (perturbation de l'absorption, du transport et du métabolisme de l'azote ou du soufre par exemple) ne peut être exclue à long terme lors de sécheresses édaphiques se développant lentement. L'intégration à l'échelle de la plante entière de la réponse de ces différentes fonctions physiologiques à la réduction progressive de la disponibilité en eau du sol mériterait d'être entreprise.

Le fait que les niveaux de déshydratation nécessaires pour observer une altération du fonctionnement de l'appareil photosynthétique soient très supérieurs à ceux conduisant à une inhibition totale des échanges gazeux, et qu'il n'y ait pas de corrélation entre le degré de tolérance à la sécheresse de différentes espèces et le degré de résistance de leur appareil photosynthétique, suggère que le rôle premier de la régulation stomatique des pertes en eau ne soit pas de limiter directement la déshydratation des tissus foliaires. Tyree & Sperry (1989) et Jones & Sutherland (1991) ont émis l'hypothèse que le contrôle stomatique du flux transpiratoire avait plutôt comme conséquence de prévenir les dysfonctionnements des transferts hydriques dans le xylème, et notamment de limiter les risques d'embolie catastrophique qui aboutiraient à une déshydratation sévère des parties aériennes. En effet, si le potentiel hydrique dépasse la valeur seuil de cavitation, une chute supplémentaire de potentiel se produit du fait de la perte de conductance du xylème, conduisant à un emballement de l'embolie et à une perte totale de conductance hydraulique.

Malgré l'absence d'effet direct des déficits hydriques sur le fonctionnement de l'appareil photosynthétique, la fermeture complète des stomates, et donc l'inhibition totale de l'assimilation nette de CO_2 lors d'une sécheresse édaphique conduit à une photoinhibition des réactions photochimiques dans le chloroplaste. Ces dommages à l'appareil photosynthétique résultent probablement d'une réduction des besoins en NADPH et ATP, donc d'un déséquilibre entre la demande biochimique en électrons et leur production photochimique au niveau du photosystème II. L'étude des éventuelles différences de capacité de récupération après réhydratation chez des plants ayant plus ou moins souffert de photoinhibition durant les dernières phases d'une sécheresse édaphique sévère paraît importante et devrait faire l'objet de recherches futures. Néanmoins, les chênes semblent capables de maintenir une assimilation nette de CO_2 non négligeable jusqu'à des niveaux élevés de contrainte hydrique, même lorsque des conditions atmosphériques défavorables accentuent l'effet de la sécheresse édaphique sur les échanges gazeux. De ce fait, une photoinhibition durable de l'appareil photosynthétique n'est jamais observée, tant que les feuilles ne sont pas soumises à des éclaircissements supérieurs à ceux qu'elles ont connu durant leur croissance.

Différents mécanismes contribuent à cette tolérance des feuilles aux excès d'éclairement. La capacité des feuilles à moduler l'activité photochimique du PS II en réponse aux variations d'éclairement et/ou des besoins en électrons, par une capacité à dissiper l'énergie reçue en excès plus ou moins marquée selon le type de feuille, apparaît comme le mécanisme quantitativement le plus important. Néanmoins, la réduction de l'efficacité photochimique du PS II lors d'une sécheresse est relativement faible en comparaison de la réduction de l'assimilation nette de CO_2 . La dissipation par voie photochimique de l'énergie reçue en excès semble être le principal mécanisme impliqué lors d'une diminution de l'assimilation nette de CO_2 résultant d'une fermeture des stomates. Bien que l'existence d'un transfert cyclique des électrons autour du PS II ou d'un transfert pseudocyclique (réaction de Mehler) ne puisse pas être exclue, la photorespiration et la réassimilation du CO_2 libéré par photorespiration contribuent vraisemblablement très largement à cette dissipation par voie photochimique de l'énergie reçue en excès. Des expériences complémentaires visant, d'une part à quantifier l'importance de la

réaction de Mehler et à étudier la réponse aux déficits hydriques des systèmes enzymatiques impliqués dans la détoxification des chloroplastes, d'autre part à préciser le rôle de la photorespiration comme mécanisme de protection contre la photoinhibition, pourraient être entreprises dans le prolongement de ce travail.

Les résultats préliminaires obtenus en conditions naturelles sur du chêne chevelu, et qui mériteraient d'être confirmés dans un plus grand nombre de situations, ont mis en évidence que, même lorsque l'assimilation nette de CO₂ est élevée, une fraction importante du flux d'électrons n'est pas utilisée pour l'assimilation nette de CO₂, et que la majeure partie de l'énergie reçue est en fait dissipée non photochimiquement. S'il est évident que la photorespiration se traduit par une perte nette de CO₂ fixé, il est possible que, si elle contribue réellement à réduire les risques de photoinhibition, elle ait malgré tout un effet globalement positif sur la quantité de carbone assimilé. De même, l'influence de la réduction de l'efficacité photochimique du PS II sur la quantité de carbone assimilé, résultant d'une augmentation de la dissipation thermique de l'énergie reçue en excès, est difficile à évaluer. Le développement de modèles permettant de simuler l'interception de la lumière à travers le couvert est un préalable indispensable à l'intégration de nos résultats à l'échelle de l'arbre et du couvert. En effet, Ögren (1988) a montré une très forte variation du degré d'inhibition de l'efficacité photochimique du PS II en cours de journée entre les feuilles de *Salix* sp., attribuable en grande partie à leur position dans le couvert, et donc à la quantité de lumière réellement interceptée. L'estimation de cette quantité a d'ailleurs permis de prédire le degré d'inhibition de l'efficacité photochimique du PS II des feuilles de cette espèce (Ögren & Sjöström, 1990). Les auteurs ont pu ainsi estimer que la décroissance journalière de l'efficacité photochimique du PS II réduisait de 10% la quantité de carbone fixé au cours de journées ensoleillées. Néanmoins, il est probable que cet effet soit beaucoup plus limité dans le cas des chênes, la récupération d'une efficacité photochimique du PS II optimale étant plus rapide que pour le saule.

Cette capacité à éviter les dommages permanents à l'appareil photosynthétique, et à récupérer rapidement une efficacité photochimique optimale lorsque les conditions lumineuses redeviennent modérées peut être considérée comme une composante importante de la stratégie de tolérance à la sécheresse. De plus, l'absence de synergie entre sécheresse et excès d'éclairement est cohérente avec l'augmentation de l'efficacité de l'utilisation de l'eau et le maintien d'échanges gazeux non négligeables que nous avons systématiquement observés chez le chêne en situation de contrainte hydrique. Ces résultats, associés à ceux de Bréda *et al.* (1993) et Cochard *et al.* (1992) qui mettent en évidence un enracinement profond, le maintien d'une transpiration élevée lors d'une sécheresse et la faible susceptibilité à la cavitation des chênes que nous avons étudiés, confirment que les espèces du genre *Quercus* sont plutôt fortement tolérantes à la sécheresse. La comparaison de nos résultats avec d'autres obtenus sur des espèces moins tolérantes, comme le hêtre, ou évitantes, comme certains sapins ou certaines essences pionnières, serait intéressante et permettrait peut-être d'éclaircir les liens existant entre le comportement écophysologique des espèces et leurs exigences écologiques.

Les différences entre les espèces de chêne que nous avons étudiées apparaissent assez faibles, que ce soit au stade semis en conditions contrôlées ou au stade adulte en conditions naturelles. Néanmoins, le fait que l'efficacité intrinsèque de l'utilisation de l'eau de *Q. petraea* soit meilleure que celle de *Q. robur* pour des arbres situés dans le même peuplement, aussi bien en conditions hydriques limitantes que non limitantes, pourrait expliquer les meilleures performances de la première espèce en situation de faibles disponibilités en eau. Bien que ce résultat nécessite une confirmation, notamment par une estimation de l'efficacité de l'eau intégrée sur plusieurs saisons à l'aide de mesures de la discrimination isotopique du ¹³C dans la cellulose du bois, il est cohérent avec les données existant sur la sensibilité à la cavitation des deux espèces (Cochard *et al.*, 1992) et sur leur distribution écologique (Lévy *et al.*, 1993).

En raison de l'augmentation de la concentration atmosphérique en CO₂, et des conséquences prévisibles sur le climat, les épisodes de sécheresse marquée pourraient être plus fréquents dans les prochaines décennies que par le passé. Or, à la différence des cultures agricoles qui peuvent être modifiées assez rapidement, le renouvellement des écosystèmes forestiers nécessite plusieurs dizaines d'années. Les arbres auront donc probablement à faire face à des situations d'alimentation hydrique plus défavorables qu'actuellement. Dans cette hypothèse, il paraît intéressant d'étudier l'impact des concentrations élevées en CO₂ durant la croissance sur ces différents aspects de la tolérance à la sécheresse.

Références bibliographiques

- Abrams M.D. (1990) Adaptations and responses to drought in *Quercus* species of North America. *Tree Physiology* 7, 227-238.
- Abrams M.D. & Kubiske M.E. (1990) Photosynthesis and water relations during drought in *Acer rubrum* L. genotypes from contrasting sites in central Pennsylvania. *Functional Ecology* 4, 727-733.
- Abrams M.D., Kubiske M.E. & Steiner K.C. (1990) Drought adaptations and responses in five genotypes of *Fraxinus pennsylvanica* Marsh.: photosynthesis, water relations and leaf morphology. *Tree Physiology* 6, 305-315.
- Acherar M., Rambal S. & Lepart J. (1991) Evolution du potentiel hydrique foliaire et de la conductance stomatique de quatre chênes méditerranéens lors d'une période de dessèchement. *Annales des Sciences Forestières* 48, 561-573.
- Adams W.W. III, Terashima I., Brugnoli E. & Demmig B. (1988) Comparisons of photosynthesis and photoinhibition in the CAM vine *Hoya australis* and several C₃ vines growing on the coast of eastern Australia. *Plant, Cell and Environment* 11, 173-181.
- Adams W.W. III, Demmig-Adams B. & Winter K. (1990) Relative contributions of zeaxanthin-related and zeaxanthin unrelated types of 'high-energy-state' quenching of chlorophyll fluorescence in spinach leaves exposed to various environmental conditions. *Plant Physiology* 92, 302-309.
- Amthor J.S., Gill D.S. & Bormann F.H. (1990) Autumnal leaf conductance and apparent photosynthesis by saplings and sprouts in a recently disturbed northern hardwood forest. *Oecologia* 84, 93-98.
- André M. (1986) Capacité oxydative et résistance à la sécheresse de différentes plantes supérieures CAM-C₃-C₄ et de végétaux inférieurs. *Bulletin de la Société Botanique Française* 133, *Lettres Botaniques*, 207-212.
- Andréasson L.E. & Vanngard T. (1988) Electron transport in photosystem 1 and 2. *Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology* 39, 379-411.
- Asada K. & Takahashi M. (1987) Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. In: *Photoinhibition* (D.J. Kyle, C.B. Osmond & C.J. Arntzen eds.) Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp. 227-281.
- Aubuchon R.R., Thompson D.R. & Hinckley T.M. (1978) Environmental influences on photosynthesis within the crop of a white oak. *Oecologia* 35, 295-306.
- Aussenac G. (1978) La sécheresse de 1976: influence des déficits hydriques sur la croissance des arbres forestiers. *Revue Forestière Française* 30, 103-114.
- Aussenac G. & Granier A. (1978) Quelques résultats de cinétique journalière du potentiel de sève chez les arbres forestiers. *Annales des Sciences Forestières* 35, 19-32.
- Aussenac G. & Valette J.C. (1982) Comportement hydrique estival de *Cedrus atlantica* Manetti, *Quercus ilex* L. et *Quercus pubescens* Willd. et de divers espèces de pins dans le mont Ventoux. *Annales des Sciences Forestières* 39, 41-62.
- Aussenac G. & Finkelstein D. (1983) Influence de la sécheresse sur la croissance et la photosynthèse du cèdre. *Annales des Sciences Forestières* 40, 67-77.

- Aussenac G., Desjeunes J.M. & Willm F. (1981) Climatologie de l'Arboretum d'Amance. *Revue Forestière Française* 23, 29-38.
- Bahari Z.A., Pallardy S.G. & Parker W.C. (1985) Photosynthesis, water relations and drought adaptation in six woody species of oak-hickory forests in central Missouri. *Forest Science* 31, 557-569.
- Baker N.R. (1991) A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. *Physiologia Plantarum* 81, 563-570.
- Barrs H.D. (1968) Determination of water deficit in plant tissues. In : *Water deficits and plant growth vol.I*, (T.T. Koslowsky ed.) Academic Press, New-York, pp.236-348.
- Becker M. & Lévy G. (1982) Le dépérissement du chêne en Forêt de Tronçais. Les causes écologiques. *Annales des Sciences Forestières* 39, 439-444.
- Ben G.Y., Osmond C.B. & Sharkey T.D. (1987) Comparisons of photosynthetic responses of *Xanthium strumarium* and *Helianthus annuus* to chronic and acute water stress in sun and shade. *Plant Physiology* 84, 476-482.
- Benecke U. & Schulze E.D., Matyssek R., Havranek W.M. (1981) Environmental control of CO₂ assimilation and leaf conductance in *Larix decidua* Mill. I. A comparison of contrasting natural environments. *Oecologia* 50, 54-61.
- Bensari M. & Calmes J., Viala G. (1990) Répartition du carbone fixé par photosynthèse entre l'amidon et le saccharose dans la feuille de Soja. Influence d'un déficit hydrique. *Plant Physiology and Biochemistry* 28, 113-121.
- Berg V.S. & Heuchelin S. (1990) Leaf orientation of soybean seedlings. I. Effect of water potential and photosynthetic photon flux density on paraheliotropism. *Crop Sciences* 30, 631-638.
- Berkowitz G.A. & Whalen C. (1985) Leaf K⁺ interaction with water stress inhibition of nonstomatal-controlled photosynthesis. *Plant Physiology* 79, 189-193.
- Berkowitz G.A. & Kroll K.S. (1988) Acclimation of photosynthesis in *Zea mays* to low water potentials involves alterations in protoplast volume reduction. *Planta* 175, 374-379.
- Berkowitz G.A. & Gibbs M. (1983) Reduced osmotic potential effects on photosynthesis. Identification of stromal acidification as a mediating factor. *Plant Physiology* 71, 905-911.
- Beyschlag W. & Pfanz H. (1990) A fast method to detect the occurrence of nonhomogeneous distribution of stomatal aperture in heterobaric plant leaves. Experiments with *Arbutus unedo* L. during the diurnal course. *Oecologia* 82, 52-55.
- Beyschlag W., Phibbs A. & Pfanz H. (1990) The role of temperature and humidity in controlling the diurnal stomatal behavior of *Arbutus unedo* L. during the dry season. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 186: 265-271.
- Bilger W. & Schreiber U. (1986) Energy-dependent quenching of dark-level chlorophyll fluorescence in intact leaves. *Photosynthesis Research* 10, 303-308.
- Bilger W. & Björkman O. (1990) Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. *Photosynthesis Research* 25, 173-185.
- Björkman O. (1987) Low-temperature chlorophyll fluorescence in leaves and its relationship to photo yield of photosynthesis in photoinhibition. In: *Photoinhibition* (D.J. Kyle, C.B. Osmond & C.J. Arntzen eds.), Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp.123-144.

- Björkman O. & Powles S.B. (1984) Inhibition of photosynthetic reactions under water stress : interaction with high light level. *Planta* 161, 490-503.
- Björkman O. & Demmig B. (1987) Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170, 489-504.
- Bolhar-Nordenkamp H.R., Long S.P., Baker N.R., Öquist G., Schreiber U. & Lechner E.G. (1989) Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field : a review of current instrumentation. *Functional Ecology* 3, 497-514.
- Bonneau M. (1989) Que sait-on maintenant des causes du dépérissement des forêts. *Revue Forestière Française* 41, 367-385.
- Bonneau M. & Landmann G. (1988) De quoi la forêt est-elle malade ? *La Recherche* 205, 1543-1553.
- Boyer J.S. (1976) Water deficits and photosynthesis. In : *Water deficits and plant growth* (T.T. Kozlowsky ed.). Academic Press., New York, pp. 153-190.
- Boyer J.S. (1989) Water potential and plant metabolism: comments on Dr P.J. Kramer's articles, 'Changing concepts regarding plant water relations', Volume 11, Number 7, pp. 565-568, and Dr J.B. Passioura's response. *Plant, Cell and Environment* 12, 213-216.
- Boyer J.S., Armond P.A. & Sharp R.E. (1987) Light stress and leaf water relations. In: *Photoinhibition*. (D.J. Kyle, C.B. Osmond & C.J. Arntzen eds.) Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp. 111-122.
- Bréda N., Cochard H., Dreyer E. & Granier A. (1993). Seasonal evolution of water transfer in a mature oak stand (*Quercus petraea* Matt. Liebl.) submitted to drought. *Canadian Journal of Forest Research*, accepted.
- Briantais J.M., Vernotte C., Krause G.H. & Weis E. (1986) Chlorophyll a fluorescence of higher plants : chloroplasts and leaves. In : *Light emission by plants and bacteria* (Govindjee, Ames & Fork eds). Academic Press, New York, pp. 539-583.
- Brigg G.M., Jurik T.W. & Gates D.M. (1986) Non-stomatal limitation of CO₂ assimilation in three species during natural drought conditions. *Physiologia Plantarum* 66, 521-526.
- Brugnoli E & Björkman O. (1992) Chloroplast movements in leaves: influence on chlorophyll fluorescence and measurements of light-induced absorbance changes related to Δ pH and zeaxanthin formation. *Photosynthesis Research* 32, 23-35.
- Bunce J.A. (1977) Nonstomatal inhibition of photosynthesis at low water potentials in intact leaves of species from a variety of habitats. *Plant Physiology* 59, 348-350.
- Bunce J.A. (1986) Volume and osmotic potential changes in relation to inhibition of photosynthesis by water stress in intact leaves. *Canadian Journal of Botany* 64, 557-560.
- Bunce J.A. (1987) Species-specific responses to water stress of gas exchanges parameters mimicked by applied abscisic acid. *Canadian Journal of Botany* 65, 103-106.
- Bunce J.A. (1990a) Afternoon inhibition of photosynthesis in maize. 1. Evidence, and relationship to stand density. *Field Crops Research*. 24, 251-260.
- Bunce J.A. (1990b) Afternoon inhibition of photosynthesis in maize. 2. Environmental causes and physiological symptoms. *Field Crops Research*. 24, 261-271.
- Butler W.L. (1978) Energy distribution in the photochemical apparatus of photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* 29, 345-378.

- Castrillo M. & Calcagno A.M. (1989) Effects of water stress and rewatering on ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activity, chlorophyll and protein contents in two cultivars of tomato. *Journal of Horticultural Sciences* 64, 717-724.
- Ceulemans R.J. & Saugier B. (1991) Photosynthesis. In : *Physiology of trees* (A.S. Raghavendra, ed.), John Wiley and son, New-York, pp. 21-50.
- Chaves M.M. (1991) Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany* 42, 1-16.
- Chaves M.M., Harley P.C., Tenhunen J.D. & Lange O.L. (1987) Gas exchange studies in two portuguese grapevine cultivars. *Physiologia Plantarum* 70, 639-647.
- Cheeseman J.M. (1991) Patchy: simulating and visualizing the effects of stomatal patchiness on photosynthetic CO₂ exchange studies. *Plant, Cell and Environment* 14, 593-599.
- Cleland R.E., Ramage R.T. & Critchley C. (1990) Photoinhibition causes loss of photochemical activity without degradation of D1 protein. *Australian Journal of Plant Physiology* 17, 641-651.
- Cochard H., Bréda N., Granier A. & Aussenac G. (1992) Vulnerability to air embolism and hydraulic architecture of three European oak species (*Quercus petraea* (Matt) Liebl., *Q. pubescens* Willd, *Q. robur* L.). *Annales des Sciences Forestière* 49, 225-233.
- Cornic G. & Miginiac E. (1983) Non stomatal inhibition of net CO₂ uptake by (+/-) abscisic acid in *Pharbitis nil*. *Plant Physiology* 73, 529-533.
- Cornic G. & Briantais J.M. (1991) Partitioning of photosynthetic electron flow between CO₂ and O₂ reduction in a C₃ leaf (*Phaseolus vulgaris* L.) at different CO₂ concentrations and during drought stress. *Planta* 183, 178-184.
- Cornic G. & Ghasghaie J. (1991) Effect of temperature on net CO₂ assimilation and photosystem II quantum yield of electron transfer of french bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaves during drought stress. *Planta* 185, 255-260.
- Cornic G., Prioul J.L. & Louason G. (1983) Stomatal and non stomatal contribution to reductions in leaf net CO₂ uptake during rapid water stress. *Physiologia Plantarum* 58, 295-301.
- Cornic G., Papagiorgiou I. & Louason G. (1987) Effect of a rapid and a slow drought cycle followed by rehydration on stomatal and non stomatal components of leaf photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of Plant Physiology* 126, 309-318.
- Cornic G., Le Gouallec J.L. Briantais J.M. and Hodges M. (1989) Effect of dehydration and high light on photosynthesis of two C₃ plants (*Phaseolus vulgaris* L., *Elatostema repens* (Lour.) Hall f.). *Planta* 177, 84-90.
- Correia M.J., Chaves M.M.C. & Pereira J.S. (1990) Afternoon depression in photosynthesis in grapevine leaves-evidence for a high light stress effect. *Journal of Experimental Botany* 41, 417-426.
- Davies W.J., Mansfield T.A. & Hetherington A.M. (1990) Sensing of soil water status and the regulation of plant growth and development. *Plant, Cell and Environment* 13, 709-719.
- Delatour C. (1983) Les dépérissements de chênes en Europe. *Revue Forestière Française* 35, 265-282.
- Delieu T. & Walker. D.A. (1981) Polarographic measurement of photosynthetic oxygen evolution by leaf discs. *New Phytologist* 89, 165-178.

- Demmig B. & Björkman O. (1987) Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77K) and photon yield of O₂ evolution in leaves of higher plants. *Planta* 171, 171-184.
- Demmig B. & Winter K. (1988) Characterisation of three components of non-photochemical fluorescence quenching and their response to photoinhibition. *Australian Journal of Plant Physiology* 15, 163-177.
- Demmig B., Winter K., Krüger A. & Czygan F.C. (1987) Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves. A possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy. *Plant Physiology* 84, 218-224.
- Demmig B., Winter K., Krüger A. & Czygan F.C. (1988) Zeaxanthin and the heat dissipation of excess light energy in *Nerium oleander* exposed to a combination of high light and water stress. *Plant Physiology* 87, 17-24.
- Demmig-Adams B., Adams W.W. III, Winter K., Meyer A., Schreiber U., Pereira J., Krüger A., Czygan F.C. & Lange O.L. (1989a) Photochemical efficiency of photosystem II, photon yield of O₂ evolution, photosynthetic capacity, and carotenoid composition during the midday depression of net CO₂ uptake in *Arbutus unedo* growing in Portugal. *Planta*, 177, 377-387.
- Demmig-Adams B., Winter K., Krüger A. & Czygan F.C. (1989b) Light response of CO₂ assimilation, dissipation of excess excitation energy, and zeaxanthin content of sun and shade leaves. *Plant Physiology* 90, 881-886.
- Demmig-Adams B., Winter K., Krüger A. & Czygan F.C. (1989c) Zeaxanthin and the induction and relaxation kinetics of the dissipation of excess excitation energy in leaves in 2% O₂, 0% CO₂. *Plant Physiology* 90, 887-893.
- Demmig-Adams B., Adams W.W. III, Heber U., Neimanis S., Winter K., Krüger A., Czygan F.C., Bilger W. & Björkman O. (1990) Inhibition of zeaxanthin formation and rapid changes in radiationless energy dissipation by dithiothreitol in spinach leaves and chloroplasts. *Plant Physiology* 92, 293-301.
- Di Marco G., Massacci A. & Gabrielli R. (1988) Drought effects on photosynthesis and fluorescence in hard wheat cultivars grown in the field. *Physiologia Plantarum* 74, 385-390.
- Dingkuhn M., Cruz R.T., O'Toole J.C. & Dörffling K. (1989) Net photosynthesis, Water use efficiency, leaf water potential and leaf rolling as affected by water deficit in tropical upland rice. *Australian Journal of Agricultural Research* 40, 1171-1181.
- Dougherty P.M. & Hinkley T.M. (1981) The influence of a severe drought on net photosynthesis of white oak (*Quercus alba*). *Canadian Journal of Botany* 59, 335-341.
- Downton W.J.S., Loveys B.R. & Grant W.J.R. (1988a) Stomatal closure fully accounts for the inhibition of photosynthesis by abscisic acid. *New Phytologist* 108, 263-266.
- Downton W.J.S., Loveys B.R. & Grant W.J.R. (1988b) Non uniform stomatal closure induced by water stress causes putative non stomatal inhibition of photosynthesis. *New Phytologist* 110, 503-509.
- Dreyer E. & Sculler I. (1989) Effects of exogenous ABA on photosynthesis and stomatal conductance of cut twigs from oak seedlings. *Annales des Sciences Forestières* 46s, 406-410.
- Dreyer E., Bousquet F. & Ducrey M. (1990) Use of pressure-volume curves in water relation analysis on woody shoots: influence of rehydration and comparison of four European oak species. *Annales des Sciences Forestières* 47, 285-297.
- Durand P., Gelpe J., Lemoine B., Riou J. & Timbal J. (1983) Le dépérissement du chêne pédonculé dans les pyrénées-atlantiques. *Revue Forestière Française* 35, 357-368.

- Ellsworth D.S. & Reich P.B. (1992) Water relations and gas exchange of *Acer saccharum* seedlings in contrasting natural light and water regimes. *Tree Physiology* 10, 1-20.
- Epron D. & Dreyer E. (1990) Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis by leaf water deficits in three oak species: a comparison of gas exchange and chlorophyll a fluorescence data. *Annales des Sciences Forestières* 47, 435-450.
- Evans et al. (1993)
- Fischer E., Raschke K. & Stitt M. (1986) Effects of abscisic acid on photosynthesis in whole leaves : changes in CO₂ assimilation, levels of carbon-reduction-cycle intermediates, and activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase. *Planta* 169, 536-545.
- Farquhar G.D., Ehleringer J.R. & Hubick K.T. (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology, Plant Molecular Biology* 40, 503-537.
- Foyer C.H., Dujardin M. & Lemoine Y. (1989) Responses of photosynthesis and the xanthophyll and ascorbate-glutathione cycles to changes in irradiance, photoinhibition and recovery. *Plant Physiology and Biochemistry* 27, 751-760.
- Foyer C.H., Lelandais M., Galap C. & Kunert K.J. (1991) Effects of elevated cytosolic glutathione reductase activity on the cellular glutathione pool and photosynthesis in leaves under normal and stress conditions. *Plant Physiology* 97, 863-872.
- Fredeen A.L., Gamon J.A. & Field C.B. (1991) Responses of photosynthesis and carbohydrate partitioning to limitations in nitrogen and water availability in field-grown sunflower. *Plant, Cell and Environment* 14, 963-970.
- Frederick J.R., Alm D.M., Hesketh J.D. & Below F.E. (1990) Overcoming drought-induced decreases in soybean leaf photosynthesis by measuring with CO₂-enriched air. *Photosynthesis Research* 25, 49-57.
- Gamble P.E. & Burke J.J. (1984) Effect of water stress on the chloroplast antioxidant system. I. Alterations in glutathione reductase activity. *Plant Physiology* 76, 615-621.
- Gamon J.A. & Pearcy R.W. (1989) Leaf movement, stress avoidance and photosynthesis in *Vitis californica*. *Oecologia* 79, 475-481.
- Gamon J.A. & Pearcy R.W. (1990a) Photoinhibition in *Vitis californica*: interactive effects of sunlight, temperature and water status. *Plant, Cell and Environment* 13, 267-275.
- Gamon J.A. & Pearcy R.W. (1990b) Photoinhibition in *Vitis californica*: the role of temperature during high-light treatment. *Plant Physiology* 92, 487-494.
- Genty B., Briantais J.M. & Viera da Silva J.B. (1987) Effects of drought on primary photosynthetic processes of cotton leaves. *Plant Physiology* 83, 360-364.
- Genty B., Briantais J.M. & Baker N.R. (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochem. Biophys. Acta* 990: 87-92.
- Genty B., Harbinson J. & Baker N.R. (1990c) Relative quantum efficiency of the two photosystem of leaves in photorespiratory and non-photorespiratory conditions. *Plant Physiology and Biochemistry* 28, 1-10.
- Genty B., Harbinson J., Briantais J.M. & Baker N.R. (1990b) The relationship between non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence and the rate of photosystem 2 in leaves. *Photosynthesis Research* 25, 249-257.

- Genty B., Wonders J. & Baker N.R. (1990a) Non-photochemical quenching of F_0 in leaves is emission wavelength dependent: consequences for quenching analysis and its interpretation. *Photosynthesis Research* 26, 133-139.
- Gilmore A.M. & Yamamoto H.Y. (1991) Zeaxanthin formation and energy-dependent fluorescence quenching in pea chloroplasts under artificially mediated linear and cyclic electron transport. *Plant Physiology* 96, 635-643.
- Gollan T., Turner N.C. & Schulze E.D. (1985) The responses of stomata and leaf gas exchange to vapour pressure deficits and soil water content. III. In the sclerophyllous woody species *Nerium oleander*. *Oecologia* 65, 348-355.
- Gollan T., Passioura J.B. & Munns R. (1986) Soil water status affects the stomatal conductance of fully turgid wheat and sunflower leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* 13, 459-464.
- Gong H. & Nilsen S. (1989) Effect of temperature on photoinhibition of photosynthesis, recovery, and turnover of the 32kD chloroplast protein in *Lemna gibba*. *Journal of Plant Physiology* 135, 9-14.
- Graan T. & Boyer J.S. (1990) Very high CO_2 partially restores photosynthesis in sunflower at low water potentials. *Planta* 181, 378-384.
- Greer D.H., Berry J.A. & Björkman O. (1986) Photoinhibition of photosynthesis in intact bean leaves : role of light and temperature, and requirement for chloroplast-protein synthesis during recovery. *Planta* 168, 253-260.
- Grieu P., Guehl J.M. & Aussenac G. (1988) The effects of soil and atmospheric drought on photosynthesis and stomatal control of gas exchange in three coniferous species. *Physiologia Plantarum* 73, 97-104.
- Groom J.Q., Baker N.R. & Long S.P. (1991) Photoinhibition of holly (*Ilex aquifolium*) in the field during the winter. *Physiologia Plantarum* 83, 585-590.
- Guehl J.M., Aussenac G., Bouachrine J., Zimmermann R., Pennes J.M., Ferhi A. & Grieu P. (1991) Sensitivity of leaf gas exchange to atmospheric drought, soil drought, and water-use efficiency in some Mediterranean *Abies* species. *Canadian Journal of Forest Research* 21, 1507-1515.
- Guyon J.P. (1987) Analyse des courbes pression-volume de rameaux de trois espèces forestières. *Acta Oecologia Oecologia Applicata* 8, 363-370.
- Hanson D.A. & Hitz W.D. (1982) Metabolic response of mesophytes plants to water deficits. *Annual Review of Plant Physiology* 33, 163-203.
- Harley P.C., Tenhunen J.D., Beyschlag W. & Lange O.L. (1987) Seasonal changes in net photosynthesis rates and photosynthetic capacity in leaves of *Cistus salvifolius*, a European Mediterranean semi-deciduous shrub. *Oecologia* 74, 380-388.
- Havaux M., Strasser R.J. & Greppin H. (1991) A theoretical and experimental analysis of the q_p and q_N coefficients of chlorophyll fluorescence quenching and their relation to photochemical and non photochemical events. *Photosynthesis Research* 27, 41-55.
- Hensen I.E., Jensen C.R. & Turner N.C. (1989) Leaf gas exchange and water relations of lupins and wheat. I. Shoot responses to soil water deficits. *Australian Journal of Plant Physiology* 16, 401-413.
- Hinckley T.M., Dougherty P.M., Lassoie J.P., Roberts J.E. & Teskey R.O. (1979) A severe drought : impact on tree growth, net photosynthetic rate and water relations. *The American Midland Naturalist* 102, 307-316.

- Horton P. & Hague A. (1988) Studies on the induction of chlorophyll fluorescence in isolated barley protoplasts. IV. Resolution of non-photochemical quenching. *Biochim. Biophys. Acta* 932, 107-115.
- Horton P., Oxborough K., Rees D. & Scholes J.D. (1988) Regulation of the photochemical efficiency of photosystem II, consequences for the light response of field photosynthesis. *Plant Physiology and Biochemistry* 26, 4, 453-460.
- Huse H. & Nilsen S. (1989) Recovery from photoinhibition: effect of light and inhibition of protein synthesis of 32-kD chloroplast protein. *Photosynthesis Research* 21, 171-179.
- Joly R.J. & Hahn D.T. 1989 Net CO₂ assimilation of cacao seedlings during periods of plant water deficit. *Photosynthesis Research* 21, 151-159.
- Jones H.G. (1973) Limiting factors in photosynthesis. *New Phytologist* 72, 1089-1094.
- Jones H.G. (1985) Partitioning stomatal and non stomatal limitations to photosynthesis. *Plant, Cell and Environment* 8, 98-104.
- Jones H.G. & Fanjul L. (1983) Effects of water stress on CO₂ exchange in apple. In : *Stress effects on photosynthesis* (Marcelle ed), pp. 75-84.
- Jones H.G. & Sutherland R.A. (1991) Stomatal control of xylem embolism. *Plant, Cell and Environment* 14, 607-612.
- Jurik T.W. (1986). Seasonal patterns of leaf photosynthetic capacity in successional northern hardwood tree species. *American Journal of Botany* 73, 131-138.
- Kaiser W.M. (1982) Correlation between changes in photosynthetic activity and changes in total protoplast volume in leaf tissue from hygro-, meso- and xerophytes under osmotic stress. *Planta* 154, 538-545.
- Kaiser W.M. (1987) Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiologia Plantarum* 71, 142-149.
- Khamis S., Lamaze T., Lemoine Y. & Foyer C. (1990) Adaptation of the photosynthetic apparatus in maize leaves as a result of nitrogen limitation. Relationships between electron transport and carbon assimilation. *Plant Physiology* 94, 1436-1443.
- Kirschbaum M.U.K. (1987) Water stress in *Eucalyptus pauciflora* : comparison of effects on stomatal conductance with effects on the mesophyll capacity for photosynthesis, and investigation of a possible involvement of photoinhibition. *Planta* 171, 466-473.
- Kozlowski T.T. (1982) Water supply and tree growth. Part I. Water Deficits. *Forestry Abstracts* 43, 57-95.
- Krall J.P. & Edwards G.E. (1991) Environmental effect on the relationship between the quantum yields of carbon assimilation and *in vivo* PS II electron transport in maize. *Australian Journal of Plant Physiology* 18, 267-278.
- Krall J.P., Edwards G.E. & Ku M.S.B. (1991) Quantum yield of photosystem II and efficiency of CO₂ fixation in *Flaveria* (Asteraceae) species under varying light and CO₂. *Australian Journal of Plant Physiology* 18, 369-383.
- Kramer P.J. (1988) Changing concepts regarding plant water relations. *Plant, Cell and Environment* 11, 565-568.
- Krause G.H. (1988) Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiologia Plantarum* 74, 566-574.

- Krause G.H. & Weis E. (1984) Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology : 2. Interpretation of fluorescence signals. *Photosynthesis research* 5, 139-157.
- Krause G.H. & Cornic G. (1987) CO₂ and O₂ interactions in photoinhibition. In : *Photoinhibition* (D.J. Kyle, C.B. Osmond & C.J. Arntzen eds.), Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp.169-196.
- Krause G.H. & Somersalo S. (1989) Fluorescence as a tool in photosynthesis research: application in studies of photoinhibition, cold acclimation and freezing stress. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 323, 281-293.
- Krause G.H. & Weis E. (1991) Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review of Plant Physiology, Plant Molecular Biology* 42, 313-349.
- Krüssmann G.(1978) *Handbuch der Laubgehölze*. Band III. Verlag Paul Parey, Berlin.
- Küppers M. (1984) Carbon relations and competition between woody species in a central European hedgerow. II. Stomatal responses, water use and hydraulic conductivity in root/leaf pathway. *Oecologia* 64, 344-354.
- Küppers M., Wheeler A.M., Kirschbaum M.U.F. & Farquhar G.D. (1986) Carbon fixation in eucalyptus in the field. Analysis of diurnal variations in photosynthetic capacity. *Oecologia* 70, 273-282.
- Kwon K.W. & Pallardy S.G. (1989) Temporal changes in tissue water relations of seedlings of *Quercus acutissima*, *Q. alba* and *Q. stellata* subjected to chronic water stress. *Canadian Journal of Forest Research* 19, 622-626.
- Kyle D.J. (1987). The biochemical basis for photoinhibition of photosystem II. In : *Photoinhibition* (D.J. Kyle, C.B. Osmond & C.J. Arntzen eds.) Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp. 197-226.
- Laik A. (1983) Calculation of leaf photosynthetic parameters considering the statistical distribution of stomatal apertures. *Journal of Experimental Botany* 34, 1627-1635.
- Lange O.L., Tenhunen J.D. & Beyschlag W. (1985) Effects of humidity during diurnal courses of the CO₂- and light-saturated rate of net CO₂ uptake in the sclerophyllous leaves of *Arbutus unedo*. *Oecologia* 67, 301-304.
- Le Gouallec J.L. & Cornic G. (1988) Photoinhibition of photosynthesis in *Elatostema repens*. *Plant Physiology and Biochemistry* 26, 705-715.
- Le Gouallec J.L., Cornic G. & Briantais J.M. (1991) Chlorophyll fluorescence and photoinhibition in a tropical rainforest understory plant. *Photosynthesis Research* 27, 135-142.
- Leuning R. & Sands P. (1989) Theory and practice of a portable photosynthesis instrument. *Plant, Cell and Environment* 12, 669-678
- Leverenz J.W. (1981) Photosynthesis and transpiration in large forest-grown douglas-fir: diurnal variations. *Canadian Journal of Botany* 59, 349-356.
- Levitt J. (1972) *Responses of plants to environmental stresses*. Academic Press. New Kork
- Lévy G., Becker M. & Duhamel D. (1993) A comparison of the ecology of pedunculate and sessile oaks : radial growth in the Centre and North-West of France. Soumis
- Li-Cor (1987) *Li-6200, technical reference*. Li-Cor, Lincoln, U.S.A

- Lo Gullo M.A. & Salleo S. (1988) Different strategies of drought resistance in three Mediterranean sclerophyllous trees growing in the same environmental conditions. *New Phytologist* 108, 267-276.
- Loreto F., Harley P., Di Marco G. & Sharkey T.D. (1992) Estimation of mesophyll conductance to CO₂ flux by three different methods. *Plant Physiology* 98, 1437-1443.
- Ludlow M.M. (1989) Strategies of response to water stress. In : *Structural and functional responses to environmental stresses* (K.H. Krebs, H. Richter, T.M. Hinckley. eds) SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands, pp.269-281.
- Ludlow M.M., Samarakoon S.P. & Wilson J.R. (1988) Influence of light regime and leaf nitrogen concentration on 77K fluorescence in leaves of four tropical grasses: No evidence for photoinhibition. *Australian Journal of Plant Physiology* 15, 669-676.
- Macaire A. (1984) Le dépérissement du chêne pédonculé en forêt communale d'Amance (Aube). *Revue Forestière Française* 36, 201-205.
- Majumdar S., Ghosh S., Glick B.R. & Dumbroff E.B. (1991) Activities of chlorophyllase, phosphoenolpyruvate carboxylase and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in the primary leaves of soybean during senescence and drought. *Physiologia Plantarum* 81, 473-480.
- Martin U., Pallardy S.G. & Bahari Z.A. (1987) Dehydration tolerance of leaf tissues of six woody angiosperm species. *Physiologia Plantarum* 69, 182-186.
- Masojidek J., Trivedi S., Halshaw L., Alexiou A. & Hall D.O. (1991) The synergistic effect of drought and light stresses in sorghum and pearl millet. *Plant Physiology* 96, 198-207.
- Massacci A. & Jones H.G. (1990) Use of simultaneous analysis of gas-exchange and chlorophyll fluorescence quenching for analysing the effects of water stress on photosynthesis in apple leaves. *Trees* 4, 1-8.
- Matthews M.A. & Boyer J.S. (1984) Acclimation of photosynthesis to low leaf water potentials. *Plant Physiology* 74, 161-166.
- Maxwell C., Griffiths H., Borland A.M., Broadmeadow M.S.J. & Mc David C.R. (1992) Photoinhibition responses of epiphytic bromeliad *Guzmania monostachia* during the dry season in Trinidad maintain photochemical integrity under adverse conditions. *Plant, Cell and Environment* 15, 37-47.
- Mishra R.K. & Singhal G.S. (1992) Function of photosynthetic apparatus of intact wheat leaves under high light and heat stress and its relationship with peroxidation of thylakoid lipid. *Plant Physiology* 98, 1-6.
- Mohanty P. & Boyer J.S. (1976) Chloroplast response to low water potential. IV. Quantum yield is reduced. *Plant Physiology* 57, 704-709.
- Morgan J.M. (1984) Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* 35, 299-319.
- Nelson N.D. & Ehlers P. (1984) Comparative carbon dioxide exchange for two *Populus* clones grown in growth room, greenhouse and field environments. *Canadian Journal of Forest Research* 14, 924-932.
- Nelson N.D., Dickmann D.I. & Gottschalk K.W. (1982) Autumnal photosynthesis in short-rotation intensively cultured *Populus* clones. *Photosynthetica* 16, 321-333.
- Ni B.R. & Pallardy S.G. (1991) Response of gas exchange to water stress in seedlings of woody angiosperms. *Tree Physiology* 8, 1-9.

- Ni B.R. & Pallardy S.G. (1992) Stomatal and non-stomatal limitations to net photosynthesis in seedlings of woody angiosperms. *Plant Physiology* 99, 1502-1508.
- Ögren E. (1988) Photoinhibition of photosynthesis in willow leaves under field conditions. *Planta* 175, 229-236.
- Ögren E. (1990) Evaluation of chlorophyll fluorescence as a probe for drought stress in willow leaves. *Plant Physiology* 93, 1280-1285.
- Ögren E. & Öquist G. (1985) Effects of drought on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and photoinhibition susceptibility in intact willow leaves. *Planta* 166, 380-388.
- Ögren E. & Sjöström M. (1990) Estimation of the effect of photoinhibition on the carbon gain in leaves of a willow canopy. *Planta* 191, 560-567.
- Öquist G. & Chow W.S. (1992) On the relationship between the quantum yield of photosystem II electron transport, as determined by chlorophyll fluorescence and the quantum yield of CO₂-dependent O₂ evolution. *Photosynthesis research* 33, 51-62.
- Ortiz-Lopez A., Ort D.R. & Boyer J.S. (1991) Photophosphorylation in attached leaves of *Helianthus annuus* at low water potentials. *Plant Physiology* 96, 1018-1025.
- Osmond C.B., Winter K. & Powles S.B. (1980) Adaptive significance of carbon dioxide cycle during photosynthesis in water-stressed plants. In : *Adaptation of plants to water and high temperature stress* (N.C. Turner & P.J. Kramer eds.) John Wiley and sons, New-York, pp.139-154.
- Osonubi O. & Davies W.J. (1978) Solute accumulation in leaves and roots of woody plants subjected to water stress. *Oecologia* 32, 323-332.
- Papageorgiou G. (1975) Chlorophyll fluorescence: an intrinsic probe of photosynthesis. In : *Bioenergetics of photosynthesis* (Govindjee ed.) Academic Press, New York, pp. 319-371.
- Parker W.C. & Pallardy S.G. (1988) Leaf and root osmotic adjustment in drought-stressed *Quercus alba*, *Q. macrocarpa* and *Q. stellata* seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* 18, 1-5.
- Parker W.C. & Pallardy S.G. (1991) Gas exchange during a soil drying cycle in seedlings of four black walnut (*Juglans nigra* L.) families. *Tree Physiology* 9, 339-348.
- Passioura J.B. (1988) Response to Dr P.J. Kramer's articles, 'Changing concepts regarding plant water relations', Volume 11, Number 7, pp. 565-568. *Plant, Cell and Environment* 11, 569-571.
- Pereira J.S., Tenhunen J.D., Lange O.L., Beyschlag W., Meyer A. & David M.M. (1986) Seasonal and diurnal patterns in leaf gas exchange of *Eucalyptus globulus* trees growing in Portugal. *Canadian Journal of Forest Research* 16, 177-184.
- Pereira J.S., Tenhunen J.D. & Lange O.L. (1987) Stomatal control of photosynthesis of *Eucalyptus globulus* Labill. trees under field conditions in Portugal. *Journal of Experimental Botany* 38, 1678-1688.
- Peterson R.B. (1990) Effects of irradiance on the in vivo CO₂:O₂ specificity factor in tobacco using simultaneous gas exchange and fluorescence techniques. *Plant Physiology* 94, 892-898.
- Pier P.A. & Berkowitz G.A. (1987) Modulation of water stress effects on photosynthesis by altered leaf K⁺. *Plant Physiology* 85, 655-661.
- Plesnicar M. & Pankovic D. (1991) Relationship between chlorophyll fluorescence and photosynthetic O₂ evolution in several *Helianthus* species. *Plant Physiology and Biochemistry* 29, 681-688.

- Powles S.B. (1984) Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annual Review of Plant Physiology* 35, 15-44.
- Powles S.B., Cornic G. & Louason G. (1984) Photoinhibition of photosynthesis induced by strong light in the absence of CO₂ : an appraisal of the hypothesis that photorespiration protects against photoinhibition. *Physiologie Végétale* 22, 437-446.
- Quick P., Siegl G., Neuhaus E., Feil R. & Stitt M. (1989) Short-term water stress leads to a stimulation of sucrose synthesis by activating sucrose-phosphate synthase. *Planta* 177, 535-546.
- Quick W.P., Chaves M.M., Wendler R., David M., Rodrigues M.L., Passaharinho J.A., Pereira J.S., Adcock M.D., Leegood R.C. & Stitt M. (1992) The effect of water stress on photosynthetic carbon metabolism in four species grown under field conditions. *Plant, Cell and Environment* 15, 25-35.
- Rao M.I., Sharp R.E. & Boyer J.S. (1987) Leaf magnesium alters photosynthetic response to low water potentials in sunflowers. *Plant physiology* 84, 1214-1219.
- Reich P.B. & Hinckley T.M. (1989) Influence of pre-dawn water potential and soil-to-leaf hydraulic conductance on maximum daily leaf diffusive conductance in two oak species. *Functional Ecology* 3, 719-726.
- Reich P.B., Walters M.B. & Ellsworth D.S. (1991) Leaf age and season influence the relationship between leaf nitrogen, leaf mass per area and photosynthesis in maple and oak trees. *Plant, Cell and Environment* 14, 251-259.
- Renou J.L., Gerbaud A., Just D. & André M. (1990) Differing substomatal and chloroplastic CO₂ concentrations in water-stressed wheat. *Planta* 182, 415-419.
- Richter M., Ruhle W. & Wild A. (1990a) Studies on the mechanism of photosystem II photoinhibition. I. A two-step degradation of D1-protein. *Photosynthesis Research* 24, 229-235.
- Richter M., Ruhle W. & Wild A. (1990b) Studies on the mechanism of photosystem II photoinhibition. II. The involvement of toxic oxygen species. *Photosynthesis Research* 24, 237-243.
- Rinderle U. (1990) Chlorophyllfluoreszenz_ und Gaswechseluntersuchungen an Fichten (*Picea abies* (L.) Karst.) und Buchen (*Fagus sylvatica* L.) im Jahresverlauf. *Karlsruher Beiträge zur Pflanzenphysiologie* 19, 1-188.
- Running S.W. (1980) Environmental and physiological control of water flux through *Pinus contorta*. *Canadian Journal of Forest Research* 10, 82-91.
- Salin M.L. (1987) Toxic oxygen species and protective systems of the chloroplast. *Physiologia Plantarum* 72, 681-689.
- Salleo S. & Lo Gullo M.A. (1990) Schlerophylly and plant water relations in three Mediterranean *Quercus* species. *Annals of Botany* 65, 259-270.
- Santakumari M. & Berkowitz G.A. (1990) Correlation between the maintenance of photosynthesis and in situ protoplast volume at low water potentials in droughted wheat. *Plant Physiology* 92, 733-739.
- Santakumari M. & Berkowitz G.A. (1991) Chloroplast volume : cell water potential relationships and acclimation of photosynthesis to leaf water deficits. *Photosynthesis Research* 28, 9-20.

- Schäfer C. & Björkman O. (1989) Relationship between efficiency of photosynthetic energy conversion and chlorophyll fluorescence quenching in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Planta* 178, 367-376.
- Scheuermann R., Biehler K., Stuhlfauth T. & Fock H.P. (1991) Simultaneous gas exchange and fluorescence measurements indicate differences in the response of sunflower, bean and maize to water stress. *Photosynthesis Research* 27, 189-197.
- Schreiber U. & Bilger W. (1987) Rapid assessment of stress effects on plant leaves by chlorophyll fluorescence measurements. In: *Plant response to stress Functional analysis in Mediterranean ecosystems* (J.D. Tenhunen, F.M. Catarino, O.L. Lange & W.C. Oechel eds.) Springer Verlag, Berlin, pp. 27-53.
- Schreiber U. & Neubauer C. (1990) O₂-dependent electron flow, membrane energization and the mechanism of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence. *Photosynthesis Research* 25, 279-293.
- Schreiber, U., Schliwa U. & Bilger W. (1986) Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynthesis Research* 10, 51-62.
- Schulze E.D. (1986) Carbon dioxide and water vapor exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil. *Annual Review of Plant Physiology* 37, 247-274.
- Schulze E.D. & Hall A.E. (1982) Stomatal responses, water loss and CO₂ assimilation rates of plants in contrasting environments. In: *Physiological plant ecology II : water relations and carbon assimilation* (O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond & H. Ziegler eds) Springer Verlag, Berlin, pp. 263-324.
- Schulze E.D., Mac Craken I., Zimmermann R. & Benecke U. (1990) Performance of two *Picea abies* (L.) Karst. stands at different stages of decline. VIII. Photosynthesis and nutrition under polluted and clean air conditions of Germany and New Zealand. *Oecologia* 82, 158-161.
- Seemann J.R. & Sharkey T.D. (1987) The effect of abscisic acid and other inhibitors on photosynthetic capacity and the biochemistry of CO₂ assimilation. *Plant Physiology* 84, 696-700.
- Sen Gupta A. & Berkowitz G.A. (1987) Osmotic adjustment, symplast volume and nonstomatically mediated water stress inhibition of photosynthesis in wheat. *Plant Physiology* 85, 1040-1047.
- Sen Gupta A., Berkowitz G.A. & Pier P.A. (1989) Maintenance of photosynthesis at low leaf water potential in wheat. *Plant Physiology* 89, 1358-1365.
- Sharkey T.D. (1985) Photosynthesis in intact leaves of C₃ plants : physics, physiology and rate limitations. *The Botanical Review* 51, 53-105.
- Sharkey T.D. & Seemann J.R. (1989) Mild water stress effects on carbon reduction cycle intermediates, ribulose biphosphate carboxylase activity and spacial homogeneity of photosynthesis in intact leaves. *Plant Physiology* 89, 1060-1065.
- Sharkey T.D., Berry J.A. & Sage R.F. (1988) Regulation of photosynthetic electron-transport activity in *Phaseolus vulgaris* L., as determined by room-temperature chlorophyll a fluorescence. *Planta* 176, 415-424.
- Sharp R.E. & Boyer J.S. (1986) Photosynthesis at low water potentials in sunflower: lack of photoinhibitory effects. *Plant Physiology* 82, 90-95.
- Sinclair T.R. & Ludlow M.M. (1985) Who taught plants thermodynamics ? The unfulfilled potential of plant water potential. *Australian Journal of Plant Physiology* 12, 213-217.

- Smirnoff N. & Stewart G.R. (1985) Nitrate assimilation and translocation by higher plants: comparative physiology and ecological consequences. *Physiologia Plantarum* 64, 133-140.
- Smith B.M., Morrissey P.J., Guenther J.E., Nemson J.A., Harrison M.A., Allen J.F. & Melis A. (1990) Response of the photosynthetic apparatus in *Dunaliella salina* (green algae) to irradiance stress. *Plant Physiology* 93, 1433-1440.
- Steffen K.L. & Palta J.P. (1989) Growth and development temperature influences level of tolerance to high light stress *Plant Physiology* 91, 1558-1561.
- Stewart G.R. (1989) Desiccation injury, anhydrobiosis and survival. In : *Plant under stress* (H.G. Jones, T.J. Flowers & M.B. Jones eds.) Cambridge University Press, Cambridge, pp 115-130.
- Stitt M. & Quick W.P. (1989) Photosynthetic carbon partitioning: its regulation and possibilities, for manipulation. *Physiologia Plantarum* 77, 633-641.
- Stuhlfauth T., Sültemeyer D.F., Weinz S. & Fock H.P. (1988) Fluorescence quenching and gas exchange in a water stressed C3 plant, *Digitalis lanata*. *Plant Physiology* 86, 246-250.
- Stuhlfauth T., Scheuermann R. & Fock H.P. (1990b) Light energy dissipation under water stress conditions. Contribution of reassimilation and evidence for additional processes. *Plant Physiology* 92, 1053-1061.
- Stuhlfauth T., Steuer B. & Fock H.P. (1990a) Chlorophylls and carotenoids under water stress and their relation to primary metabolism. *Photosynthetica* 24, 412-418.
- Tainter F.H., Williams T.M. & Cody J.B. (1983) Drought as a cause of oak decline and death on the South Carolina coast. *Plant disease* 67, 195-197.
- Tenhunen J.D., Lange O.L. & Braun M. (1981) Midday stomatal closure in Mediterranean type sclerophylls under simulated habitat conditions in an environmental chamber. II. Effect of the complex of leaf temperature and air humidity on gas exchange of *Arbutus unedo* and *Quercus ilex*. *Oecologia* 50, 5-11.
- Tenhunen J.D., Lange O.L. & Jahner D. (1982) The control by atmospheric factors and water stress of midday stomatal closure in *Arbutus unedo* growing in a natural macchia. *Oecologia* 55, 165-169.
- Tenhunen J.D., Lange O.L., Gebel J., Beyschlag W. & Weber J.A. (1984) Changes in photosynthetic capacity, carboxylation efficiency, and CO₂ compensation point associated with midday depression of net CO₂ exchange of leaves of *Quercus suber*. *Planta* 162, 193-203.
- Tenhunen J.D., Lange O.L., Harley P.C., Beyschlag W. & Meyer A. (1985) Limitations due to water stress on leaf photosynthesis of *Quercus coccifera* in the portuguese evergreen scrub. *Oecologia* 67, 23-30.
- Tenhunen J.D., Pearcy R.W. & Lange O.L. (1987) Diurnal variations in leaf conductance and gas exchange in natural environments. In : *Stomatal function* (E. Zeiger, G.D. Farquhar & I.R. Cowan eds.) Stanford University Press, Stanford, pp. 323-351.
- Terashima I., Wong S.C., Osmond C.B. & Farquhar G.D. (1988) Characterisation of non-uniform photosynthesis induced by abscisic acid in leaves having different mesophyll anatomies. *Plant Cell Physiology* 29, 385-394.
- Teskey R.O., Fites J.A., Samuelson L.J. & Bongarten B.C. (1986) Stomatal and non stomatal limitations to net photosynthesis in *Pinus taeda* L. under different environmental conditions. *Tree Physiology* 2, 131-142.

- Thayer S.S. & Björkman O. (1990) Leaf xanthophyll content and composition in sun and shade determined by HPLC. *Photosynthesis Research* 23, 331-343.
- Thomas D.A. & André M. (1982) The response of oxygen and carbon dioxide exchanges and root activity to short term water stress in soybean. *Journal of Experimental Botany* 33, 393-405
- Turner N.C. & Jones M.M. (1980) Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation. In : *Adaptations of plants to water and high temperature stress* (N.C. Turner & P.J. Kramer eds.) John Wiley and sons, New-York, pp. 87-103.
- Turner N.C., Schulze E.D. & Gollan T. (1985) The responses of stomata and leaf gas exchange to vapour pressure deficits and soil water content. II. In the mesophytic herbaceous species *Helianthus annuus*. *Oecologia* 65, 356-362.
- Tyree M.T. & Hammel H.T. (1972) The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure bomb technique. *Journal of Experimental Botany* 23, 267-282.
- Tyree M.T. & Jarvis P.G. (1982) Water in tissues and cells. In : *Physiological plant ecology B*. (O.L.Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond, H. Ziegler eds.) Springer-Verlag, Berlin, pp. 36-77.
- Tyree M.T. & Sperry J.S. (1989) Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology* 40, 19-38.
- Tyree M.T. & Wilmot T.R. (1990) Errors in the calculation of evaporation and leaf conductance in steady-state porometry: the importance of accurate measurement of leaf temperature. *Canadian Journal of Forest Research* 20, 1031-1035.
- Tyystjärvi E., Koivuniemi A., Kettunen R. & Aro E.M. (1991) Small light-harvesting antenna does not protect from photoinhibition. *Plant Physiology* 97, 477-483.
- Vannini A. (1990) Susceptibility of *Quercus cerris* to *Hypoxyylon mediterraneum* at different levels of water stress. In : *Proceedings of the International Symposium : "Oak Decline in Europe"* (R. Siwecki & W. Liese eds.) Kornik, Pologne, 15-18, mai 1990, pp. 165-172
- Vassey T.L. & Sharkey T.D. (1989) Mild water stress of *Phaseolus vulgaris* plants leads to reduced starch synthesis and extractable sucrose phosphate synthase activity. *Plant Physiology* 89, 1066-1070.
- Vassey T.L., Quick W.P., Sharkey T.D. & Stitt M. (1991) Water stress, carbon dioxide, and light effects on sucrose-phosphate synthase activity in *Phaseolus vulgaris*. *Physiologia Plantarum* 81, 37-44.
- Vivin P., Aussenac G. & Lévy G. (1993) Influences of soil drought and fertilization on the gas exchanges, the growth and the survival of three oak species (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Quercus robur* L. and *Quercus rubra* L.) cultivated in buried containers. Soumis
- Von Caemmerer S. & Farquhar G.D. (1981) Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153, 376-387.
- Vu J.C.V., Allen L.H. Jr. & Bowes G. (1987) Drought stress and elevated CO₂ effects on soybean ribulose biphosphate carboxylase activity and canopy photosynthetic rates. *Plant Physiology* 83, 573-578.
- Weber J.A. & Gates D.M. (1990) Gas exchange in *Quercus rubra* (northern red oak) during a drought: analysis of relations among photosynthesis, transpiration, and leaf conductance. *Tree Physiology* 7, 215-225.
- Weis E. & Berry J.A. (1987) Quantum efficiency of photosystem II in relation to 'energy'-dependent quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* 894, 198-208.

- Wise R.R., Frederick J.R., Alm D.M., Kramer D.M., Hesketh J.D., Crofts A.R. & Ort D.R. (1990) Investigation of the limitations of photosynthesis induced by leaf water deficit in field-grown sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant, Cell and Environment* 13, 923-931.
- Wong S.C., Cowan I.R. & Farquhar G.D. (1979) Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature* 282, 424-426
- Woodrow I.E. & Berry J.A. (1988) Enzymic regulation of photosynthetic CO₂ fixation in intact C₃ plants. *Annual Review of Plant Physiology, Plant Molecular Biology* 39, 533-594.
- Wu J., Neimanis S. & Heber U. (1991) Photorespiration is more effective than the Mehler reaction in protecting the photosynthetic apparatus against photoinhibition. *Botanica Acta* 104, 283-291.
- Young A.J. (1991) The photoprotective role of carotenoids in higher plants. *Physiologia Plantarum* 83, 702-708.
- Zhang J. & Davies W.J. (1989) Absciscic acid produced in dehydrating roots may enable the plant to measure the water status of the soil. *Plant, Cell and Environment* 12, 73-81.
- Zhang J., Schurr U. & Davies W.J. (1987) Control of stomatal behaviour by absciscic acid which apparently originates in the roots. *Journal of Experimental Botany* 38, 1174-1181.
- Zrenner R. & Stitt M. (1991) Comparison of effect of rapidly and gradually developing water-stress on carbohydrate metabolism in spinach leaves. *Plant, Cell and Environment* 14, 939-946.

Tree Physiology 10, 273–284
© 1992 Heron Publishing—Victoria, Canada

Effects of severe dehydration on leaf photosynthesis in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.: photosystem II efficiency, photochemical and nonphotochemical fluorescence quenching and electrolyte leakage

DANIEL EPRON and ERWIN DREYER

INRA-Nancy, Laboratoire de Bioclimatologie et d'Ecophysiologie forestières, Station de Sylviculture et Production, Champenoux, F-54280 Seichamps, France

Received May 4, 1991

Summary

Leaf disks of oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) trees were subjected to rapid dehydration in air in the dark. Optimal photochemical efficiency of PS II (F_v/F_m), photochemical (q_p) and nonphotochemical (q_{NP}) quenchings of chlorophyll a fluorescence, and relative conductivity (C_r) of leaf disk diffusate were measured in leaf disks with different water deficits (D). No effect of dehydration was detected before D reached values above 0.30. When D increased from 0.30 to 0.50, q_{NP} increased without any change in q_p , which may indicate that thermal deexcitation of PS II increased, allowing reduced photochemical activity and maintenance of a large pool of oxidized primary acceptors (QA), although carbon reduction was impaired. Large changes in electron transport chain activity, leading to decreases in both q_p and q_{NP} , appeared only in leaf disks subjected to severe water deficits ($D > 0.60$) and were correlated with a modification of membrane structure. However, stability of F_v/F_m indicated that the functional integrity of PS II was not altered until D reached values above 0.75. We conclude that the photosynthetic apparatus of *Q. petraea* is rather insensitive to leaf dehydration *per se* during drought under natural conditions.

Introduction

Drought is a major factor limiting tree growth in temperate forest ecosystems (Aussenac 1973). Reductions in primary production as a result of water shortage have been attributed to the inhibition of net CO₂ assimilation. Although net CO₂ assimilation rate and stomatal conductance decrease in parallel during drought (Wong et al. 1985, Epron and Dreyer 1990), it remains unclear whether water stress (i) acts by causing stomatal closure, (ii) has a direct effect on the photosynthetic apparatus, or (iii) has any effects *in vivo* distinct from the effects of associated constraints such as high irradiance or restricted growth as a result of decreased turgor

Abbreviations

C_r , relative conductivity of leaf disk diffusates; D , leaf water deficit; F_m , maximal fluorescence; F_0 , initial fluorescence; F_{Si} , F_{ST} , F_{Sd} , saturated fluorescence induced by a light flash during induction, at the end of induction, and after a period of relaxation; F_i and F_T , fluorescence intensity before a saturating flash; F_v/F_m , photochemical efficiency of PS II; PS II, photosystem II; q_{NP} , nonphotochemical quenching; q_{NPfast} and q_{NPslow} , rapidly relaxed (between 0 and 100 s of darkness) and slowly relaxed (more than 300 s of darkness) components of nonphotochemical quenching; q_p , photochemical quenching, DW, dry weight; FW, fresh weight; FW_i, initial fresh weight.

(Hanson and Hitz 1982).

Many *in vitro* studies with chloroplast suspensions or enzyme extracts have provided evidence of reduced chloroplast activity in response to dehydration (Boyer 1976), but the relevance of these results to leaves *in vivo* is uncertain. *In situ* measurements of photosynthesis are often analyzed by means of a diffusion model that allows the calculation of mean leaf intercellular CO₂ concentrations (Farquhar and Sharkey 1982, Jones 1985). Such data frequently lead to the assumption that water stress impairs both CO₂ diffusion to the mesophyll and the ability of the mesophyll to fix available CO₂ (Teskey et al. 1986, Cornic et al. 1987, Grieu et al. 1988, Epron and Dreyer 1990). On the other hand, chlorophyll a fluorescence parameters, quantum yield of O₂ evolution or photosynthetic capacity under high CO₂ appear rather insensitive to moderate water deficit (Kaiser 1987, Stuhlfauth et al. 1988, Cornic et al. 1989, Epron and Dreyer 1990, Graan and Boyer 1990). This contradiction may result from an overestimation of internal CO₂ concentration during gas exchange analysis because of patchy stomatal closure, leading to an apparent reduction in the ability of the mesophyll to fix CO₂ (Downton et al. 1988, Terashima et al. 1988).

High irradiance could promote photoinhibitory damage to the photosynthetic apparatus of water-stressed leaves and therefore induce reductions in mesophyll photosynthetic capacity (Kaiser 1987). An analysis of the effects of water stress on photosynthesis must separate effects of light from the direct effects of leaf dehydration. We subjected leaf disks of field-grown *Quercus petraea* to a rapid and severe dehydration and recorded variable fluorescence and fluorescence quenching coefficients, which are related to photosynthetic processes, at different leaf water deficits. Results were related to measured water relations characteristics of the leaves and to the simultaneous estimate of cell membrane integrity based on electrolyte leakage measurements.

Material and methods

Plant material and stress imposition

Twigs were removed during August 1990 from well-watered 30-year-old *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. trees in Champenoux Forest near Nancy, France. The twigs were recut under water and left to rehydrate over night at room temperature. We assumed that leaves were then at full turgor, because they had leaf water potentials of more than -0.1 MPa.

Dehydration experiments Forty-six disks (2.0 cm diameter) were punched from rehydrated twigs, immediately weighed (FW_i), and dehydrated for 0 to 6 h in the dark at room temperature (Havaux et al. 1987a). Complete fluorescence induction kinetics were recorded successively on each disk and corresponding values of fresh weight (FW) were determined immediately after completion of the kinetics. Dry weight (DW) was measured after oven drying for 24 h at 80 °C. Water deficit (*D*) of the leaf

disks was estimated as:

$$D = 1 - ((FW - DW)/(FW_i - DW)).$$

Dehydration-rehydration experiments Six disks were initially dehydrated for 3 h as previously described and rehydrated after measurement of their fluorescence parameters. Rehydration was obtained by floating the disks for 2 h on distilled water. Fluorescence parameters were recorded again, and rehydrated fresh weight measured before oven drying.

Electrolyte leakage measurements

Thirty-three leaf disks, which were punched from rehydrated twigs, were dehydrated as previously described and subsequently incubated for electrolyte leakage measurements. In this case FW was measured before incubation and a linear regression between DW and FW_i, established on other disks ($r^2 = 0.96$), was used to estimate DW.

Fluorescence measurement

Fluorescence measurements were carried out on dark-adapted leaf disks at ambient temperature and CO₂ concentration with a PAM101 fluorometer (Walz, Germany). Leaf disks were placed in a closed aluminum container equipped with fiber optics. We confirmed that there were no additional water losses during fluorescence measurements. Figure 1 shows the principle of fluorescence measurements and the symbols used. Initial fluorescence (F_0) was determined by applying a pulsed mea-

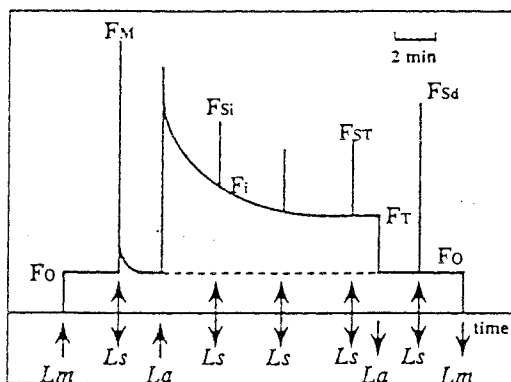


Figure 1. Fluorescence induction kinetics and measured parameters. The following procedure was always used: a dark-adapted leaf disk was first illuminated with a modulated light (L_m) and the initial fluorescence intensity (F_0) recorded. Then a saturating flash of white light (L_s ; 0.7 s; $4000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) was imposed in order to measure maximal fluorescence (F_M). After return to F_0 , an actinic white light (L_a ; $220 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) was switched on to induce a fluorescence kinetic. Addition of saturating flashes of white light (L_s) promoted the rise of fluorescence from F_i to F_{Si} . At steady-state, F_i and F_{Si} were called respectively F_T and F_{ST} . After switching off the actinic light, additional saturating flashes were applied to measure F_{Sd} levels of fluorescence.

suring light (10 mW m^{-2}) at a frequency of 1.6 kHz, and maximal fluorescence (F_M) by an additional saturating flash of white light (0.7 s ; $4000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) provided by a cold light source (Schott KL 1500, Germany). The ratio of variable to maximal fluorescence F_v/F_M was calculated as:

$$F_v/F_M = (F_M - F_0)/F_M,$$

according to Genty et al. (1987).

After complete relaxation from the light flash, a fluorescence kinetic was induced with actinic white light (Schott KL 1500, Germany, $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). The absence of F_0 quenching (Bilger and Schreiber 1986) was verified on each induction kinetic. Photochemical (q_P) and nonphotochemical quenching (q_{NP}) were determined by applying successive saturating flashes of white light every 20 s, and measuring fluorescence intensity before (F_i) and during each flash (F_{Si}). For each kinetic we measured steady-state values of q_P and q_{NP} from the effects of the last flash (F_T and F_{ST}), imposed 10 min after the beginning of the induction. The values of q_P and q_{NP} were calculated according to Schreiber et al. (1986):

$$q_P = 1 - ((F_i - F_0)/(F_{Si} - F_0))$$

and

$$q_{NP} = 1 - ((F_{Si} - F_0)/(F_M - F_0)).$$

An additional experiment was conducted to assess which component of q_{NP} was modified during dehydration. We followed q_{NP} relaxation on 20 dehydrating leaf disks by successive saturating flashes after switching off the actinic light. Two components of nonphotochemical quenching were calculated, as proposed by Demmig and Winter (1988). The first component, which relaxed rapidly, was expressed as:

$$q_{NP\text{fast}} = 1 - ((F_{ST} - F_0)/(F_{Sd100} - F_0))$$

and the second, which relaxed more slowly, as:

$$q_{NP\text{slow}} = 1 - ((F_{Sd300} - F_0)/(F_M - F_0)),$$

with F_{Sd100} and F_{Sd300} being the fluorescence intensities recorded during a single saturating flash applied 100 and 300 seconds, respectively, after switching off the actinic light.

Electrolyte leakage

After dehydration (lasting between 0 and 6 h), leaf disks were incubated in 3 ml of distilled water in a polypropylene vial, and stored for 5 h at room temperature in the dark, yielding Solution 1. The disks were then removed from the vial, plunged into

liquid nitrogen, placed in another vial and stored for 12 h at -20°C . Three ml of distilled water was then added and the disks again stored at room temperature in the dark for 7 h (Solution 2). This was assumed to remove all residual electrolytes from the leaf tissues (Raymond et al. 1986).

Electrical conductivity of both solutions (C_1 and C_2 , respectively) was measured at 25°C with a conductivity meter (Consort K320) coupled to a platinum electrode ($K = 0.1\text{ cm}^{-1}$, YSI 3418). Relative conductivity (C_r in %) of each leaf disk was calculated as:

$$C_r = (C_1 / (C_1 + C_2)).$$

Results

During air drying of leaf disks, water deficit (D) increased linearly for 200 minutes until values reached around 0.6 and then increased more slowly to 0.75. Water deficit had no significant effect on the initial fluorescence intensity F_0 of the leaf disks, which remained around 20 in relative units (Figure 2A), and did not induce F_0 quenching. Similarly, maximal fluorescence (F_M) remained high at values of around 100, and decreased only when D exceeded values of 0.70. Consequently, the ratio of variable to maximal fluorescence (F_v/F_M) remained at an optimal level of about 0.80 until D exceeded 0.70 (Figure 2B).

In contrast, water deficit induced stronger and earlier effects on both steady state photochemical (q_P) and nonphotochemical (q_{NP}) quenchings. The value of q_{NP} showed successively a significant increase from 0.4 to about 0.8 as D increased from 0.30 to 0.45, an interval of relative stability as D increased from 0.45 to 0.6, and finally a sharp decrease toward 0 as D approached 0.8 (Figure 2C). The increase in q_{NP} was the result of an increase in the fast relaxing component of nonphotochemical quenching (Figure 3). Meanwhile, q_P remained constant at about 0.85 until D reached 0.45, and afterward declined sharply (Figure 2C).

The relative conductivity of the leaf disk diffusate (C_r) increased very slowly in response to increases in leaf water deficit from 0 to 0.55, but increased sharply as soon as D exceeded 0.55 (Figure 2D).

The pattern of induction kinetics with increasing leaf dehydration is shown in Figure 4. At low water deficits ($D = 0.06$), q_{NP} reached maximal values in less than a minute after the onset of actinic light. This maximum was followed by a slight decrease, whereas q_P increased. At higher values of D (0.38), q_{NP} induction still displayed a maximum, but there was only a slight decrease before stabilization at high values. The decrease in q_{NP} following the attainment of a peak value did not occur when $D = 0.48$. The initial rise was much slower at $D = 0.58$ and disappeared almost completely at $D = 0.69$.

During the dehydration-rehydration experiment, D increased from 0.06 to 0.50 in 3 h and returned to near zero after the leaf disks were floated on water for 2 h (Figure 5A). The F_v/F_M ratio, which was unaffected by dehydration, was slightly but not significantly lowered after rehydration (Figure 5B). Steady state q_P was signifi-

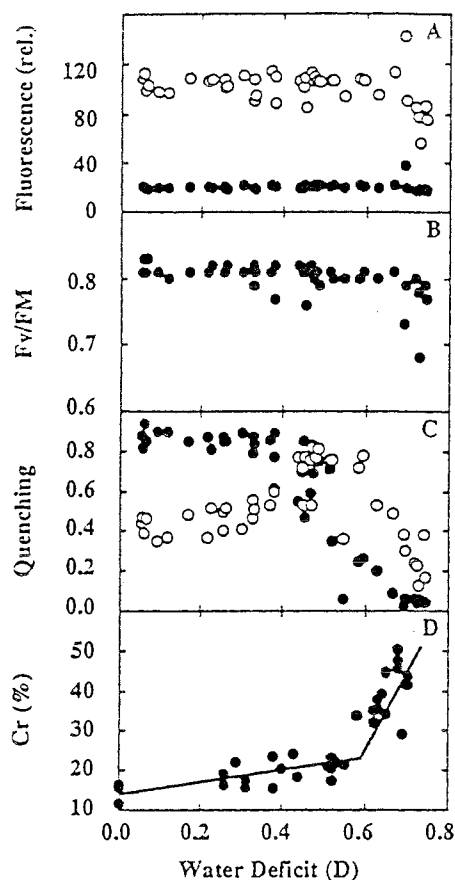


Figure 2. Relationship between leaf water deficit and fluorescence parameters. (A) Initial fluorescence (F_0 , ●) and maximal fluorescence (F_M , ○); (B) ratio of variable to maximal fluorescence (F_0/F_M); (C) photochemical (q_p , ●) and nonphotochemical quenching (q_{NP} , ○) and (D) relative conductivity of leaf disk diffusate (C_r) during dehydration of *Quercus petraea* leaf disks kept in the dark (each point represents an individual leaf disk; fluorescence parameters were measured on the same disks).

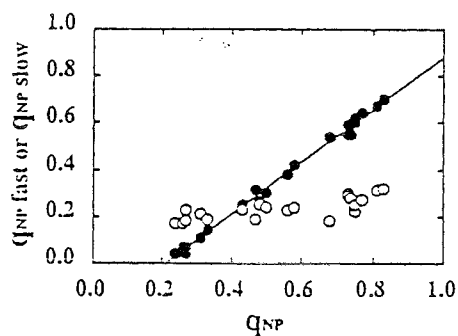


Figure 3. Relationship between total nonphotochemical quenching (q_{NP}) and its slow- (q_{NPslow} , ○) and fast- (q_{NPfast} , ●) relaxing component during the dehydration of *Quercus petraea* leaf disks kept in the dark. Leaf water deficit increased from 0.05 to 0.55.

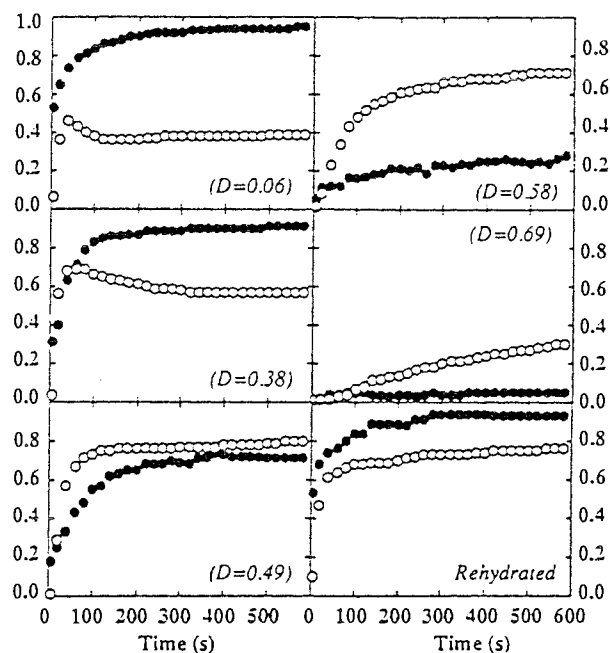


Figure 4. Time course of photochemical (q_p , ●) and nonphotochemical quenching (q_{NP} , ○) during some representative fluorescence induction kinetics obtained with various leaf water deficits (D) on leaf disks from *Q. petraea*. Intensity of dehydration is indicated by values of D . The rehydrated disks had been submitted to a water deficit of 0.50 before being rehydrated by floating on distilled water for 2 h.

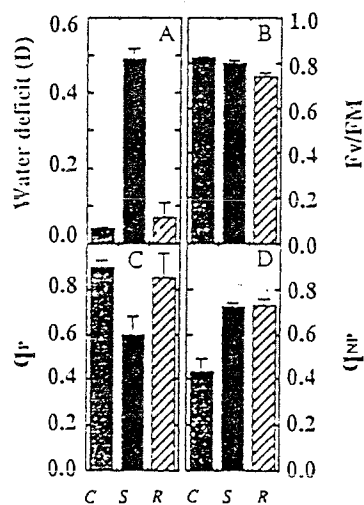


Figure 5. Effect of rehydration on fluorescence parameters. Comparison of control (C), water-stressed (S; 3 h of dehydration in air) and rehydrated (R; 2 h floating on water) leaf disks of *Q. petraea* leaves: (A) water deficit D , (B) ratio of variable to maximal fluorescence F_v/F_m ; (C) photochemical quenching (q_p); and (D) nonphotochemical quenching (q_{NP}). Each value is the mean of the individual measurements on 6 leaf disks. The same disks were used as control, stressed and rehydrated. Vertical bars indicate standard deviation of mean.

cantly reduced by dehydration, but recovered to initial values after rehydration, whereas the dehydration-related increase in steady state q_{NP} was not reversed (Figures 5C and D). This pattern is also evident in the induction curves (see Figure 4F for an example), where the initial rise of q_P was accompanied by a rapid rise in q_{NP} , which did not subsequently decrease.

Discussion and conclusion

We have defined five successive phases of dehydration-induced dysfunctions in photosynthesis (Figure 6), with the following characteristics.

Phase 1 was characterized by a remarkable constancy of steady-state fluorescence parameters (q_P and q_{NP} , and F_v/F_M), and with induction curves following the patterns commonly described: rapid rises in q_P and q_{NP} followed by a decrease toward steady states values of q_{NP} (Schreiber and Bilger 1987).

The first significant effects of dehydration on fluorescence parameters (Phase 2) began when D exceeded 0.3, whereas loss of turgor usually occurred at D values around 0.2 in similar leaves (Dreyer et al. 1990). As D increased from 0.3 to 0.5, there was an increase in steady-state q_{NP} without a decrease in q_P . The increase in q_{NP} was almost completely due to the fast relaxing component, i.e., high energy state quenching (q_E), indicating that an increasing proportion of the energy trapped at the PS II level was dissipated as heat (Demmig and Winter 1988). Maintenance of high steady-state q_P , i.e., of a high oxidation state of primary electron acceptor QA with increased steady-state q_{NP} , can be explained by decreased PS II activity through thermal deexcitation, which compensates for a reduction in electron flow as a result of restricted final acceptor regeneration (Sharkey et al. 1988). However, the induction curves showed that q_{NP} induction rose to a maximum and then decreased slightly before stabilizing at a high value, which indicates that ATP consumption by carbon metabolism was not completely impaired.

Phase 3, beginning with D values above 0.5, showed a significant decrease in steady-state q_P , which was related to a reduction in the reoxidation rate of the primary electron acceptor QA. Maximal values of q_{NP} occurred during this phase, revealing

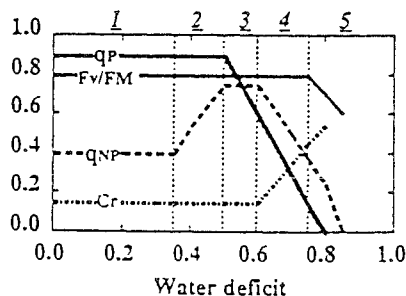


Figure 6. Schematic diagram representing changes in F_v/F_M , steady-state values of q_P and q_{NP} and C , with increasing leaf water deficit (D). Five successive phases were distinguished.

saturation of thermal deexcitation processes at PS II, which were unable to compensate completely for reduced electron flow. This may be induced by a stronger alteration in electron transport activity or a stronger limitation of NADPH consumption than in Phase 2, which is consistent with the absence of a decline in q_{NP} following the attainment of a maximum during induction.

During Phase 3, rehydration of previously stressed leaf disks by floating on water for 2 h allowed a good recovery of q_P , whereas q_{NP} remained high. This may indicate partial recovery of NADPH consumption and efficient dissipation of excess energy.

Phase 4, which occurred when D exceeded 0.6, was marked by dramatic changes in all parameters, with the exception of F_v/F_M . There was a sharp reduction in q_{NP} , accompanied by an increase in the relative conductivity of leaf disk diffusates. An increase in electrolyte leakage has been attributed to structural modification of membranes, leading to membrane rupture during rehydration, and has often been used as a measure of drought tolerance (Pramachandra et al. 1990, Vasquez-Tello et al. 1990) or frost tolerance screening (Raymond et al. 1986, Zhang and Willison 1987). Kaiser (1987) pointed out that damage to the plasma membrane was absent at water deficits below 0.5. Damage to membranes could result from phase transitions in the lipid bilayer induced by loss of internal water (Stewart 1989), causing reduced mobility of components of the electron transport chain and a reduced proton gradient.

Phase 5, beginning with values of D above 0.75, may be considered as the final stage of degradation due to dehydration. In addition to the previously reported disorders that were enhanced (quasi annihilation of q_P and low q_{NP}), a large decrease in F_v/F_M occurred. Thus, photochemical efficiency of PS II appeared to be very insensitive to dehydration in the dark, even when carbon metabolism, ATP production and electron transport were severely impaired. Alterations to chloroplast membranes observed during Phase 4 did not affect the functional integrity of PS II. Stability of F_0 until the onset of Phase 5 indicates that the activity of the PS II reaction centers and their coupling to chlorophyll antenna remained optimal. Similar stability was reported by Schreiber and Bilger (1987) in *Arbutus unedo*, Ben et al. (1987) in *Helianthus annuus*, Cornic et al. (1987) in *Phaseolus vulgaris* and Ogren (1990) in *Salix* sp. during rapid leaf dehydration and during soil water depletion in *Gossypium hirsutum* (Genty et al. 1987) and *Triticum durum* (DiMarco et al. 1988). In contrast, Havaux et al. (1987a, 1987b) reported that both F_v/F_M and quantum yield of O_2 evolution (estimated by a photoacoustic method) decreased in leaf disks of *Nicotiana tabacum* subjected to rapid dehydration ($D = 0.3$) under dim light.

Schreiber and Bilger (1987) reported similar changes in q_P and q_{NP} during leaf disk dehydration in *Arbutus unedo* but, in their study, all quenching coefficients responded at lower water deficits than in our work. A possible reason for this difference could be the presence of high CO_2 concentrations in the former experiments, whereas we did not control CO_2 during our measurements. Stuhlfauth et al. (1988) showed that q_P and q_{NP} remained unchanged in *Digitalis lanata* plants subjected to soil water depletion until leaf water potential declined below -3.0 MPa. In *Salix* sp., neither q_P nor q_{NP} was reduced until leaf disk water deficits reached 0.4 (Ogren 1990).

The most striking result of our study was the stability of all tested photosynthesis parameters during dehydration to $D = 0.35$, which is below the turgor loss point of this species (Dreyer et al. 1990). Epron and Dreyer (1990) have also shown that the ratio of fluorescence decrease (R_{fd}), which may be regarded as an indicator of the potential photosynthetic activity (Lichtenthaler and Rinderle 1988), was reduced only when water content (relative to fresh weight) of leaf disks of *Q. petraea* saplings was below 50%. In the present work, a water content of 50% was obtained when D was around 0.30 (data not shown). Severe water loss was also necessary to induce a decrease in R_{fd} when saplings were subjected to *in situ* soil water depletion, as shown for three *Quercus* species (Epron and Dreyer 1990), *Spinacia oleracea* and resurrection plants (Schwab et al. 1989).

We conclude that the photosynthetic apparatus remains largely unaffected by dehydration to $D = 0.35$, and that observed reductions in net CO_2 assimilation rate may be the result of stomatal closure. Kaiser (1987) concluded that, in many species, photosynthetic capacity (O_2 evolution under saturating light and CO_2) remained optimal until D reached values between 0.2 and 0.4. Similarly, O_2 evolution under saturating light and CO_2 remained unaffected until D reached values of 0.2 in *Elatostema repens* and 0.4 in *Phaseolus vulgaris* (Cornic et al. 1989). Frederick et al. (1990) showed a complete restoration of photosynthetic capacity in *Glycine max* at 0.18% CO_2 and leaf water potentials below -2.0 MPa. Graan and Boyer (1990) obtained only partial restoration with 3% CO_2 in *Helianthus annuus*, whereas the same CO_2 concentrations overcame stomatal limitation induced by ABA.

Discrepancies among studies may be related to conditions under which measures of photosynthetic capacity were made. Plants stressed in the field behave differently from leaves dehydrated in the dark, because high light and temperature stresses, which are associated with drought in the field, may also reduce photosynthesis. Moreover, growth cessation as a result of drought may have feedback effects.

Acknowledgments

The authors thank J.P. Garrec and the Laboratoire d'Etude de la Pollution Atmosphérique (INRA, Nancy) for permitting us to measure electrolyte conductivity of leaf disks diffusates. J.M. Guehl for advice during manuscript preparation and two anonymous reviewers for helpful criticism.

References

- Aussenac, G. 1978. La sécheresse de 1976: influence des déficits hydriques sur la croissance des arbres forestiers. *Rev. For. Fr.* 30:103–114.
- Ben, G.Y., C.B. Osmond and T.D. Sharkey. 1987. Comparison of photosynthesis response of *Xanthium strumarium* and *Helianthus annuus* to chronic and acute water stress. *Plant Physiol.* 84:476–482.
- Bilger, W. and U. Schreiber. 1986. Energy-dependent quenching of dark level chlorophyll fluorescence in intact leaves. *Photosynth. Res.* 10:303–308.
- Boyer, J.S. 1976. Water deficits and photosynthesis. In *Water deficits and plant growth*. Eds. T.T. Kozlowski. Academic Press, New York, pp 153–190.
- Cornic, G., I. Papagiorgiou and G. Louason. 1987. Effect of a rapid and a slow drought cycle followed by rehydration on stomatal and non stomatal components of leaf photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* L. *J. Plant Physiol.* 126:309–318.

- Cornic, G., J.L. Le Gouallec, J.M. Briantais and M. Hodges. 1989. Effect of dehydration and high light on photosynthesis of two C₃ plants (*Phaseolus vulgaris* L., *Elastostema repens* (Lour.) Hall f). *Planta* 177:84–90.
- Demmig, B. and K. Winter. 1988. Characterization of three components of non-photochemical fluorescence quenching and their response to photoinhibition. *Aust. J. Plant Physiol.* 15:163–177.
- Di Marco, G., A. Massacci and R. Gabrielli. 1988. Drought effects on photosynthesis and fluorescence in hard wheat cultivars grown in the field. *Physiol. Plant.* 74:385–390.
- Downton, W.J.S., B.R. Loveys and W.J.R. Grant. 1988. Non uniform stomatal closure induced by water stress causes putative non stomatal inhibition of photosynthesis. *New Phytol.* 110:503–509.
- Dreyer, E., F. Bousquet and M. Ducrey. 1990. Use of pressure volume curves in water relation analysis on woody shoots: influence of rehydration and comparison of four European oak species. *Ann. Sci. For.* 47:285–297.
- Epron, D. and E. Dreyer. 1990. Stomatal and non stomatal limitation of photosynthesis by leaf water deficits in three oak species: comparison of gas exchange and chlorophyll a fluorescence data. *Ann. Sci. For.* 47:435–450.
- Farquhar, G.D. and T.D. Sharkey. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33:317–345.
- Frederick, J.R., D.M. Alm, J.D. Hesketh and F.E. Below. 1990. Overcoming drought-induced decreases in soybean leaf photosynthesis by measuring with CO₂-enriched air. *Photosynth. Res.* 25:49–57.
- Genty, B., J.M. Briantais and J.B. Viera da Silva. 1987. Effects of drought on primary photosynthetic processes of cotton leaves. *Plant Physiol.* 83:360–364.
- Graan, T. and J.S. Boyer. 1990. Very high CO₂ partially restores photosynthesis in sunflower at low water potentials. *Planta* 181:378–384.
- Grieu, P., J.M. Guehl and G. Aussenac. 1988. The effects of soil and atmospheric drought on photosynthesis and stomatal control of gas exchange in three coniferous species. *Physiol. Plant.* 73:97–104.
- Hanson, D.A. and W.D. Hitz. 1982. Metabolic response of mesophyte plants to water deficits. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33:163–203.
- Havaux, M., O. Canaani and S. Malkin. 1987a. Photosynthetic response of leaves to water stress, expressed by photoacoustics and related methods. I. Probing the photoacoustics method as an indicator for water stress *in vivo*. *Plant Physiol.* 82:827–833.
- Havaux, M., O. Canaani and S. Malkin. 1987b. Photosynthetic responses of leaves to water stress, expressed by photoacoustics and related methods. II. The effect of rapid drought on the electron transport and the relative activities of the two photosystems. *Plant Physiol.* 82:834–839.
- Jones, H.G. 1985. Partitioning of stomatal and non stomatal limitations to photosynthesis. *Plant Cell Environ.* 8:98–104.
- Kaiser, W.M. 1987. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiol. Plant.* 71:142–149.
- Lichtenthaler, H.K. and U. Rinderle. 1988. The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 19(S1):29–85.
- Ogren, E. 1990. Evaluation of chlorophyll fluorescence as a probe for drought stress in willow leaves. *Plant Physiol.* 93:1280–1285.
- Pramachandra, G.S., G. Saneoka and S. Ogata. 1990. Cell membrane stability, an indicator of drought tolerance, as affected by applied nitrogen in soybean. *J. Agric. Sci.* 115:63–66.
- Raymond, C.A., C.E. Harwood and J.V. Owen. 1986. A conductivity method for screening populations of *Eucalyptus* for frost damage and frost tolerance. *Aust. J. Bot.* 34:377–393.
- Schreiber, U., U. Schliwa and W. Bilger. 1986. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynth. Res.* 10:51–62.
- Schreiber, U. and W. Büger. 1987. Rapid assessment of stress effects on plant leaves by chlorophyll fluorescence measurements. *In* Plant Response to Stress. Functional Analysis in Mediterranean Ecosystems. Eds. J.D. Tenhunen, F.M. Catarino, O.L. Lange and W.C. Oechel. Springer Verlag, Berlin. pp 27–53.
- Schwab, K.B., U. Schreiber and U. Heber. 1989. Response of photosynthesis and respiration of resurrection plants to desiccation and rehydration. *Planta* 177:217–227.

- Sharkey, T.D., J.A. Berry and R.F. Sage. 1988. Regulation of photosynthetic electron-transport activity in *Phaseolus vulgaris* L., as determined by room-temperature chlorophyll a fluorescence. *Planta* 176:415-424.
- Stewart, G.R. 1989. Desiccation injury, anhydrobiosis and survival. In *Plants Under Stress*. Eds. H.G. Jones, T.J. Flowers and M.B. Jones. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 115-130.
- Stuhlfauth, T., D.F. Sültemeyer, S. Weinz and H.P. Fock. 1988. Fluorescence quenching and gas exchange in a water stressed C₃ plant, *Digitalis lanata*. *Plant Physiol.* 86:246-250.
- Terashima, I., S.C. Wong, C.B. Osmond and G.D. Farquhar. 1988. Characterization of non-uniform photosynthesis induced by abscisic acid in leaves having different mesophyll anatomy. *Plant Cell Physiol.* 29:385-394.
- Teskey, R.O., J.A. Fites, L.J. Samuelson and B.C. Bongarten. 1986. Stomatal and non stomatal limitations to net photosynthesis in *Pinus taeda* L. under different environment conditions. *Tree Physiol.* 2:131-142.
- Vasquez-Tello, A., Y. Zuily-Fodil, A.T. Pham Thi and J.B. Vieira da Silva. 1990. Electrolyte and Pi leakages and soluble sugar content as physiological tests for screening resistance to water stress in *Phaseolus* and *Vigna* species. *J. Exp. Bot.* 41:827-832.
- Wong, S.C., I.R. Cowan and G.D. Farquhar. 1985. Leaf conductance in relation to rate of CO₂ assimilation. III. Influences of water stress and photoinhibition. *Plant Physiol.* 78:830-834.
- Zhang, M.L.N. and J.H.M. Willison. 1987. An improved conductivity method for the measurement of frost hardiness. *Can. J. Bot.* 65:710-715.

Photosynthesis of oak trees [*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.] during drought under field conditions: diurnal course of net CO₂ assimilation and photochemical efficiency of photosystem II

D. EPRON, E. DREYER & N. BRÉDA

INRA-Nancy, Laboratoire de Bioclimatologie et d'Ecophysiologie forestières, Champenoux, F-54280 Seichamps, France

ABSTRACT

Adult trees of *Quercus petraea* were submitted to controlled water shortage in a natural stand near Nancy, France. Diurnal course of net CO₂ assimilation rate (*A*) was measured *in situ* together with chlorophyll *a* fluorescence determined on dark adapted leaves. In 1990, trees experienced a strong water stress, with predawn and midday leaf water potentials below -2.0 and -3.0 MPa, respectively. Diurnal course of *A* of well-watered trees exhibited sometimes important midday decreases in *A* related to high temperature and vapour pressure deficit. Decreases in initial (*F*_o) and maximal (*F*_m) fluorescence and sometimes in photochemical efficiency of photosystem II (*F*_v/*F*_m) were observed and probably revealed the onset of mechanisms for thermal de-excitation. These mechanisms were shown to be sensitive to dithiothreitol. All these effects were reversible and vanished almost completely overnight. Therefore, they may be considered as protective mechanisms adjusting activity of photosystem II to the electron requirement for photosynthesis. Water stress amplified these reactions: *A* was strongly decreased, showing important midday depression; diurnal reductions in *F*_m and *F*_v/*F*_m were enhanced. The same trends were observed during summer 1991, despite a less marked drought. These protective mechanisms seemed very effective, as no photoinhibitory damage to PS II could be detected in either water stressed or control trees.

Key-words: *Quercus petraea*; oak; drought; water stress; photosynthesis; photoinhibition, chlorophyll fluorescence; photochemical efficiency.

INTRODUCTION

Forests in Western Europe are generally submitted to rather mild climates with important precipitations.

Correspondence: Erwin Dreyer, INRA-Nancy, Laboratoire de Bioclimatologie et d'Ecophysiologie forestières, Champenoux, F-54280 Seichamps, France.

Nevertheless, they suffer at irregular intervals from marked periods of drought, which are thought to be at least partly responsible for the occurrence of dieback. Oaks, and in particular the species *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., are of major importance for high-quality timber production, and are widely distributed in plain forests all over France. They suffered greatly from water shortage during Spring and Summer 1976, as described by Becker & Levy (1982). Drought probably also had marked effects on oak growth and productivity.

The physiological events leading to reductions in growth and sometimes to the induction of dieback are still poorly understood. Stomatal regulation of leaf gas exchange during water shortage has been well-documented for drought-adapted species growing under Mediterranean or semi-arid environments (Tenhunen, Pearcy & Lange 1987). Stomatal closure, which has been reported in all studied species, contributes largely to reduce water losses during periods of limited water availability and/or high evaporative demand, but also reduces photosynthesis through decreasing intercellular concentrations of CO₂. Recent results obtained with newly developed techniques like *in vivo* chlorophyll fluorescence measurements and oxygen evolution of leaf disks revealed that the photosynthetic apparatus may be rather resistant to leaf water deficits (Kaiser 1987; Cornic *et al.* 1989; Epron & Dreyer 1992). However, under natural conditions, many other environmental parameters (e.g. irradiance, temperature and vapour pressure deficit) may interact with soil water depletion. In particular, a CO₂ deprivation at the chloroplast level, induced by midday stomatal closure while conditions of elevated temperature and high irradiance prevail, could enhance the sensitivity of the photosynthetic apparatus to high light stresses and promote damage to photosystem II (Powles 1984). Indeed, increased sensitivity to high irradiance has been reported during water deficits imposed under controlled conditions (Ögren & Öquist 1985; Cornic *et al.* 1989; Epron & Dreyer 1990). Protection mechanisms against these injuries may also take place during water stress (Demmig *et al.* 1988).

Chlorophyll fluorescence emitted by dark-adapted

leaves (30 min) may reveal either disorders in photosystem II (PS II) or the onset of protective mechanisms against excess light energy (Demmig & Björkman 1987). A decline in optimal PS II photochemical efficiency (F_v/F_m) should be observed in both cases. But in the latter case, these decreases should be reversible as soon as irradiance declines to non saturating levels. Further on, and according to Butler's model (1978), an increase in the rate constant of thermal deactivation (that is protection of PS II) would lead to a decline in both maximal (F_m) and initial (F_o) fluorescence levels, while a decrease in the rate constant of photochemistry, due to some kind of disorder in PS II, would promote an increase in F_o .

In order to evaluate nature and intensity of such reactions on oaks submitted to drought, we analysed diurnal time-courses of F_o , F_m and F_v/F_m *in situ* on adult trees of *Q. petraea* during the summers of 1990 and 1991. We compared several days characterized by different diurnal course of net CO_2 assimilation rate (A).

MATERIALS AND METHODS

Experimental design

The experiments were conducted during August 1990 and 1991 in a 30-year old *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. stand (dominant height: 14.8 m, stand density: 3644 trees ha^{-1}) near Nancy, Northeastern France (48°44'N, 6°14'E, elevation 237 m). Climate in this site is a mild continental one, under oceanic influence, with annual average temperature and rainfall of 9.1°C and 700 mm, respectively (Aussenac, Desjeunes & Willm 1981).

During 1990, five dominant trees were selected inside the stand to be water-stressed. A simplified lysimeter was constructed including these trees; rain throughfall was prevented by a plastic roof built under the canopy and lateral drainage water was removed in 1 m deep trenches. Five other trees (control plot) were selected as controls. In 1991, similar experiments were conducted in the same stand with different trees.

Diurnal course of leaf gas exchange and fluorescence parameters were monitored on 9 August (day 221-90) and 22 August (day 234-90) in 1990, and 22 July (day 203-91), 6 August (day 218-91) and 12 August (day 224-91) in 1991. Measurements were made on three to six leaves taken at random in the south-oriented upper-part of tree crowns, at about 15 m height. In contrast to fluorescence measurements which were made on detached leaf disks, assimilation rates were followed on the same leaves during the course of the day and began shortly after dew removal.

On 16 August 1991, four twigs were removed from the upper part of the crown of a tree before sunrise, recut under water, fed with water or with a solution of 5 mol m^{-3} dithiothreitol (DTT), and exposed to full sun light during the day. Fluorescence parameters were recorded before cutting and three times after. On 22 August 1991,

two twigs were removed from the upper part of the crown of a tree at midday, recut under water and fed with water in the dark in a growth cabinet (temperature, 20°C; air humidity, 80%). Fluorescence parameters were measured on six leaf disks over 6 h.

Climate and leaf characteristics

Stand microclimate was monitored over the year, especially air temperature (T_a), air humidity and global radiation (R_g) which were recorded every 30 min. Air vapour pressure deficit (VPD) was calculated from air temperature and air humidity data.

Predawn (ψ_{wp}) and minimal (ψ_{wm}) leaf water potentials were measured respectively before sunrise and at midday (solar time) on individual leaves of each tree, by means of a Scholander pressure chamber.

Leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence

Net CO_2 assimilation rate (A) was determined *in situ* with a portable gas exchange measurement system (Li 6200, Li-Cor, Lincoln, NE, USA) under natural climate and irradiance and expressed on a leaf area basis determined with a video camera coupled to an image analyser (Delta T Devices, Cambridge, UK).

Chlorophyll a fluorescence from photosystem II (PS II) was recorded at wavelengths around 690 nm with a pulse amplitude modulated fluorometer (PAM 101, Walz, Effeltrich, Germany) operated in the immediate vicinity of the trees. Leaf disks (20 mm diameter) were enclosed in an aluminium leaf disk folder maintained at 22°C by means of Peltier elements, and dark adapted for 20–30 min. We checked that no difference occurred when the dark phase was reduced from 30 to 20 min.

Initial fluorescence (F_o) was determined by using a pulsed light-emitting diode ($<10 \text{ mW m}^{-2}$) at a frequency of 1.6 kHz. At such a low light intensity all PS II reaction centres are in an 'open' state, and therefore, the rate of photochemistry is not limited. F_o depends on the size of PS II chlorophyll antenna and on the functional integrity of PS II reaction centres (Krause & Weis 1991). Superimposing a saturating flash of white light (0.7 s; $4000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) provided by a cold light source (Schott KL1500, Wiesbaden, Germany) yielded the maximal fluorescence level F_m ; at this stage, all PS II reaction centres are closed due to complete reduction of primary electron acceptors (QA). The ratio of variable to maximal fluorescence ($F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$) is a measure of the optimal photochemical efficiency of PS II; that is, after 20–30 min of relaxation in the dark (Genty, Briantais & Viera da Silva 1987).

The light-emitting diode is known to be sensitive to ambient temperature. Increasing temperatures resulted in a decrease in the measured fluorescence level as has been checked in a temperature controlled chamber (Fig. 1). Possible artifacts induced by diurnal drifts in air

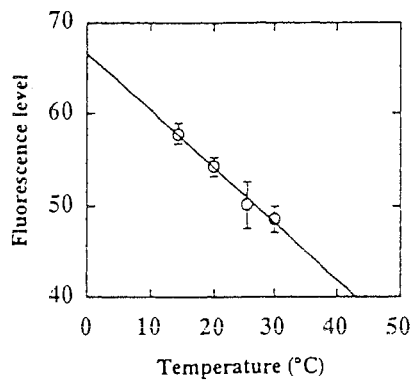


Figure 1. Influence of the temperature around the light-emitting diode on the measured fluorescence level. Each point is the mean of six replicates. Vertical bars indicate standard deviation. A linear regression was fitted through the data ($y=66.57-0.622x$; $r=0.990$). The emitter-detector unit of the fluorometer was enclosed in a temperature-controlled chamber for this experiment.

temperature will be discussed during the presentation of our results.

RESULTS

Climate conditions and leaf characteristics

Temperature (T_a) and air vapour pressure deficit (VPD) displayed highly different time-courses during all days of measurements (Figs 2–6). Global radiation (R_g) over the canopy reached maximal values around 800 W m^{-2} at midday (approximately $1500 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ in the P.A.R.), and was similar during all days, except for day 224-91.

The decrease in predawn leaf water potential (ψ_{wp}) began on stressed trees during June. ψ_{wp} dropped to levels as low as -2.0 MPa in 1990, while it never declined below -0.3 MPa in controls. Minimal leaf water potential (ψ_{wm}) reached values around -2.2 MPa in controls and sometimes below -3.0 MPa in stressed trees (Table 1). Drought was less pronounced in 1991, with the lowest values around -1.05 and -2.5 MPa for ψ_{wp} and ψ_{wm} , respectively.

Diurnal course of leaf gas exchange

During days 221-90, 203-91 and 218-91 (Figs 2, 4 & 5), net CO_2 assimilation (A) reached daily maximal values ($12\text{--}14 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) before midday in control trees, and decreased during the afternoon. In contrast, during days 234-90 and 224-91 (Figs 3 & 6), A increased until 1100h and decreased only after 1500h, presenting a typically dome-shaped course paralleling global irradiance. During these 2 d, lower VPD and T_l than during previous days were observed.

In 1990, strong midday depressions of A were observed during both days on water-stressed trees even under mild atmospheric conditions (Figs 2 & 3). A partial recovery occurred only at the end of the afternoon. Morning values for droughted trees were about half of those of controls, that is around $4\text{--}6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. The differences in assimilation rates between droughted and controls were lower in 1991. On day 224-91, a mild water deficit under mild climatic conditions did not promote differences in diurnal course of A between control and water-stressed trees (Fig. 6). When a midday depression of A occurred, it was much more limited in control trees than in the stressed ones (around 60 and 80%, respectively).

Diurnal course of chlorophyll a fluorescence

Morning records of initial (F_0) and maximal (F_m) fluorescence levels were very similar in control and droughted trees (Figs 2–6). A diurnal decline in F_0 and F_m was observed every day, and recovery began at the end of the afternoon in both control and stressed trees. Decreases in F_m were more pronounced than those in F_0 (30–50% and 15–25%, respectively) and appeared slightly enhanced on droughted trees.

The ratio of variable to maximal fluorescence (F_v/F_m) remained fairly constant all day long on control trees (around 0.8) with a diurnal decrease limited to less than 5%. In contrast, stressed trees displayed a somewhat sharper diurnal decline in F_v/F_m , especially during both measurement days of 1990 (Figs 2 & 3). However, this decrease was completely recovered at the end of the afternoon. Leaves of cut twigs fed with water and exposed to full sun light exhibited a sharper but other-

	Day				
	221-90	234-90	203-91	218-91	224-91
<i>Control trees</i>					
ψ_{wp} (MPa)	-0.25	-0.15	-0.40	-0.40	-0.50
ψ_{wm} (MPa)	-2.15	-2.00	-2.25	-2.20	-
<i>Droughted trees</i>					
ψ_{wp} (MPa)	-1.90	-2.00	-	-1.05	-1.00
ψ_{wm} (MPa)	-3.30	-3.40	-	-2.50	-

Table 1. Predawn (ψ_{wp}) and minimal (ψ_{wm}) leaf water potentials measured respectively before sunrise and at midday (solar time) on individual leaves of control and droughted trees for each day of measurements

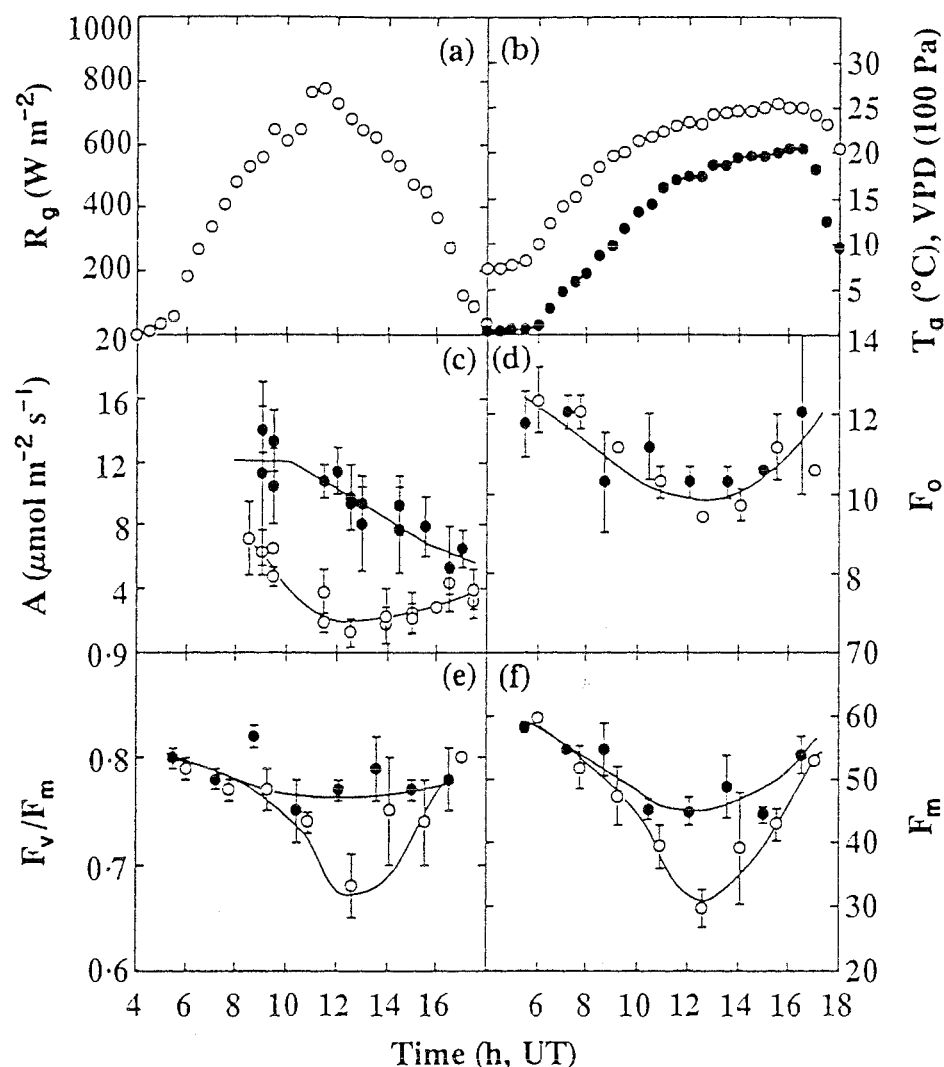


Figure 2. Diurnal time-courses recorded on day 221-90 (9 August, 1990) of (a) global radiation (R_g), (b) air temperature (T_a , $\circ$) and vapour pressure deficit (VPD, $\bullet$), (c) net CO_2 assimilation rate (A) for water-stressed ($\circ$) and control ($\bullet$) trees, (d) initial fluorescence (F_o) for water-stressed ($\circ$) and control ($\bullet$) trees, (e) PS II photochemical efficiency (F_v/F_m) for water-stressed ($\circ$) and control ($\bullet$) trees and (f) maximal fluorescence (F_m) for water-stressed ($\circ$) and control ($\bullet$) trees. Chlorophyll fluorescence was measured on three to six dark-adapted leaf disks punched from sun exposed leaves. A was measured on three to five attached, sun exposed, leaves; the same leaves were used all over the day. Vertical bars indicate standard deviation.

wise similar trend as compared to leaves *in situ* (Fig. 7). In contrast, leaves of twigs fed with a solution of 5 mol m^{-3} DTT exhibited a similar decrease in F_m (50%) but an increase in F_o (10% increase opposed to 10% decrease on water fed leaves). Thereby, the decline in F_v/F_m was more pronounced in DTT-treated leaves (25% against 10%).

We tested the hypothesis that diurnal decreases in F_m and F_o could be ascribed to thermal effect on the light emitting diode of the fluorometer. Therefore, we compared in parallel time courses of F_o and F_m on sun and shade leaves, measured under identical ambient temperature (Fig. 8). Morning values were very different, due to differences in optical properties and in

chlorophyll contents between both kinds of leaves. But the relative diurnal decreases were of a larger extent for both F_o and F_m on the sun-exposed leaves. Despite a large increase in air temperature between early morning and afternoon during this day (18°C), decreases in F_o and F_m were limited to less than 10% in shade leaves. Therefore, we concluded that the observed decreases in F_m and F_o of sun exposed leaves could not be solely induced by thermal effect on the light emitting diode. We observed a complete overnight recovery of F_o , F_m and F_v/F_m as shown by a direct comparison of morning values observed for a couple of successive days (Table 2), despite the highly significant midday decreases of all these parameters. Leaves from cut twigs transported to a

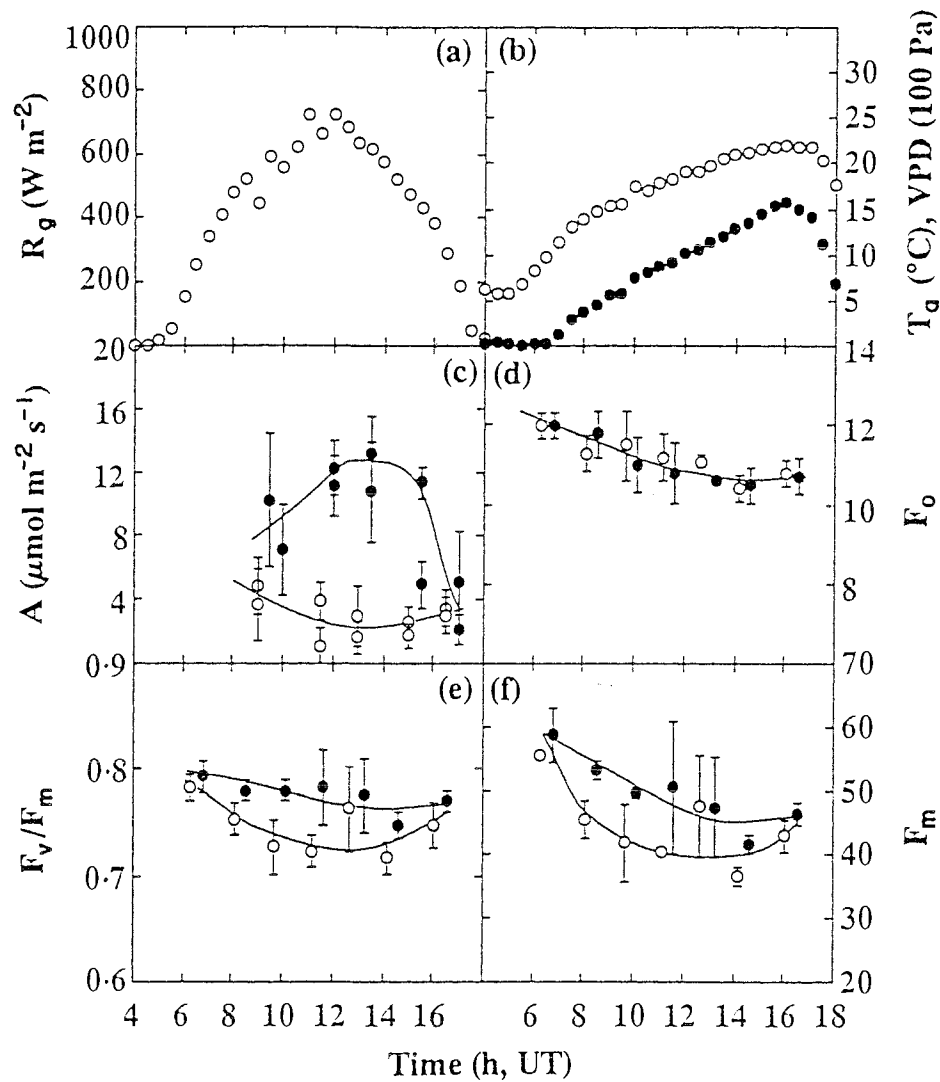


Figure 3. Diurnal time-courses of environmental parameters, net CO₂ assimilation rate and chlorophyll fluorescence as in Fig. 2 but for day 234-90 (22 August 1990).

	ψ_{wp} (MPa)	F_0	F_m	F_v/F_m
First morning	-0.80	9.17 a	55.75 a	0.835 a
Midday		7.25 b	37.00 b	0.804 b
Second morning		8.75 a	53.17 a	0.835 a
First morning	-0.85	8.08 a	51.00 a	0.841 a
Midday		6.70 b	35.60 b	0.812 b
Second morning		8.17 a	52.50 a	0.844 a
First morning	-1.00	7.58 a	47.83 a	0.841 a
Midday		6.83 b	35.67 b	0.808 b
Second morning		8.00 a	49.75 a	0.839 a
First morning	-1.20	9.83 a	57.08 a	0.828 a
Midday		7.08 b	35.92 b	0.802 b
Second morning		9.80 a	55.60 a	0.825 a

Table 2. Morning, midday and following morning values of initial fluorescence (F_0), maximal fluorescence (F_m) and PS II photochemical efficiency (F_v/F_m) measured on dark-adapted leaf disks punched from sun exposed leaves of four moderately droughted trees (see predawn leaf water potential, ψ_{wp}). For each tree and each parameter, values (means of six replicates) followed by the same letter are not significantly different (Student's *t*-test, 5%)

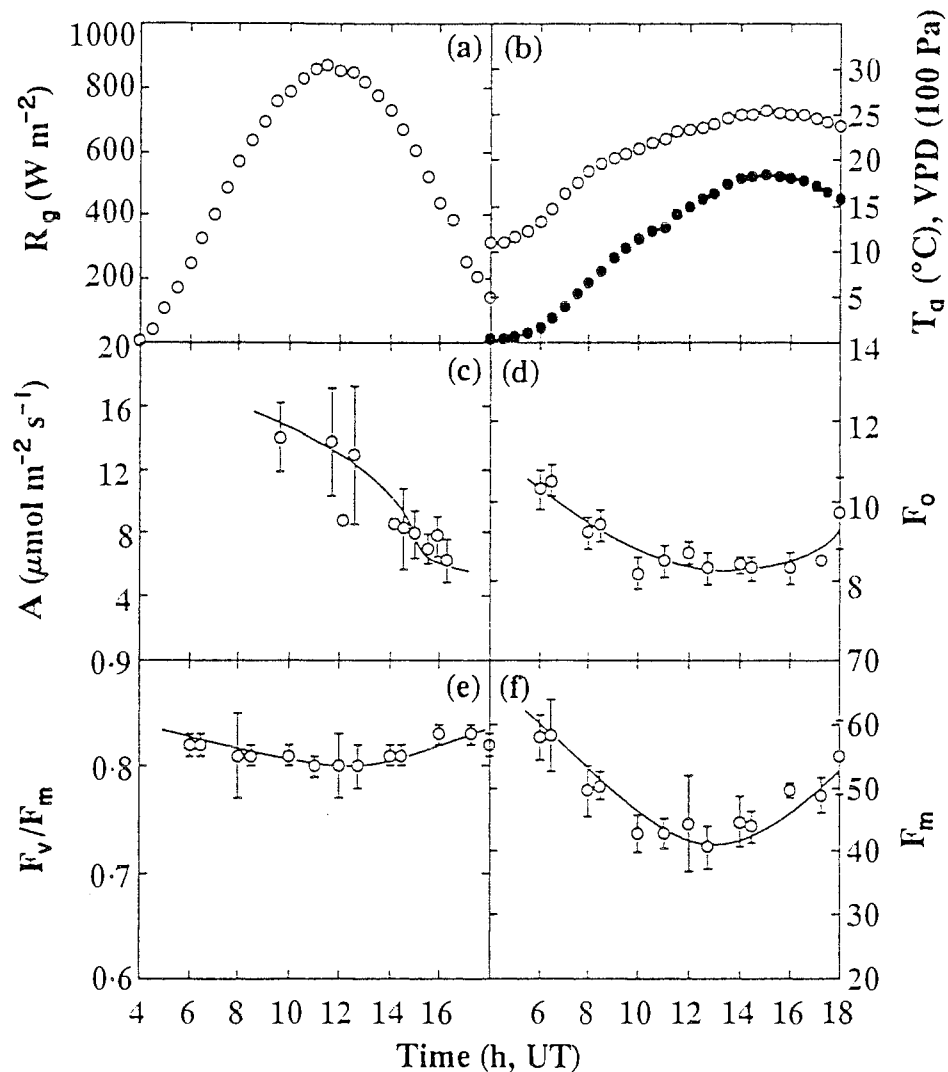


Figure 4. Diurnal time-courses of environmental parameters, net CO_2 assimilation rate and chlorophyll fluorescence as in Fig. 2 but for day 203-91 (22 July, 1991). Measurements were made only on control trees.

growth cabinet displayed a complete recovery from midday depressions of F_m and F_o after 4 h in darkness (Fig. 9).

DISCUSSION

Diurnal course of net CO_2 assimilation rate (A) of individual leaves was dome-shaped on well-watered trees and paralleled the course of global radiation, with the exception of days with dryer and hotter atmospheric conditions. In the latter case, A reached maximal levels in the morning and decreased during the afternoon with increasing VPD and T_a . The same kind of afternoon decline in A was observed on *Quercus alba* (Dougherty & Hinckley 1981), *Arbutus unedo* (Tenhunen, Lange & Jahner 1982), *Vitis vinifera* (Chaves et al. 1987), *Cistus*

salvifolius (Harley et al. 1987) or *Quercus rubra* (Weber & Gates 1990). Leverenz (1981) also considered that midday depression of A and g_w in *Pseudotsuga menziesii* was a consequence of high VPD and T_a .

In 1990, during the course of the imposed drought, predawn (ψ_{wp}) and minimal (ψ_{wm}) leaf water potentials reached values below -2.0 and -3.0 MPa, which indicated a rather severe water stress. Indeed, during the natural drought of Summer 1989, ψ_{wp} and ψ_{wm} of trees from the same stand never dropped below -1.3 and -2.5 MPa (N. Bréda, unpublished results). Turgor loss was found to occur around -3.0 MPa on dehydrating twigs from the same trees (Dreyer, Bousquet & Ducrey 1990). Water potential probably dropped sometimes below turgor loss during the present experiment. But a shift induced by osmoregulation may have taken place during our progressive stress.

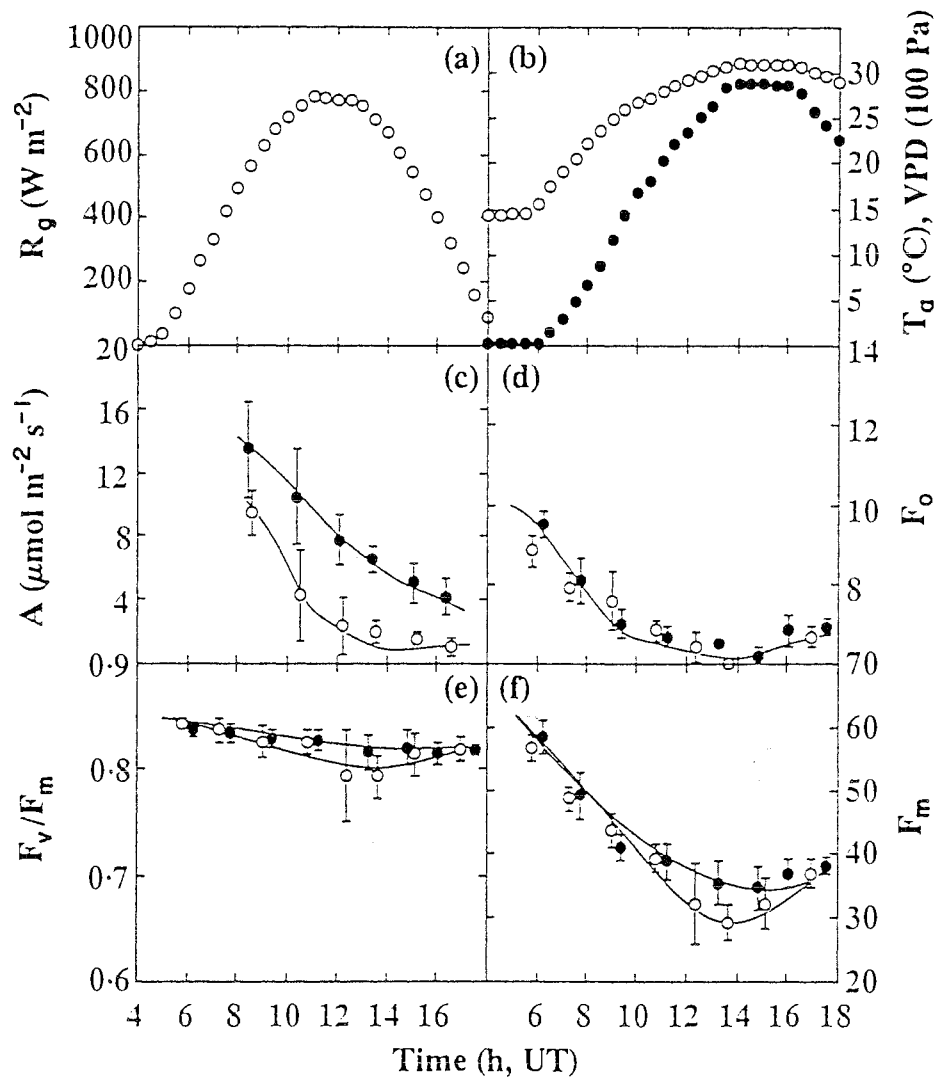


Figure 5. Diurnal time-courses of environmental parameters, net CO_2 assimilation rate and chlorophyll fluorescence as in Fig. 2 but for day 218-91 (6 August, 1991).

Drought clearly induced a strong but not complete reduction of A (about 50% of control). Similar stress responses were detected in a climate chamber with *Q. petraea* saplings, which maintained substantial leaf gas exchange until ψ_{wp} dropped below -3.0 MPa (Epron & Dreyer 1990) and with *Q. alba* trees under a similar drought ($\psi_{wp} = -1.8$ MPa, Dougherty & Hinckley 1981). These results confirm the idea that mesophytic oak species are able to maintain significant CO_2 fixation during periods of drought, and may be considered as rather drought tolerant (Abrams 1990).

Net CO_2 assimilation rates of stressed trees exhibited a stronger midday depression (80%) which, unlike in control trees, happened even during days with mild climatic conditions. Tenhunen *et al.* (1987) suggested that moderate water stress may result in a greater sensitivity of leaf gas exchange to T_a and VPD. An

increase in sensitivity to VPD and high T_a was also observed during the course of a summer drought in *Quercus alba* (Aubuchon, Thompson & Hinckley 1978; Dougherty & Hinckley 1981).

Strong limitations of net CO_2 assimilation, especially during periods of high irradiance, may promote an imbalance between photochemical activity at PS II level and electron requirement for photosynthesis, leading to an overexcitation and subsequent photoinhibitory damage of PS II reaction centre (Powles 1984; Kaiser 1987). Did such reactions happen on oaks under natural conditions?

Diurnal course of parameters computed from chlorophyll a fluorescence of dark-adapted leaf disks provided some arguments to solve this problem. Well-watered trees exhibited diurnal fluctuations in some of the computed photosynthetic parameters. The optimal

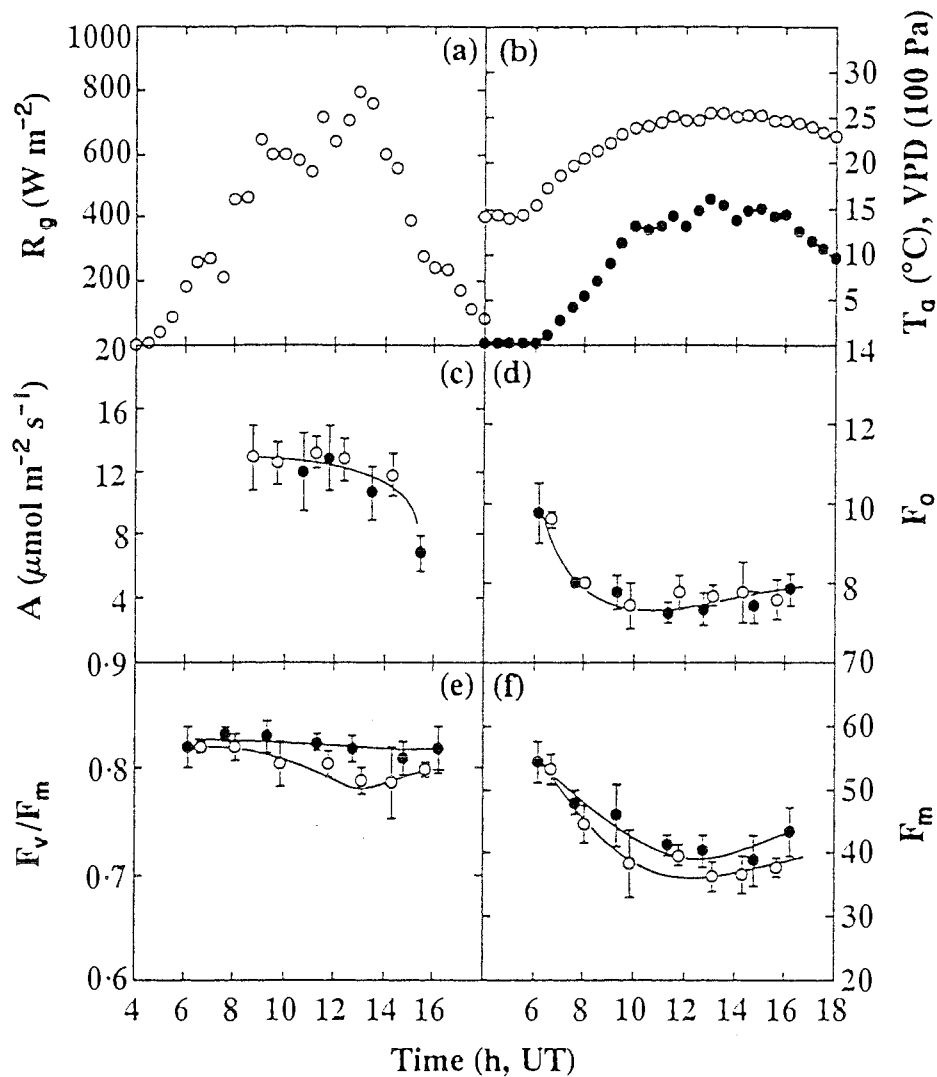


Figure 6. Diurnal time-courses of environmental parameters, net CO_2 assimilation rate and chlorophyll fluorescence as in Fig. 2 but for day 224-91 (12 August, 1991).

photochemical efficiency of PS II, as measured by F_v/F_m , remained quite constant all day long, but both F_m and F_o displayed marked diurnal decreases.

Our measurements were made under natural conditions. Increases in ambient temperature could induce decreases in fluorescence levels because of reductions in emissivity of the pulse light-emitting diode. Such temperature effects may lead to similar decreases in F_m and F_o on sun and shade leaves. This was not the case, and decreases in F_o and F_m of shade leaves did not exceed 10% during a day with a high temperature gradient between morning and afternoon. In the same way, differences observed between water-stressed and control trees, or water and DTT fed twigs, didn't match with the hypothesis of a temperature-induced artifact. Although our data do not completely reflect the true changes in fluorescence yield, there is strong evidence to

conclude that the diurnal variations in fluorescence we observed mainly reflect real changes in the photosynthetic properties of the leaves.

Such diurnal quenched of F_o and F_m can not be attributed to direct high temperature effects on the photosynthetic apparatus, because F_o and F_m are known to be rather insensitive to temperature changes. Tergazhi *et al.* (1989) showed in 32 tropical and temperate species a good stability of F_o in the range from 5 to 40°C. Alteration of F_o appeared only with leaf temperatures above these limits (Schreiber & Bilger 1987; Bilger, Schreiber & Lange 1987).

The diurnal decline we observed in F_o and F_m is thought to be an expression of the onset of protective mechanisms allowing an improved thermal de-excitation of PS II (Demmig & Björkman 1987; Adams *et al.* 1988). However, as fluorescence was recorded after

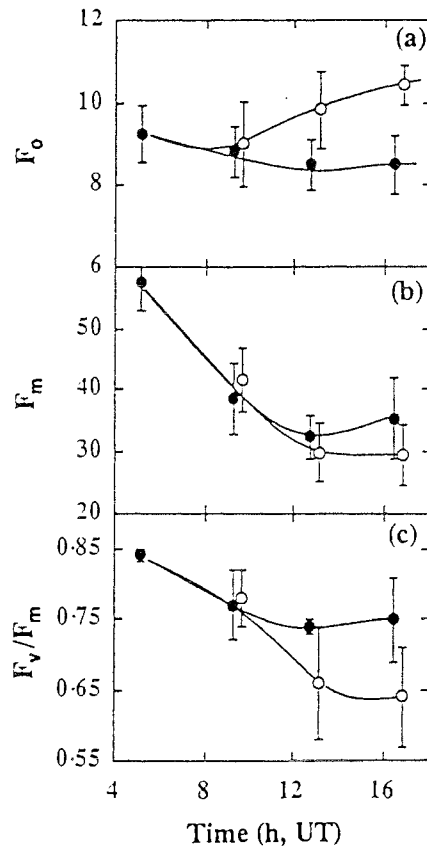


Figure 7. Diurnal time-courses of (a) initial fluorescence (F_0), (b) maximal fluorescence (F_m) and (c) PS II photochemical efficiency (F_v/F_m) of dark-adapted leaf disks punched from cut twigs fed with water (●) or 5 mol m^{-3} DTT (○). Vertical bars indicate standard deviations of means of six replicates. Twigs were cut under water from the upper part of the crown before sunrise and exposed to full sun light during the day.

20–30 min of darkness, we did not determine the full extent of non photochemical quenching of fluorescence (qN) but only the amount of qN which relaxed slowly. Demmig & Winter (1988) suggested that a slow component on qN may operate in leaves exposed to potentially photoinhibitory conditions, when the 'energy-dependent' quenching (qE) related to the acidification of thylakoids lumen has reached its maximum, but an adequate resolution of these different components of qN by means of their relaxation kinetics may be very problematic because they probably occur in several phases with various half-decay times (Krause & Weis 1991). Nevertheless, thermal energy dissipation processes clearly occurred in oak leaves under high irradiance conditions.

The main consequence of such protective thermal de-excitation of PS II in well-watered trees was a quasi complete stability of the optimal photochemical efficiency F_v/F_m which remained around 0.8, with only very limited and reversible changes during diurnal courses.

Rapid and almost complete recovery of F_0 , F_m and stability of F_v/F_m on well watered *Q. petraea* indicated clearly the absence of marked photoinhibitory or thermal injury to PS II, even during the hottest and driest days. The fact that F_0 did not increase, as would be expected with damages to PS II, but decreased, strongly supports this point of view. An increase in thermal dissipation of excess energy is consistent with a more pronounced decrease in F_m than in F_0 . Therefore, thermal de-excitation appeared efficient enough to prevent damage to PS II reaction centres. This could be a regulatory response to bring electron transport capacity at high irradiance into balance with carbon metabolism, reducing the probability of photodamage to PS II, and maintaining a high oxidative state of primary electron acceptors of PS II. It must be emphasized that no correlation between the intensity of these reactions and the presence or absence of midday depression in net CO_2 assimilation could be observed. The observed increases in thermal deexcitation have probably to be considered as very common reactions of PS II during summer days with high irradiance, taking place independently of any additional climatic constraint.

An increase in zeaxanthin content of leaves was associated to the reversible decreases in F_0 , F_m and F_v/F_m during midday depression of CO_2 assimilation in *Arbutus unedo* (Demmig-Adams *et al.* 1989), and during high light stress in *Populus balsamifera* (Demmig *et al.* 1987). The same observation applied to leaves of

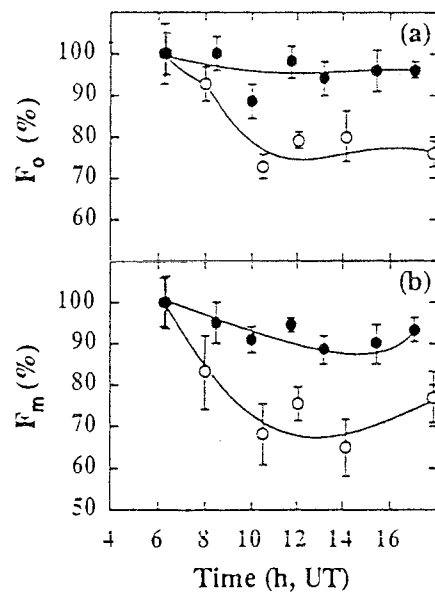


Figure 8. Diurnal time-courses of (a) initial fluorescence (F_0), (b) maximal fluorescence (F_m) of dark-adapted leaf disks punched from sun (○) or shade (●) leaves. Vertical bars indicate standard deviations of means of six replicates. Relative values of F_0 and F_m were expressed in per cent of early morning values.

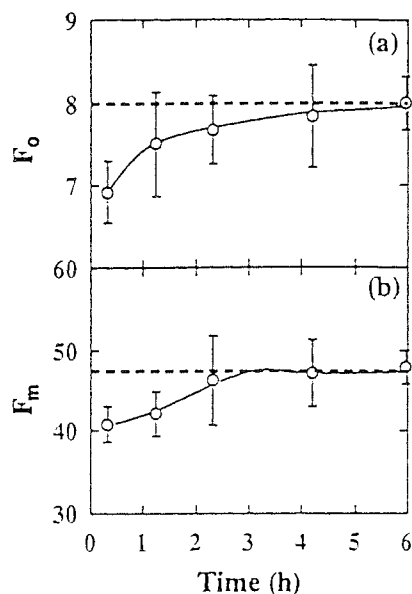


Figure 9. Time-course of recovery from midday decrease in (a) initial fluorescence (F_0) and (b) maximal fluorescence (F_m). Vertical bars indicate standard deviations of means of six replicates. The dotted lines represent predawn values of F_0 and F_m . Recovery was followed on twigs cut under water from the upper part of the crown and maintained in the dark at 20°C over 6h.

Nerium oleander submitted to a combination of high light and water stress (Demmig *et al.* 1988). Feeding cut twigs with DTT altered the response of the photosynthetic apparatus and promoted a more pronounced reduction in PS II photosynthetic efficiency. Increases in F_0 on DTT treated leaves is consistent with damages to PS II reaction centre (Demmig & Björkman 1987). These results may indicate that zeaxanthin metabolism is involved in the protection of PS II, as the violaxanthin deepoxidation into zeaxanthin is prevented by DTT pretreatment (Bilger & Björkman 1990; Demmig-Adams *et al.* 1990). However, this point has to be confirmed, because DTT may also inhibit other processes which protect the photosynthetic apparatus, like the ascorbate-glutathione cycle (Schreiber & Neubauer 1990).

What were the consequences of imposing a strong water stress to our oak trees? It is very unlikely that leaf dehydration *per se* induces any stress effect on photosynthesis. In fact, we showed with dehydrating leaf disks from the same species that above relative water contents of 0.65 (that is ψ_w below -4 MPa), no change in any of the measured fluorescence parameter could be observed (Epron & Dreyer, 1992). Kaiser (1987) and Cornic *et al.* (1989) reached the same conclusions with different species.

The reduction in A promoted by stomatal closure we observed on stressed trees could therefore amplify the need for PS II protection. This is confirmed by the more

pronounced diurnal decrease in F_m observed on water-stressed than on controls. However, photorespiration and subsequent CO_2 recycling may also contribute to consumption of reducing power, as proposed by Osmond, Winter & Powles (1980), and limit the need for PS II protection.

Water-stressed trees exhibited reversible diurnal reductions in F_v/F_m , indicating a transient alteration of PS II activity. Ben, Osmond & Sharkey (1987) suggested that such decreases of F_v/F_m in water-stressed *Xanthium strumarium* and *Helianthus annuus* were associated with a stimulation of the thermal energy dissipation. However, decreases in F_v/F_m could also indicate damage to the PS II reaction centre, which may have been a consequence of a combination of high light and high leaf temperature stresses accompanying strong reductions in transpiration. Gamon & Pearcy (1990) evidenced such effects on *Vitis californica* when leaf temperature stepped above optimal values. But, in their case, the decreases were not readily reversible in contrast to our results.

Whatever potential process was involved, the reduction in PS II efficiency occurred as soon as net CO_2 assimilation was light-saturated. Full recovery of F_v/F_m upon return to limiting light conditions clearly indicated that water stress did not enhance photodamage to PS II.

In conclusion, soil water depletion induced both a decrease of maximal values of A and an increased sensitivity of diurnal time-course of leaf gas exchange to summer atmospheric conditions. Reductions in A were accompanied by enhancement of mechanisms for thermal dissipation of excess energy, which allowed efficient protection of PS II. These protective mechanisms were acting even under mild atmospheric conditions for well-watered trees and seemed to rapidly adjust to change in incident light energy. Although they transiently reduced PS II efficiency, this increase in thermal de-excitation of PS II prevented the photosynthetic apparatus from permanent damages.

Such mechanisms should allow *Q. petraea* trees to rapidly recover optimal CO_2 fixation capacity when both climatic conditions and water supply become favourable again.

In contrast to previous results on field-grown *Salix* trees (Ögren & Sjöström 1990), photoinhibition of photosynthesis would not substantially reduce CO_2 fixation and growth even during water stress. Avoiding permanent photoinhibition can be seen as an important component of a strategy of tolerance to water stress. These protective mechanisms and possible differences of their efficiency which could explain differences in drought tolerance among mesophytic oak species have to be clarified in further research.

ACKNOWLEDGMENTS

This work has been realised in the frame of a research programme about: 'Water stress, xylem disfunctions

and dieback mechanisms in European oaks' funded by E.E.C. (STEP). The authors thank A. Granier, B. Clerc and F. Willm for the installation of the experimental design and for their help in water potential and gas exchange monitoring, J.M. Guehl and B. Genty for their advice, and two anonymous reviewers for helpful criticisms.

REFERENCES

- Abrams M.D. (1990) Adaptations and responses to drought in *Quercus* species of North America. *Tree Physiology* 7, 227–238.
- Adams W.W. III, Terashima I., Brugnoli E. & Demmig B. (1988) Comparisons of photosynthesis and photoinhibition in the CAM vine *Hoya australis* and several C_3 vines growing on the coast of eastern Australia. *Plant, Cell and Environment* 11, 173–181.
- Aubuchon R.R., Thompson F.R. & Hinkley T.M. (1978) Environmental influences on photosynthesis within the crop of a white oak. *Oecologia* 35, 295–306.
- Aussenac G., Desjeunes J.M. & Willm F. (1981) Climatologie de l'Arboretum d'Amance. *Revue Forestière Française* 23, 29–38.
- Becker M. & Levy G. (1982) Le dépérissement du chêne en forêt de Tronçais: les causes écologiques. *Annales des Sciences Forestières* 39, 439–444.
- Ben G.Y., Osmond C.B. & Sharkey T.D. (1987) Comparison of photosynthetic response of *Xanthium strumarium* and *Helianthus annuus* to chronic and acute water stress in sun and shade. *Plant Physiology* 84, 476–482.
- Bilger W. & Björkman O. (1990) Role of the xanthophyll cycle in photoprotection elucidated by measurements of light-induced absorbance changes, fluorescence and photosynthesis in leaves of *Hedera canariensis*. *Photosynthesis Research* 25, 173–185.
- Bilger W., Schreiber U. & Lange O.L. (1987) Chlorophyll fluorescence as an indicator of heat induced limitation of photosynthesis in *Arbutus unedo* L. In *Plant Response to Stress: Functional Analysis in Mediterranean Ecosystem* (eds J.D. Tenhunen, F.M. Catarino, O.L. Lange, W.C. Oechel), pp. 391–399. Springer-Verlag, Berlin.
- Butler W.L. (1978) Energy distribution in the photochemical apparatus of photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* 29, 345–378.
- Chaves M.M., Harley P.C., Tenhunen J.D. & Lange O.L. (1987) Gas exchange studies in two portuguese grapevine cultivars. *Physiologia Plantarum* 70, 639–647.
- Cornic G., Le Gouallec J.L., Briantais J.M. & Hodges M. (1989) Effect of dehydration and high light on photosynthesis of two C_3 plants (*Phaseolus vulgaris* L. and *Elatostema repens* (Lour.) Hall F.). *Planta* 177, 84–90.
- Demmig B. & Björkman O. (1987) Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77K) and photon yield of O_2 evolution in leaves of higher plants. *Planta* 171, 171–184.
- Demmig B. & Winter K. (1988) Characterization of three components of non-photochemical fluorescence quenching and their response to photoinhibition. *Australian Journal of Plant Physiology* 15, 163–177.
- Demmig B., Winter K., Kruger A. & Czygan F.C. (1987) Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves. A possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy. *Plant Physiology* 84, 218–224.
- Demmig B., Winter K., Kruger A. & Czygan F.C. (1988) Zeaxanthin and the heat dissipation of excess light energy in *Nerium oleander* exposed to a combination of high light and water stress. *Plant Physiology* 87, 17–24.
- Demmig-Adams B., Adams W.W. III, Heber U., Neimanis S., Winter K., Kruger A., Czygan F.C., Bilger W. & Björkman O. (1990) Inhibition of zeaxanthin formation and rapid changes in radiationless energy dissipation by dithiothreitol in spinach leaves and chloroplasts. *Plant Physiology* 92, 293–301.
- Demmig-Adams B., Adams W.W. III, Winter K., Meyer A., Schreiber U., Pereira J., Kruger A., Czygan F.C. & Lange O.L. (1989) Photochemical efficiency of photosystem II, photon yield of O_2 evolution, photosynthetic capacity, and carotenoid composition during the midday depression of net CO_2 uptake in *Arbutus unedo* growing in Portugal. *Planta* 177, 377–387.
- Dougherty P.M. & Hinkley T.M. (1981) The influence of a severe drought on net photosynthesis of white oak (*Quercus alba*). *Canadian Journal of Botany* 59, 335–341.
- Dreyer E., Bousquet F. & Ducrey M. (1990) Use of pressure volume curves in water relation analysis on woody shoots: influence of rehydration and comparison of four European oak species. *Annales des Sciences Forestières* 47, 285–297.
- Epron D. & Dreyer E. (1990) Stomatal and non-stomatal limitations of photosynthesis by leaf water deficits in three oak species: a comparison of gas exchange and chlorophyll a fluorescence data. *Annales des Sciences Forestières* 47, 435–450.
- Epron D. & Dreyer E. (1992) Effects of severe dehydration on leaf photosynthesis in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.: photosystem II efficiency, photochemical and non photochemical fluorescence quenchings and electrolyte leakage. *Tree Physiology*, 10, 273–284.
- Gamon J.A. & Pearcy R.W. (1990) Photoinhibition in *Vitis californica*: interactive effects of sunlight, temperature and water status. *Plant, Cell and Environment* 13, 267–275.
- Genty B., Briantais J.M. & Viera Da Silva J.B. (1987) Effects of drought on primary photosynthetic processes of cotton leaves. *Plant Physiology* 83, 360–364.
- Harley P.C., Tenhunen J.D., Beyschlag W. & Lange O.L. (1987) Seasonal changes in net photosynthesis rates and photosynthetic capacity in leaves of *Cistus salvifolius*, a European Mediterranean semi-deciduous shrub. *Oecologia* 74, 380–388.
- Kaiser W.M. (1987) Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiologia Plantarum* 71, 142–149.
- Krause G.H. & Weis E. (1991) Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review of Plant Physiology, Plant Molecular Biology* 42, 313–349.
- Leverenz J.W. (1981) Photosynthesis and transpiration in large forest-grown douglas-fir: diurnal variations. *Canadian Journal of Botany* 59, 349–356.
- Ögren E. & Öquist G. (1985) Effects of drought on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and photoinhibition in intact willow leaves. *Planta* 166, 380–388.
- Ögren E. & Sjöström M. (1990) Estimation of the effect of photoinhibition on the carbon gain in leaves of a willow canopy. *Planta* 191, 560–567.
- Osmond C.B., Winter K. & Powles S.B. (1980) Adaptive significance of carbon dioxide cycling during photosynthesis in water-stressed plants. In *Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress* (eds N.C. Turner & P.J. Kramer), pp. 139–154. John Wiley and Sons, Chichester.
- Powles S.B. (1984) Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annual Review of Plant Physiology* 35, 15–44.
- Schreiber U. & Bilger W. (1987) Rapid assessment of stress effects on plant leaves by chlorophyll fluorescence measurements. In *Plant Response to Stress: Functional Analysis in Mediterranean Ecosystems* (eds J.D. Tenhunen, F.M. Catarino, O.L. Lange & W.C. Oechel), pp. 27–53. Springer-Verlag, Berlin.
- Schreiber U. & Neubauer C. (1990) O_2 -dependent electron flow, membrane energization and the mechanism of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence. *Photosynthesis Research* 25, 279–293.

- Tenhunen J.D., Lange O.L. & Jahner D. (1982) The control by atmospheric factors and water stress of midday stomatal closure in *Arbutus unedo* growing in a natural macchia. *Oecologia* 55, 165–169.
- Tenhunen J.D., Pearcy R.W. & Lange O.L. (1987) Diurnal variations in leaf conductance and gas exchange in natural environments. In *Stomatal Function* (eds E. Zeiger, G.D. Farquhar & I.R. Cowan), pp. 323–351. Stanford University Press, Stanford, CA.
- Tergazhi W.B., Fork D.C., Berry J.A. & Field C.B. (1989) Low and high temperature limits to PS II. A survey using trans-Parinic acid, delayed light emission, and F_0 chlorophyll fluorescence. *Plant Physiology* 91, 1494–1500.
- Weber J.A. & Gates D.M. (1990) Gas exchange in *Quercus rubra* (northern red oak) during a drought: analysis of relations among photosynthesis, transpiration, and leaf conductance. *Tree Physiology* 7, 215–225.

Received 2 January 1992; received in revised form 16 March 1992; accepted 6 May 1992

A comparison of photosynthetic response to water stress in seedlings from three oak species : *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Q. rubra* L. and *Q. cerris* L.

5 D. Epron, E. Dreyer* and G. Aussenac

Laboratoire de Bioclimatologie et d'Ecophysiologie Forestières, INRA Nancy, Champenoux, F-54280 SEICHAMPS

10

Short title : *Photosynthesis and water stress in oaks.*

*Correspondence and reprints

15

Summary:

Photosynthetic responses to drought of oak seedlings (*Quercus petraea*, *Q. rubra* and *Q. cerris*) were investigated using gas exchange and chlorophyll fluorescence. Decreases in predawn leaf water potential (Ψ_{wp}) led to pronounced reductions in both stomatal conductance (g_w) and net CO₂ assimilation rate (A). In contrast, the maximal photochemical efficiency of photosystem II measured predawn (F_v/F_m) remained unaffected until complete cessation of CO₂ assimilation. Responses of PS II photochemical efficiency ($\Delta F/F_m'$) to increasing photon flux density (PFD) were determined for leaves of both control and water stressed seedlings. Drought resulted in a stronger reduction of $\Delta F/F_m'$ at a given PFD in *Q. rubra* and *Q. petraea*, but not in *Q. cerris*, and lead to an over-reduction of the primary electron acceptor pool (decrease in photochemical quenching, qp). Such behaviour could explain the observed increase in sensitivity to photoinhibition when these two species were water stressed. In contrast, drought did not promote such an increase in the susceptibility of *Q. cerris* leaves to photoinhibition.

Key words: chlorophyll fluorescence / oak / photosynthesis / drought / photoinhibition

Résumé: Comparaison de la réponse au déficit hydrique de la
photosynthèse de semis de trois espèces de chêne : *Quercus petraea*
40 (Matt.) Liebl., *Q. rubra* L. and *Q. cerris* L.

La réponse de la photosynthèse à la sécheresse a été étudiée sur des semis de chêne
(*Quercus petraea*, *Q. rubra* and *Q. cerris*) par des mesures d'échange gazeux et de
fluorescence de la chlorophylle. La diminution du potentiel hydrique de base (Ψ_{wp})
a entraîné une réduction importante de la conductance stomatique (g_w) et de
45 l'assimilation nette de CO_2 (A). Par contre, l'efficacité photochimique maximale du
PS II mesurée en fin de nuit (F_v/F_m) n'a pas été affectée tant qu'un arrêt complet de
l'assimilation de CO_2 n'était pas intervenu. Des réponses de l'efficacité
photochimique du PS II ($\Delta F/F_m'$) à une augmentation de la densité de flux
quantique (PFD) ont été établies pour des feuilles de semis irrigués et soumis à
50 sécheresse. Le déficit hydrique a entraîné une plus forte réduction de $\Delta F/F_m'$ à un
PFD donné pour *Q. rubra* et *Q. petraea*, s'accompagnant d'une plus forte réduction
du pool d'accepteur primaire d'électrons (diminution du quenching photochimique,
qp). Ce comportement pourrait expliquer l'augmentation de la sensibilité à la
photoinhibition des feuilles des plants soumis à sécheresse de ces deux espèces. Au
55 contraire, la sécheresse n'a pas entraîné de différence de réduction du pool
d'accepteur primaire d'électrons, ni de la sensibilité à la photoinhibition des feuilles
de *Q. cerris*.

Mots clefs : fluorescence de la chlorophylle / chêne / photosynthèse / sécheresse /
photoinhibition

Abbreviations: A : net CO₂ assimilation rate ; g_w : stomatal conductance to water vapour ; Ψ_{wp} : predawn leaf water potential, π_0 : osmotic potential at full turgor ; Ψ_{wtl} : water potential at turgor loss , D : leaf water deficit ; PS II, photosystem II; QA, primary electron acceptor; F_0 and F_m , initial and maximal fluorescence;
65 F_v/F_m , maximal photochemical efficiency of PS II in the dark-adapted state ; $\Delta F/F_m'$, photochemical efficiency of PS II in a light-adapted state ; F_v'/F_m' , photochemical efficiency of open PS II reaction centres in a light-adapted state ; qp, photochemical fluorescence quenching.

Introduction

70 Oak species are distributed over a large geographic range and display great variations in the ability to tolerate periods of restricted water supply. This latter factor plays probably a major role in the control of the distribution of the various oak species. Some species have evolved very specialised adaptive features which are thought to enable better survival under drought, such as sclerophylly, restricted
75 area of individual leaves and thick cuticles. But even among the more mesophytic and deciduous species, some important differences in the tolerance to drought appear. For instance, thorough ecological studies showed that *Q. robur* and *Q. petraea* had different requirements for water supply, the former being more sensitive to drought, and as a consequence, more prone to drought-induced decline
80 (Becker and Lévy, 1982). But the physiological mechanisms involved in this differentiated water stress tolerance are still poorly understood. Efficiency of soil water extraction and of the water transport pathways in the trees play probably a major role, and differ significantly among species (Abrams, 1990 ; Cochard *et al*, 1992 ; Bréda *et al*, 1992). But the ability to maintain significant rates of CO₂
85 assimilation and to keep a functional photosynthetic apparatus during drought may also play a significant role in this respect.

Drought-induced stomatal closure is now well documented. It appears in many recent studies to be the primary factor promoting the decrease in net assimilation rates during drought (Kaiser, 1987 ; Cornic *et al*, 1989). Moreover, the
90 photosynthetic apparatus, and in particular the potential photochemical activity of PS II, has been shown to be very insensitive to rapid leaf dehydration in the dark for *Q. petraea* (Epron and Dreyer, 1992) and for a large spectrum of species (Dreyer *et al*, 1992). Rapid leaf dehydration is not affecting photochemistry above degrees of dehydration only seldom attained under natural conditions

95 But the question if gradually increasing drought may affect the photosynthetic processes when it is imposed under medium or high irradiance remains open. In particular, the relationship between water stress intensity and light-induced disorders in PS II activity still has to be clearly assessed. Chlorophyll *a* fluorescence may be used to estimate quantum efficiencies of PS II under diverse
100 environmental constraints (Baker, 1991) and is therefore a useful tool to study physiological consequences of drought on photosynthetic electron transport.

To test responses of different oak species to a combination of water stress and high irradiance, we submitted potted seedlings to a gradually increasing drought and monitored predawn leaf water potential, gas exchange and photochemical efficiency of PS II. Selected species were *Q. cerris*, a S.E. European species known to be relatively drought tolerant, *Q. petraea*, an important mesophytic timber species of W. Europe and *Q. rubra*, a N.E. American species probably slightly more sensitive to drought. *Q. cerris* presents the thickest leaves and bears a significant amount of trichomes ; *Q. petraea* has been shown to be less prone to drought induced embolism than *Q. rubra* (Cochard et al, 1992).

Material and methods

Seedlings of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. (Forêt de la Reine, Toul, N.E. France),
Quercus cerris L. (commercial seedlots) and *Q. rubra* L. (Fénétrange, N.E. France)
were grown in a naturally illuminated greenhouse from March to September 1990,
115 in 5 litre pots filled with a 1:1 (v/v) mixture of sand and blond peat fertilised with
2.0 g of Nutricote 100 (N/P/K: 13/13/13) complemented with a mixture of
oligoelements, and 4 g of magnesium chalk. The plants were irrigated daily. One
week before the onset of the experiments, the seedlings were transported into a
growth cabinet with the following day/night conditions: 16/8 h; relative humidity,
120 70/95%; air temperature, 22/16°C. Photosynthetic photon flux density (PFD)
provided by neon lamps was around 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ at the top of the plants.

Stress application and experimental design

Drought was imposed on six seedlings from each species by withholding irrigation
during 9 days. Predawn leaf water potential (Ψ_{wp}), relative water content, gas
125 exchange and chlorophyll a fluorescence characteristics were monitored every day
on half of the plants on the last fully developed growth flush. 3 plants were kept as
controls.

Responses of photochemical efficiency to increasing photon flux density (PFD) and
susceptibility to high light stress were studied on 3 to 4 leaf disks (10 cm^2)
130 punched from either well-watered or water-stressed plants (predawn leaf water
potential $\Psi_{\text{wp}} \approx -3.0$ MPa in the latter case). Each leaf disk was inserted into the
compartment of a leaf disk O_2 electrode (Hansatech, U.K.). A stream of water-
vapour saturated air, maintained at 23°C, and with ambient CO_2 , was sufficient to
prevent dehydration or heating of leaf tissues. PFD was changed every 10 min
135 from 135, 230, 460, 890, 1300 and 1750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Then, the leaf disk was
exposed to a PFD of 1750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for 135 min and finally darkened during 45
min to determine long term changes on maximal photochemical efficiency.

Leaf water status

Predawn leaf water potential (Ψ_{wp}) was measured with a pressure chamber on a
140 single leaf of each seedling, while relative water content was estimated from 2 disks
punched off this leaf prior to the introduction into the pressure chamber.

The two leaf disks (2 cm²) were immediately weighed (W_f), used for fluorescence
measurements, rehydrated by floating on distilled water for 4 h at 4°C in the dark to
determine saturated weight (W_s) and oven-dried for 24 h at 80°C to determine dry
145 weight (W_d). Relative water content was calculated as $RWC = (W_f - W_d) / (W_s - W_d)$
and leaf water deficit expressed as $D = 1 - RWC$.

Osmotic potential at full turgor (π_o) and water potential at turgor loss (Ψ_{wtl}) were
estimated on well-watered controls by means of a pressure-volume analysis using
the transpiration method described by Hinckley *et al.* (1980) and Dreyer *et al.*
150 (1990). Three shoots were severed from 3 well watered seedlings of each species
and rehydrated over night through the cut end. Water potentials of freely transpiring
shoots (Ψ_w) were measured at regular time intervals from 0 to -6.0 MPa in a
pressure chamber. Shoot weight was recorded to calculate shoot water deficit as
 $D = 1 - [(W_f - W_d) / (W_i - W_d)]$ with W_f , W_i , W_d respectively shoot weight measured
155 immediately after Ψ_w determination, initial weight of the rehydrated shoot and dry
weight of the shoot.

Gas exchange measurements

Stomatal conductance for water vapour (g_w) and net CO₂ assimilation rate (A) were
recorded using a portable gas exchange measurement system (LiCor 6200, Lincoln,
160 USA). Average ($\pm$ standard deviation) leaf temperature (t_a), leaf to air difference in
vapour mole fraction, CO₂ mole fraction in the air (c_a), and photon flux density at
the leaf surface (PFD) were respectively 23.9 ($\pm$ 0.9)°C, 11.6 ($\pm$ 3.3) mol mol⁻¹,
440 ($\pm$ 24) μ mol mol⁻¹ and 194 ($\pm$ 22) μ mol m⁻² s⁻¹. Both A and g_w were computed
according to Von Caemmerer and Farquhar (1981) and expressed on a projected
165 leaf area basis (ΔT area meter, ΔT Devices, U.K.). Measurements were conducted
3 to 4 h after onset of the light period.

Chlorophyll a fluorescence measurement

Chlorophyll a fluorescence of photosystem II (PS II) was measured using a pulse amplitude modulated fluorometer (PAM 101, Walz, Germany) as previously described (Epron and Dreyer, 1992). Leaf disks (2 cm²) were punched from over-
 170 night dark-adapted seedlings. Initial fluorescence (F_0), when all PS II reaction centres are open, was obtained using a weak light (less than 1 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) from a light emitting diode (λ_{max} , 650 nm; pulse duration, 1 μsec ; frequency, 1.6 KHz). Maximum fluorescence (F_m) when all PS II reaction centres are closed, was
 175 recorded during a flash of saturating white light (4000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Maximal photochemical efficiency of PS II, i.e. in the dark-adapted state, was estimated as $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ according to Genty *et al.* (1987).

Photochemical efficiency of PS II was determined during the establishment of light response curves, after 10 min at each successive PFD (135, 230, 460, 890, 1300
 180 and 1750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Steady state fluorescence (F) and maximal fluorescence following a saturating flash (F_m') were recorded and used to compute the photochemical efficiency of PS II as : $\Delta F/F_m' = (F_m' - F) / F_m'$ (Genty *et al.*, 1989). After each period of 10 min, the actinic light was switched off during 1 min to allow recording of basic fluorescence F_0' and to compute photochemical efficiency
 185 of open PS II reaction centres as $F_v'/F_m' = (F_m' - F_0') / F_m'$ (Genty *et al.*, 1989). Both parameters are related by :

$$\Delta F/F_m' = q_p * F_v'/F_m'$$

where q_p is the photochemical quenching, i.e. the fraction of open PS II reaction centres. Decreases in q_p are generally ascribed to increased reduction of the primary
 190 acceptor Q_A , while decreases of F_v'/F_m' are thought to reveal enhanced thermal deexcitation of PS II (Baker, 1991).

To test the effects of high light stress we compared F_v/F_m before exposure to light and after a complete PFD response curve followed by an additional 135 min at 1750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and 45 min darkness.

195 Results

Drought progression and plant water status

During the first 4 days, soil water content decreased from 0.5 to 0.2 g g⁻¹ of dry weight without any significant decrease in predawn leaf water potential Ψ_{wp} . Thereafter, Ψ_{wp} declined readily and reached values below -6.0 MPa 5 days latter.

200 Decreases in Ψ_{wp} led to increases in leaf water deficit D after an initial period of strong variability. But the relationship between D and Ψ_{wp} displayed some interspecific differences : for a given value of Ψ_w , *Q. rubra* displayed higher deficits than both other species (fig. 1). For example, a Ψ_{wp} of about -3MPa was accompanied by a D of around 0.26 in *Q. cerris* and *Q. petraea*, but around 0.30 in
205 *Q. rubra*.

Osmotic potential at full turgor (π_0) and leaf water potential at turgor loss (Ψ_{wul}) measured on well-watered seedlings are presented in table I. *Q. cerris* displayed significantly lower π_0 and Ψ_{wul} while both other species behaved rather similarly. A discrepancy between these data and the D - Ψ_{wp} relationship as presented figure
210 1 appeared for all species : D for a given value of Ψ_w was always higher (lower water content) during the progression of drought than during the establishment of pressure volume relations with well watered seedlings. This may be due either to shifts in osmotic potential induced by the drought treatment or to over-saturation of the leaf disks.

215 Drought effects on stomatal conductance and net CO₂ assimilation rate

Stomatal conductance to water vapour (g_w) and net CO₂ assimilation rates (A) displayed large species-related differences on well-watered seedlings (fig. 2) : *Q. petraea* reached highest rates of A and g_w , followed by *Q. cerris* and *Q. rubra*. The three species exhibited similar rates of change in A and g_w as Ψ_{wp} decreased.
220 Decreases in A began above -1.0 MPa but were rather gradual. Values close to zero were obtained in all cases when Ψ_{wp} reached -3.5 MPa. The decline of g_w appeared much steeper, values below 0.025 mol m⁻² s⁻¹ being reached at -1.5 MPa in all species. Differences in the decline rates of g_w and A may be due to CO₂ limitation of A and supra-optimal stomatal conductance on well-watered seedlings.

225 Drought effects on photochemical efficiency of PS II

Responses of maximal photochemical efficiency of PS II (F_v/F_m) to declining Ψ_{wp} are presented in figure 3. F_v/F_m remained high and constant (around 0.81) in all species till Ψ_{wp} dropped below -4.0 MPa. Such low potentials correspond to values of D above 0.35. The observed decreases resulted from both a decrease in
 230 F_m and an increase in F_o (data not shown). Low values of F_v/F_m around 0.5 were reached at the lowest water potentials. It is worth noting that these decreases began at stress intensities for which net assimilation rates were almost nil. Some significant species related differences appeared clearly : the drought induced decline appeared at lower water potentials in *Q. cerris* than in both other species.

235 Drought effects on light response curves of PS II photochemical efficiency

Responses of PS II photochemical efficiency ($\Delta F/F_m'$) to increasing PFD are shown in figure 4. As expected, $\Delta F/F_m'$ was high at low irradiance, and decreased readily with increasing PFD in both controls and water stressed seedlings. Final values of controls (at $1750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) were around 0.20 for *Q. petraea* and *Q.*
 240 *rubra*, but lower than 0.10 for *Q. cerris*. Water stress had strong consequences in both former species, inducing much lower $\Delta F/F_m'$ at a given irradiance as compared to controls. In *Q. cerris* no significant difference was observed between both situations. The same relationship between $\Delta F/F_m'$ and F_v/F_m' or qp was observed in all species independently of the drought treatment (fig. 5), which may
 245 be interpreted as the maintenance of an identical equilibrium, at a given efficiency, between thermal deexcitation of PS II and the reduction status of the primary acceptor pool.

Drought effects on response to high irradiance

Table II shows the effects of 135 min of exposure to high light on F_v/F_m for both
 250 the control and the water stressed (-3.0 MPa) seedlings already tested for PFD responses (see above). Significant decreases of F_v/F_m as measured after 45 min of darkness were detected in all cases. But these decreases were more pronounced on stressed seedlings than on well watered ones for both *Q. petraea* and *Q. robur*, but not for *Q. cerris*, on which the decreases reached the same extent in both cases.
 255 Decreases in F_v/F_m were always the consequence of both a slight increase in F_o (about 10%) and a strong decrease in F_m (30% minimum).

Discussion

Interspecific variability at optimal water supply

Our species displayed significant differences in behaviour at optimal water supply. Net CO₂ assimilation rates per unit leaf area (A) were highest on *Q. petraea* and *Q. cerris*, and lowest on *Q. rubra*. Differences in chlorophyll contents, leaf specific weight and leaf optical properties could partly explain these differences in A. Lin and Ehleringer (1982) reported that changes in spectral properties of leaves of Papaya related to differences in chlorophyll contents were strongly correlated to the rate of net CO₂ assimilation. Leaves of *Quercus rubra* seedlings grown in a glasshouse are effectively known to have lower chlorophyll content and specific leaf weight than the two other species (Dreyer et al, 1992). This latter species displayed also lower stomatal conductance (g_w). Similar differences in A and g_w between *Q. petraea* and *Q. rubra* have already been reported (Vivin et al, 1992). It is worth notice that under such conditions, the intrinsic water use efficiency (ratio A/g_w) of *Q. rubra* was higher than for *Q. petraea* and *Q. cerris* (35.6, 31.2, and 26.8 μmol CO₂ mole⁻¹ H₂O respectively). Differences in leaf structure and their consequences on leaf optical properties and on photosynthetic efficiency among oak species clearly need to be better documented; moreover, the impact of light regime and microclimate during leaf expansion would need further experiments. The presented data apply to greenhouse grown seedlings, and a direct extrapolation to natural conditions would be questionable. Nevertheless, despite differences in A, maximal photochemical efficiency of PS II was identical in all species.

Water relations were also significantly different between the tested species. *Q. cerris* displayed the lowest osmotic potential at full turgor (π₀), and as a consequence the lowest water potential at turgor loss. The observed values of π₀ were relatively high when compared to trees grown under natural conditions, but in agreement with already published data for mesophytic oaks grown in a greenhouse (Dreyer et al, 1990).

General reactions to drought

All species exhibited an abrupt decline in stomatal conductance as soon as Ψ_{wp} decreased from values near 0 to -1.0 MPa. Decreases in A were much more gradual. An important consequence was that intrinsic water use efficiency increased

290 during the initial stages of drought progression, as has been frequently reported (Schulze and Hall, 1982 ; Epron and Dreyer, 1990, for other oak species). Our results suggest a rather good ability of oak species to maintain significant rates of A during drought progression, as already shown for potted saplings by Epron and Dreyer (1990), or under natural conditions by Hinckley *et al.* (1978), Bahari *et al.* (1985) and Epron *et al.* (1992).

295 Recent results suggest that the photosynthetic apparatus is rather tolerant to dehydration (Kaiser, 1987; Cornic *et al.*, 1989; Epron and Dreyer, 1990 and 1992), and that drought effects seem to be mainly mediated by stomatal closure, at least at the levels commonly experienced under field conditions. In particular, maximal photochemical efficiency (F_v/F_m), measured on dark adapted oak leaves during a rapid dehydration, remained constant until very high leaf water deficits ($D \approx 0.75$)
300 (Epron and Dreyer, 1992). In our case, with potted seedlings drying out in a climate chamber, the decline in F_v/F_m appeared at lower deficits ($\Psi_{wp} \approx -4$ MPa, that is $D \approx 0.35$). F_v/F_m was measured at predawn, which should have allowed overnight relaxation of daily changes in potential PS II activity. Under field
305 conditions, Epron *et al.* (1992) observed on stressed trees that predawn F_v/F_m was always near optimal values despite significant but reversible reductions during periods of highest irradiance. Weber and Gates (1990) showed the lack of permanent photoinhibitory damage on *Q. rubra* submitted to drought despite the strong reduction in A. But during both these field experiments, the water stress
310 never induced complete arrest of the photosynthetic carbon assimilation. We may infer from these observations that significant decreases of potential PS II activity may occur only during periods of complete assimilation cessation and under significant irradiance. As the observed decreases resulted both from increased F_0 and decreased F_m , we may conclude that they were the expression of some kind of
315 damage to the PS II (Demmig and Björkman, 1987). However, these injuries were not directly related to leaf dehydration, but rather to excess light energy reaching PS II reaction centres when CO_2 assimilation was completely inhibited in severely stressed seedlings.

The lack of damage to PS II in moderately stressed leaves (Ψ_{wp} from -1.0 to -4.0 MPa) despite a pronounced decrease in A has already been documented on other
320 species (Ben *et al.*, 1987; Genty *et al.*, 1987; Di Marco *et al.*, 1988). Two complementary mechanisms could help protect PS II from injury : (a) the quantum

yield of PS II photochemistry may be transiently reduced by increased thermal energy dissipation when the rate of electron transport exceeds the need of reducing power for CO₂ fixation ; this was observed at midday under natural conditions on sun-exposed leaves of oak trees (Epron et al, 1992) ; (b) an increasing part of the electron flow originating from PS II may be diverted from carboxylation to photorespiration, as experimentally demonstrated by Cornic and Briantais (1991).

Response to PFD and photoinhibition

Increasing PFD clearly reduced the quantum efficiency of PS II ($\Delta F/F_m'$) of both control and water stressed leaves. But, at any PFD, water stress resulted in lower values of $\Delta F/F_m'$ in *Q. petraea* and *Q. rubra*. Lower $\Delta F/F_m'$ in stressed individuals is was probably induced by low CO₂ availability at chloroplast level resulting from stomatal closure. The decrease reveals that diversion of electron flow to photorespiration may not have been sufficient to maintain similar rates of PS II photochemistry during drought in these species. These PFD related reductions were always accompanied both by increased thermal deexcitation (reduced F_v/F_m') and decreases in q_p , i.e., the pool of primary electron acceptors was gradually reduced. It has to be emphasised that at any given values of PS II photochemical efficiency, the balance between increase in thermal deexcitation and reduction status of the pool of primary electron acceptors (QA) was similar in the three tested species, and both on control and dehydrated leaves.

We demonstrated that drought also induced an enhancement in the susceptibility to high light stresses. Such effects of drought had already been observed on many species (*Nerium oleander* , Björkman and Powles, 1984 ; *Q. petraea*, *Q. pubescens* but not *Q. ilex*, Epron and Dreyer, 1990). In our case, high light promoted an alteration in PS II reaction centres as the reduction in F_v/F_m resulted both from a decrease in F_m and an increase in F_0 (Demmig and Björkman, 1987). This distinguishes clearly the reactions observed here from the diurnal and reversible decreases in F_0 , F_m and F_v/F_m observed under natural conditions (Epron et al, 1992). The reasons for this increased sensitivity to high irradiance due to drought are still under debate. One explanation may be that CO₂ starvation induced by stomatal closure allowed damaging effects of excess excitation delivered to PS II reaction centres (Powles, 1984). Excess excitation energy may generate highly reactive oxygen species that could be responsible for these damages (Kyle, 1987).

However, loss of PS II activity should be observed only if the rate of damage would exceed the rate of repair (Baker, 1991).

Q. cerris displayed the least drought induced sensitivity to high light stress. Differences in absorbance existed between our species (Epron, unpublished data),
360 but their magnitude were too limited to explain the observed differences. Demmig *et al.* (1988) suggested that the resistance of *Nerium oleander* to photodamage when exposed to a combination of high light and water stress was related to an increasing ability for radiationless energy dissipation. But we did not detect any interspecific difference in the ability to dissipate excess energy when the electron transport was
365 reduced (see above). It was frequently suggested that photodamage should be enhanced when the QA pool is highly reduced (Krause and Weis, 1991). Surprisingly, the QA pool at a given PFD was more reduced in well watered *Q. cerris* than in the other species despite similar sensitivity to high light exposure. Some other mechanisms, for instance higher rates of recovery (Greer *et al.*, 1986),
370 may limit the extent of damage to PS II photochemical efficiency in this species. In contrast, differences in sensitivity to high light exposure between control and dehydrated leaves of *Q. rubra* and *Q. petraea* were well correlated to lower PS II photochemical efficiency at a given PFD, i.e. a higher reduction state of QA. In *Q. cerris*, reduction state of QA was similar in well-watered and water-stressed leaves,
375 which was in agreement with the observed lack of increase in the sensitivity to high light.

Conclusion

Early drought effects seemed to be mainly induced by stomatal limitation to photosynthesis. Disorders in the photosynthetic apparatus appeared nevertheless at
380 higher stress intensities in all three species but were not mediated by leaf tissue dehydration. The relationships between water stress, high light and species responses need further analysis to elucidate such differential responses. It appeared that the drought-induced increase in sensitivity to high light in *Q. petraea* and *Q. rubra* leaves could be related to an over-reduction of the QA pool under high
385 irradiance. *Q. cerris*, which did not exhibit such over-reduction, did not suffer from an increased sensitivity to high irradiance. Differences in the ability of photorespiration to compensate reduction in CO₂ assimilation between our species may play a major role to explain these differences in drought-induced sensitivity to photoinhibition. But the higher tolerance to photoinhibition in *Q. cerris* at a similar

390 level of QA reduction has to be clarified. Moreover, these response to drought and
light could have been different on seedlings or trees grown outdoors, which are
known to present strongly different leaf specific weights and pigment composition.
It may be questioned to what extent irradiance intensity during leaf growth may
modulate the stress responses revealed in this work.

395 **Acknowledgements**

The authors thank J.M. Gioria et J.M. Desjeunes for having grown the seedlings.
This work has been realised in the frame of a research program about: "Water
stress, xylem dysfunction and dieback mechanisms in European oaks" funded by
ECC DG XII (STEP CT 90 050 C). Comments and suggestions of two
400 anonymous reviewers are gratefully acknowledged.

References

- Abrams M.D. (1990) Adaptations and responses to drought in *Quercus* species of North America. *Tree Physiol.* 7, 227-238.
- 405 Bahari Z.A., Pallardy S.G., Parker W.C. (1985) Photosynthesis, water relations and drought adaptation in six woody species of oak-hickory forests in central Missouri. *For. Sci.* 31, 557-569.
- Baker N.R. (1991) A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. *Physiol. Plant.* 81, 563-570.
- 410 Becker M., Lévy G. (1982) Le Dépérissement du Chêne en Forêt de Tronçais. Les causes écologiques. *Ann. Sci. For.* 39, 439-444.
- Ben G.Y., Osmond C.B., Sharkey T.D. (1987) Comparisons of photosynthetic responses of *Xanthium strumarium* and *Helianthus annuus* to chronic and acute water stress in sun and shade. *Plant Physiol.* 84, 476-482.
- 415 Björkman O., Powles S.B. (1984) Inhibition of photosynthetic reactions under water stress : interaction with high light level. *Planta* 161, 490-503.
- Bréda N., Cochard H., Dreyer E., Granier A. (1992) Seasonal evolution of water transfer in a mature oak stand (*Quercus petraea* Matt. Liebl.) submitted to drought. *Can. J. For. Res.* accepted.
- 420 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) *Ann. Sci. For.* 49, 225-233.
- Cornic G., Briantais J.M. (1991) Partitioning of photosynthetic electron flow between CO₂ and O₂ reduction in a C₃ leaf (*Phaseolus vulgaris* L.) at different
- 425 CO₂ concentrations and during drought stress. *Planta* 183, 178-184.
- Cornic G., Le Gouallec J.L., Briantais J.M., Hodges M. (1989) Effect of dehydration and high light on photosynthesis of two C₃ plants (*Phaseolus vulgaris* L., *Elatostema repens* (Lour) Hall f). *Planta* 177, 84-90.

- 430 Demmig B., Björkman O. (1987) Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77K) and photon yield of O₂ evolution in leaves of higher plants. *Planta* 171, 171-184.
- Demmig B., Winter K., Krüger A., Czygan F.C. (1988) Zeaxanthin and heat dissipation of excess light energy in *Nerium oleander* exposed to a combination of high light and water stress. *Plant Physiol.* 87, 17-24.
- 435 Di Marco G.A., Massacci A., Gabrielli R. (1988) Drought effects on photosynthesis and fluorescence in hard wheat cultivars grown in the field. *Physiol. Plant.* 74, 385-390.
- Dreyer E., Bousquet F., Ducrey M. (1990) Use of pressure-volume curves in water relation analysis on woody shoots: influence of rehydration and comparison
440 of four European oak species. *Ann. Sci. For.* 47, 285-297.
- Dreyer E., Epron D., Eyog-Matig O. (1992) Compared sensitivity of photochemical efficiency to rapid leaf dehydration among 11 temperate and tropical tree species. *Ann. Sci. For.* in press.
- Epron D., Dreyer E. (1990) Stomatal and nonstomatal limitation of photosynthesis
445 by leaf water deficits in three oak species: a comparison of gas exchange and chlorophyll a fluorescence data. *Ann. Sci. For.* 47, 435-450.
- Epron D., Dreyer E. (1992) Effects of severe dehydration on leaf photosynthesis in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. : photosystem II efficiency, photochemical and non photochemical fluorescence quenchings and electrolyte leakage. *Tree Physiol.* 10,
450 273-284.
- Epron D., Dreyer E., Bréda N. (1992) Photosynthesis of oak trees (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) during drought under field conditions : diurnal evolution of net CO₂ assimilation and photochemical efficiency of photosystem II. *Plant Cell Environ.* 15,809-820.
- 455 Genty B., Briantais J.M., Viera da Silva J.B. (1987) Effects of drought on primary photosynthetic processes of cotton leaves. *Plant Physiol.* 83, 360-364.

- Genty B., Briantais J.M., Baker N.R. (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochem Biophys Acta* 990,87-92.
- 460 Greer D.H., Berry J.A., Björkman O. (1986) Photoinhibition of photosynthesis in intact bean leaves : role of light and temperature, and requirement for chloroplast protein synthesis during recovery. *Planta* 168, 253-260.
- Hinckley T.M., Aslin R.G., Aubuchon R.R., Metcalf C.L., Roberts J.E. (1978) Leaf conductance and photosynthesis in four species of the oak-hickory forest type. *For. Sci.* 24, 73-84.
- 465 Hinckley T.M., Duhme F., Hinckley A.R., Richter H. (1980) Water relations of drought hardy shrubs : osmotic potential and stomatal reactivity. *Plant, Cell Environ.* 3, 131-140.
- Kaiser W.M. (1987) Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiol. Plant.* 71, 142-149.
- 470 Krause G., Weis E. (1991) Chlorophyll fluorescence and photosynthesis : the basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42, 313-349.
- Kyle D.J. (1987) The biochemical basis for photoinhibition of photosystem II. In : *Photoinhibition* (D.J. Kyle, C.B. Osmond, C.J. Arntzen eds). Elsevier, Amsterdam, pp. 197-226.
- 475 Lin Z.F., Ehleringer J. (1982) Changes in spectral properties of leaves as related to chlorophyll content and age of Papaya. *Photosynthetica* 16, 520-525.
- Powles S.B. (1984) Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35, 15-44.
- 480 Schulze E.D., Hall A.E. (1982) Stomatal responses, water loss and CO₂ assimilation rates of plants in contrasting environments. In : *Physiological Plant Ecology II. Water relations and carbon assimilation* (O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond, H. Ziegler eds). Springer Verlag, Berlin, pp. 181-230.
- Vivin P., Aussenac G., Lévy G. (1992) Influences of soil drought and fertilization on gas exchange, growth and survival of three oak species (*Quercus petraea* Matt.
- 485

Liebl., *Q. robur* L. and *Q. rubra* L.) grown in buried containers. *Ann. Sci. For.* in press.

Von Caemmerer S., Farquhar G.D. (1981) Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153, 376-490 387.

Weber J.A., Gates D.M. (1990) Gas exchange in *Quercus rubra* (northern red oak) during a drought : analysis of relations among photosynthesis, transpiration, and leaf conductance. *Tree Physiol.* 7, 215-225.

Captions

495 **Figure 1** Relation between predawn leaf water potential (Ψ_{wp}) and leaf water deficit (D) during drought progression on young potted seedlings from 3 oak species. Linear regression in each data set yielded presented equations.

Figure 2 Evolution of stomatal conductance to water vapour (g_w) and net CO₂ assimilation rate (A) as a function of predawn leaf water potential (Ψ_{wp}) on seedlings from 3 oak species. Each point represents an individual measurement for droughted plants; controls ($\Psi_{wp} > -0.5$ MPa.) are presented as mean values with confidence intervals. (Conditions: t_a : 23.9 deg C., PFD : 194 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, c_a : 440 $\mu\text{mol mol}^{-1}$). Lines were fitted by hand to illustrate tendency.

505 **Figure 3** Evolution of maximal photochemical efficiency (F_v/F_m) as a function of predawn leaf water potential (Ψ_{wp}) on seedlings from 3 oak species. Each point represents an individual measurement. Lines were fitted by hand to illustrate tendency.

Figure 4 Relationship between incident photon flux density (PFD) and PS II photochemical efficiency ($\Delta F/F_m'$) on control (black symbols) and moderately droughted (open symbols) leaves of seedlings from three oak species. Predawn leaf water potential of droughted seedlings was -3.0 ± 0.2 MPa in all cases. Means of 4 measurements $\pm$ standard deviation. Lines were fitted by hand to illustrate tendency.

515 **Figure 5** Relationship between PS II photochemical efficiency ($\Delta F/F_m'$) and photochemical efficiency of open PS II reaction centres (F_v/F_m') or photochemical fluorescence quenching (qp) as measured on control (c) or dehydrated (d) leaves of seedlings from 3 oak species under increasing incident photon flux density. Lines were fitted by hand to illustrate tendency.

Tables

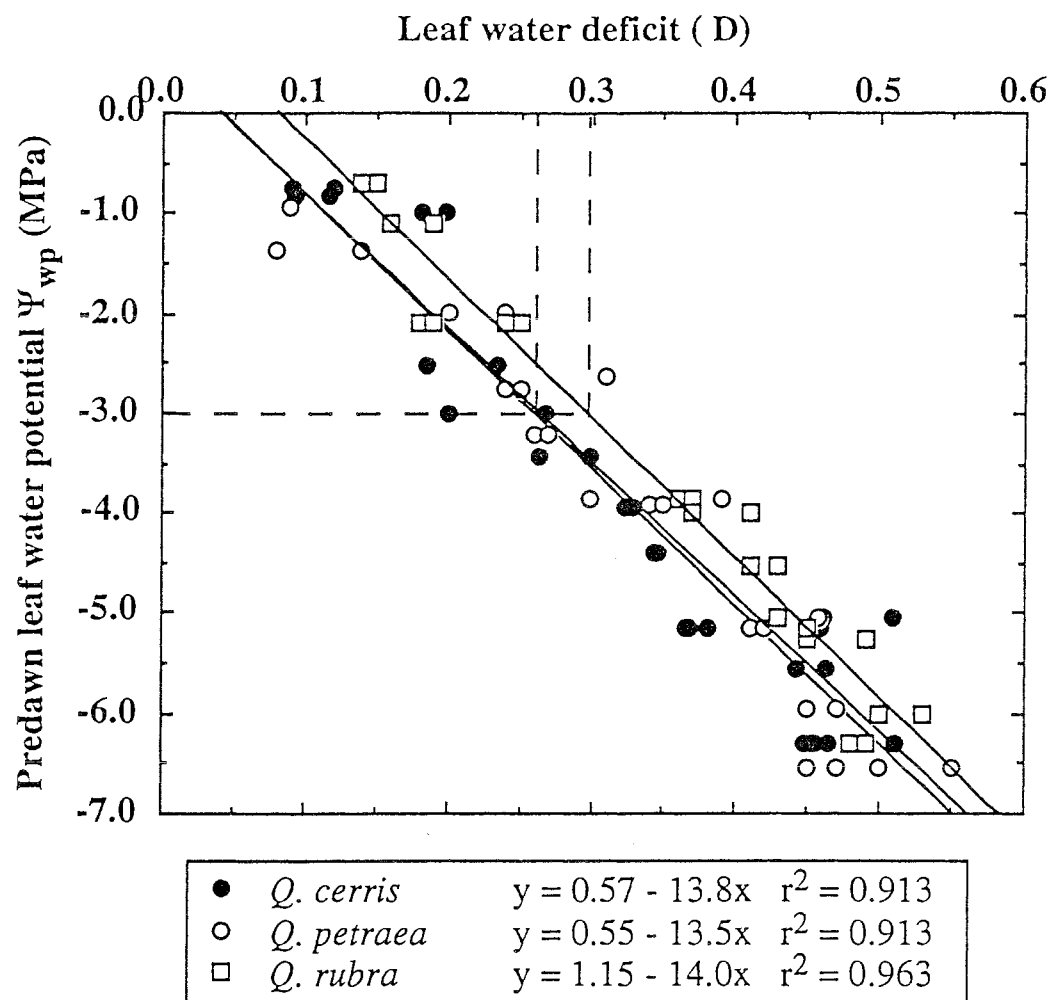
- 520 **Table I** Water relations of leafy shoots of seedlings from the 3 species as measured using pressure volume relations. π_0 : osmotic potential at full turgor, D_{tl} : leaf water deficit at turgor loss, Ψ_{wtl} : leaf water potential at turgor loss. Parentheses : standard deviation.

<i>Species</i>	π_0 (MPa)	D_{tl}	Ψ_{wtl} (MPa)
<i>Q. cerris</i>	-2.14 (0.15)	0.133 (0.036)	-2.51 (0.24)
<i>Q. petraea</i>	-1.61 (0.10)	0.141 (0.014)	-1.85 (0.06)
<i>Q. rubra</i>	-1.71 (0.04)	0.123 (0.013)	-2.07 (0.07)

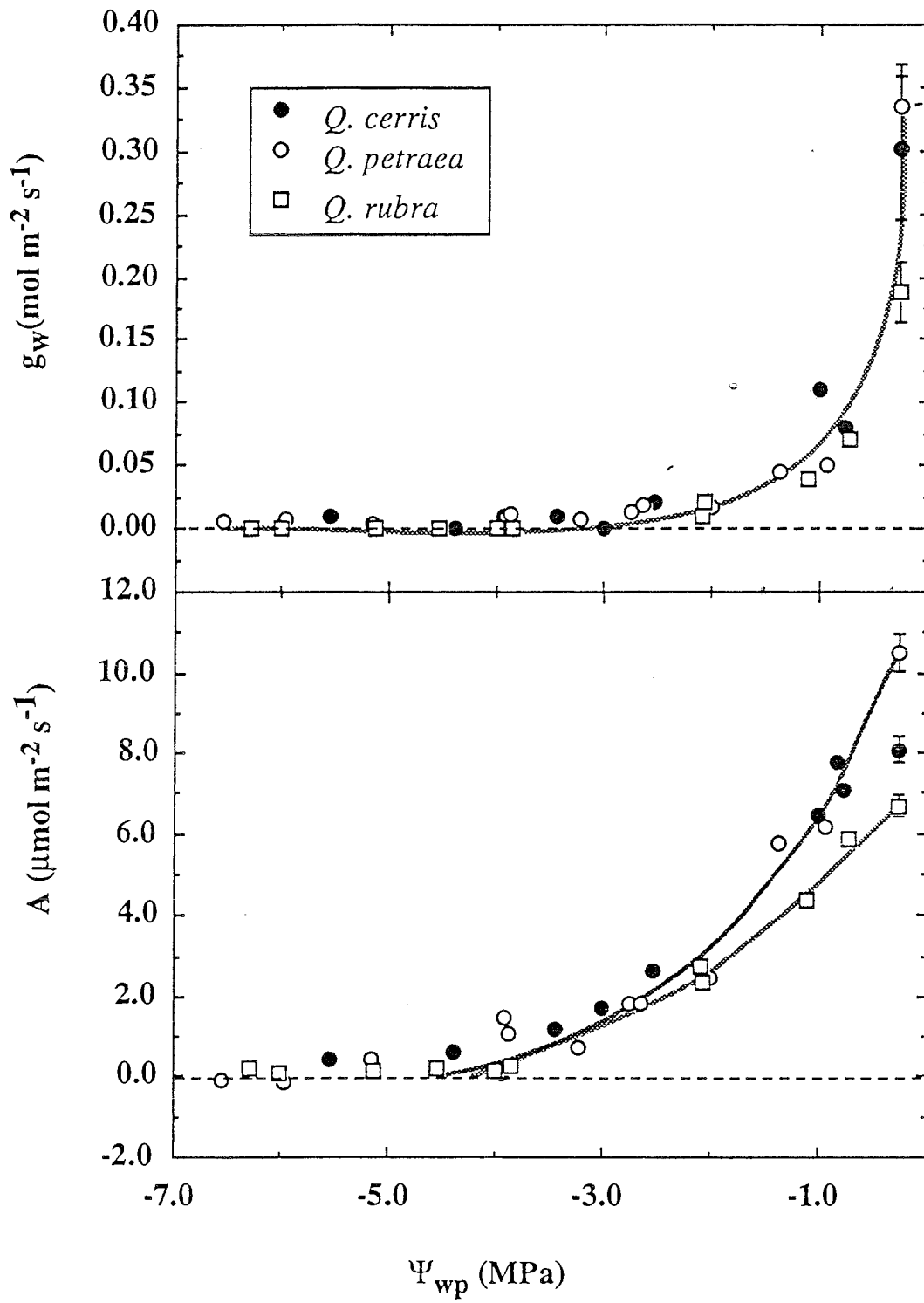
525 **Table II** Optimal photochemical efficiency (F_v/F_M) of leaves from well irrigated ($\Psi_w > -0.30$ MPa) and droughted ($\Psi_{wp} < -2.9$ MPa) seedlings of 3 oak species grown in a glasshouse as measured either on dark adapted leaves (8 h darkness) or on the same leaves after an exposure of 135 min to a high irradiance ($1750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) followed by 45 min darkness. Parentheses : standard deviation.

530

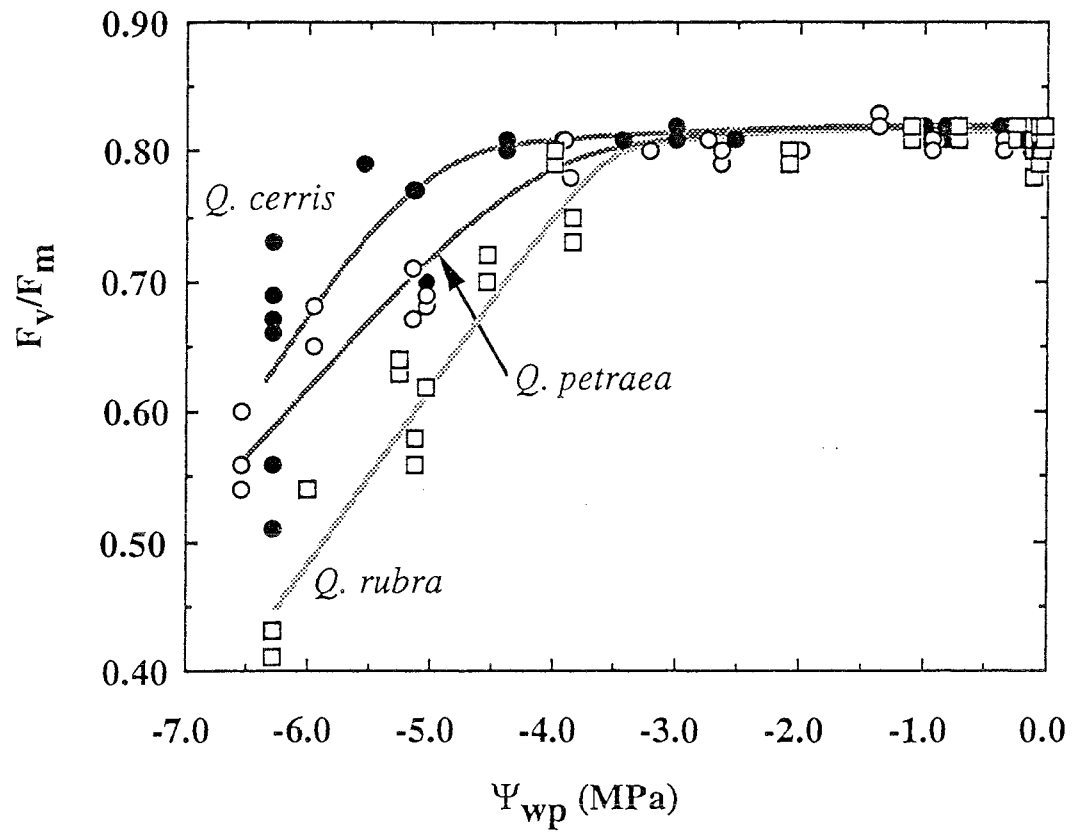
Species	Ψ_{wp} (MPa)	F_v/F_M before	F_v/F_M after	decline %
<i>Q. cerris</i>	-0.28 (0.03)	0.82 (0.01)	0.73 (0.01)	12
	-3.05 (0.41)	0.80 (0.01)	0.69 (0.02)	14
<i>Q. petraea</i>	-0.09 (0.02)	0.81 (0.01)	0.70 (0.03)	14
	-2.91 (0.39)	0.81 (0.01)	0.64 (0.03)	21
<i>Q. rubra</i>	-0.05 (0.01)	0.81 (0.01)	0.71 (0.01)	13
	-3.10 (0.19)	0.80 (0.01)	0.60 (0.02)	24



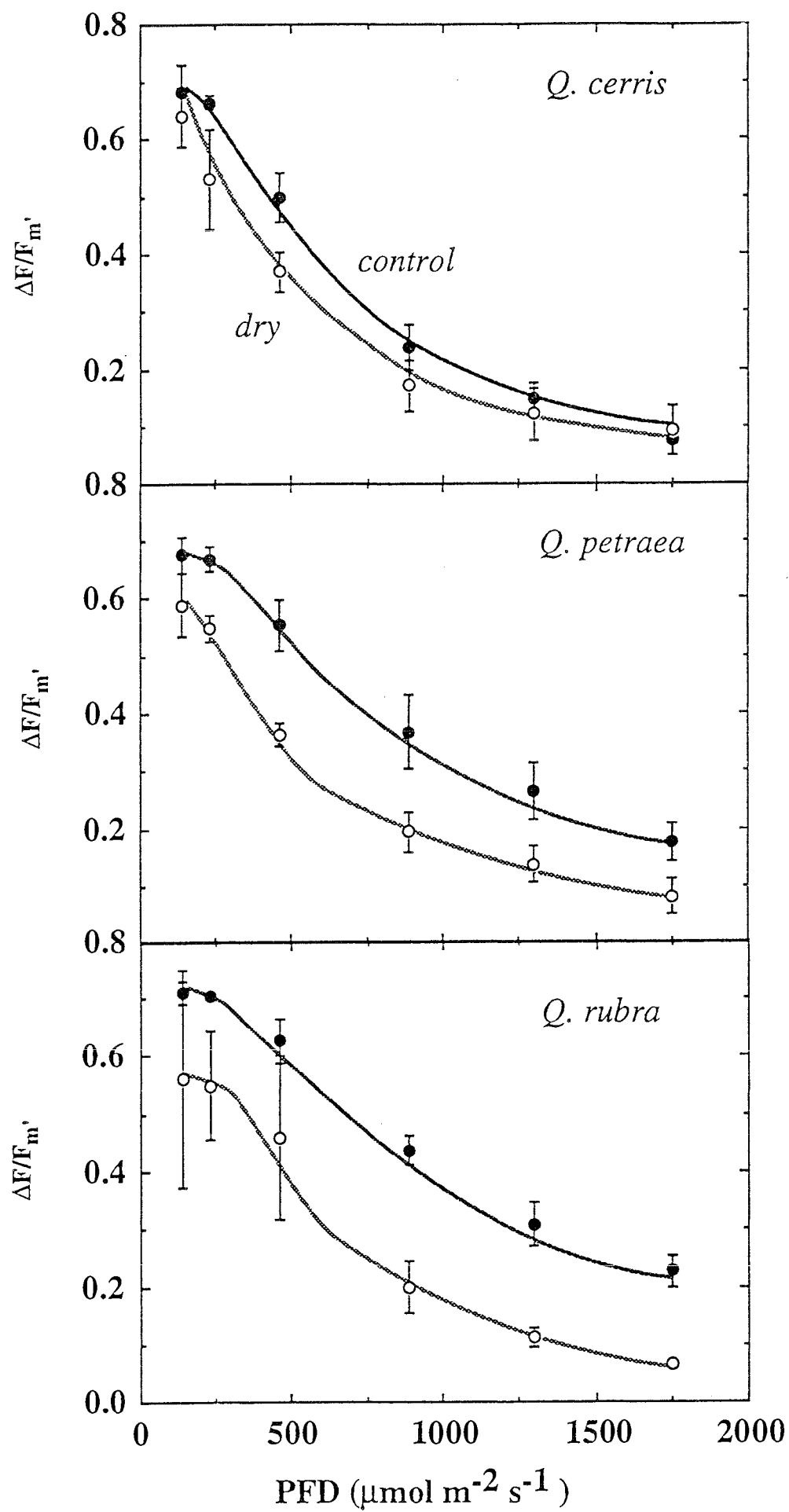
Epron et al, 1992, Fig 1.

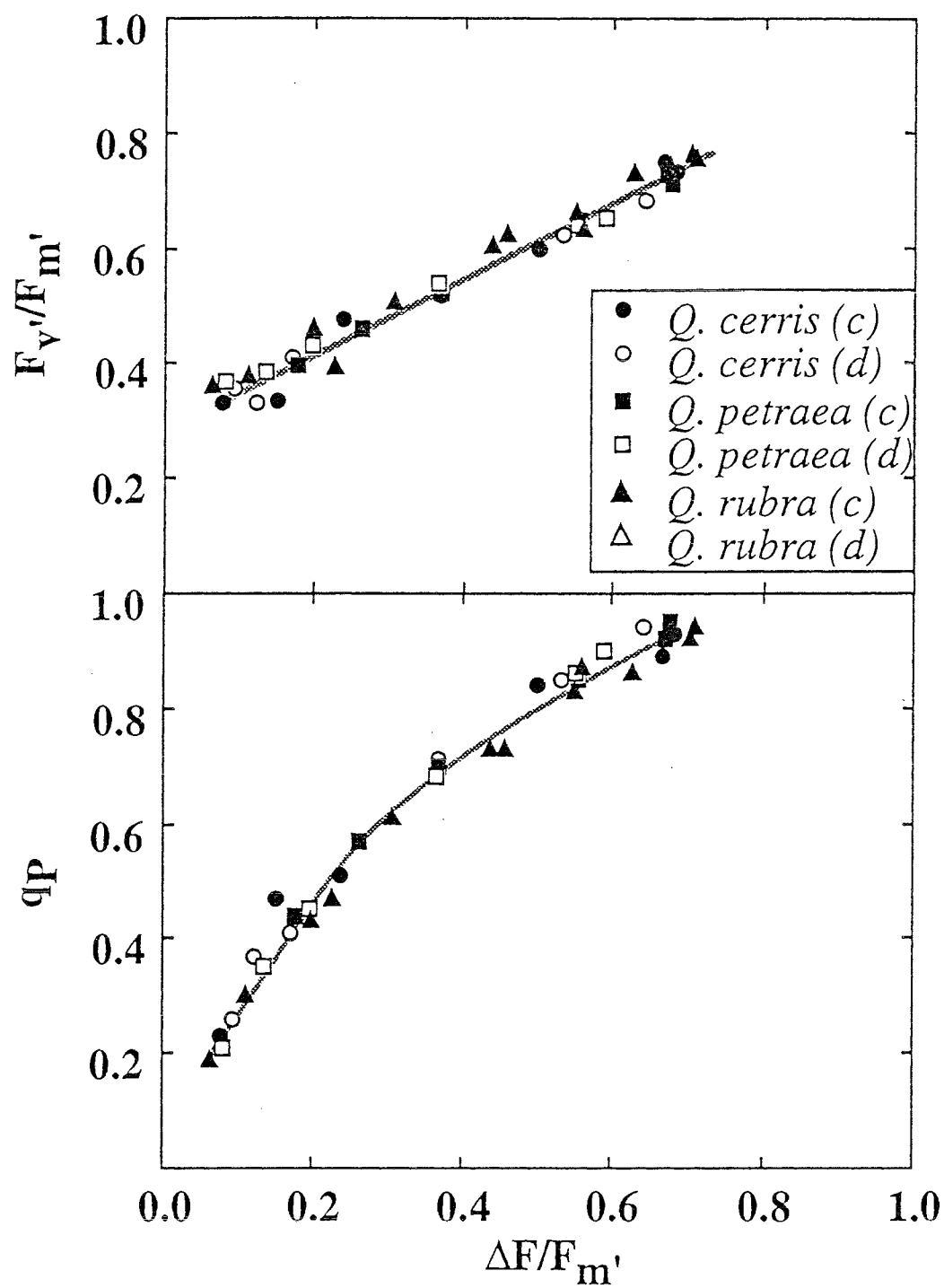


Epron et al, 1992; fig 2.



Epron et al, 1992; fig.3.





Epron et al, 1992, fig. 5

Annexe D

Photosynthesis of oak leaves under water stress : maintenance of high photochemical efficiency of photosystem II and occurrence of non-uniform CO₂ assimilation.

Daniel EPRON and Erwin DREYER*

INRA-Nancy, Laboratoire de Bioclimatologie et d'Ecophysiologie Forestière,
Champenoux, F-54280 Seichamps, France.

Running head: Photosynthesis of oak leaves under water stress

*Author to whom correspondence should be addressed.

Summary

Responses of leaf photosynthesis to drought induced decreases of water potential were analyzed with young oak saplings (*Quercus petraea* Matt. Liebl.). Net CO₂ assimilation rates (A), stomatal conductance to water vapor (g_w), photosynthetic O₂ evolution under 5% CO₂ (A_{max}) and photochemical efficiency of photosystem II were monitored in response to increasing drought. A and g_w declined readily as soon as predawn leaf water potential dropped below -1.0 MPa. The calculated intercellular concentration of CO₂ first declined, and thereafter increased again with stronger stress levels. This would have lead to the assumption that both stomatal closure and a decreased ability of mesophyll chloroplasts to reduce the available CO₂ were involved in these limitations. But this assumption was in contradiction with the limited decline of A_{max} with increasing drought, and with the complete stability we observed in the photochemistry of photosystem II and in the quantum yield of light driven electron transport. Autoradiograms of ¹⁴CO₂ fed leaves revealed non uniform assimilation rates during water stress. The potential artifact induced by this patchiness on the calculation of intercellular CO₂ is discussed.

Introduction

The effects of soil water depletion on leaf gas exchange of woody plants have been well-documented (see Jarvis and Sandford 1986, for review). Decreasing soil water content is thought to be responsible for drought-induced stomatal closure, and probably involves metabolic signals from roots in the drying zones of the soil to shoot (Wartinger et al. 1990). The decline in stomatal conductance limits net CO₂ assimilation rate through a decrease in the intercellular CO₂ concentration (c_i).

However, calculation of c_i using models of leaf CO₂ assimilation based on Fick's law for gas diffusion (Von Caemmerer and Farquhar 1981, Jones 1985) yielded a decline in c_i which was not as pronounced as predicted, in almost all drought situations. This led several authors (Teskey et al. 1986, Grieu et al. 1987, Cornic et al. 1987, Epron and Dreyer 1990) to conclude that water deficits could impair both the diffusion of CO₂ into the leaf and the mesophyll ability to fix available CO₂. In contrast, other investigations using measurements of chlorophyll a fluorescence or oxygen evolution under high CO₂ concentrations have shown that the photosynthetic apparatus was rather insensitive to leaf water deficits in herbaceous plants (Ben et al. 1987, Genty et al. 1987, Kaiser 1987). We reported similarly that the photosynthetic apparatus of oak leaves was very resistant to rapid leaf dehydration under darkness (Epron and Dreyer 1992).

Since heterogeneity in stomatal aperture over the leaf area has been reported (Laik et al. 1980), many authors observed that non-uniform gas exchange occurred in water-stressed leaves (Downton et al. 1988b, Sharkey and Seemann 1989, Ni and Pallardy 1992) and suggested that this phenomenon may have lead to overestimates in the calculation of c_i .

However, the heterogeneity in stomatal closure which has been reported in a restricted number of species cannot be considered as universal (Guehl et al. 1991). Moreover, the real effect of this phenomenon on the calculation of c_i is still under debate (Cheeseman 1991).

Since oak trees are widely distributed all over low land forests in Europe and may suffer from marked periods of drought which are thought to be at least partly responsible for the

occurrence of dieback (Becker and Levy 1982), it is of major importance to understand physiological mechanisms involved in their reactions to drought. In order to evaluate the nature of disorders induced by drought on photosynthetic processes in oak leaves, it appeared necessary to reconsider the interpretation of gas exchange studies.

In order to clarify the physiological basis of drought induced disorders in the photosynthesis of oaks, we analyzed concurrently gas exchange under ambient conditions on one hand, and oxygen evolution rates, photochemical efficiency of photosystem II (PS II) and quantum yield of light-driven electron transport under saturating light and CO₂ conditions on the other hand. Quantum yield of photosystem II was computed from chlorophyll a fluorescence measurements (Genty et al. 1989). We checked the occurrence of non uniform gas exchange by observations of autoradiograms of ¹⁴CO₂ fed-leaves of oak seedlings submitted to various levels of drought. Potential effects of this phenomenon on the relationship between A and c_i calculated from gas exchange data will be discussed.

Material and methods

Plant material and experimental conditions

Seedlings of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. were grown in a naturally illuminated greenhouse from March to October 1991, in 5 liter pots filled with a 1:1 (v/v) mixture of sand and sphagnum peat fertilized with 2.0 g of Nutricote 100 (N/P/K : 13/13/13) complemented with a mixture of oligo-elements and 4 g of magnesium chalk. The plants were irrigated daily.

One week before the onset of the experiments, twelve seedlings were transferred into a growth cabinet with following day/night conditions : 14/10 h; relative humidity (RH), 60/95 %; air temperature (T_a), 24/16 °C; Photon flux density (PFD) at the top of the plants, around 150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Drought was imposed by completely withholding water supply up to 10 days. Predawn leaf water potential (Ψ_{wp}) was monitored using a pressure chamber.

The measurements were made in a small climate chamber (PFD, 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; T_a , 25°C; RH, 40%; CO_2 molar fraction in air (c_a), 500 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) after one hour of acclimation of the seedlings. Gas exchange was measured and exposure to $^{14}\text{CO}_2$ made on fully expanded leaves of the last growing flush, whereas chlorophyll fluorescence and oxygen evolution capacity were recorded on leaf disks punched from narrow leaves.

Gas exchange measurements

Net CO_2 assimilation rates (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and stomatal conductance for water vapor (g_w , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) were measured with a portable gas exchange system (Li 6200; LiCor; USA) inside the climate chamber. The intercellular CO_2 molar fraction (c_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$) was calculated according to Von Caemmerer and Farquahr (1981). Three relationships between A and c_i , also called photosynthetic demand functions (Jones 1985), were established on well-watered plants by decreasing the ambient CO_2 molar fraction (c_a) from 600 to 100 $\mu\text{mol mol}^{-1}$.

Exposure to $^{14}\text{CO}_2$ and autoradiograms

Immediately after gas exchange measurements, the leaves were individually enclosed into a Plexiglass chamber and exposed to $^{14}\text{CO}_2$ for 2 minutes (specific activity : 40 mCi g⁻¹ C, molar fraction of CO_2 : 500 $\mu\text{mol mol}^{-1}$). Each leaf was immediately frozen between two aluminium foils in liquid nitrogen. Autoradiograms of 28 labelled leaves were made by pressing the frozen leaves against X-ray films (X-OMAT AR, Kodak). Films were exposed for one week at -20°C and then developed.

Chlorophyll fluorescence and oxygen evolution

Fluorescence measurements were carried out with a modulated fluorometer (PAM 101, Walz, Germany) on leaf disks (10 cm²) enclosed in an oxygen electrode chamber (LD2/2, Hansatech, U.K.) flushed with a humidified air containing 5% CO_2 . Both the leaf chamber and the incoming air were maintained at 25°C. Only the central part of the leaf disk (2 cm²) was illuminated through the fluorometer fibre optics. Prior to fluorescence measurements, the leaf disks were dark-adapted for 10 min. Initial fluorescence (F_0) was determined applying a modulated measuring light (0.1 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) at the frequency of 1.6 kHz. A 700 ms pulse of high intensity white light (7000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; KL1500, Schott, Germany) was used to determine maximal fluorescence (F_m). Then, the central part of the leaf disks was continuously illuminated with an actinic white light (1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; KL1500, Schott, Germany) for 20 min. The steady-state value of fluorescence (F') was recorded and a second pulse of high intensity white light was imposed to determine maximal fluorescence in this light adapted state (F_m'). The actinic light was removed and F_0' recorded. This sequence of operations is summarized on figure 1. Photochemical efficiency of PS II in the dark (F_v/F_m), of open PS II reaction centers (F_v'/F_m') and of PS II in the light ($\Delta F'/F_m'$) were calculated according to Genty et al. (1989), as:

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$$

$$F_v'/F_m' = (F_m' - F_0')/F_m'$$

$$\Delta F'/F_m' = (F_m' - F')/F_m'$$

Before switching off the actinic light, oxygen evolution rates ($A_{\max}$) were determined by closing the electrode chamber and following the increase of the O_2 partial pressure for 3 min. Calculation of $A_{\max}$ and calibration were made according to Delieu and Walker (1981).

Results

The response of leaf gas exchange of *Quercus petraea* seedlings to increasing drought is shown in Figure 2. Predawn leaf water potential (Ψ_{wp}) was used as an index of stress intensity. Both net CO₂ assimilation rates (A) and stomatal conductance to water vapor (g_w) decreased in response to the drought-induced decline in Ψ_{wp} . g_w exhibited a high variability at optimal water supply (above -0.5 MPa). Below this value, the drought induced decline was gradual, leading to low values at -3.0 MPa. The variability of A at optimal water supply was much lower (mean values around $14 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), and the gradual decline yielded low but still positive values (around $2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) at -3.0 MPa.

Figure 3 shows the mean A versus c_i relationship (demand function) obtained by decreasing c_a with three well-watered plants. Individual measurements made with water stressed seedlings were reported on the same figure. Some of them displayed a decline paralleling the demand function, but most of them deviated significantly from it. In fact, some leaves exhibited higher c_i values than predicted if only stomatal closure had contributed to the decline in A . When A dropped below $3.0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, c_i reached values as high as those observed for well-watered seedlings.

Rates of O₂ evolution under saturating conditions ($A_{\max}$, 5% CO₂ and $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PFD) were maintained at much higher levels than A (Fig 4a). Only a very limited decline could be observed, the mean values of $A_{\max}$ passing from $29.9 \mu\text{mol O}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for controls to 25.7 for water stressed. In severely water-stressed leaves which exhibited A values close to 0, $A_{\max}$ was reduced by 30% only, whereas the most dramatic decrease (65%) was observed at rather mild water deficit (Ψ_{wp} around -1.2 MPa). A linear regression between $A_{\max}$ and Ψ_{wp} yielded a significant correlation ($A_{\max} = 29.8 + 3.19 \Psi_{wp}$, $r^2=0.32$, $p=0.05$) when control plants were included, but was non significant with values obtained at Ψ_{wp} below -0.5 MPa ($A_{\max} = 21.8 + 0.20 \Psi_{wp}$, $r^2=0.001$).

Furthermore, neither the photochemical efficiency of PS II in the dark (F_v/F_m) or in the light ($\Delta F'/F_m'$), nor the photochemical efficiency of open PS II reaction centers (F_v'/F_m') were significantly reduced in response to decreasing Ψ_{wp} , when high CO_2 concentrations and saturating PFD were supplied to the leaves (Fig 4b). In fact, linear regressions to Ψ_{wp} were non significant for F_v/F_m and $\Delta F'/F_m'$ (mean values 0.795 ± 0.013 and 0.356 ± 0.041 respectively) and significant but with a very low slope for F_v'/F_m' ($F_v'/F_m' = 0.594 + 0.0213 \Psi_{wp}$, $r^2=0.265$, $p=0.05$, mean : 0.566 ± 0.045). This result demonstrated that photochemistry of PS II, light-driven electron transport and enzymatic reactions requiring ATP and NADPH from chloroplasts were not affected by the leaf water deficits induced by soil water depletion.

Autoradiograms of water-stressed leaves (Fig. 5B, C and D) clearly displayed a non-uniform distribution of $^{14}CO_2$ with more or less labelled or non labelled area distributed over the leaf surface. This contrasted with what we observed in control leaves (Fig. 5A). Non uniform gas exchange was observed in leaves of seedlings at Ψ_{wp} varying between -1.2 and -2.9 MPa.

Discussion

Both net CO₂ assimilation rates (A) and stomatal conductance to water vapor (g_w) under ambient CO₂ and limiting irradiance declined strongly in response to decreasing predawn leaf water potential (Ψ_{wp}). This decline was rather gradual, and significant rates of A and g_w were still recorded at Ψ_{wp} near -3.0 MPa. This highlights the rather good tolerance of *Quercus petraea* to drought, which had already been described by Epron and Dreyer (1990) on the same species and Bahari et al. (1985) with *Quercus alba* and *Quercus rubra*.

This gradual decline in A occurred with higher values of calculated intercellular CO₂ concentrations (c_i) than expected if stomatal closure alone would have limited A . This would lead to the conclusion that both stomatal and non stomatal factors could contribute to reduce A during drought, as pointed out earlier by many authors (Teskey et al. 1986, Griebu et al. 1987, Cornic et al. 1987, Epron and Dreyer 1990).

Measurements of O₂ evolution (A_{max}) and of chlorophyll a fluorescence at 5% CO₂ and saturating irradiance invalidated strongly this hypothesis. In fact, despite this apparent decrease in the ability of mesophyll to fix available CO₂ in water stressed seedlings, nor the photochemical efficiency of PS II in the dark (F_v/F_m) or in the light ($\Delta F/F_m'$), nor the photochemical efficiency of open PSI I reaction centers (F_v'/F_m') were reduced in response to decreasing Ψ_{wp} . This confirmed previous observations on *Quercus petraea* leaves submitted to rapid dehydration in the dark (Epron and Dreyer 1992) and water deprived *Helianthus annuus*, *Gossypium hirsutum*, *Phaseolus vulgaris* and *Elatostema repens* (Ben et al. 1987, Genty et al. 1987, Cornic et al. 1989). The limited decrease in A_{max} observed in water stressed leaves was not correlated to the intensity of drought. It must be emphasized that this decrease was observed as soon as stomatal conductance was significantly reduced ($g_w \approx 100 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Many factors may explain such a slight reduction. For instance, Chaves (1991) reported that, using the leaf disk oxygen electrode, misleading results could be obtained if CO₂ saturation is not fully achieved.

CO₂ concentration as high as 17% may be required to determine the maximal rate of O₂ evolution in dehydrated leaves of *Phaseolus vulgaris* (Cornic et al. 1989). On the other hand, Graan and Boyer (1990) reported that photosynthesis of ABA treated leaves of *Helianthus annuus* was restored at 3% CO₂ whereas photosynthesis of water stressed leaves did not completely recover. But, in contrast to our results, the decline in CO₂ saturated photosynthesis they observed was closely related to the decrease in leaf water potential and leaf dehydration took place under high irradiance conditions.

The remarkable resistance of PS II photochemistry and quantum yield of light-driven electron transport we observed in water-stressed leaves indicates that the photosynthetic apparatus of *Quercus petraea* leaves is rather resistant to leaf water deficit imposed by soil water depletion, and still able to perform at high rates provided there is a sufficient supply of CO₂ to the chloroplasts, but are inconsistent with the non-stomatal limitation of net CO₂ assimilation rate deduced from c_i calculation.

It is well-known that stomata exhibit a wide variation in their aperture over the leaf area (Laisk et al. 1980), and that non uniform gas exchange may occur if patches of stomata remain open whereas other close completely. This was observed in water-stressed leaves of *Vitis vinifera*, *Nerium oleander*, *Eucalyptus ficifolia*, *Phaseolus vulgaris*, *Quercus stellata*, *Quercus alba*, *Acer saccharum* (Downton et al. 1988b, Sharkey and Seemann 1989, Ni and Pallardy 1992), in leaves of *Helianthus annuus* and *Vitis vinifera* fed with abscisic acid (Downton et al. 1988a, Terashima et al. 1988) or in leaves of *Olea europea* and *Arbutus unedo* in response to low atmospheric humidity (Loreto and Sharkey 1990, Beyschlag et al. 1990). Autoradiograms of ¹⁴CO₂ fed leaves revealed that non uniform gas exchange also occurred in water stressed leaves of *Quercus petraea*. ¹⁴CO₂ labelling is a widely used technique for revealing non uniform gas exchange (Downton et al. 1988ab, Sharkey and Seemann 1989, Loreto and Sharkey 1990, Ni and Pallardy 1992). It should also be emphasized that the patches we observed on our leaves were not strictly delimited by leaf ribs, as expected in the strictly heterobaric leaves of *Q. petraea*, in which

lateral diffusion of CO₂ within the leaf is thought to be strongly restricted (Terashima et al. 1988).

Laisk (1983) demonstrated that calculation of mesophyll resistance (and c_i) from models based on Fick's law for gas diffusion was erroneous if net CO₂ assimilation and transpiration were not uniformly distributed over the leaf area. Terashima et al. (1988) indicated that the apparent non stomatal inhibition of photosynthesis by abscisic acid deduced from higher c_i values than predicted by models was an artifact that could be ascribed to patchy stomatal closure. On the other hand, Cheeseman (1991) developed a model taking into account the fact that the distribution of stomatal aperture all over a patch is probably normal, and concluded that the predicted changes in the appearance of A versus c_i curves should only be minor.

In our case, the discordance between the maintenance of optimal PS II photochemistry and quantum yield of light-driven electron transport in water-stressed leaves and the apparent decrease in the ability of mesophyll to fix available CO₂ supports the idea that c_i calculation is misleading in water stressed leaves of oak seedlings. Occurrence of patches may be one of the causes of this discrepancy. But our data do not support clearly the hypothesis of a generalized patchiness, and the real consequences on c_i calculation may be only limited. The existence of a significant and often neglected resistance to the liquid path diffusion of CO₂ from intercellular spaces to the chloroplastic stroma may be another one. In fact, recent measurements with different techniques revealed that oak species had lower mesophyll conductances (higher resistances) than many herbaceous species (Loreto et al. 1992). A drought induced decrease in chloroplastic CO₂ concentration evaluated from the ratio of carboxylation over oxygenation rates was reported together with maintenance of constant c_i , in *Triticum aestivum* (Renou et al. 1990) and in *Phaseolus vulgaris* (Cornic and Briantais 1991). It is still not known if this mesophyll conductance decreases significantly during drought, but some factors, as collapse of mesophyll cells

(Cornic et al. 1989), apoplast acidification or changes in the solubility of CO₂ may act. This point deserves further investigations.

We may therefore conclude that water deficits imposed rapidly (during a few days) under low light conditions limit photosynthesis by reducing the supply of CO₂ to chloroplast when stomatal conductance decreases in response to soil drought and that apparent non stomatal inhibition of photosynthesis deduced from c_i calculation is non consistent with direct observations of photosynthetic activity under non limiting CO₂. The use of c_i may be misleading due to stomatal patchiness or to changes in the mesophyll conductance to CO₂. Earlier work on oak trees which claimed such mesophyll limitation of net CO₂ assimilation (Briggs et al. 1986, Epron and Dreyer 1990, Weber and Gates 1990) have to be reevaluated in the light of these results. However, one should keep in mind that stomatal closure and consequent CO₂ deprivation may increase the impact of additional adverse environmental conditions like high light or extreme temperature which may strongly impair photosynthetic processes.

Acknowledgments

These experiments were partly performed at the Ecole Nationale d'Agronomie et des Industries Alimentaires (ENSAIA), Laboratory of Plant Sciences, Nancy-Vandoeuvre. The authors are grateful to C. Robin and P. Grieu for their help and for having provided ¹⁴CO₂ and climate chamber facilities. The help of J.M. Gioria in growing the plants and performing measurements is acknowledged.

References

- Bahari, Z.A., S.G. Pallardy and W.C. Parker. 1985. Photosynthesis, water relations and drought adaptation in six woody species of an oak-Hickory forest in central Missouri. *Forest Sci.* 31: 557-569.
- Becker, M. and G. Levy. 1982. Le dépérissement du chêne en forêt de Tronçais: les causes écologiques. *Ann. Sci. For.* 39: 439-444.
- Ben, G.Y., B.C. Osmond and T.D. Sharkey. 1987. Comparison of photosynthesis response of *Xanthium strumarium* and *Helianthus annuus* to chronic and acute water stress. *Plant Physiol.* 84: 476-482.
- Beyschlag, W., A. Phibbs and H. Pfan. 1990. The role of temperature and humidity in controlling the diurnal stomatal behavior of *Arbutus unedo* L. during the dry season. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 186: 265-271.
- Brigg, G.M., T.W. Jurik and D.M. Gates. 1986. Non-stomatal limitation of CO₂ assimilation in three species during natural drought conditions. *Physiol. Plant.* 66: 521-526.
- Chaves, M.M. 1991. Effects of water deficits on carbon assimilation. *J. Exp. Bot.* 42: 1-16.
- Cheeseman, J.M. 1991. Patchy: simulating and visualizing the effects of stomatal patchiness on photosynthetic CO₂ exchange studies. *Plant Cell Environ.* 14: 593-599.
- Cornic G. and J.M. Briantais. 1991. Partitioning of photosynthetic electron flow between CO₂ and O₂ reduction in a C₃ leaf (*Phaseolus vulgaris* L.) at different CO₂ concentrations and during drought stress. *Planta* 183: 178-184.
- Cornic, G., I. Papagiorgiou and G. Louason. 1987. Effect of a rapid and a slow drought cycle followed by rehydration on stomatal and non stomatal components of leaf photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* L. *J. Plant Physiol.* 126: 309-318.
- Cornic, G., J.L. Le Gouallec, J.M. Briantais and M. Hodges. 1989. Effect of dehydration and high light on photosynthesis of two C₃ plants (*Phaseolus vulgaris* L., *Elatostema repens* (Lour) Hall f). *Planta* 177: 84-90.

- Delieu, T. and D.A. Walker. 1981. Polarographic measurement of photosynthetic oxygen evolution by leaf discs. *New Phytol.* 89: 165-178.
- Downton, W.J.S., B.R. Loveys and W.J.R. Grant. 1988a. Stomatal closure fully accounts for the inhibition of photosynthesis by abscisic acid. *New Phytol.* 108: 263-266.
- Downton, W.J.S., B.R. Loveys and W.J.R. Grant. 1988b. Non uniform stomatal closure induced by water stress causes putative non stomatal inhibition of photosynthesis. *New Phytol.* 110: 503-509.
- Epron, D. and E. Dreyer. 1990. Stomatal and non stomatal limitation of photosynthesis by leaf water deficits in three oak species: comparison of gas exchange and chlorophyll a fluorescence data. *Ann. Sci. For.* 47:435-450
- Epron, D. and E. Dreyer. 1992. Effects of severe dehydration on leaf photosynthesis in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.: photosystem II efficiency, photochemical and non photochemical fluorescence quenchings and electrolyte leakage. *Tree Physiol.* 10: 273-284.
- Genty B., J.M. Briantais and N.R. Baker. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochem. Biophys. Acta* 990: 87-92.
- Genty, B., J.M. Briantais and J.B. Vieira da Silva. 1987. Effects of drought on primary photosynthetic processes of cotton leaves. *Plant Physiol.* 83: 360-364.
- Graan, T. and J.S. Boyer. 1990. Very high CO₂ partially restores photosynthesis in sunflower at low water potentials. *Planta* 181: 378-384.
- Grieu, P., J.M. Guehl and G. Aussenac. 1988. The effects of soil and atmospheric drought on photosynthesis and stomatal control of gas exchange in three coniferous species. *Physiol. Plant.* 73: 97-104.
- Guehl, J.M., G. Aussenac, J. Bouachrine, R. Zimmermann, J.M. Pennes, A. Ferhi and P. Grieu. 1991. Sensitivity of leaf gas exchange to atmospheric drought, soil drought, and water-use efficiency in some Mediterranean *Abies* species. *Can. J. For. Res.* 21: 1507-1515.

- Jarvis, P.G. and A.P. Sandford. 1986. Temperate forests. In Photosynthesis in contrasting environments. Eds. N.R. Baker and S.P. Long. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp.199-236.
- Jones, H.G. 1985. Partitioning of stomatal and non stomatal limitations to photosynthesis. Plant Cell Environ. 8: 98-104.
- Kaiser, W.M. 1987. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. Physiol. Plant. 71: 142-149.
- Laik A. 1983. Calculation of leaf photosynthetic parameters considering the statistical distribution of stomatal apertures. J. Exp. Bot. 34: 1627-1635.
- Laik, A., V. Oja and K. Kull. 1980. Statistical distribution of stomatal apertures of *Vicia faba* and *Hordeum vulgare* and the Spannungsphase of stomatal opening. J. Exp. Bot. 31: 49-58.
- Loreto, F., P.C. Harley, G. Di Marco and T.D. Sharkey. 1992. Estimation of mesophyll conductance to CO₂ flux by three different methods. Plant Physiol. 98: 1437-1443.
- Loreto, F. and T.D. Sharkey. 1990. Low humidity cause uneven photosynthesis in olive (*Olea europea* L.) leaves. Tree Physiol. 6: 409-415.
- Ni, B.R. and S.G. Pallardy. 1992. Stomatal and non-stomatal limitations to net photosynthesis in seedlings of woody angiosperms. Plant Physiol. 99: 1502-1508.
- Renou, J.L., A. Gerbaud, D. Just and M. André. 1990. Differing substomatal and chloroplastic CO₂ concentrations in water-stressed wheat. Planta 182: 415-419.
- Sharkey T.D. and J.R. Seemann. 1989. Mild water stress effects on carbon-reduction-cycle intermediates, ribulose biphosphate carboxylase activity and spatial homogeneity of photosynthesis in intact leaves. Plant Physiol. 89: 1060-1065.
- Terashima, I., S.C. Wong, C.B. Osmond and G.D. Farquhar. 1988. Characterization of non-uniform photosynthesis induced by abscisic acid in leaves having different mesophyll anatomy. Plant Cell Physiol. 29: 385-394.
- Teskey, R.O., J.A. Fiotes, L.J. Samuelson and B.C. Bongarten. 1986. Stomatal and non stomatal limitations to net photosynthesis in *Pinus teada* L. under different environmental conditions. Tree Physiol. 2: 131-142.

- Von Caemmerer S. and G.D. Farquhar. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153: 376-387.
- Wartinger A., H. Heilmeyer, W. Hartung and E.D. Schulze. 1990. Daily and seasonal courses of leaf conductance and abscisic acid in the xylem sap of almond trees [*Prunus dulcis* (Miller) D.A. Webb] under desert conditions. *New Phytol.* 116: 581-587.
- Weber, J.A. and D.M. Gates. 1990. Gas exchange in *Quercus rubra* (Northern Red Oak) during a drought: analysis of relations among photosynthesis, transpiration, and leaf conductance. *Tree Physiol.* 7: 215-225.

Figure captions

Figure 1. Fluorescence signals and measured parameters. Dark adapted leaf disks (10 min) were enclosed in a chamber flushed with air at 5% CO₂. They were first illuminated with a modulated light (L_m) and initial fluorescence (F₀) was recorded. A 700 ms pulse of high intensity white light (L_s) was used to determine maximal fluorescence (F_m). Then, the leaf disk were continuously illuminated with an actinic white light (L_a, 1200 μmol m⁻² s⁻¹) for 20 min. The steady-state value of fluorescence (F') was recorded and a second pulse of high intensity white light was imposed to determine maximal fluorescence in this light adapted state (F_m'). The actinic light was removed and F₀' recorded. A measurement of O₂ evolution was performed during the three last minutes before switching off the actinic light (A_{max}).

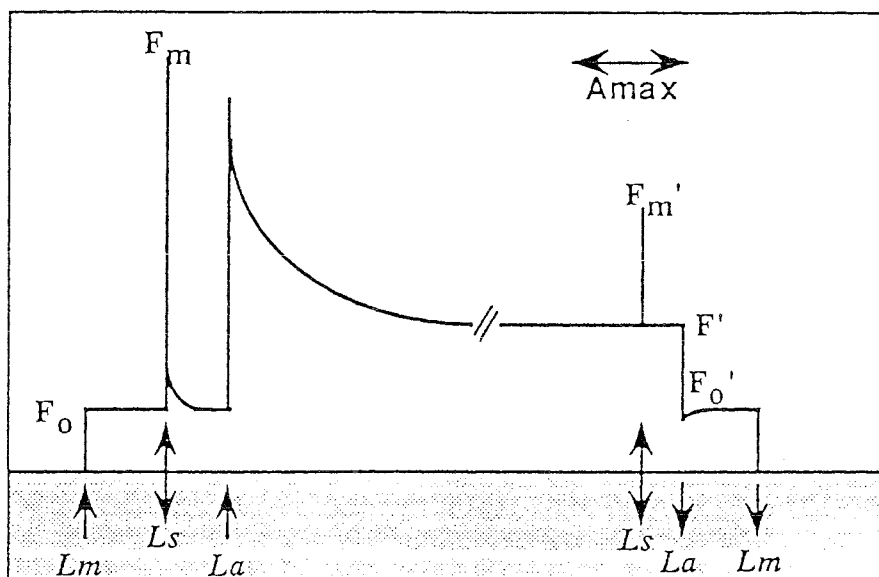
Figure 2. Relationships between predawn leaf water potential (Ψ_{wp}) and (a) stomatal conductance to water vapor (g_w) or (b) net CO₂ assimilation rate (A) during progression of drought. Each point represents an individual measurement. 12 seedlings of *Quercus petraea* were used in this experiment. Curves were eye fitted to illustrate tendency.

Figure 3. Relationships between calculated intercellular CO₂ molar fraction (c_i) and net CO₂ assimilation rate (A) measured at an ambient CO₂ molar fraction of 500 μmol mol⁻¹ during progression of drought. Each point represents an individual measurement. 12 seedlings of *Quercus petraea* were used in this experiment. The regression curve was fitted to data points (not shown) from A vs c_i relationships established on three well-watered plants by decreasing the ambient CO₂ molar fraction from 600 to 100 μmol mol⁻¹ (r = 0.987).

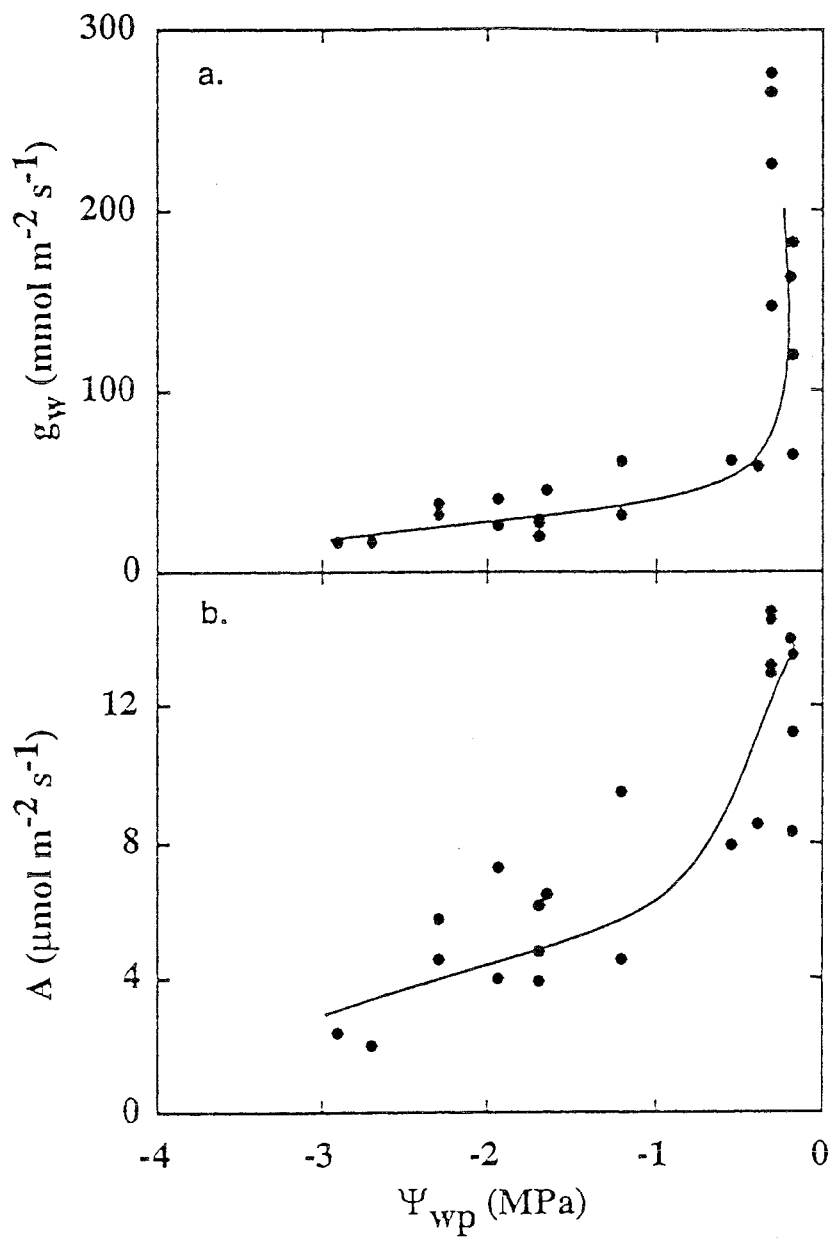
Figure 4. Relationships between predawn leaf water potential (Ψ_{wp}) and (a) oxygen evolution rate (A_{max}) or (b) photochemical efficiency of PSII in the dark (F_v/F_m, ●), of open PSII reaction center (F_v'/F_m', □) and of PSII in the light (ΔF'/F_m', ▲) during

progression of drought. Each point represents an individual measurement done in air containing 5% CO₂. 12 seedlings of *Quercus petraea* were used in this experiment. Solid lines, linear regressions fitted to all data points; dashed line, linear regression fitted to data recorded on water stressed seedlings ($\Psi_{wp} < -0.5$ MPa).

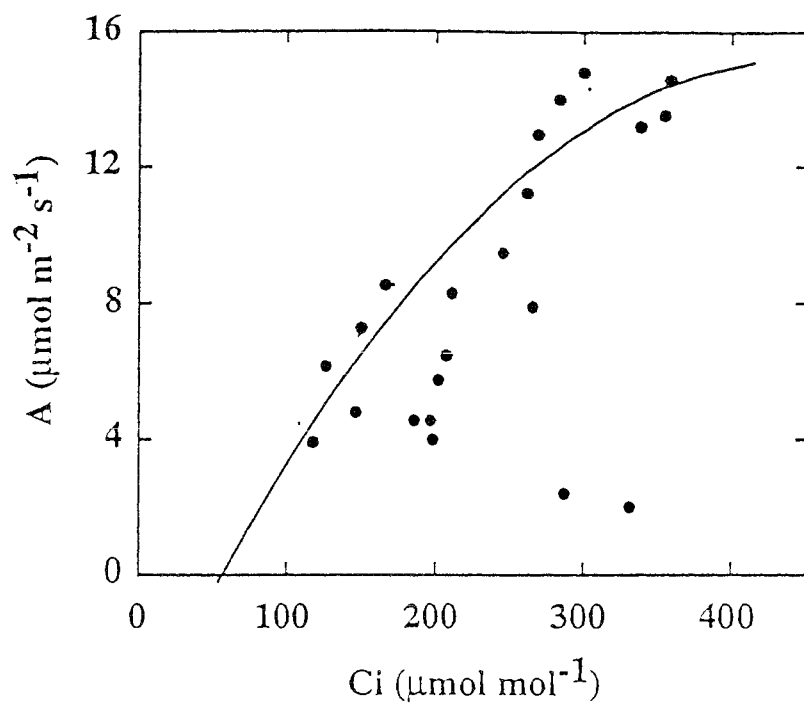
Figure 5. Representative autoradiograms of leaves of *Q. petraea* seedlings frozen immediately after 2 min exposure to ¹⁴CO₂. ¹⁴CO₂ labelling were done in a Plexiglass chamber immediately after gas exchange measurements. White areas have fixed ¹⁴CO₂. Predawn leaf water potential were -0.30 (A), -1.95 (B), -2.15 (C) and -2.90 (D).



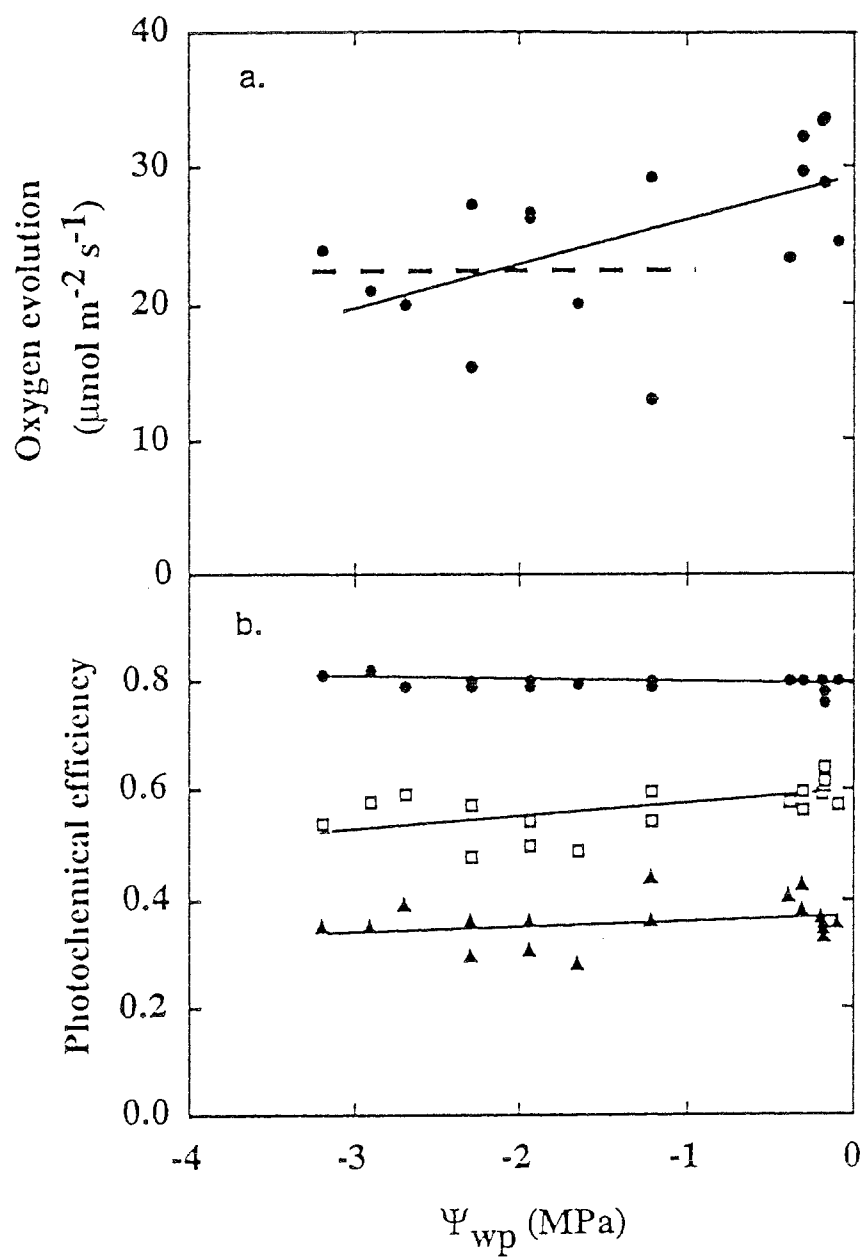
EPRON and DREYER
fig. 1



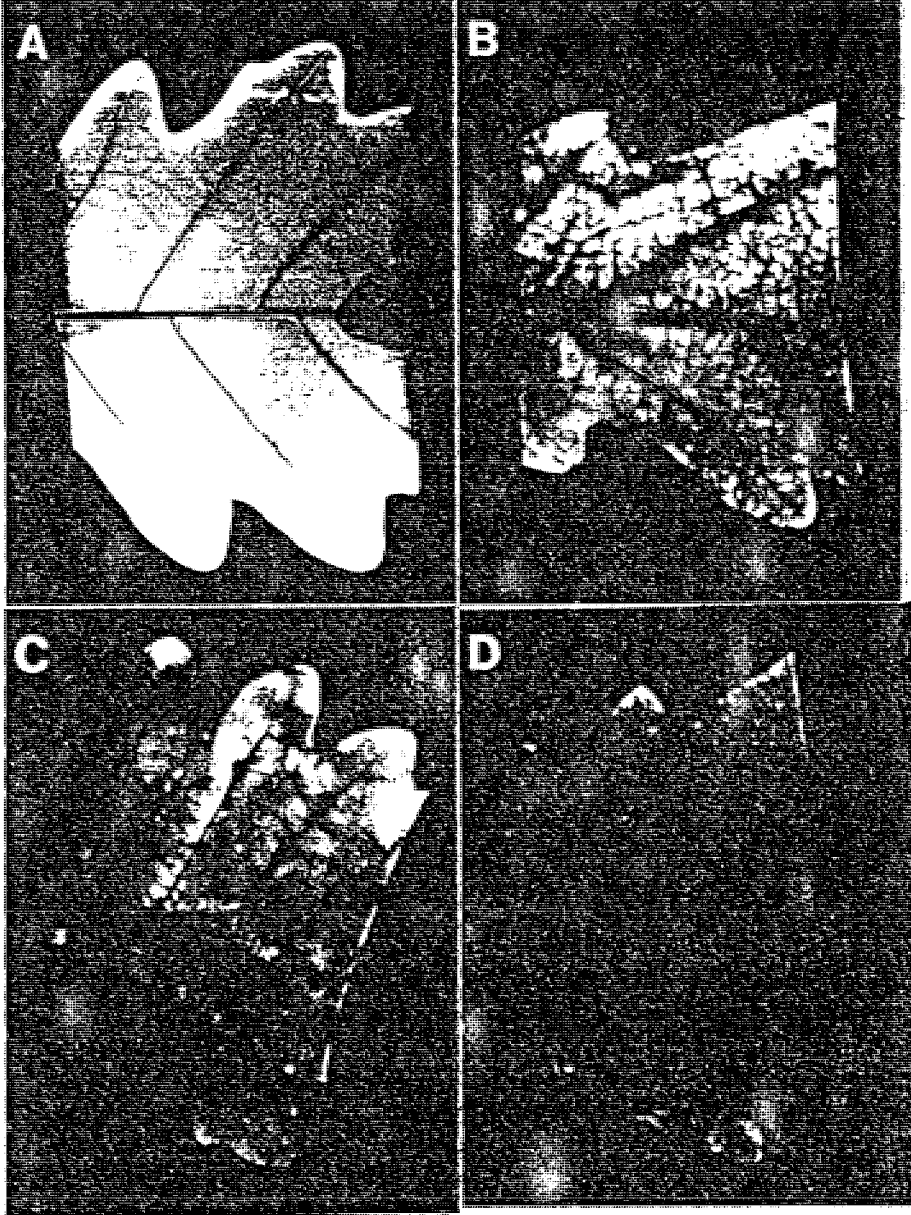
EPRON AND DREYER
Fig. 2



EPRON AND DREYER
Fig. 3



EPRON AND DREYER
Fig. 4.



HERB and DREYER
Fig. 5

Compared effects of drought on photosynthesis of adult oak trees (*Quercus petraea* [Matt.] Liebl. and *Quercus robur* L.) in a natural stand.

Daniel Epron and Erwin Dreyer.

INRA-Nancy, Laboratoire de Bioclimatologie et Ecophysiologie Forestières,
Champenoux, F-54280 Seichamps, France.

10

Correspondence and reprints: Erwin Dreyer, INRA-Nancy, Laboratoire de
Bioclimatologie et Ecophysiologie Forestières, Champenoux, F-54280 Seichamps,
France.

Running head: Drought and photosynthesis in two Oak species.

20

Summary

Effects of drought on photosynthesis of two co-occurring oak species (*Quercus robur* and *Q. petraea*) have been assessed under natural conditions in a 30 year old stand. Leaf conductance and net CO₂ assimilation rates have been measured at midday *in situ* during two successive summers (1991 and 1992). Chlorophyll a fluorescence parameters were monitored at predawn during summer 1991. A strong drought was imposed on 2 trees per species, resulting in decreases of predawn leaf water potential till about -2.0 MPa during both years. Both species showed the same overall response to drought : gradual decrease of net assimilation and leaf conductance but maintenance at substantial levels till strong water deficits, stability of the predawn photochemical efficiency of PS II during the whole period of stress, and declines in predawn fluorescence (both basic and maximal levels) due to probable changes in optical properties of leaves during maturation. It was concluded that both species displayed a strategy of tolerance to drought, and that they displayed efficient protection mechanisms against permanent high irradiance damage. Slight differences were observed between both species, *Q. robur* displaying smaller leaves, lower chlorophyll contents, and overall a lower intrinsic water use efficiency than *Q. petraea*. Significance of this finding is discussed in relation to the ecological requirements known for each of these species.

40

Keywords: *Quercus petraea*, *Quercus robur*, oak, drought, water stress, photosynthesis, chlorophyll fluorescence, photochemical efficiency

Abbreviations : PS II : photosystem II ; F_0 : basal fluorescence ; F_m : maximal fluorescence ; F_v/F_m : photochemical efficiency of PS II ; A ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) : net CO₂ assimilation rate ; g_w ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) : leaf conductance to water vapour ; A/g_w : intrinsic water use efficiency ; c_i ($\mu\text{mol mol}^{-1}$) : intercellular CO₂ mole fraction ; Ψ_{wp} (MPa) : predawn leaf water potential ; Ψ_{wm} (MPa) : midday leaf water potential.

Introduction

50 Oak trees, *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L., are among the major broadleaved species used for timber production in Western Europe and are widely distributed in lowland forests all over France, frequently associated in mixed stands. The comparison of ecological conditions characterising pure stands of both species clearly indicated a higher requirement in soil nutrient and water supply for *Q. robur* than *Q. petraea* (Becker & Levy, 1990). It was also well-established that marked periods of drought (like in Spring and Summer 1976) were at least partly responsible for the occurrence of severe dieback, affecting mainly *Q. robur* even in mixed stands (Becker & Levy, 1982). However, this apparent difference in tolerance to drought was not confirmed by comparative studies on seedlings or saplings of many European oak
60 species ; all of them displayed a very similar behaviour in respect to drought induced limitations of photosynthetic activity (Epron, Dreyer & Aussenac, 1993).

The physiological mechanisms leading to growth reduction and dieback induction are still poorly known. Limitation of photosynthetic CO₂ assimilation could be one of the reasons for growth cessation. It has been attributed to stomatal closure resulting in a lower CO₂ supply for photosynthesis, and/or to a decrease in mesophyll photosynthetic capacity. Recent results suggest that the photosynthetic apparatus is rather resistant to leaf water deficits *per se* (Kaiser, 1987 ; Cornic *et al.*, 1989 ; Epron & Dreyer, 1992). Under natural conditions, interactions with many other environmental factors like high
70 temperature and irradiance, as well as the duration of drought, may nevertheless cause disorders to the photosynthetic apparatus. In particular, CO₂ deprivation at chloroplast level could induce photodamage to photosystem II, as a consequence of excessive light energy reaching photochemical reaction centres (Powles, 1984). Effects of environmental constraints during long term drought have therefore to be tested under natural conditions in order to reveal potential differences in the drought sensitivity between both species.

During Summer 1991 and 1992, mature *Q. petraea* and *Q. robur* trees were submitted to periods of controlled drought. Predawn leaf water potential was recorded every week to quantify stress intensity. Leaf gas exchange rates were recorded several times during the growing seasons to characterise the intensity of limitations in photosynthetic activity. The potential occurrence of photodamage was tested by means of the chlorophyll fluorescence emitted by dark-adapted leaves.

Material and methods

1. Experimental site

The experiments were conducted during Summer 1991 and 1992 in a thirty year old and 16m high stand of *Quercus petraea* [Matt.] Liebl. and *Q. robur* L. near Nancy (48°44' N ; 6°14' E ; 237 m. elevation). Average annual temperature and rainfall are respectively 9.1°C and 700 mm. (Aussenac, Desjeunes & Willm, 1981). The stand consisted mainly
90 of *Q. petraea* with a few *Q. robur* clustered individuals.

Four dominant *Q. petraea* and four *Q. robur* trees were included into a simplified lysimetre to be submitted to soil water depletion. Rainfall was prevented by a plastic roof built under the canopy and lateral drainage water was removed in 1m deep trenches. During both years, similar trees were selected to build the control plot. Water was withheld from end of June on. A detailed description of this experimental design may be found in Bréda *et al.* (1992).

Two control and droughted trees from each species were followed during Summer 1991 and 1992. All measurements were done on leaves selected at random in the upper part of the tree crowns, at about 16 m above soil level. All data were analysed using one or two
100 factor analysis of variance or linear regression, and significant differences were tested at $P < 0.05$. Stand microclimate, especially minimal and maximal air temperature, was monitored 2m above the canopy all over the seasons.

2. Predawn leaf water potential

Predawn leaf water potential (Ψ_{wp}) was monitored once weekly by means of a Scholander pressure chamber, in order to quantify drought intensity. Two leaves of each tree were sampled prior dawn and measured immediately.

3. Leaf gas exchange

110 Net CO₂ assimilation rates (A), leaf conductance for water vapour (g_w) and intercellular CO₂ molar fraction (c_i) were measured on three to five attached leaves per tree between

11 and 13 h UT to estimate the extent of limitation imposed to leaf gas exchange during the daily peak of irradiance. Measurements were made *in situ* with a portable gas exchange system (Li 6200, Li Cor, USA) under natural climate and irradiance. c_i and g_w were calculated according to Von Caemmerer & Farquhar (1981) and using values of boundary layer conductance (g_{bw} , $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) computed from individual leaf area (LA, cm^2) by a regression established experimentally with wet filter papers ($1/g_{bw} = 0.025 \cdot \text{LA} + 0.2571$). Both A and g_w were expressed on a leaf area basis, the latter being measured with a video camera coupled to an image analyser (ΔT Devices, U.K.). Values measured at PPFD below $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ were discarded from final analysis. Leaf dry weight was used to compute leaf specific weight (LSW).

4. Chlorophyll a fluorescence

Chlorophyll a fluorescence from photosystem II (PS II) was recorded at wavelengths around 690 nm and at room temperature with a pulse modulated fluorometre (PAM 101, Walz, Germany). Leaf disks (20 mm diameter) were enclosed into an aluminium disk holder maintained at 22°C by means of Peltier elements. Five to six leaves were randomly sampled at dawn from each tree every two weeks, stored in a humidified plastic bag and transferred to the laboratory. Leaves were kept in darkness before fluorescence measurement. Total time-lag between sampling and measurement never exceeded three hours.

Initial fluorescence (F_0) was determined by using a pulsed light-emitting diode ($<0.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). At such a low light intensity, all PS II reaction centres are in an "open" state, and the rate of photochemistry is not limited. Superimposing a saturating flash of white light (0.7 s; $4000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) provided by a cold light source (Schott KL1500, Germany) yielded the maximal fluorescence level (F_m); at this stage, all PS II reaction centres are closed due to complete reduction of primary electron acceptors. F_0 and F_m were recorded at a measuring beam frequency of 1.6 and 100 kHz respectively. The photochemical efficiency of PS II of these dark adapted leaves was calculated from the

140 ratio of variable to maximal fluorescence ($F_v/F_m = (F_m - F_o) / F_m$), according to Genty, Briantais & Viera da Silva (1987).

Following fluorescence measurements, leaf disks were plunged into 5 mL dimethyl sulphoxide and stored at -20°C during a few days. Chlorophylls were extracted at 65°C for 90 min and determined spectrometrically at 645 and 663 nm according to Hiscox & Israelstam (1979).

Results

Weather conditions and predawn leaf water potential

Weather conditions during the two study Summers (1991 and 1992) were different, with
150 highest temperatures during 1991. Average daily maximum temperature from day 175 to
day 265 were respectively 24.5°C and 23.3°C in 1991 and 1992 ; peak temperatures
reached values above 30°C during a few days (Figure 1). In fact, Summer 1991 was
marked by a rain shortage, while Summer 1992 was rather wet. Predawn leaf water
potential (Ψ_{wp}) of water stressed *Q. petraea* displayed similar time-courses during both
growing seasons, with a slow decrease from -0.5 to -1.0 MPa in July and a steeper one
till -2.0 MPa in August (Figure 1). Ψ_{wp} increased again in October 1991, following an
important rainfall. In 1991, Ψ_{wp} displayed a very similar pattern in *Q. robur* but
remained slightly higher during maximal drought. But it did not differ significantly
between both species. In contrast, the decrease in Ψ_{wp} was significantly less marked in
160 *Q. robur* than in *Q. petraea* during Summer 1992. In 1992, control trees displayed almost
constant and high values of Ψ_{wp} during the whole summer because of frequent rainfall,
while a marked decrease occurred on these trees during 1991. Heavy irrigation overcame
this temporary stress in the middle of August. The difference in Ψ_{wp} between water
stressed and control trees of both species was significant from the beginning to the end of
the season in 1992, whereas significant differences only occurred from the middle of
August in 1991.

Leaf gas exchange

Computation of mean values of individual leaf area and leaf specific weight (Table 1)
170 revealed significant differences in leaf structure between both species but not between
treatments. In summer 1992, *Q. petraea* displayed larger leaves (+34%), with
approximately the same leaf specific weight . Drought had no significant effect on any of
these parameters. Measurements on other *Q. petraea* trees in the stand yielded consistent

results (data not shown), which observation confirms the representativeness of our selected trees. *Q. robur* were too few for any significant comparison.

Both during 1991 (Table 2) and 1992 (Figure 2), we observed high rates of net CO₂ assimilation at midday on well watered trees from both species (A around 15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Values as high as 12.5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ have even been recorded on trees at Ψ_{wp} below -1.0 MPa. Stronger decreases in Ψ_{wp} led to marked reduction in A , but substantial values of A (around 3-4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) were still recorded at Ψ_{wp} as low as -2.0 MPa. Similar trends were observed for stomatal conductance (g_w). Both A and g_w exhibited a strong variability, with higher values during days of low vapour pressure deficit. Nevertheless, we observed during the whole season significantly higher values of g_w in well watered *Q. robur* than in *Q. petraea*, while values measured on stressed trees did not differ. The significantly lower leaf area in *Q. robur* (Table 1) leading to a higher boundary layer conductance (g_{bw}) on leaves during gas exchange measurements, was not responsible for these differences (data not shown).

Figure 3 presents the same values of A and g_w plotted against Ψ_{wp} . Low but still significant values of A and g_w were observed at Ψ_{wp} below -1.2 MPa. The overall trend of A and g_w in response to decreasing Ψ_{wp} displayed a strong variability at high Ψ_{wp} (above -1.0 MPa), and reduced values below this threshold. The higher values of g_w in *Q. robur* at high Ψ_{wp} appeared again, but no interspecific difference in the response to Ψ_{wp} could be detected.

Calculated values of c_i appeared as rather constant along the summer and did not significantly respond to drought (Figure 2 and Table 2). *Q. robur* frequently exhibited higher values than *Q. petraea*, which was a direct consequence of higher leaf conductance with similar rates of A . The relationship between A and g_w showed typically two parts (Figure 4). At g_w above 200 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, A was saturated and did not respond to

further increases in g_w . Mean values of the intrinsic water use efficiency (A/g_w) in this zone was variable and significantly higher for *Q. petraea* than for *Q. robur* (0.0695 ± 0.0134 and 0.0574 ± 0.0122 respectively). For g_w below $200 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, a linear relationship was found between A and g_w : $A = 0.081 \cdot g_w + 0.02$, $r = 0.92$ and $A = 0.068 \cdot g_w + 0.11$, $r = 0.88$ for *Q. petraea* and *Q. robur* respectively. The slope was significantly higher in the former than in the latter species, and the y-intercept was not significantly different from zero in both cases. It has to be emphasised that A/g_w increased in response to first steps of drought and remained constant thereafter.

210

Chlorophyll a fluorescence and chlorophyll content

Chlorophyll a fluorescence were measured predawn and chlorophyll content determined on the same leaf disks during the whole 1991 growing season (Figure 5). Both fluorescence levels F_0 and F_m exhibited a strong decrease (around 35%) during July and remained almost constant during August with a slow re-increase at the end of the summer. Despite these seasonal variations, the photochemical efficiency of PSII (F_v/F_m) remained constant and near the optimal values of 0.834 during all the time. No interspecific nor drought related changes could be detected in any of these parameters.

220 Similarly, leaf chlorophyll content remained quite constant at rather high levels (around 6 mg dm^{-2}) all over the season. No significant difference occurred between water-stressed and control trees, whereas leaves of *Q. robur* exhibited slightly but significantly lower chlorophyll contents than *Q. petraea*. Average values for summer 1991 were 5.56 (± 0.90) and 5.83 (± 0.80) for *Q. robur* and 6.36 (± 0.84) and 6.32 (± 0.94) for *Q. petraea* respectively on droughted and control trees. Similar values were recorded on the same trees during Summer 1992 and the interspecific difference was confirmed (data not shown)

Discussion

230 During the course of imposed drought in summer 1991 and 1992, predawn leaf water potentials Ψ_{wp} reached values as low as -2.0 MPa, which indicates a rather severe water stress. Indeed, during the natural drought of summer 1989, Ψ_{wp} of trees from the same stand never dropped below -1.3 MPa (Bréda, unpublished). Daily minimal values of leaf water potential measured on the same trees reached -3.3 MPa (Bréda *et al.*, 1992). Turgor loss was found to occur around -3.0 MPa on dehydrating twigs from the same trees (Dreyer, Bousquet & Ducrey, 1990).

Quercus petraea and *Q. robur* exhibited high rates of net CO₂ assimilation (around 15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) at midday under optimum water supply and saturating irradiance. These values were higher than those reported for many other mesophytic broad-leaved species,
240 including *Q. alba* (10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; Dougherty & Hinckley, 1981), *Q. rubra* (12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; Jurik, 1986) or *Acer saccharum* (6 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; Reich, Walters & Ellsworth, 1991).

At low Ψ_{wp} , A and g_w were reduced in both species. But severely water-stressed trees (Ψ_{wp} around -2.0 MPa) still exhibited significant CO₂ uptake rates at midday, and a decrease in Ψ_{wp} till -1.0 MPa did not systematically promote a significant inhibition of A. Measurements of stomatal conductance using a different porometre yielded similar maximal values (around 250 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and patterns of decrease on these trees (Bréda *et al.*, 1992). Analogue responses were observed in *Q. petraea* saplings exposed to drought under controlled conditions, which maintained reduced but still substantial leaf
250 gas exchange until Ψ_{wp} dropped below -3.0 MPa (Epron & Dreyer, 1990). These observations confirmed the hypothesis that mesophytic oak species may be considered as rather drought tolerant (Abrams, 1990) and this is in agreement with the maintenance of significant rates of transpiration (xylem sap flow) observed by Bréda *et al.* (1992) on the same trees. It is well-known that drought does not only decrease A and g_w but also changes the diurnal pattern of gas exchange (Tenhunen, Pearcy & Lange, 1987). Higher

rates of A than those reported here may therefore be reached particularly in the morning. In fact, midday depression of gas exchange has frequently been reported for both xerophyte and mesophyte oaks (*Q. alba*, Dougherty & Hinckley, 1981; *Q. alba*, *Q. rubra* and *Q. velutina*, Bahari, Pallardy & Parker, 1985; *Q. rubra*, Weber & Gates, 1990; *Q.*

260 *petraea*, Epron, Dreyer & Bréda, 1992).

In our study, the reduction in A with decreasing Ψ_{wp} was not accompanied by a reduction in the calculated values of c_i . Non-uniform leaf gas exchange, which has been reported to occur in many species in response to water stress (Downton, Loveys & Grant, 1988; Sharkey & Seemann, 1989) including oaks (Ni & Pallardy, 1992), could lead to an overestimation of the true c_i values (Terashima *et al.*, 1988). Leaves of *Q. petraea* seedlings have been shown to exhibit such non-uniform gas exchange during water stress, but this had only minor effects on the c_i estimate (Epron & Dreyer, 1993). Maintenance of high c_i leads to the assumption that oak trees submitted to a long period

270 of drought under natural conditions could suffer from non-stomatal inhibition of photosynthesis. This would in turn constitute an important difference with the results obtained during short term drought (Epron & Dreyer, 1990, 1993). It has been frequently suggested that drought induced cessation of growth could affect carbohydrate metabolism in leaves and exert a feedback control on photosynthetic capacity (Kaiser, 1987). However, not only an alteration of photosynthetic metabolism but also a decrease in the conductance to CO_2 from intercellular spaces till the chloroplastic stroma (g_m) could induce maintenance of high c_i despite stomatal closure (Cornic *et al.*, 1989; Renou *et al.*, 1990). g_m has been shown to be rather low in *Q. rubra* as compared to some herbaceous C3 plants (Loreto *et al.*, 1992), but no data describing its evolution during drought are

280 yet available.

During drought, A decreased linearly with g_w , as frequently reported (Schulze & Hall., 1982; Epron & Dreyer, 1990). However, increases of g_w above 200 mmol m⁻² s⁻¹

occurred without any variation in net CO₂ assimilation rates. As a consequence, the intrinsic water use efficiency (A/g_w) increased with drought for both species. We clearly observed a higher A/g_w in *Q. petraea* than in *Q. robur* under drought conditions as well as under non-limiting water supply.

Water stress induced decline in A leads to a lower ATP and NADPH requirement for carbon metabolism. Therefore, leaves exhibiting low assimilation rates especially at midday may be exposed to high irradiance stress. Under such conditions, the photosynthetic apparatus of water-stressed trees may have been affected by photodamage due to over-excitation of photosystem II (Powles, 1984; Kyle, 1987). Photochemical efficiency of PS II measured before dawn did not show any significant decrease all over summer even in water-stressed trees, leading to the conclusion that summer drought did not promote permanent photodamage to the photosynthetic apparatus. Lack of damage to PS II was also observed during drought under field conditions in *Triticum aestivum* (Di Marco, Massacci & Gabrielli, 1988), or during short water stress under high light conditions in *Xanthium strumarium* and *Helianthus annuus* (Ben, Osmond & Sharkey, 1987), *Gossypium hirsutum* (Genty *et al.*, 1987) or *Vitis californica* (Gamon & Pearcy, 1990). In contrast, Björkman & Powles (1984) observed a decrease in dawn values of variable fluorescence in leaves of *Nerium oleander* exposed to full day light under drought conditions. Such conflicting results may indicate interspecific differences in the ability of water-stressed plants to avoid photodamage.

Maintenance of high and constant values of F_v/F_m during all the season contrasted with the large and parallel declines in F_0 and F_m , which were not related to variations in chlorophyll contents. We may suggest that optical properties of leaves evolved strongly during leaf maturation, decreasing leaf absorbance and as a consequence, reducing fluorescence yield.

The absence of photoinhibitory damage under conditions of high irradiance and inhibition of A clearly indicates the occurrence of efficient protection mechanisms against excess excitation energy in oak leaves. One of these mechanisms is thought to be an increase in non radiative dissipation of light energy in the PS II reaction centre or in the antennae (see Krause & Weis, 1991, for a review). Increases in non radiative energy dissipation is known to occur in leaves of *Q. petraea* during the course of sunny day (Epron *et al.*, 1992). O₂ reduction and subsequent recycling of photorespiratory CO₂ in the Calvin cycle may also prevent over-excitation of the photosynthetic apparatus of C3 plants (Krause & Cornic, 1987). The antioxidant chloroplast systems is also thought to protect efficiently the thylakoids against a possible increase in photoproduction of active oxygen species in water-stressed plants (Gamble & Burke, 1984). Moreover, rapid and reversible decreases in leaf absorbance could take place during the course of the day, as shown by Brugnoli & Björkman (1992). No data allow yet to quantify the relative importance of each of these mechanisms under natural conditions.

Whatever protective mechanisms were involved, lack of permanent damage to the photosynthetic apparatus is in agreement with the observed increase in intrinsic water use efficiency (A/g_w ratio) during drought. Although Ögren & Sjöström (1990) have shown that photoinhibition of photosynthesis would substantially reduce CO₂ fixation and growth of field-grown *Salix*, our results clearly demonstrated that permanent photodamage did not occur during summer drought in *Q. petraea* and *Q. robur*, even in strongly droughted trees, and that annual carbon gain was not limited by high light stress.

Differences among the two closely related species *Q. robur* and *Q. petraea* are probably only very limited despite their contrasted ecological distribution (Becker & Lévy, 1990). A slightly higher vulnerability to cavitation was detected in *Q. robur* by Cochard *et al.* (1992). Differences in leaf structures were obvious (lower leaf area, lower chlorophyll content in *Q. robur*). This may not be a specific feature but could be related to the social

position of this species in a stand largely dominated by *Q. petraea* were the few *Q. robur* individuals seem to be progressively suppressed. The significant differences in A/g_w may therefore be regarded as potentially specific to our mixed stand, and should not be generalised without complementary investigations.

Conclusion

Our results confirmed that, like almost all mesophytic American oak species, *Q. petraea* and *Q. robur* display a rather high degree of drought tolerance. Main features of this tolerance are probably deep rooting, maintenance during drought of high transpiration and stomatal conductance (Bréda *et al.*, 1992) and low susceptibility to air embolism (Cochard *et al.*, 1992). Maintenance of notable rates of net CO₂ assimilation and tolerance to high light stress should be viewed as an important component of this tolerance strategy. Little can be said about differences in drought sensitivity between both species, as they showed a close behaviour with respect to their responses to summer drought. However, higher intrinsic water use efficiency in *Q. petraea* might indicate that this species is better adapted to compete on drier soils than is *Q. robur*. This hypothesis is in agreement with its lower susceptibility to cavitation (Cochard *et al.*, 1992) and with its ecological distribution (Becker and Levy, 1990).

Acknowledgements

This work has been realised in the frame of a research program about: "Water stress, xylem dysfunctions and dieback mechanisms in European oaks" funded by E.E.C. (STEP CT90-0050). The authors thank A. Granier for co-ordinating the set up of the experiments at Champenoux forest, B. Clerc, F. Willm for building the scaffolding towers allowing access to the crowns, and N. Bréda, J.M. Desjeunes, J.M. Gioria, C. Hoh for their helpful participation to the measurements. Helpful discussions with N. Bréda A. and Granier are gratefully acknowledged.

References

- Abrams, M.D. (1990). Adaptations and responses to drought in *Quercus* species of
370 North America. *Tree Physiology* **7**, 227-238.
- Aussenac, G., Desjeunes, J.M. & Willm F. (1981). Climatologie de l'Arboretum
d'Amance. *Revue Forestière Française* **23**, 29-38.
- Bahari, Z.A., Pallardy, S.G. & Parker, W.C. (1985). Photosynthesis, water relations
and drought adaptation in six woody species of oak-hickory forests in central
Missouri. *Forest Science* **31**, 557-569.
- Becker, M. & Lévy, G. (1982). Le dépérissement du chêne en Forêt de Tronçais. Les
causes écologiques. *Annales des Sciences Forestières* **39**, 439-444.
- Becker, M. & Lévy, G. (1990). Le point sur l'écologie comparée du chêne sessile et du
chêne pédonculé. *Revue Forestière Française* **42**, 148-154.
- 380 Bréda N., Cochard H., Dreyer E. & Granier A. (1992). Seasonal evolution of water
transfer in a mature oak stand (*Quercus petraea* Matt. Liebl.) submitted to drought.
Canadian Journal of Forest Research, accepted.
- Ben, G.Y., Osmond, C.B. & Sharkey, T.D. (1987). Comparisons of photosynthetic
responses of *Xanthium strumarium* and *Helianthus annuus* to chronic and acute
water stress in sun and shade. *Plant Physiology* **84**, 476-482.
- Björkman, O. & Powles, S.B. (1984). Inhibition of photosynthetic reactions under
water stress : interaction with high light level. *Planta* **161**, 490-503.
- Brugnoli, E & Björkman, O. (1992). Chloroplast movements in leaves: influence on
chlorophyll fluorescence and measurements of light-induced absorbance changes
390 related to ΔpH and zeaxanthin formation. *Photosynthesis research* **32**, 23-35.
- Cochard, H., Bréda, N., Granier, A. & Aussenac, G. (1992). Vulnerability to air
embolism and hydraulic architecture of three European oak species (*Quercus*
petraea (Matt) Liebl., *Q. pubescens* Willd, *Q. robur* L.). *Annales des Sciences*
Forestière **49**, 225-233.

-
- Cornic, G., Le Gouallec, J.L., Briantais, J.M. & Hodges, M. (1989). Effect of dehydration and high light on photosynthesis of two C₃ plants (*Phaseolus vulgaris* L., *Elatostema repens* (Lour) Hall f). *Planta* **177**, 84-90.
- Di Marco, G.A., Massacci, A. & Gabrielli, R. (1988). Drought effects on photosynthesis and fluorescence in hard wheat cultivars grown in the field. *Physiologia Plantarum*. **74**, 385-390.
- 400 Dougherty, P.M. & Hinckley, T.M. (1981). The influence of a severe drought on net photosynthesis of white oak (*Quercus alba*). *Canadian Journal of Botany* **59**, 335-341.
- Downton, W.J.S., Loveys, B.R. & Grant, W.J.R. (1988). Non uniform stomatal closure induced by water stress causes putative non stomatal inhibition of photosynthesis. *New Phytologist* **110**, 503-509.
- Dreyer, E., Bousquet, F. & Ducrey, M. (1990). Use of pressure volume curves in water relation analysis on woody shoots: influence of rehydration and comparison of four European oak species. *Annales des Sciences Forestière* **47**, 285-297.
- 410 Epron, D. & Dreyer, E. (1990). Stomatal and non stomatal limitation of photosynthesis by leaf water deficits in three oak species : a comparison of gas exchange and chlorophyll a fluorescence data. *Annales des Sciences Forestière* **47**, 435-450.
- Epron, D. & Dreyer, E. (1992). Effects of severe dehydration on leaf photosynthesis in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. : photosystem II efficiency, photochemical and non photochemical fluorescence quenchings and electrolyte leakage. *Tree Physiology* **10**, 273-284.
- Epron, D., Dreyer, E. & Bréda, N. (1992). Photosynthesis of oak trees (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) during drought under field conditions : diurnal evolution of net CO₂ assimilation and photochemical efficiency of photosystem II. *Plant, Cell and*
- 420 *Environment* **15**, 809-820.

-
- Epron, D., Dreyer, E. & Aussenac, G. (1993) A comparison of photosynthetic response to water stress in seedlings from three oak species : *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Q. rubra* L. and *Q. cerris* L. *Annales des Sciences Forestière* , accepted.
- Epron D. & Dreyer E. (1993). Photosynthesis of oak leaves under water stress : maintenance of high photochemical efficiency of photosystem II and occurrence of non-uniform CO₂ assimilation. *Submitted to Tree Physiology*.
- Gamble, P.E. & Burke, J.J. (1984). Effect of water stress on the chloroplast antioxidant system. I. Alterations in glutathione reductase activity. *Plant Physiology* **76**, 615-621.
- 430 Gamon, J.A. & Pearcy, R.W. (1990). Photoinhibition in *Vitis californica*: interactive effects of sunlight, temperature and water status. *Plant, Cell and Environment* **13**, 267-275.
- Genty, B., Briantais, J.M. & Viera da Silva, J.B. (1987). Effects of drought on primary photosynthetic processes of cotton leaves. *Plant Physiology* **83**, 360-364.
- Hiscox, J.D. & Israelstam, G.F. (1979). A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany* **57**, 768-776.
- Jurik, T.W. (1986). Seasonal patterns of leaf photosynthetic capacity in successional northern hardwood tree species. *American Journal of Botany* **73**, 131-138.
- Kaiser, W.M. (1987). Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiologia*
440 *Plantarum* **71**, 142-149.
- Krause, G.H. & Cornic, G. (1987). CO₂ and O₂ interactions in photoinhibition. In : *Photoinhibition* (Ed. by D.J. Kyle, C.B. Osmond & C.J. Arntzen), pp.169-196. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.
- Krause, G.H. & Weis, E. (1991). Chlorophyll fluorescence and photosynthesis : the basics. *Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology* **42**, 313-349.
- Kyle, D.J. (1987). The biochemical basis for photoinhibition of photosystem II. In : *Photoinhibition* (Ed. by D.J. Kyle, C.B. Osmond & C.J. Arntzen), pp. 197-226. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.

-
- 450 Loreto, F., Harley, P., Di Marco, G. & Sharkey, T.D. (1992). Estimation of mesophyll conductance to CO₂ flux by three different methods. *Plant Physiology* **98**, 1437-1443.
- Ni, B.R. & Pallardy, S.G. (1992). Stomatal and non-stomatal limitations to net photosynthesis in seedlings of woody angiosperms. *Plant Physiology* **99**, 1502-1508.
- Ögren, E. & Sjöström, M. (1990). Estimation of the effect of photoinhibition on the carbon gain in leaves of a willow canopy. *Planta* **191**, 560-567.
- Powles, S.B. (1984). Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annual Review of Plant Physiology* **35**, 15-44.
- 460 Reich, P.B., Walters, M.B. & Ellsworth, D.S. (1991). Leaf age and season influence the relationship between leaf nitrogen, leaf mass per area and photosynthesis in maple and oak trees. *Plant, Cell and Environment* **14**, 251-259.
- Renou, J.L., Gerbaud, A., Just, D. & André, M. (1990). Differing substomatal and chloroplastic CO₂ concentrations in water-stressed wheat. *Planta* **182**: 415-419.
- Schulze, E.D. & Hall, A.E. (1982). Stomatal responses, water loss and CO₂ assimilation rates of plants in contrasting environments. In : *Physiological Plant Ecology II. Water relations and carbon assimilation* (Ed. by O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond & H. Ziegler), pp. 181-230. Springer Verlag, Berlin.
- 470 Sharkey, T.D. & Seemann, J.R. (1989). Mild water stress effects on carbon-reduction-cycle intermediates, ribulose biphosphate carboxylase activity and spatial homogeneity of photosynthesis in intact leaves. *Plant Physiology* **89**, 1060-1065.
- Tenhunen, J.D., Pearcy, R.W. & Lange, O.L. (1987). Diurnal variations in leaf conductance and gas exchange in natural environments. In : *Stomatal function* (Ed. by E. Zeiger, G.D. Farquhar & I.R. Cowan), pp. 323-351. Stanford University Press, Stanford.

Terashima, I., Wong, S.C., Osmond, C.B. & Farquhar, G.D. (1988). Characterization of non-uniform photosynthesis induced by abscisic acid in leaves having different mesophyll anatomy. *Plant Cell Physiology* 29, 385-394.

Von Caemmerer, S. & Farquhar, G.D. (1981). Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153, 376-387.

480

Weber, J.A. & Gates, D.M. (1990). Gas exchange in *Quercus rubra* (Northern red oak) during a drought : analysis of relations among photosynthesis, transpiration and leaf conductance. *Tree Physiology* 7, 215-225.

Table 1: Leaf area and specific leaf weight (S.L.W.) for all leaves used in gas exchange measurements during summer 1992 in two control and droughted trees of both *Q. petraea* and *Q. robur*. Standard deviations are in brackets.

Treatment	species	Leaf area cm ²	S.L.W. g dm ⁻²
Drought	<i>Q. robur</i>	30.85 (14.18)	1.239 (0.142)
	<i>Q. petraea</i>	45.63 (16.60)	1.104 (0.189)
Control	<i>Q. robur</i>	26.99 (8.63)	1.078 (0.150)
	<i>Q. petraea</i>	42.62 (12.13)	1.298 (0.171)

Table 2: Predawn leaf water potential (Ψ_{wp}), and net CO₂ assimilation rates (A) and stomatal conductance for water vapour (g_w) measured at midday on two trees of both *Q. petraea* and *Q. robur*, at four dates during Summer 1991 (n = 6 to 10 sun-exposed leaves). Julian day and standard deviations are in brackets. * indicates a significant difference between species.

Days	species	Ψ_{wp} MPa	A $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	g_w $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	c_i $\mu\text{mol mol}^{-1}$
July. 22 (203)	<i>Q. robur</i>	-0.38 (0.00)	9.08 (1.25)	141.5 (7.9)	227.8 (20.2)
	<i>Q. petraea</i>	-0.42 (0.05)	11.46 (3.25)	148.2 (51.5)	206.1 (16.6)
August. 12 (224)	<i>Q. robur</i>	-0.87 (0.08)	12.75 (2.66)	224.3 (67.9)	225.0 (13.2)
	<i>Q. petraea</i>	-1.08 (0.16)	12.45 (1.41)	196.2 (28.1)	201.5 (12.7)*
August. 29 (241)	<i>Q. robur</i>	-1.75 (0.02)	1.84 (0.88)	31.1 (7.6)	244.0 (33.3)
	<i>Q. petraea</i>	-1.80 (0.07)	4.72 (1.07)*	54.4 (5.3)*	191.0 (26.8)*
Sept.. 19 (262)	<i>Q. robur</i>	-1.86 (0.05)	3.87 (1.32)	45.3 (14.0)	204.4 (28.7)
	<i>Q. petraea</i>	-1.97 (0.18)	2.95 (0.66)	33.9 (13.6)	186.4 (47.0)

Captions

500 Figure 1 : Seasonal time course during 1991 (ac) and 1992 (bd) of daily minimal and maximal temperatures as measured above the canopy (ab), and of predawn leaf water potential (Ψ_{wp} , cd) as measured on two leaves of two trees in each treatment (two species : *Q. robur*, open symbols; *Q. petraea*, closed symbols, and two water regimes : control, disks ; droughted, triangles). Vertical bars represent $\pm$ S.D.

Figure 2 : Seasonal time course of net CO₂ assimilation rates (A, a), leaf conductance to water vapour (g_w , b) and intercellular CO₂ mole fraction (c_i , c) as measured on five leaves of two trees in each treatment (two species : *Q. robur*, open symbols; *Q. petraea*, closed symbols, and two water regimes : control, disks ; droughted, triangles). Vertical
510 bars represent $\pm$ S.D.

Figure 3 : Net CO₂ assimilation rates (A) and leaf conductance to water vapour (g_w) plotted against predawn leaf water potential (Ψ_{wp}). *Q. robur* (white), *Q. petraea* (black). Each point is the means of three to five replicates on a individual tree.

Figure 4 : Plot of net assimilation rates (A) against leaf conductance to water vapour (g_w). Black : *Q. petraea* ; white : *Q. robur*. Regressions have been calculated using data between $g_w = 0$ and $200 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Each point corresponds to a single determination on one leaf.

520

Figure 5 : Seasonal time course of minimal (F_o , a), maximal (F_m , b) fluorescence, leaf chlorophyll content (chl, c) and photochemical efficiency of PS II (F_v/F_m , d) as measured on six leaves of two trees in each treatment (two species : *Q. robur*, open symbols; *Q. petraea*, closed symbols, and two water regimes : control, disks ; droughted, triangles). Vertical bars represent $\pm$ S.D.

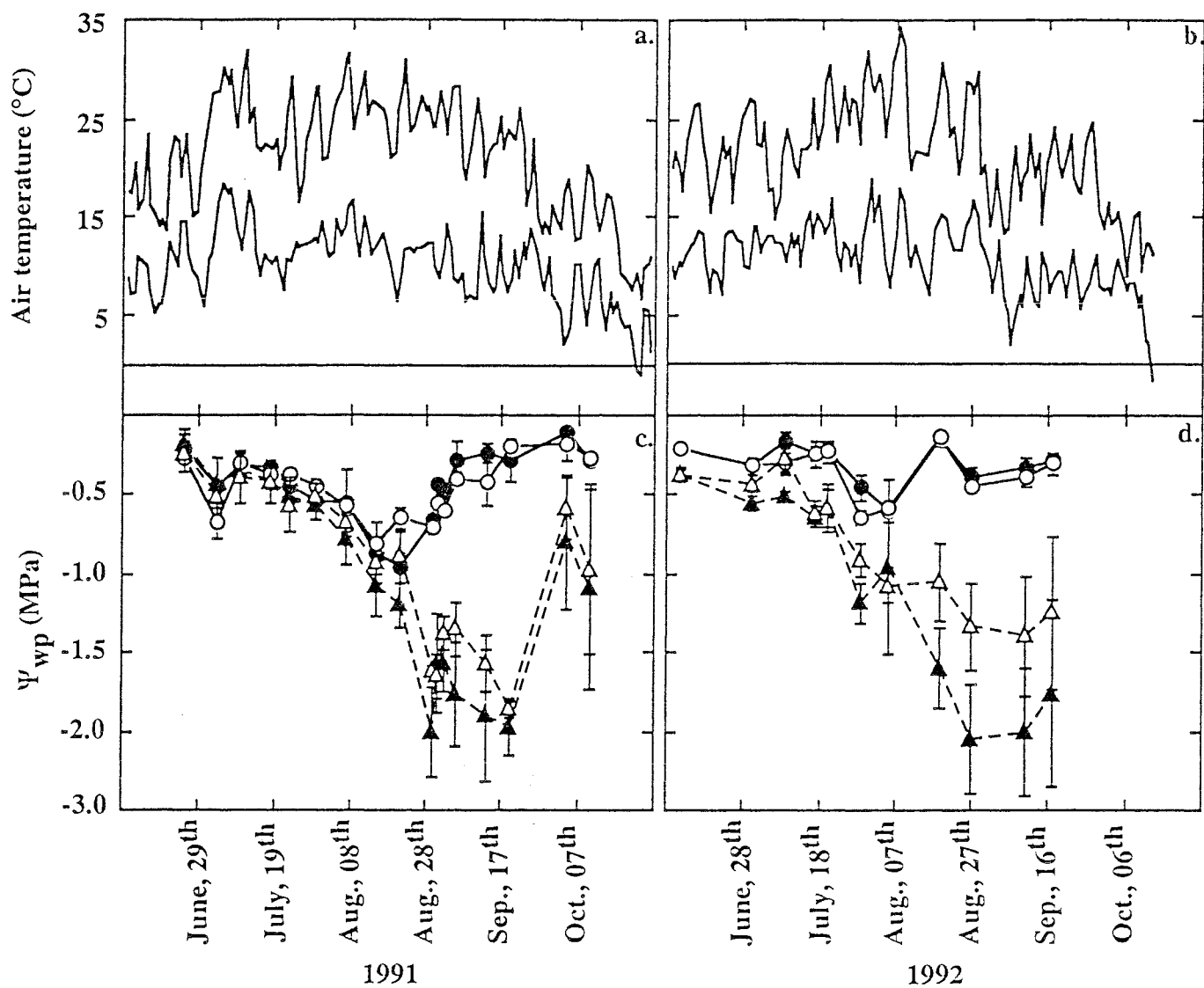
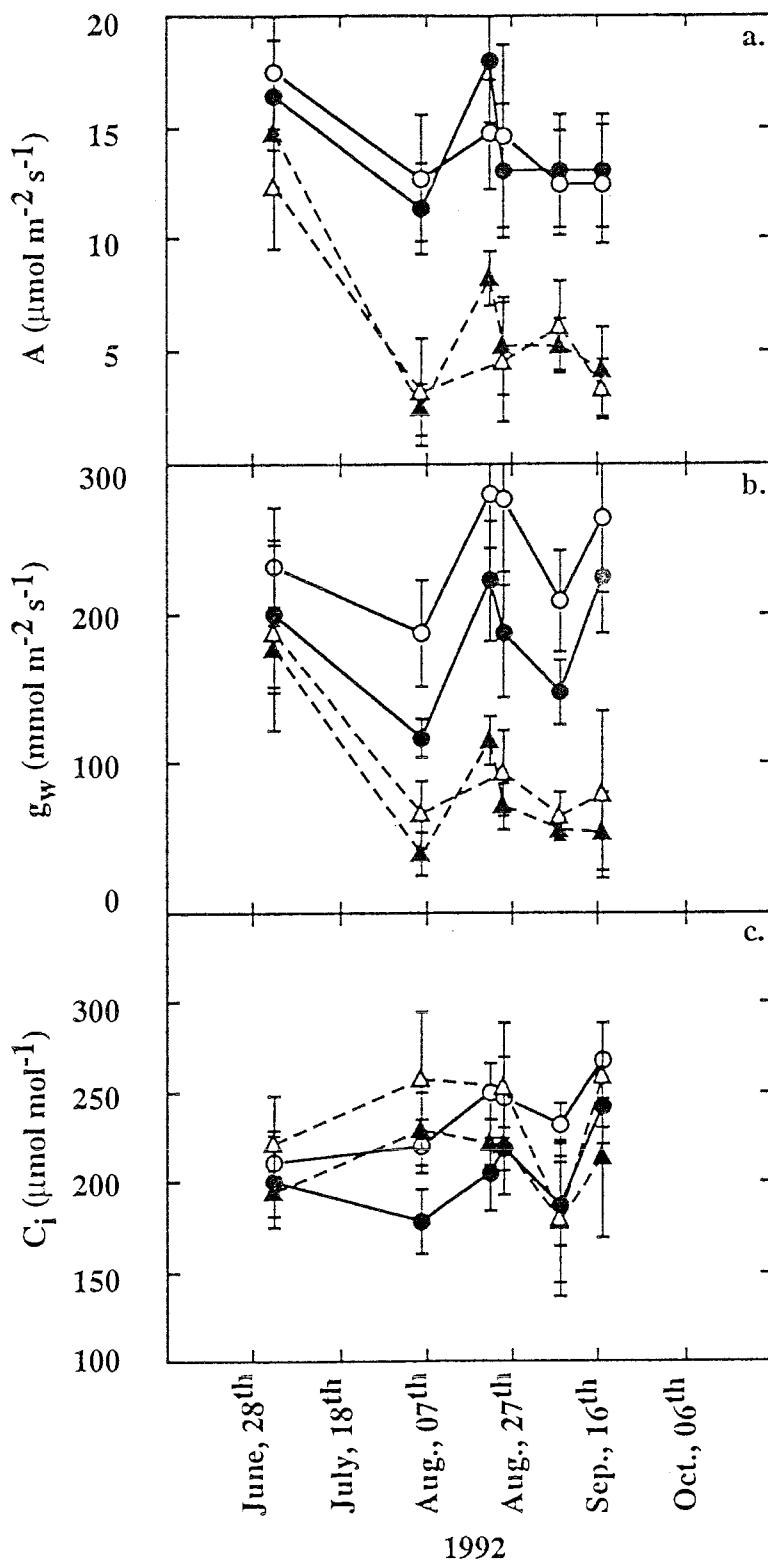
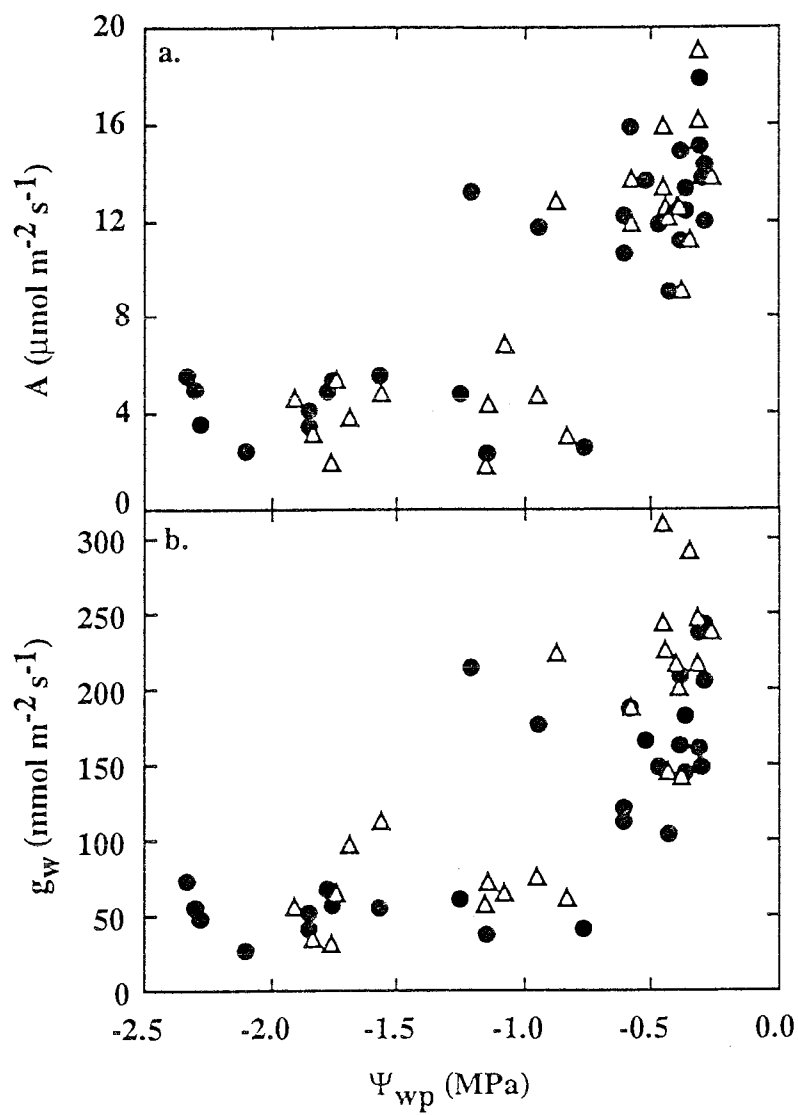


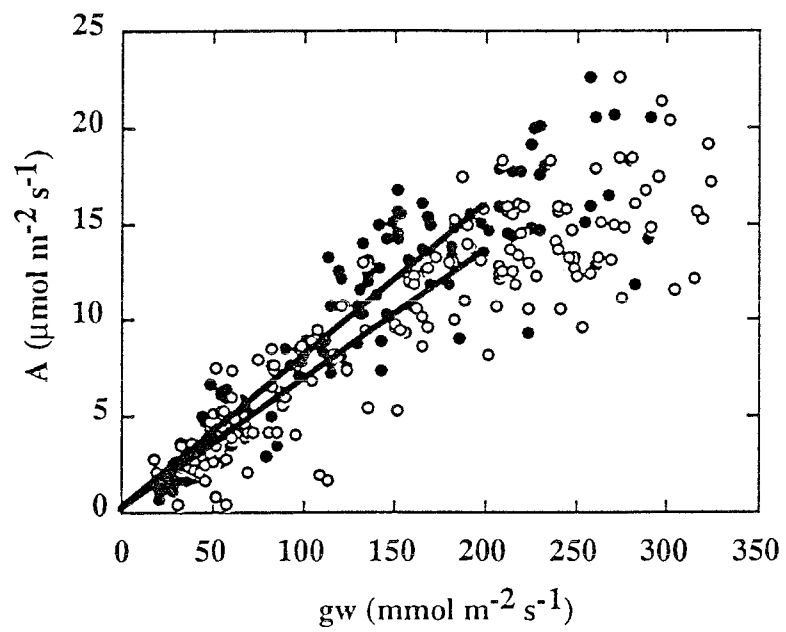
Fig. 1
Eppon et Dreyer



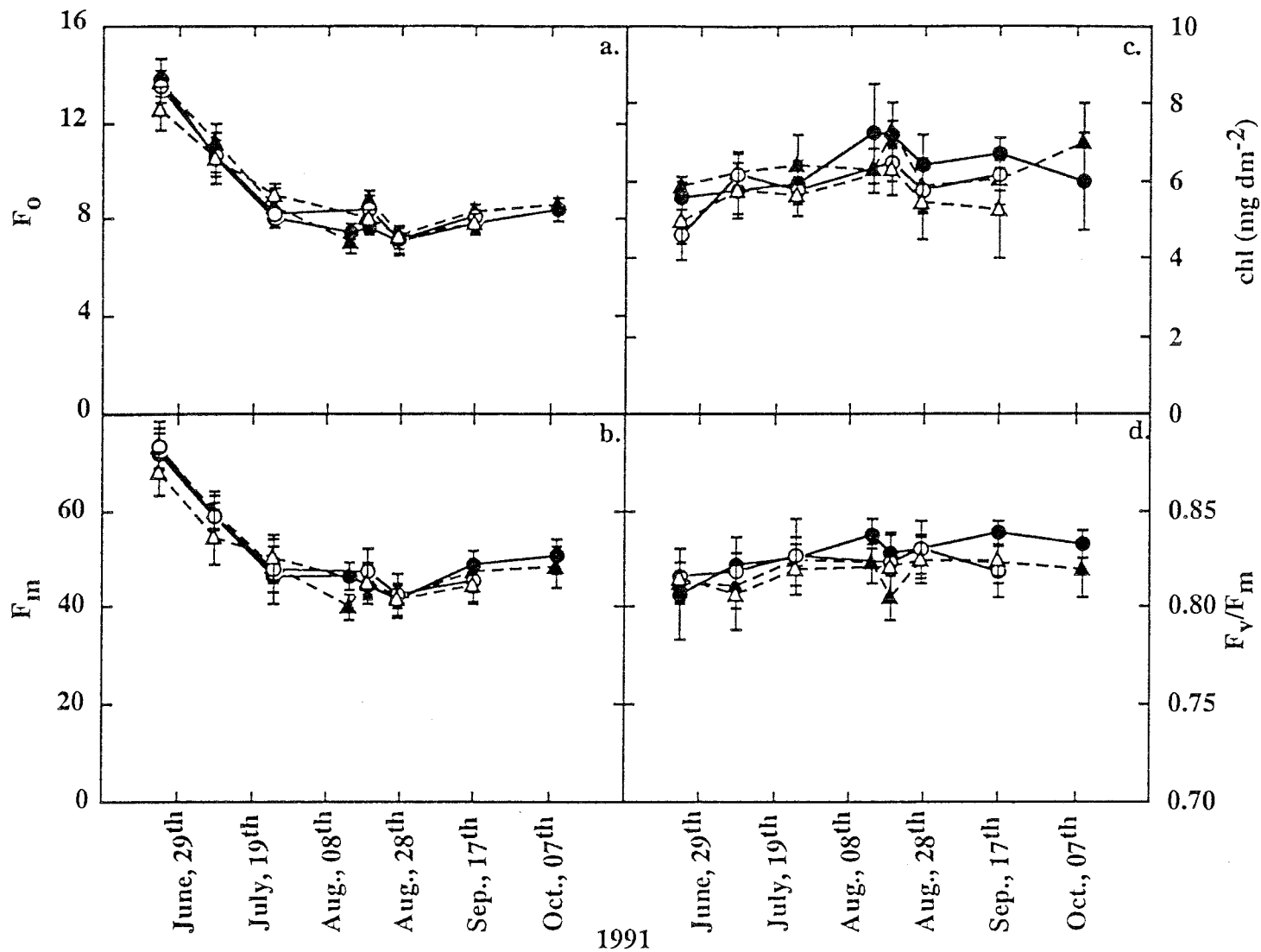
Epron et Dreyer
Fig 2



Extrait de Dreyer
Fig. 3



Epron et Dreyer
Fig. 4



Epron et Dreyer
Fig. 5

Photochemical efficiency of photosystem II in rapidly dehydrating leaves of 11 temperate and tropical tree species differing in their tolerance to drought.

5

Erwin Dreyer^{1*}, Daniel Epron¹ and Oscar Eyog Matig²

1 INRA-Nancy, Laboratoire de Bioclimatologie et d'Ecophysiologie forestières, Station de
10 Sylviculture et Production, Champenoux, F-54280 Seichamps, France.

2 IRA-Garoua, Centre de Recherches Agronomiques, Garoua, Cameroon.

15

Running title: Photosynthesis and leaf dehydration.

* Correspondence and reprints.

Summary

20 Responses of photochemical efficiency of PS II to rapid and severe leaf dehydration were tested on eleven different tree species differing in their ability to withstand periods of drought. Seedlings of *Quercus robur*, *Q. petraea*, *Q. pubescens*, *Q. rubra*, *Q. cerris* and *Q. ilex*, and of *Dalbergia sissoo*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Acacia holosericea*, *Azadirachta indica* and *Populus candicans* were grown in a greenhouse at Nancy. Fifty to sixty leaf disks
25 were punched from a few well watered and dark adapted seedlings and left to dehydrate under complete darkness up to 6 hours. Chlorophyll fluorescence induction kinetics were recorded with a PAM fluorometer (modulated red light below $1 \mu\text{mol. m}^{-2} \text{s}^{-1}$, actinic light $220 \mu\text{mol. m}^{-2} \text{s}^{-1}$, saturating white flashes, $4000 \mu\text{mol. m}^{-2} \text{s}^{-1}$). All species displayed a remarkable stability of initial and maximal fluorescence F_0 and F_m , of photochemical
30 efficiency of PS II of dark adapted disks, and after 10 mn at $220 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, till relative water losses largely above the turgor loss point. Decreases in the latter were the first observed signs of dysfunction at leaf relative water losses around 0.23 to 0.40 depending on the species. They were generally accompanied by significant decreases in the photochemical efficiency of open reaction centers, which reveal increased thermal deexcitation of PS II. No
35 correlation between evolution of neither of these parameters and known tolerance to drought could be detected among tested species. It is concluded that sensitivity of the photosynthetic apparatus to leaf dehydration in the absence of irradiance plays a very minor role in the adaptation of species to drought. Photosynthesis decline in response to water stress under natural conditions is probably the consequence of stomatal closure and possibly of high
40 levels of irradiance and temperature.

Key words : Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, photochemical efficiency of PS II, water stress, dehydration, oak species, tropical tree species.

Résumé : Comparaison des effets d'une déshydratation rapide sur

l'efficacité photochimique du photosystème II de 11 espèces ligneuses présentant des degrés variables de résistance à la sécheresse.

Les diminutions d'efficacité photochimique du photosystème II en réponse à une déshydratation rapide et sévère de feuilles, ont été comparées sur 11 espèces d'arbres connues pour présenter des degrés variables de tolérance à des conditions de sécheresse. Des semis de différents Chênes (*Quercus robur*, *Q. petraea*, *Q. pubescens*, *Q. rubra*, *Q. cerris* et *Q. ilex*), d'espèces tropicales (*Dalbergia sissoo*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Acacia holosericea*, *Azadirachta indica*) et de Peuplier (*Populus candicans*) ont été élevés en serre à Nancy. Cinquante à soixante disques foliaires ont été prélevés sur des plants bien alimentés en eau et préalablement maintenus à l'obscurité. Ils ont transpiré librement à l'obscurité pendant des temps variables pouvant aller jusqu'à 6 heures. Leur degré de déshydratation a été estimé par leur teneur en eau relative au moment des mesures. Les cinétiques d'induction de fluorescence ont été enregistrées sur chacun de ces disques en utilisant un fluoromètre modulé PAM (densités de flux de photons : lumière modulée rouge : $<1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; lumière actinique : $220 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; lumière saturante : 0,7 s à $4000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Toutes les espèces ont présenté une remarquable stabilité de la fluorescence de base et de la fluorescence maximale, ainsi que de l'efficacité photochimique du photosystème II tant maximale qu'après une induction à $220 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, et ce jusqu'à des teneurs en eau largement en deçà de celles correspondant à la perte de turgescence. Les premiers signes de dysfonctionnement observés ont consisté en une baisse de l'efficacité photochimique à $220 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, qui a débuté à des déficits de teneur en eau relative de l'ordre de 0,23 à 0,40 suivant l'espèce. Cette baisse était généralement accompagnée d'une diminution de l'efficacité photochimique des centres ouverts révélant ainsi une augmentation significative de la deexcitation thermique du PS II. Mais aucune corrélation n'a pu être établie entre la réponse de ces paramètres à la déshydratation et la tolérance globale des espèces à la sécheresse. La sensibilité de l'appareil photosynthétique foliaire à la déshydratation elle-même ne joue sans doute qu'un rôle mineur dans l'adaptation des espèces aux déficits d'alimentation hydrique. Les diminutions de photosynthèse observées en réponse à l'épuisement progressif des réserves hydriques du sol en conditions naturelles sont vraisemblablement dues à une fermeture des stomates, accompagnée parfois par une action des fortes irradiances et des températures élevées.

Abbreviations

D : relative leaf water loss ; $D = 0$ at full turgor ; D_{tl} : relative leaf water loss at turgor loss ;
 π_0 : osmotic potential at full turgor ; Ψ_w and Ψ_{wd} : leaf water potential actual value and at
 80 turgor loss ; PS II : photosystem II ; F_m : maximal fluorescence ; F_0 : initial fluorescence ;
 $F_v = F_m - F_0$; F_v/F_m : photochemical efficiency of PS II of dark adapted leaves ; F_m' , F and
 F_0' : maximal fluorescence, steady state and basis fluorescence after 10 mn induction at 220
 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ photon flux density ; $F_v' = F_m' - F_0'$; $\Delta F = F_m' - F$; $\Delta F/F_m'$: photochemical
 efficiency of PS II measured after a 10 mn induction at 220 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; F_v'/F_m' :
 85 photochemical efficiency of open photosynthetic reaction centers under the same conditions ;
 qp : photochemical quenching under the same irradiance ; DW : dry weight ; FW : fresh
 weight ; FW_i : initial fresh weight ; LSW : leaf specific weight.

Introduction

Water availability plays a major role in the distribution of tree species all over the world. But the physiological basis of the observed differences in tolerance to water shortage has still to be clarified. In particular, survival and growth of trees under low water availability imply
95 optimization of water use through stomatal regulation, high photosynthetic efficiency in leaves during the short periods of water availability and long term survival of these leaves during periods of stress.

Does the tolerance of the photosynthetic apparatus to leaf dehydration play any role in these stress adaptations? The photosynthetic apparatus appears today as being rather tolerant to
100 dehydration (Kaiser, 1987) and many authors claim that the main effect of water stress is to induce stomatal closure and to limit photosynthesis *via* reduced supply of CO₂ to chloroplasts (Cornic *et al*, 1989 ; Chaves, 1991). The use of chlorophyll a fluorescence is one among the different techniques suitable to study the tolerance of photosynthesis to environmental constraints. From such measurements it has been shown that PS II displays a
105 good stability till very low levels of water content in leaves. Leaves rapidly dehydrated show a constant basic fluorescence F_0 and a high maximal photochemical efficiency F_v/F_m (Ögren and Öquist, 1985 ; Cornic *et al*, 1987 ; Epron and Dreyer, 1992). Epron and Dreyer (1992) suggested that the first signs of dehydration induced impairment were increases in a fast relaxing non photochemical quenching of fluorescence, which appeared at relative leaf water
110 loss above 0.35 on *Q. petraea* and was interpreted as an increase in thermal deexcitation of PS II related to reduced electron consumption and decreased activity of the carbon reduction and photorespiratory cycles. The question nevertheless remains open whether these features could be generalized to a broader range of species. In particular, it is not clear if differences in leaf structural characteristics (as chlorophyll content per unit leaf area or leaf specific
115 weight) or in leaf water relations (osmotic potential at full turgor or water content at turgor loss), and more generally in drought tolerance could be related to some modifications in the above described reactions to dehydration. We therefore compared the changes induced by a

rapid dehydration in the dark, on photochemical efficiency of PS II of dark adapted leaves and after an induction of 10 mn at $220 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ on leaf disks from seedlings of a broad
120 range of species, including mesophytic Oaks, xerophytic Oaks and intertropical species used for reforestation under semi-arid conditions of Northern Cameroon.

Material and methods

Plant material : Following species and seed origins have been used:

125 *Quercus petraea* (Matt) Liebl. (Fagaceae; subgenus *Lepidobalanus*, section *robur*) either 40 years old trees growing in a natural stand at Nancy-Champenoux ; or seed collected in Forêt de la Reine, near Toul, Eastern France (5.50E, 48.40N ; elevation 250 m) ;

Q. robur L.(*Lepidobalanus*, *robur*), Manoncourt, near Toul , Eastern France (5.50E, 48.40N ; elevation 250 m) ;

130 *Q. pubescens* Willd. (*Lepidobalanus*, *robur*), Mont Ventoux, Avignon, Vaucluse (5.12E, 44.15N ; elevation 800 m);

Q. rubra L. (*Erythrobalanus*, *rubraea*), Schopperten Forest, Bas Rhin, Eastern France (6.25E, 48.50N ; elevation 250 m) ;

Q. ilex L.(*Lepidobalanus*, *ilex*), Uzès, Gard, Southern France (4.25E, 44.05N ; elevation 350 m);

135 *Q. cerris* (*Lepidobalanus*, *cerris*), provided by Vilmorin, France.

Acorns from all these species were collected during Autumn 1989, stored over Winter at -1 deg C, and germinated during March 1990. *Q. petraea* and *Q. robur* are typically mid-European species growing under rather well watered conditions, while *Q. pubescens* and *Q. cerris* are located in dryer areas. *Q. ilex* is a typical sempervirent macchia species with
140 sclerophyllous leaves. *Q. rubra* has been introduced from North Eastern America.

Populus candicans Ait. (Salicaceae, section *Balsamifera*), provided by the Laboratory of Forest Pathology, INRA-Nancy, originating from Northern America and drought intolerant.

Azadirachta indica A. Juss. (Meliaceae), Maroua , Northern Cameroon (14.15E, 10.40N, elevation 400m, 780mm rain). This species originates from Southern India and is now
145 widely used under Sahelian climates.

Dalbergia sissoo (Papilionaceae), Ouagadougou, Burkina Faso (1.31W, 12.21N, elevation 304 m, 860 mm rain). This species originates from Southern India, and is now tested under Sahelian climates.

Acacia holosericea (Papilionaceae), Mount Molloy, Australia (145.15E, 16.46S, elevation
150 380m, 1150 mm rain) is a phyllode bearing Acacia shrub originating from Australia, tested under Sahelian climate.

Eucalyptus camaldulensis Dehn. (Myrtaceae), Djarengol, Cameroon (14.15E, 10.40N, elevation 400m, 780 mm rain) is widely used under Sudano Sahelian climates, but seem poorly adapted to dryer climates (Sall *et al*, 1991).

155 The four last species were sown during Spring 1989. All seedlings were grown in 5 L pots, on a mixture of blond peat and sand (50/50 v/v) and were fertilized with a slow release fertilizer (Nutricote, N/P/K 13/13/13) and a solution of oligo-elements. All seedlings were grown in a green house where irradiance was reduced by 30% approx. Temperatures ranged between 10 and 30 deg. C. for temperate, and between 15 and 30 deg. C. for tropical
160 species. They were watered manually twice a week.

Following rating of drought tolerance may be suggested, based on species distribution : *P. candicans* < *Q. rubra*, *Q. robur*, *Q. petraea* < *Q. cerris*, *E. camaldulensis* < *Q. pubescens*, *D. sissoo* < *A. indica*, *Q. ilex* < *A. holosericea*.

Dehydration experiments : 40 to 60 leaf disks (2.0 cm diameter) were punched from 2-
165 3 well grown seedlings, which had previously been fully hydrated and dark adapted during 14 h . Disks were immediately weighed (FW_i), and dehydrated for 0 to 8 hours in the dark at room temperature as described by Epron and Dreyer (1992). Fluorescence induction

kinetics were recorded successively on each disk and corresponding values of fresh weight (FW) were determined immediately after completion of the kinetics. Dry weight (DW) was measured after 24 hours oven-drying at 80 deg. C. Relative leaf water loss (D) was always estimated as:

$$D = 1 - [(FW - DW) / (FW_i - DW)].$$

Fluorescence measurements: Fluorescence measurements were carried out at ambient CO_2 and temperature on dark adapted leaf disks with a PAM 101 fluorometer (Walz, Germany). Initial fluorescence (F_0) was determined by applying a pulsed measuring red light ($<1 \mu\text{mol} \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) at a frequency of 1.6 KHz, and maximal fluorescence (F_m) by an additionnal saturating flash of white light (0.7s ; $4000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) provided by a cold light source (Schott KL1500, Germany). The ratio of variable to maximal fluorescence F_v/F_m , that is the maximal photochemical efficiency of PS II, was calculated as (Genty *et al.*, 1987):

$$F_v/F_m = 1 - F_0/F_m$$

After complete relaxation from this flash, a fluorescence kinetic was induced by an actinic white light (Schott KL1500, Germany, $220 \mu\text{mol} \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). After 10 minutes steady state fluorescence (F) was recorded and a new flash yielded $F_{m'}$, allowing the calculation of an actual photochemical efficiency of PS II ($\Delta F/F_{m'}$) at $220 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ from (Genty *et al.*, 1989) :

$$\Delta F/F_{m'} = 1 - F/F_{m'}$$

The actinic light was immediately switched off, and F_0 recorded, allowing calculation of the photochemical efficiency of open PS II reaction centers ($F_v'/F_{m'} = 1 - F_0'/F_{m'}$) Both parameters are related by :

$$\Delta F/F_{m'} = q_p * F_v'/F_{m'}$$

where q_p is the photochemical quenching coefficient *i.e.* the fraction of open PS II reaction centers (Genty *et al*, 1989 ; Baker, 1991). Decreases in F_v/F_m' are an index for increased thermal deexcitation of PS II.

195 **Leaf characteristics** : leaf specific weight (LSW , g dm⁻²) was computed from disk dry weight and estimated disk area (0.03141 dm²), and averaged for all used disks. Chlorophylls were extracted from 5 leaf disks per species (15 mm diameter) in 5 ml dimethylsulfoxide and chlorophyll concentrations were determined spectrometrically (Hiscox and Israelstam, 1979).

200 **Shoot water relations**: 3 shoots were selected for each species and pressure-volume curves established using the free transpiration method as described by Hinckley *et al* (1980) and Dreyer *et al* (1990). Each shoot was rehydrated overnight through the cut end, and left to transpire freely on a laboratory bench. Fresh weight and leaf water potential were recorded together at regular intervals till the latter reached -6 MPa. Water potential was
205 measured with a pressure chamber, and the main parameters of water relations (osmotic pressure at full turgor, π_0 , water potential at turgor loss, Ψ_{wll} , relative leaf water loss at turgor loss, D_{ll}) calculated as in Dreyer *et al* (1990).

Analysis of results : for each species, values of F_0 , F_m , F_v/F_m , $\Delta F/F_m'$ were plotted against relative leaf water loss D . Optimal values of these parameters were recorded.

210 Successive linear regressions were used to determine the range of stability of F_0 , F_m , F_v/F_m , $\Delta F/F_m'$ with increasing D , and the threshold values for which statistically significant declines could be observed were computed.

Results.

Leaf characteristics and water relations

215 Leaf characteristics are listed in Table 1. *LSW* was very variable among our species, and relatively low, due probably to growth under greenhouse conditions. *Q. petraea* had much higher *LSW* when grown under field conditions. Two species differed consequently from the other ones : *Ac. holosericea* which bears very thick and hairy phyllodes, and *Q. ilex* which has sclerophyllous and waxy leaves. *P. candicans* displayed by far the lowest *LSW*.
220 Total chlorophyll contents as expressed on a leaf area basis varied strongly between 2.36 and 7.35 mg dm⁻². Oaks displayed the highest contents, with *Q. rubra* being slightly lower than the other ones. Tropical species exhibited in general the lowest values (below 3 mg dm⁻²). No clear correlation was found between *LSW* and chlorophyll content.

Parameters of shoot water relations (osmotic potential at full turgor , π_0 ; relative leaf water
225 loss at turgor loss D_{tl} ; leaf water potential at turgor loss Ψ_{wtl} ; and leaf water potential at $D = 0.3$) are presented in Table 2. All species displayed rather high values of π_0 , that is low solute contents. The lowest values were obtained with the Mediterranean Oaks, *Q. ilex* and *Q. cerris*. Tropical species showed even higher values than the Oaks. Turgor loss occurred at very low relative leaf water losses (D_{tl}) between 0.1 and 0.15, and at relatively high leaf
230 water potentials ($\Psi_{\text{wtl}} \geq -2.5$ MPa). It is interesting to notice that the lowest π_0 and Ψ_{wtl} and highest D_{tl} occurred on *Q. petraea* in the stand. Finally, Ψ_w at a deficit of 0.3 varied between -2.0 and -3.8 MPa which was largely below the turgor loss point for all species. Greenhouse microclimate had probably a major effect on leaf water relations, and π_0 and D_{tl} would probably have been higher under field conditions (Dreyer et al, 1990). Despite a
235 strong interspecific variability, no clear trend could be detected in these results in relation to the ecological adaptation of species to drought.

Fluorescence measurements.

Three representative examples of evolution of F_0 , F_m , F_v/F_m , and $\Delta F/F_m'$ with increasing
240 dehydration were drawn on figure 1 (*P. candicans*, *E. camaldulensis* and *Q. ilex*). Main
features of these relations were as follows. On *P. candicans*, F_0 was almost constant over
the entire range of D from 0 to 0.8, while F_m remained constant till $D \approx 0.4$, and decreased
very gradually later. A very sharp decline occurred only after $D \approx 0.75$. As a consequence,
 F_v/F_m remained rather constant at optimal values of about 0.82. A sharp decline occurred
245 also only above $D \approx 0.75$. $\Delta F/F_m'$ was almost constant at the high values of 0.62 till $D \approx 0.4$
and declined sharply thereafter. *E. camaldulensis* presented almost the same behaviour with
a slight difference: F_m decreased progressively during the whole range of D , together with
 F_0 , and F_v/F_m showed a slow decrease from $D \approx 0.4$ on. Nevertheless, final values at $D \approx 0.8$
were still around 0.75. The same description applied also to *Q. ilex*, with the strong
250 difference that $\Delta F/F_m'$ decreased much earlier, i.e. at $D \approx 0.2$.

Such a feature fits very well with the one already described by Epron and Dreyer (1992) :
maintenance of high values of maximal photochemical efficiency of PS II (F_v/F_m) till very
strong levels of dehydration, and decline in photosynthetic activity, as estimated by the
photochemical efficiency of PS II under low irradiance ($\Delta F/F_m'$), only beyond the turgor
255 loss point.

The decrease in $\Delta F/F_m'$ was also accompanied by a decrease in q_p , although some species
related differences appeared in the relationship between both parameters (figure 2). In fact,
on both *P. candicans* and *E. camaldulensis*, an almost straight relationship appeared while in
Q. ilex, the first stages of decrease were accompanied by a maintenance of high q_p that is of
260 a high oxidation state of the primary electron acceptor QA. In the meantime, the
photochemical efficiency of open centers F_v/F_m' decreased till a minimal value and
reincreased. The magnitude of the changes in F_v/F_m' were very different between species,
the largest being recorded on *Q. ilex*.

To enable a comparative analysis of the response curves to dehydration of all species we
265 computed following parameters (table 3) : F_m , F_v/F_m , $\Delta F/F_m$ at optimal water content ($D < 0.2$), the threshold in D below which $\Delta F/F_m$ strongly declined, the minimal value of F_v/F_m , and Δ , the magnitude of changes in F_v/F_m during the dehydration

Optimal values of F_m ranged from 73.4 to 112.9 respectively, depending on species. These
species related differences could be partly attributed to variations in total chlorophyll content
270 of leaves. This was the only fluorescence parameter which could be correlated to a leaf
structural feature. Maximal values of F_v/F_m averaged 0.800, with some significant
differences among species (range: 0.774 for *A. indica*, and 0.826 for *P. candicans*). During
dehydration, F_v/F_m remained almost constant, with only slight decreases in a few species.
Anyway, even at $D \approx 0.7$, F_v/F_m was still around 0.75. We observed sharp declines only
275 when D overcame 0.7. $\Delta F/F_m$ displayed high values between 0.60 and 0.66 depending on
the species, and remained almost constant till a threshold in D ranging from 0.23 in *Q. cerris*
till 0.40 in *Q. robur*. This threshold value was in all cases above the turgor loss point, and
apparently not related to the known ability of species to withstand drought stress. Finally,
the dehydration induced changes in F_v/F_m displayed a strong interspecific variability; both
280 minimal values (0.25 for *Q. ilex* to 0.57 for *E. camaldulensis*) and magnitude of decline
(0.44 for *Q. ilex* to 0.17 for *Q. robur*) were very variable.

Discussion.

The results presented here confirm the observations made by many authors, showing that the
285 photosynthetic functions are very unresponsive to leaf dehydration (Kaiser, 1987 ; Cornic *et al*, 1989 ; Cornic and Briantais, 1991; Epron and Dreyer, 1992). In fact, for all species the photochemical efficiency of PS II of dark adapted leaves (F_v/F_m) declined strongly only at relative leaf water losses above 0.7. The photochemical efficiency of PS II at 220 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ($\Delta F/F_m'$) decreased sharply below 0.25, that is after turgor loss, and probably at relative
290 leaf water losses where net CO_2 assimilation rates should be almost nil for all the species used here (Epron and Dreyer, 1990). Under such conditions, it is expected from results of Cornic and Briantais (1991) that photorespiration may consume the electron flow produced by the PS II activity ; as a matter of fact, all tested species display a C3 metabolism.

The increase of relative leaf water loss beyond this level induced strong declines of
295 photochemical efficiency at low irradiance ($\Delta F/F_m'$). The absence of decreases in the maximal photochemical efficiency of PS II (F_v/F_m) and of increases in F_0 clearly demonstrated that these declines could not be attributed to decreased potential activity of PS II reaction centers. But in all cases they were accompanied by a decrease in the photochemical efficiency of open PS II reaction centers (F_v'/F_m'), which reflects increased
300 thermal deexcitation of PS II (Genty *et al*, 1989). This in some cases allowed maintenance of high states of oxidation of the primary acceptor Q_A , as revealed by high values of the photochemical quenching q_p , or at least slowed down the reduction of this acceptor pool. Epron and Dreyer (1992) showed that at this stage, an efficient recovery of F_v'/F_m' happened in a few minutes as soon as the actinic light was switched off, which indicates that the
305 decreases were due to a fast relaxing non photochemical quenching. Highest levels of D finally drove to a reincrease of F_v'/F_m' and to a strong decline of q_p .

Despite large differences in leaf structures among species, only minor variations were detected in the photochemical efficiency of PS II, both after dark adaptation (which remained

around 0.82) and after 10 mn at $220 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (around 0.62). The only significant
310 change was detected in F_m , which in fact was related to the amount of chlorophyll per leaf
area. This is not surprising since, as had been demonstrated by Björkman and Demmig
(1987), maximal quantum yield of photosynthesis is identical in all C3 species and
corresponds to an efficiency of about 0.83 electrons issued from PS II per intercepted
photon.

315 The reactions to dehydration were similar in all species. No significant interspecific
differences could be detected in the sensitivity of the maximal photochemical efficiency of
PS II (F_v/F_m). Some important differences appeared in the precocity of the decline of
photochemical efficiency at $220 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, revealing changes in the photosynthetic
activity. But surprisingly, the species supposed to display the best adaptation to drought also
320 showed earliest decreases (beyond $D=0.34$ for *P. candicans*, and $D=0.25$ for *Q. ilex*) !

The largest interspecific difference appeared in the magnitude of changes in F_v/F_m' , in
relation to decreased $\Delta F/F_m'$. They reflect differences in the magnitude of thermal
deexcitation of PS II while the photochemical efficiency decreases. The largest levels were
displayed by *Q. ilex*, and helped maintain high values of q_p , that is a high oxidation state of
325 the primary acceptor QA. This feature could be considered as an index for a better tolerance
to relative leaf water losses, but it has to be kept in mind that the photochemical efficiency
decreased also rather early in this species and that *P. candicans*, one of the most drought
sensitive species tested here, displayed also rather high values.

In conclusion, these results emphasize the very poor correlation existing between drought
330 resistance of different species and the sensitivity of their photosynthetic functions to leaf
dehydration. This results is in accordance to many other experimental evidence. In fact, the
decreases in photosynthetic activity in response to drought under natural conditions are
probably not related to dysfunctions induced by leaf dehydration, but to stomatal closure, as
has been confirmed by direct measurements of O_2 evolution under saturating CO_2 (Cornic et
335 al, 1989). Stomatal closure leads to low CO_2 concentrations in the chloroplasts, and high

irradiance and temperatures increases associated to drought could induce deleterious effects (Chaves, 1991). The ability to withstand such periods of high irradiance, and high temperature during drought may be the most significant physiological aspect of drought tolerance, together with the precocity of drought induced stomatal closure.

340 **Acknowledgements.** The authors are very grateful to J.M. Gioria and J.M. Desjeunes for having grown the seedlings used in this experiment. They thank the Centre Technique Forestier Tropical for having provided seeds from tropical species, and the French Ministère de la Coopération et du Développement for travel funds to O. E.-M. The comments of two anonymous reviewers on an earlier version are gratefully acknowledged.

345 **References**

- Baker N R (1991) A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. *Physiol Plant* , 81,563-570.
- Björkman O., Demmig B. (1987) Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta*,
350 170, 489-504.
- Chaves M.M. (1991) Effects of water deficits on carbon assimilation. *J Exp Bot* , 42, 1-16.
- Cornic G., Papagiorgiou I., Louason G. (1987) Effect of a rapid and a slow drought cycle followed by rehydration on stomatal and non stomatal components of leaf photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* L. *J. Plant Physiol.* 126: 309-318.
- 355 Cornic G, Le Gouallec J L, Briantais J M, Hodges M (1989) Effect of dehydration and high light on photosynthesis of two C₃ plants (*Phaseolus vulgaris* L., *Elatostema repens* (Lour)Hall f). *Planta*, 177, 84-90.
- Cornic G., Briantais J.M. (1991) Partitioning of photosynthetic electron flow between CO₂ and O₂ reduction in a C₃ leaf (*Phaseolus vulgaris* L.) at different CO₂ concentrations
360 and during drought stress. *Planta*, 183,178-184.
- Dreyer E., Bousquet F., Ducrey M. (1990) Use of pressure volume curves in water relation analysis on woody shoots: influence of rehydration and comparison of four European oak species. *Ann Sci For* 47: 285-297.
- Epron D, Dreyer E (1990) Stomatal and nonstomatal limitation of photosynthesis by leaf
365 water deficits in three oak species: a comparison of gas exchange and chlorophyll a fluorescence data. *Ann Sci For* 47, 435-450.
- Epron D, Dreyer E (1992) Effects of severe dehydration on leaf photosynthesis in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. : photosystem II efficiency, photochemical and non photochemical fluorescence quenchings and electrolyte leakage. *Tree Physiol.*, 10,
370 273-284.
- Genty B., Briantais J.M., Vieira da Silva J.B. (1987) Effects of drought on primary photosynthetic processes of cotton leaves. *Plant Physiol.* 83, 360-364.

- 375 Genty B, Briantais J M, Baker N R (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochem Biophys Acta*, 990, 87-92.
- Hinckley T.M., Duhme, F. Hinckley A.R., Richter H. (1980) Water relations of drought hardy shrubs : osmotic potential and stomatal reactivity. *Plant Cell Environ*, 3, 131-140.
- 380 Hiscox J.D., Israelstam G.F. (1979) A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Can J Bot* , 57, 1332-1334.
- Kaiser W M (1987) Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiol Plant*, 71, 142-149.
- Ögren E., Öquist G. (1985) Effects of drought on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and photoinhibition susceptibility in intact willow leaves. *Planta*, 166, 380-388.
- 385 Sall P.N., Aussenac G., Dreyer E., Granier A. (1991) Limitation par la sécheresse de la croissance d'*Eucalyptus camaldulensis* Dehn. en climat soudano-sahélien au Sénégal. *Rev. For. Fr.*, 43, 309-316.

Tables

390 Table 1. Characteristics of the leaves of the tested species; LSW : leaf specific weight ; Chl a and Chl tot : concentrations in chlorophyll a, and a+b respectively expressed on a leaf area basis ; Chl a/b : ratio of chlorophyll a to chlorophyll b. Species sequence reflects supposed increasing drought tolerance.

SPECIES	LSW g dm ⁻²	Chl a mg dm ⁻²	Chl tot mg dm ⁻²	Chl a/b
<i>Populus candicans</i>	0.27	-	-	-
<i>Quercus robur</i>	0.64	4.36	5.74	3.16
<i>Quercus rubra</i>	0.60	3.22	3.95	4.35
<i>Quercus petraea</i>	0.63	4.22	5.93	2.49
<i>Quercus petraea (stand)</i>	1.01	5.30	7.35	2.66
<i>Quercus cerris</i>	0.76	4.82	6.66	2.64
<i>Quercus pubescens</i>	0.72	4.61	6.16	3.02
<i>Quercus ilex</i>	1.30	4.96	5.20	2.79
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	0.87	1.86	2.36	3.68
<i>Dalbergia sissoo</i>	0.51	2.38	2.90	4.52
<i>Azadirachta indica</i>	0.63	2.05	2.45	5.18
<i>Acacia holosericea</i>	1.50	-	-	-

395 Table 2. Water relations of shoots from the tested species, as derived from pressure-volume curves. π_0 : osmotic potential at full turgor ; D_{tl} : relative leaf water loss at turgor loss point ; Ψ_{wtl} : leaf water potential at turgor loss ; $\Psi_{w(0.3)}$: leaf water potential at $D=0.3$. Means $\pm$ standard deviation.

SPECIES	π_0 MPa	D_{tl}	Ψ_{wtl} MPa	$\Psi_{w0.3}$
<i>Populus candicans</i> (n=1)	-1.56	0.115	-2.05	-3.80
<i>Quercus robur</i>	-1.49 ± 0.11	0.146 ± 0.032	-1.76 ± 0.13	-2.10
<i>Quercus rubra</i>	-1.71 ± 0.04	0.123 ± 0.0126	-2.07 ± 0.07	-3.30
<i>Quercus petraea</i>	-1.61 ± 0.10	0.141 ± 0.0140	-1.85 ± 0.06	-2.40
<i>Quercus petraea</i> (stand)	-2.26	0.208	-3.04	-
<i>Quercus cerris</i>	-2.14 ± 0.15	0.133 ± 0.362	-2.51 ± 0.24	-3.20
<i>Quercus pubescens</i>	-1.67 ± 0.05	0.110 ± 0.0209	-2.01 ± 0.17	-2.70
<i>Quercus ilex</i>	-2.12 ± 0.06	0.123 ± 0.0119	-2.45 ± 0.01	-3.30
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	-1.68 ± 0.28	0.147 ± 0.0371	-2.11 ± 0.42	-2.80
<i>Dalbergia sissoo</i>	-1.50 ± 0.14	0.123 ± 0.0310	-1.74 ± 0.06	-2.20
<i>Azadirachta indica</i>	-1.28 ± 0.02	0.098 ± 0.0160	-1.57 ± 0.08	-2.70
<i>Acacia holosericea</i>	-1.41 ± 0.03	0.101 ± 0.0171	-1.60 ± 0.07	-2.00

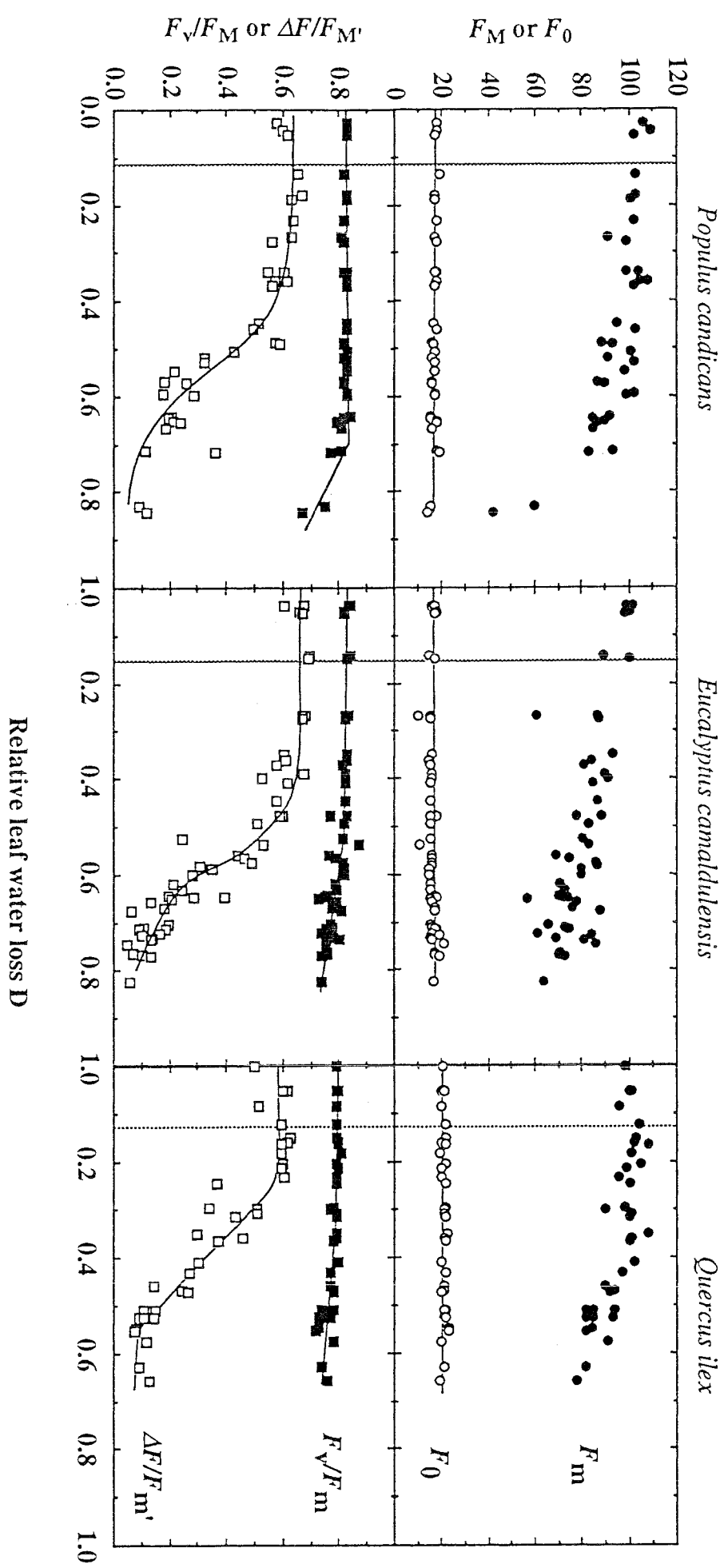
Table 3: Some remarkable values of photochemical efficiency of PS II as measured in response to increasing leaf water loss. F_{mopt} : maximal fluorescence of dark adapted leaf disks at optimal water content ; F_v/F_{mopt} : photochemical efficiency of PS II of dark adapted disks at optimal water content ; $\Delta F/F_{m'opt}$: photochemical efficiency of PS II after a 10 mn induction at $220 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ at optimal water content ; D_{th} : threshold in relative leaf water loss at which a decline in $\Delta F/F_{m'}$ began ; $F_v/F_{m'min}$: lowest value of photochemical efficiency of open PS II reaction centers at $220 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ measured during the course of dehydration ; Δ : difference between highest and lowest values of $F_v/F_{m'}$ observed during dehydration ; this parameter may be considered as an index for the intensity of dehydration induced changes in thermal deexcitation of PS II.

SPECIES	F_{mopt}	F_v/F_{mopt}	$\Delta F/F_{m'opt}$	D_{th}	$F_v/F_{m'min}$	Δ
<i>Populus candicans</i>	100.8 $\pm$ 2.78	0.826 $\pm$ 0.003	0.635	0.34	0.37	0.37
<i>Quercus robur</i>	103.9 $\pm$ 1.99	0.815 $\pm$ 0.004	0.66	0.40	0.56	0.17
<i>Quercus rubra</i>	98.6 $\pm$ 2.31	0.779 $\pm$ 0.006	0.66	0.29	0.37	0.32
<i>Quercus petraea</i>	112.9 $\pm$ 2.26	0.803 $\pm$ 0.003	0.65	0.34	0.42	0.28
<i>Quercus petraea (stand)</i>	103.6 $\pm$ 2.52	0.808 $\pm$ 0.005	0.66	0.38	0.42	0.30
<i>Quercus cerris</i>	92.8 $\pm$ 1.71	0.798 $\pm$ 0.050	0.64	0.23	0.50	0.23
<i>Quercus pubescens</i>	100.0 $\pm$ 1.80	0.808 $\pm$ 0.010	0.66	0.28	0.40	0.33
<i>Quercus ilex</i>	100.5 $\pm$ 1.77	0.790 $\pm$ 0.004	0.60	0.25	0.25	0.44
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	86.3 $\pm$ 3.88	0.820 $\pm$ 0.008	0.65	0.39	0.57	0.21
<i>Dalbergia sissoo</i>	81.9 $\pm$ 2.80	0.796 $\pm$ 0.008	0.62	0.39	0.48	0.25
<i>Azadirachta indica</i>	79.3 $\pm$ 0.87	0.774 $\pm$ 0.006	0.32	-	0.44	0.23
<i>Acacia holosericea</i>	73.4 $\pm$ 1.90	0.827 $\pm$ 0.008	0.60	0.34	0.54	0.20

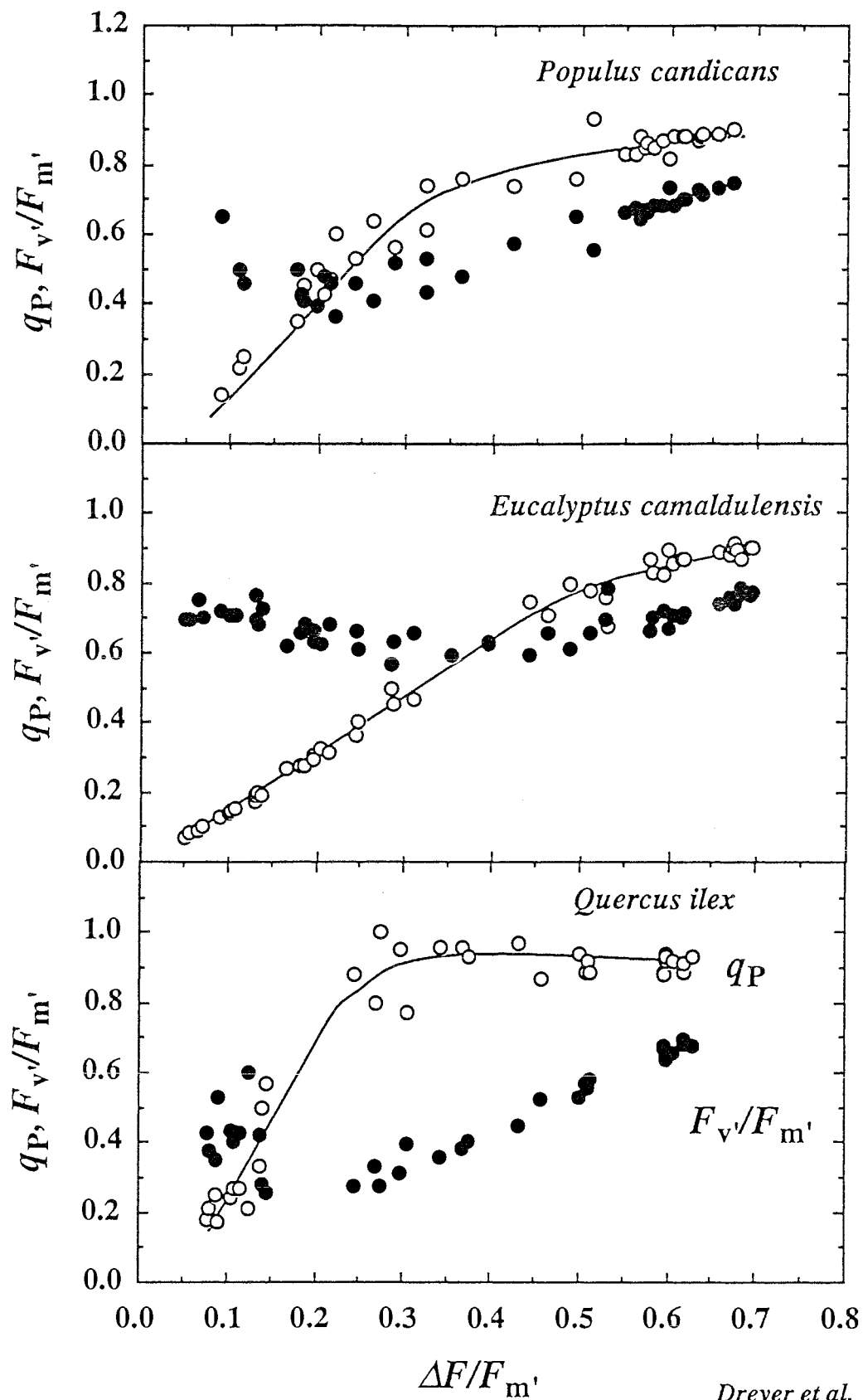
Figures

Figure 1. Effects of increasing relative leaf water loss (D) under darkness on initial and maximal fluorescence F_0 and F_m , on photochemical efficiency of PS II of dark adapted leaves F_v/F_m , and on photochemical efficiency of PS II after 10 mn at $220 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ($\Delta F/F_m'$). Results from 3 species are exemplified: *Populus candicans*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Quercus ilex*. Each point is the result from an individual leaf disk. Dotted lines mark the value of D at turgor loss for each species.

Figure 2. Relationship between photochemical efficiency of PS II ($\Delta F/F_m'$), photochemical quenching (q_p) and photochemical efficiency of open PS II centers (F_v/F_m') as modified by increasing dehydration for *Populus candicans*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Quercus ilex*. Measurements obtained after 10 mn induction at $220 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Each point is the result from an individual leaf disk. Open disks : q_p ; black disks : F_v/F_m' .



Dreyer et al, 1992, Fig 1.



Dreyer et al, 1992, Fig 2

ANNEXE G: Données non publiées obtenues en Italie lors d'une campagne de mesure en juillet 1992 dans un taillis vieillissant de *Q. cerris*, en collaboration avec le laboratoire DISAFRI de l'université de Viterbo (R. Valentini, P. de Angelis & G. Matteucci).

Des mesures couplées d'assimilation nette de CO₂ et de fluorescence de chlorophylle ont été réalisées au cours d'une journée ensoleillée (26 juillet 1992) en utilisant un système ouvert de mesure des échanges gazeux (minicuvette, Walz, Allemagne) couplé au fluorimètre P.A.M (Walz, Allemagne). A différents moments de la journée, l'assimilation nette de CO₂, l'efficacité photochimique du PSII ($\Delta F/F_m'$) et le quenching non photochimique calculé d'après les équations de Stern-Volmer ($q_{N(SV)}$) ont été mesurés dans un air contenant 21 % d'O₂ puis dans un air contenant 2 % d'O₂ après 10 minutes d'acclimatation. L'évolution de ces paramètres est visible sur la figure G.2.

La respiration à l'obscurité a été déterminée en obscurcissant plusieurs minutes la feuille à différents moments de la journée. Une valeur constante de 0.6 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a été mesurée. Le rendement quantique de l'assimilation nette de CO₂ (Φ_{CO_2}) a été calculé en divisant la somme de l'assimilation nette de CO₂ et de la respiration à l'obscurité par la densité de flux quantique (PFD) incidente. La figure G.1 représente la relation entre l'efficacité photochimique du PSII et le rendement quantique de l'assimilation nette de CO₂ mesurée dans 2% d'O₂. (voir chap. II.4. pour l'analyse de cette relation). Les différents points de la relation ont été obtenus en réponse à des variations de PFD soit à différents moments de la journée, soit en milieu de journée en réduisant progressivement le PFD par addition de filtres entre le soleil et la feuille. Cette dernière procédure a été effectuée à 350 et 720 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂.

Le flux d'électrons utilisé pour l'assimilation de CO₂ a été calculé en multipliant par 4 la somme de l'assimilation nette de CO₂ et de la respiration à l'obscurité. Le flux total d'électrons à 2% d'O₂ est considéré comme égal au flux d'électrons utilisé pour l'assimilation de CO₂ dans ces conditions. Le rapport total du flux d'électrons sur l'efficacité photochimique du PSII a été considéré comme constant à un moment donné de la journée lorsque la feuille se trouvait dans une atmosphère à 2 ou 21% d'O₂. Donc, le flux total d'électrons à 21 % d'O₂ a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\frac{\text{flux total d'électrons à 21\% d'O}_2}{\Delta F/F_m' \text{ 21\% d'O}_2} = \frac{\text{flux total d'électrons à 2\% d'O}_2}{\Delta F/F_m' \text{ 2\% d'O}_2}$$

A 21% d'O₂, le flux d'électrons non utilisé pour l'assimilation de CO₂ est donc égal à la différence entre le flux d'électrons total à 21 % d'O₂ et le flux d'électrons utilisé pour l'assimilation de CO₂ à 21 % d'O₂.

Le flux d'électrons potentiel a été calculé pour différents moments de la journée comme le produit du rendement quantique flux du flux d'électron total mesuré le matin et du PFD régnant au moment considéré. Les résultats du calcul des ces différents flux d'électrons pour la journée du 26 juillet 1992 sont présentés figure G.2.

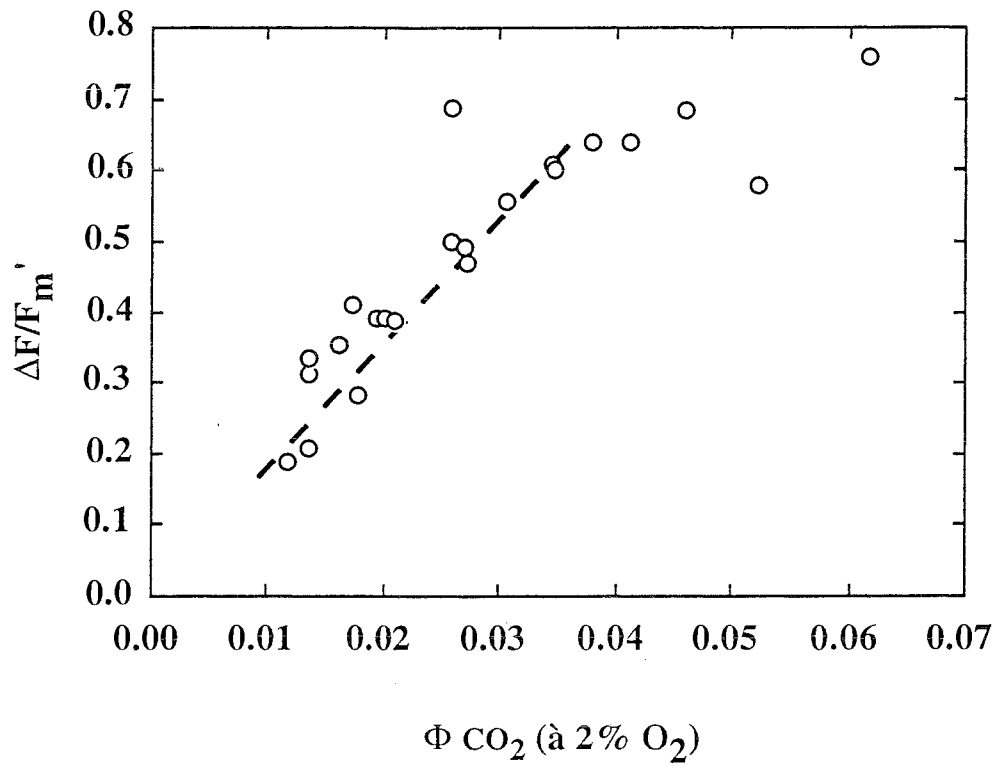


Figure G.1: Relation entre le rendement quantique apparent de l'assimilation nette de CO_2 mesuré à 2% d' O_2 et l'efficacité photochimique du photosystème II ($\Delta F/F_m'$). *Quercus cerris*, dispositif expérimental du Monte Rufeno, Italie. Voir texte pour plus de détails.

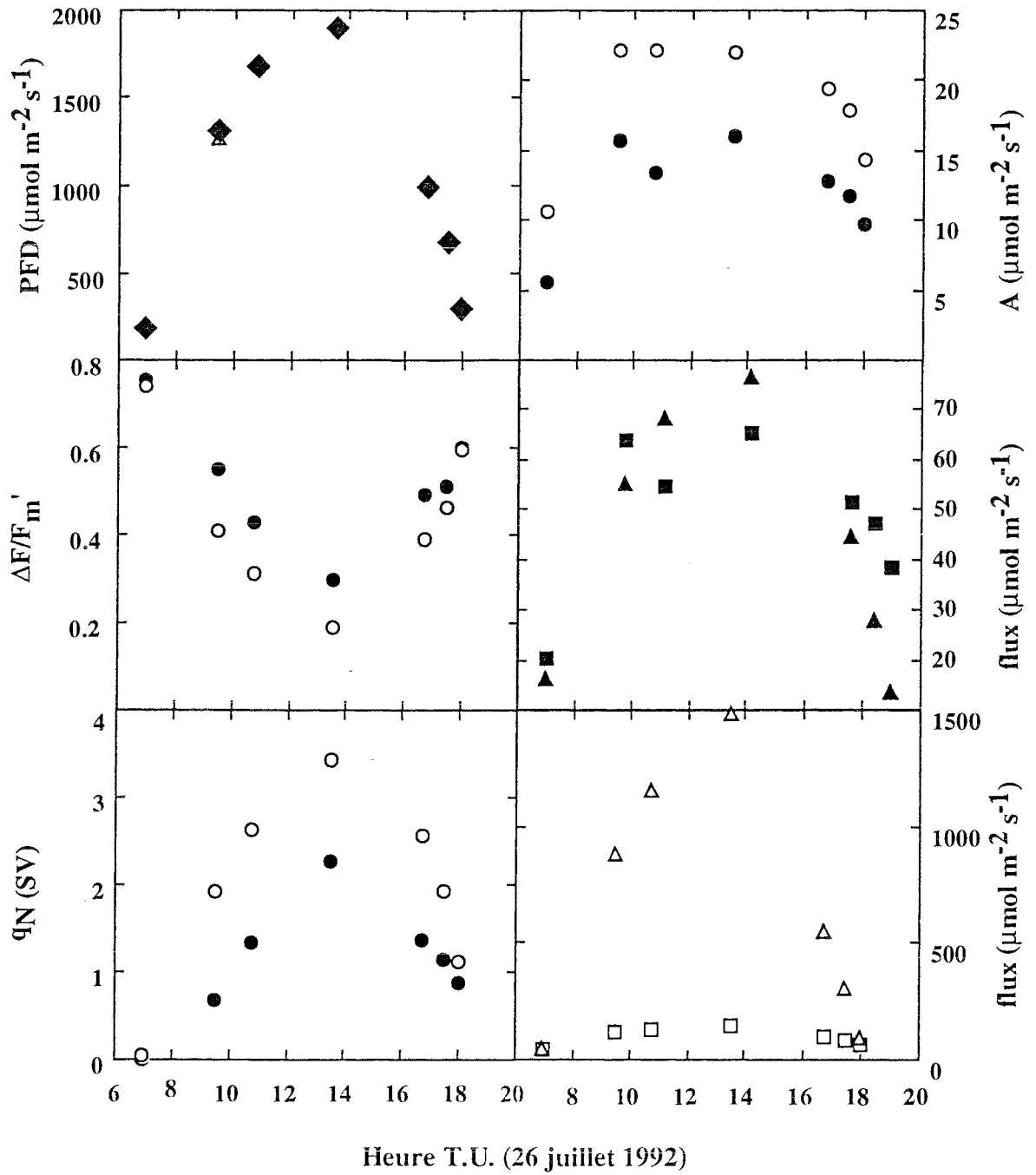


Figure G.2 : Cinétique journalière de la densité de flux quantique (PFD, losange noir), de l'assimilation nette de CO_2 (A) mesurée à 21% (disques noirs) ou 2% (disques blancs) d' O_2 , de l'efficacité photochimique de PS II ($\Delta F/F_m'$) mesurée à 21% (disques noirs) ou 2% (disques blancs) d' O_2 , du quenching non-photochimique calculé d'après les équations de Stern-Volmer ($q_{N(SV)}$) mesurée à 21% (disques noirs) ou 2% (disques blancs) d' O_2 , du flux d'électrons (flux) utilisé pour l'assimilation de CO_2 (carrés noirs), non utilisé pour l'assimilation de CO_2 (triangles noirs), total (carrés blancs) et potentiel (triangles blancs). *Quercus cerris*, dispositif expérimental du Monte Rufeno, Italie (Voir le texte pour plus de détail).

Effects of water deficits and high light on photosynthesis of oak seedlings under controlled conditions and oak trees under natural conditions.

Summary :

The aims of this work were to study the effects of leaf water status on photosynthesis, the effects of high light on the photosynthetic apparatus in relation to leaf water status and the real effects of summer drought on tree photosynthesis. Results obtained on oaks confirm that the photosynthetic apparatus is highly resistant to leaf dehydration and to water deprivation. During drought, net CO₂ assimilation was mainly limited by stomatal closure. Persistent photoinhibition do not occur as long as leaves were not submit to higher light levels than those received during growth. Different mechanisms contribute to this tolerance to high light stress. Capacity of leaves to modulate photosystem II activity in response to irradiance and/or electron requirement variations is the main important one. But, during drought, photorespiration limits the decrease in photosystem II activity.

Key-words : oak, Quercus, drought, water deficit, photosynthesis, photorespiration, thermal dissipation, chlorophyll fluorescence.

Effets des déficits hydriques et des forts éclaircissements sur la photosynthèse de jeunes semis de chênes en conditions contrôlées et de chênes adultes en conditions naturelles.

Résumé :

Les objectifs de ce travail étaient de caractériser l'effet de l'état hydrique foliaire sur la photosynthèse, d'étudier l'impact des forts éclaircissements sur l'appareil photosynthétique en liaison avec l'état hydrique des feuilles et d'évaluer l'influence réelle d'un dessèchement du sol sur le fonctionnement de l'appareil photosynthétique d'arbres adultes durant la période estivale. Les résultats obtenus sur les chênes confirment la forte tolérance de l'appareil photosynthétique à la déshydratation des tissus foliaires et à la diminution des réserves hydriques du sol. La limitation de l'assimilation nette de CO₂ en réponse à une diminution de la disponibilité en eau du sol résulte essentiellement de la fermeture des stomates. Une photoinhibition durable de l'appareil photosynthétique n'est jamais observée, tant que les feuilles ne sont pas soumises à des éclaircissements supérieurs à ceux qu'elles ont connus durant leur croissance. Différents mécanismes contribuent à cette tolérance des feuilles aux excès d'éclaircissement. La capacité des feuilles à moduler l'activité photochimique du PS II en réponse aux variations d'éclaircissement et/ou des besoins en électrons apparaît comme le mécanisme quantitativement le plus important. Mais, en situation de sécheresse, la photorespiration permet de limiter la réduction de l'activité du photosystème II.

Mots-Clefs : chêne, Quercus, sécheresse, déficit hydrique, photosynthèse, photorespiration, dissipation thermique, fluorescence chlorophyllienne.

UNIVERSITE DE NANCY I

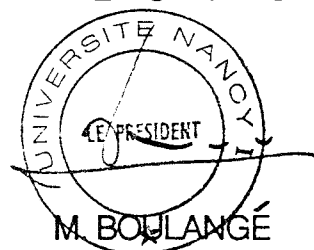
NOM DE L'ETUDIANT : Monsieur EPRON Daniel

NATURE DE LA THESE : DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE NANCY I
EN ECOPHYSIOLOGIE VEGETALE

VU, APPROUVE ET PERMIS D'IMPRIMER

NANCY, le 25 JAN. 1993 n°36

LE PRESIDENT DE L'UNIVERSITE DE NANCY I



Effets des déficits hydriques et des forts éclaircissements sur la photosynthèse de jeunes semis de chênes en conditions contrôlées et de chênes adultes en conditions naturelles.

Résumé :

Les objectifs de ce travail étaient de caractériser l'effet de l'état hydrique foliaire sur la photosynthèse, d'étudier l'impact des forts éclaircissements sur l'appareil photosynthétique en liaison avec l'état hydrique des feuilles et d'évaluer l'influence réelle d'un dessèchement du sol sur le fonctionnement de l'appareil photosynthétique d'arbres adultes durant la période estivale. Les résultats obtenus sur les chênes confirment la forte tolérance de l'appareil photosynthétique à la déshydratation des tissus foliaires et à la diminution des réserves hydriques du sol. La limitation de l'assimilation nette de CO_2 en réponse à une diminution de la disponibilité en eau du sol résulte essentiellement de la fermeture des stomates. Une photoinhibition durable de l'appareil photosynthétique n'est jamais observée, tant que les feuilles ne sont pas soumises à des éclaircissements supérieurs à ceux qu'elles ont connus durant leur croissance. Différents mécanismes contribuent à cette tolérance des feuilles aux excès d'éclaircissement. La capacité des feuilles à moduler l'activité photochimique du PS II en réponse aux variations d'éclaircissement et/ou des besoins en électrons apparaît comme le mécanisme quantitativement le plus important. Mais, en situation de sécheresse, la photorespiration permet de limiter la réduction de l'activité du photosystème II.

Mots-Clefs : chêne, Quercus, sécheresse, déficit hydrique, photosynthèse, photorespiration, dissipation thermique, fluorescence chlorophyllienne.