



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>



S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54601 VILLERS-LES-NANCY Cédex



FACULTE DES SCIENCES & TECHNIQUES

U.F.R. Sciences & Techniques Biologiques

Ecole Doctorale Sciences et Ingénierie des Ressources, Procédés, Produits, Environnement

Département de Formation Doctorale Sciences Agronomiques et Forestières, Biologie et Ecologie, Biotechnologies

Thèse

présentée pour l'obtention du titre de

Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy-I

en Biologie Forestière

par **Stéphane PONTON**

**Analyse de l'efficience d'utilisation de l'eau
des chênes pédonculé (*Quercus robur* L.) et sessile (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.)
Relation avec les dépérissements des chênaies**

Soutenance publique prévue le 30 avril 2002

Membres du jury:

Rapporteurs :	M. Bernard SAUGIER	Professeur, Université Paris XI
	M. André FERHI	Maître de Conférences, Université Paris VI
Examineurs :	M. Pierre DIZENGREMEL	Professeur, U.H.P., Nancy I
	M. Antoine KREMER	Directeur de Recherche INRA, Bordeaux
	M. Jean-Luc DUPOUEY	Directeur de Recherche INRA, Nancy (Directeur de thèse)

Je tiens à remercier très sincèrement l'ensemble des membres de l'équipe phytoécologie pour leur aide quotidienne.

Jean-Luc Dupouey, Erwin Dreyer et Nathalie Bréda m'ont encadré et soutenu durant l'année de DEA et les trois ans de thèse qui l'ont suivie. Pour des aspects techniques, et en réalité bien au-delà, Roger Schipfer, Claude Bréchet, François Géréma, Patrick Behr, Christian Kieffer, Yves Lefèvre et Patrick Gross m'ont constamment prêté main forte. Laurence Le Maout et Rosine Gross m'ont largement facilité la vie, au cours de ces quatre années, en m'allégeant de nombreuses formalités administratives. Gilbert Aussenac, Vincent Badeau, Michel Becker, Damien Bonal, Olivier Bourriaud, Oliver Brendel, Jean-François Dhôte, André Granier, Jean-Marc Guehl, Pierre Montpied, Louis-Michel Nageleisen, Gérard Nepveu, Jean-Pierre Renaud, Kamel Soudani et Didier Le Thiec m'ont accordé de leur temps pour des discussions et des conseils scientifiques. J'adresse à chacun mes plus vifs remerciements.

J'exprime également ici ma reconnaissance aux membres du jury de thèse, Pierre Dizengremel, Bernard Saugier, André Ferhi, Antoine Kremer et Jean-Luc Dupouey, qui ont fait de ma soutenance un moment des plus agréables et enrichissants.

Enfin, et surtout, merci à Christelle pour sa patience magnanime.

Sommaire

Synthèse

1	Introduction	1
1.1	Différences interspécifiques	1
1.1.1	Taxonomie et différenciation morphologique des deux espèces	1
1.1.2	Différenciations écologique et écophysiological des deux espèces	2
1.1.3	Recherche de marqueurs de la différenciation interspécifique	3
1.1.3.1	Marqueurs moléculaires	3
1.1.3.2	Croissance radiale	4
1.1.3.3	Effizienz d'utilisation de l'eau et discrimination isotopique	4
1.2	Dépérissement des chênaies	7
1.2.1	Contexte du dépérissement des chênaies	7
1.2.2	Marqueurs de sensibilité aux stress	8
1.3	Objectifs	10
2	Nouveaux apports pour la différenciation <i>Q. robur</i> / <i>Q. petraea</i>	12
2.1	Différenciation morphologique chez les jeunes plants	12
2.2	Effizienz d'utilisation de l'eau chez <i>Q. robur</i> et <i>Q. petraea</i>	12
2.2.1	Protocoles expérimentaux	13
2.2.2	Variabilité interspécifique de WUE _{int}	14
2.2.3	Interactions génotype*environnement	16
2.2.4	Changements d'échelle	17
2.2.6	Implications écologiques des différences interspécifiques de WUE _{int}	19
3	Marqueurs de sensibilité au dépérissement chez <i>Q. petraea</i>	22
3.1	Discrimination isotopique du carbone	22
3.2	Croissance radiale	24
4	WUE _{int} et résistance à la sécheresse	26
5	Conclusions et perspectives	28
	Références bibliographiques	33

Publications

Ponton, S., Dupouey J.L., Bréda N., Feuillat F., Bodénès C. and Dreyer. E., 2001. Carbon isotope discrimination and wood anatomy variations in mixed stands of *Quercus robur* and *Quercus petraea*. *Plant, Cell and Environment*. 24: 861-868.

Ponton, S., Dupouey J.L., Bréda N. and Dreyer. E., 2002. Comparison of water-use efficiency of seedlings from two sympatric oak species: genotype * environment interactions. *Tree Physiology* 22: 413-422.

Ponton, S., Dupouey J.L. and Dreyer. E., 2002. Leaf morphology as species indicator in seedlings of *Quercus robur* L. and *Q. petraea* (Matt.) Liebl.: modulation by irradiance and growth flush. *Annals of Forest Science* (accepté).

Ponton, S., Dupouey J.L., Bréda N., Helle G., Schleser G., Varbiro G. and Dreyer. E., 2002. Variations in ring width and carbon isotope discrimination of wood cellulose in declining *Quercus* stands. (en préparation).

Annexes

Annexe I : Discrimination isotopique du carbone chez *Q. robur* et *Q. petraea* le long d'un gradient écologique

Annexe II : Variation intra-spécifique de la discrimination isotopique du carbone chez *Q. petraea*

Annexe III : Mesure de la discrimination isotopique du carbone dans la cellulose du bois



Figure 1. Aire de répartition de *Quercus robur* (en haut) et *Quercus petraea* (en bas) d'après Florae Europaeae.

1 Introduction

Le chêne occupe une place majeure dans la forêt française. Sa large distribution, le tiers de la surface boisée française, et les qualités technologiques de son bois en font la première essence commerciale feuillue en France, représentant 60% de la production de feuillus et 40% de la récolte des bois toutes essences confondues. Il est à l'origine de 34% des recettes des forêts domaniales et 24% de celles des collectivités (Bourcet 2000).

A partir du début des années 1980, les dépérissements observés dans des chênaies en diverses régions de France et d'Europe (Delatour 1983, Macaire 1984), et avec des degrés de gravité variables, ont amené scientifiques et forestiers à étudier précisément les écologies respectives de deux espèces de chênes jusqu'alors rarement différenciées par les pratiques sylvicoles. Plusieurs études préliminaires avaient en effet révélé que le chêne pédonculé avait été la principale victime de ces dépérissements (Becker & Lévy 1982, Buffet 1983, Durand *et al.* 1983), épargnant le plus souvent le chêne sessile. Bien que les forestiers aient (plus ou moins) volontairement confondu les deux espèces en une seule essence jusqu'à la décennie dernière¹, des différences de 'tempérament' et d'exigences étaient connues depuis longtemps et épisodiquement rapportées dans la littérature. Camus (1938-9) faisait déjà mention des besoins différents des deux espèces en ce qui concerne le sol, et précisait que sous certaines conditions, elles pouvaient croître en mélange. Pardé (1942) énumérait leurs principales divergences écologiques en attribuant un caractère plus héliophile au chêne pédonculé, ainsi qu'une meilleure tolérance à l'hydromorphie et aux fortes gelées. Une vingtaine d'années plus tard, Jones (1959) soulignait encore que leurs caractéristiques botaniques étaient souvent mal décrites, les gammes de variation de ces caractéristiques largement sous-estimées, et les besoins écologiques respectifs méconnus.

1.1 Différences interspécifiques

1.1.1 Taxonomie et différenciation morphologique des deux espèces

Le chêne sessile (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) et le chêne pédonculé (*Quercus robur* L.) appartiennent au même sous-genre *Quercus* (selon Schwarz 1993; cf. synthèse de Bussotti & Grossoni 1998). Ils sont répandus sur l'ensemble de l'Europe à l'exception des zones méditerranéennes, alpines et septentrionales (Figure 1). Leur interfertilité² s'accorde mal avec le concept biologique de l'espèce habituellement retenu (Mayr 1942), d'où l'utilisation du concept de complexe d'espèces *Q. petraea* / *Q. robur* (Van Valen 1976), voire même la remise en cause de l'existence de deux espèces distinctes par certains auteurs (Kleinschmit *et al.* 1995, Kleinschmit & Kleinschmit 2000). L'identification de *Quercus petraea* et *Q. robur* peut être délicate, notamment dans les peuplements mixtes où le statut taxonomique des

¹ Le premier article traitant distinctement les sylvicultures du chêne sessile et du chêne pédonculé a été publié par Lafouge en 1990 dans la Revue Forestière Française. Dans le même numéro, Bouchon & Trancia signaient un article intitulé 'Sylviculture et production du chêne' dans lequel aucune précision d'espèce n'est indiquée. En 1997, Duplat précisait que, faute de table de production française adéquate, les forestiers devaient utiliser les courbes données par des modèles de croissance allemand ou anglais conçus pour « le chêne ».

² Les flux de gènes entre espèces sont fréquents dans l'ensemble du genre *Quercus*.

Quercus robur L.

Chêne pédonculé



Quercus petraea (Matt.) Liebl.

Chêne sessile

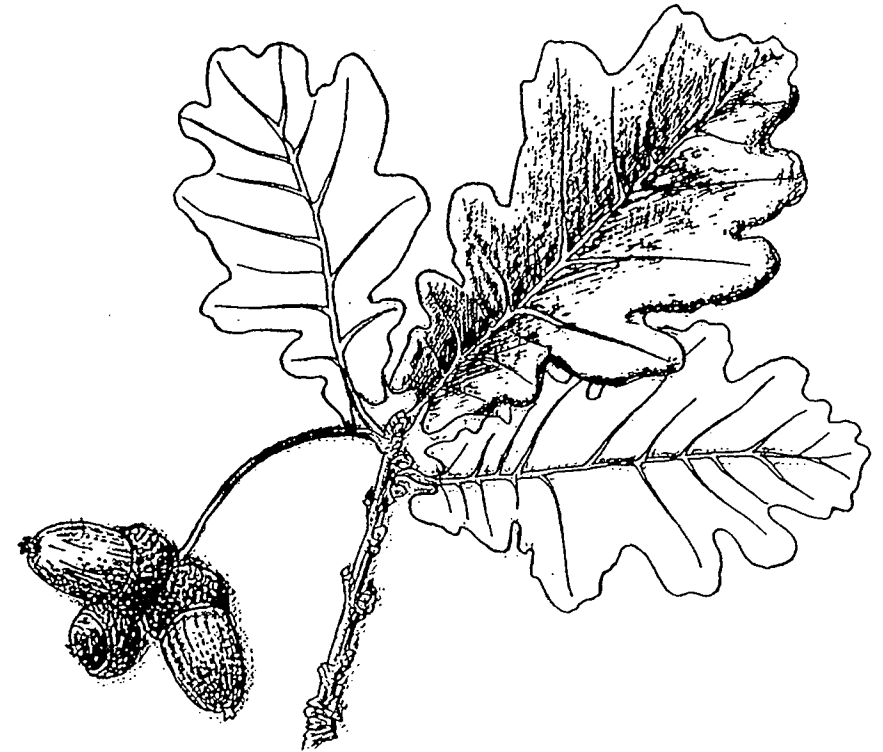


Figure 2. Feuilles et infrutescences typiques de *Q. robur* et *Q. petraea*. D'après Jacamon (1984).

individus est flou. La proportion d'individus de morphologie intermédiaire semble assez faible dans les peuplements (<5%, Dupouey 1983, Grandjean & Sigaud 1987, Dupouey & Badeau 1993). Kleinschmit & Kleinschmit (2000) estimèrent néanmoins que plus de 80 % des peuplements présentent des individus intermédiaires. L'évidence de l'existence d'hybrides naturels entre les deux espèces de chênes sympatriques est déjà ancienne¹ (Gardiner 1970, Cousens 1962, 1963) et renvoyait nécessairement à la détermination taxonomique efficace des individus. Les études qui ont visé à caractériser le statut taxonomique des deux espèces et de leurs hybrides, y compris les études récentes utilisant différents types de marqueurs moléculaires (Moreau *et al.* 1994, Bodénès *et al.* 1997), ont reposé jusqu'à présent sur une identification *a priori*, basée principalement, voire exclusivement, sur des critères de morphologie foliaire. Bien que la seule utilisation de la morphologie pour appréhender l'hybridation puisse paraître critiquable (Rushton 1977, 1978), elle reste encore actuellement le moyen de diagnostic le plus efficace. Pour formaliser les variations de morphologie foliaire entre *Q. petraea* et *Q. robur*, de nombreuses études ont été réalisées depuis les travaux initiateurs de Jones en 1959 (Carlisle & Brown 1965, Rushton 1974, Kissling 1980, Potter 1994, Grandjean & Sigaud 1987, Dupouey & Badeau 1993). Les efforts ont notamment porté sur la recherche de caractères univoques (Wigston 1975, Olsson 1975b, Kissling 1977, Rushton 1978, Aas 1993) ainsi que sur l'emploi de méthodes multivariées, rendu nécessaire par l'absence d'un caractère unique permettant le diagnostic (Dupouey 1983, Dupouey & Badeau 1993, Kleinschmit *et al.* 1995, Kremer *et al.* 2002). Les principales différences morphologiques interspécifiques, recensées sur feuilles de lumière d'individus adultes, concernent la taille relative du pétiole, la présence de nervures intercalaires, la pilosité et le développement d'oreillettes à la base du limbe (Figure 2). Parallèlement, des travaux ont également porté sur les différences interspécifiques de la morphologie des grains de pollen (Olsson 1975a, Rushton 1976) ou des glands² (Jones 1959, Rushton 1977, Brookes & Wigston 1979, Dupouey 1983, Dupouey & Le Boulter 1989, Aas & Friedrich 1991) et de l'anatomie du bois (Feuillat *et al.* 1997). La plupart de ces études mettent en évidence une distribution binomiale des critères morphologiques avec une faible proportion d'individus intermédiaires. Mais la détermination de l'appartenance d'un individu à l'une ou l'autre espèce nécessite toujours l'utilisation de plusieurs variables. Jusqu'à présent, la simplicité de mesure et l'efficacité des caractéristiques morphologiques foliaires ont favorisé leur large emploi.

1.1.2 Différenciations écologique et écophysologique des deux espèces

Parallèlement aux recherches qui s'engageaient sur le dépérissement des forêts avec la naissance du programme DEFORPA, un grand nombre d'études a été entrepris à partir du milieu des années 1980, d'une part pour affermir la connaissance des écologies de *Q. robur* et *Q. petraea*, et d'autre part pour appréhender leur fonctionnement écophysologique. Les premiers travaux réalisés dans des peuplements naturels montrèrent que *Q. robur* croissait sur des sols relativement plus riches en nutriments et mieux alimentés en eau que ceux sur lesquels était présent *Q. petraea* (Lévy *et al.* 1992, Bacilieri *et al.* 1995). Les études effectuées dans des peuplements mixtes (*Q. robur* / *Q. petraea*) montrèrent une forte similarité de régulation des échanges gazeux entre les deux espèces (Bréda *et al.* 1993, Epron & Dreyer

¹ L'hybridation entre *Q. robur* et *Q. petraea* était déjà connue au début du XX^{ème} siècle (Moss 1909, 1910) - anticipée d'ailleurs par les observations controversées d'individus intermédiaires dès le début du XIX^{ème} siècle - mais l'idée populaire voulant qu'elle soit très extensive, et donc anecdotique, perdura encore jusqu'aux années 60.

² voir aussi Dodd *et al.* (1993) ou Ferreira-Dias *et al.* (2001) pour la chimiotaxonomie basée sur les acides gras du gland pour distinguer *Q. agrifolia* et *Q. wislizenii*.

1993a). *Q. robur* pourrait présenter un enracinement sensiblement plus superficiel que *Q. petraea* (Bréda *et al.* 1995) ; cette observation ne semble cependant pas toujours valide (Thomas 2000a). Une vulnérabilité à la cavitation légèrement plus forte a également été détectée sur des individus adultes de *Q. robur* par rapport à *Q. petraea* (Cochard *et al.* 1992, Tyree & Cochard 1996). Des études sur jeunes plants croissant en conditions contrôlées montrèrent le plus fort taux de mortalité de *Q. robur* lors d'exposition à de sévères stress hydriques (Vivin *et al.* 1993), bien qu'aucune différence dans la réduction des échanges gazeux (assimilation de carbone et transpiration) n'ait été observée entre les deux espèces au cours du dessèchement du sol. Plusieurs auteurs (Belgrand 1983, Wagner & Dreyer 1997, Schnull & Thomas 2000) montrèrent, sur des jeunes plants, la meilleure adaptation du chêne pédonculé à un engorgement en eau du sol, confirmée par Becker *et al.* (1996) en peuplement naturel.

Par ailleurs, les études de dynamique des populations ont montré que *Q. robur* précédait *Q. petraea* dans les successions forestières et que le comportement pionnier du premier lui conférait une amplitude écologique très large en absence de concurrence, au moins dans les jeunes stades (Rameau 1990). Quant à la phénologie, les floraisons sont synchrones entre les deux espèces (Bréda 1994). A l'échelle de la vie de l'arbre, les fructifications de *Q. robur* sont plus précoces (une dizaine d'années pour celui-ci contre une quarantaine pour *Q. petraea*), plus régulières et abondantes que celles de *Q. petraea* (Bacilieri *et al.* 1995). Les glands de *Q. robur* seraient par ailleurs plus attirants pour le geai des chênes (*Garrulus glandarius* L.), principal agent de dispersion à longue distance, que ceux de *Q. petraea* (Bossema 1979 in Ducouso *et al.* 1993).

1.1.3 Recherche de marqueurs de la différenciation interspécifique

Dans un contexte où les différences écologiques entre deux espèces restent encore relativement difficiles à attribuer sans ambiguïté à des divergences fonctionnelles bien caractérisées, une stratégie envisageable pour la progression des connaissances consiste à rechercher des marqueurs intégrateurs du fonctionnement des individus et capables de discriminer les espèces. Dans cette étude, l'essentiel de l'investigation portait sur l'emploi d'un outil isotopique. Le dernier paragraphe de ce chapitre présente en détail le cadre théorique de l'utilisation de la discrimination isotopique du carbone. Par ailleurs, une partie importante du travail était basée sur l'étude d'arbres adultes pour lesquels une analyse de la croissance radiale fut systématiquement pratiquée. Les principaux résultats existant dans la littérature à ce sujet sont repris rapidement. Enfin, bien que l'utilisation de marqueurs moléculaires ne soit pas l'objet de ce travail (même s'ils furent utilisés pour confirmer l'identification taxonomique de chênes adultes, Publication I, Figure 1), un bref aperçu de leurs applications est donné ici, permettant ainsi de compléter la présentation du contexte de la présente étude.

1.1.3.1 Marqueurs moléculaires

De nombreux travaux entrepris dans la recherche de différences génomiques ont montré la grande proximité génétique des espèces *Q. robur* et *Q. petraea* (Olsson 1975c, Petit *et al.* 1993, Müller-Starck *et al.* 1993, Kleinschmit *et al.* 1995, Bacilieri *et al.* 1995). Un petit nombre de marqueurs moléculaires spécifiques (RAPD, AFLP) ont été trouvés mais n'ont encore été testés que sur des zones géographiques restreintes (Moreau *et al.* 1994, Bodénès *et*

Encadré 1

L'efficacité d'utilisation de l'eau peut être définie à plusieurs échelles :

- à l'échelle de la plante entière et intégrée dans le temps : c'est le rapport entre la biomasse formée et la quantité d'eau transpirée pendant une période donnée (par exemple la saison de végétation).
- à l'échelle foliaire et instantanée : c'est le rapport entre l'assimilation nette de CO_2 et la transpiration (A/E).

A l'échelle foliaire, la loi de Fick simplifiée décrit la diffusion du CO_2 et de la vapeur d'eau au niveau stomatique :

$$A = g_c (C_a - C_i) \quad (1)$$

$$E = g_{sw} (W_i - W_a) = g_{sw} v \quad (2)$$

avec A : taux d'assimilation du CO_2 ($\text{mmol. m}^{-2}. \text{s}^{-1}$)
 E : taux de transpiration ($\text{mmol. m}^{-2}. \text{s}^{-1}$)
 C_a et C_i : fractions molaires en CO_2 dans l'air et dans les espaces intercellulaires (mmol. mol^{-1})
 W_a et W_i : fractions molaires de vapeur d'eau dans l'air et les espaces intercellulaires (mmol. mol^{-1})
avec $W_i - W_a = v$; (le produit vP , P étant la pression atmosphérique, correspond au déficit de saturation de vapeur d'eau (VPD), en formulant les hypothèses que les sites d'évaporation sous-stomatiques soient à saturation et que la température foliaire soit identique à celle de l'air).
 g_c et g_{sw} : conductances stomatiques pour le CO_2 et la vapeur d'eau respectivement ($\text{mmol. m}^{-2}. \text{s}^{-1}$) avec $g_{sw} = 1,6 g_c$

Ainsi, par combinaison des équations (1) et (2), l'efficacité d'utilisation de l'eau instantanée et à l'échelle de la feuille s'écrit :

$$\text{WUE}_i = \frac{A}{E} = \frac{A}{g_{sw}} \cdot \frac{1}{v} = \frac{C_a \cdot \left(1 - \frac{C_i}{C_a}\right)}{1.6 v} \quad (3)$$

L'efficacité d'utilisation de l'eau instantanée (mmol.mol^{-1}) et à l'échelle de la feuille peut ainsi se décomposer en deux facteurs : $1/v$, composante environnementale liée au déficit de saturation de vapeur d'eau, et A/g_{sw} composante biologique liée à la régulation des échanges gazeux par la plante. Cette dernière composante est aussi appelée **efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau**.

al. 1997). Par ailleurs, les études réalisées sur des marqueurs chloroplastiques ont permis d'une part de retracer les voies de recolonisation de l'Europe par les chênes depuis les refuges glaciaires (Petit *et al.* 1997, Petit *et al.* 2002), mais aussi de découvrir une stratégie de dissémination de l'espèce *Q. petraea* utilisant le comportement pionnier de *Q. robur* (Petit *et al.* 1992). Des hybridations unidirectionnelles et récurrentes, assurées par les transferts de pollen privilégiés de *Q. petraea* à *Q. robur* (Steinhoff 1993, Bacilieri *et al.* 1996), permettent en effet à *Q. petraea* d'envahir les populations de *Q. robur* installées dans des milieux auxquels le premier n'est pas adapté initialement¹. Ce processus, dit d'introggression, explique la récupération du génome chloroplastique de *Q. robur* par *Q. petraea* et donc le fait que les deux espèces, lorsqu'elles occupent la même région géographique, ne présentent aucune différenciation chloroplastique.

1.1.3.2 Croissance radiale

Les premières études réalisées en peuplements comportant les deux espèces, et couvrant une large gamme de types de station, ont montré que la croissance radiale moyenne de *Q. petraea* était globalement supérieure de 30 à 50 % à celle de *Q. robur*, selon la région (Becker & Lévy 1986, Lévy *et al.* 1992). La raison de cette moindre performance de *Q. robur* est probablement due à son établissement fréquent dans des milieux inadaptés à son écologie. Du reste, la meilleure croissance initiale de *Q. robur* a souvent été signalée, ainsi que l'obtention de meilleures productivités pour *Q. robur* lors de comparaisons des deux espèces croissant chacune dans son milieu. Lévy *et al.* (1992) signalèrent également que la différence de croissance entre les deux espèces augmentait significativement après des épisodes de forte sécheresse, traduisant ici encore la plus grande sensibilité de *Q. robur* au déficit hydrique. En comparant les croissances radiales de ces deux espèces dans diverses conditions de milieux, ces auteurs montrèrent que la nutrition minérale était un facteur important dans la limitation de croissance de *Q. robur*, cependant moins crucial que la disponibilité en eau. Enfin, la croissance de *Q. petraea* est plus affectée par les basses températures pendant la saison de croissance que celle de *Q. robur* (Lévy *et al.* 1992). Ce résultat, rappelant les travaux écophysiologiques évoqués plus haut, pourrait être une des explications au fait que l'aire de répartition géographique de *Q. petraea* soit moins étendue vers l'Europe du Nord et de l'Est (Figure 1).

1.1.3.3 Efficience d'utilisation de l'eau et discrimination isotopique

L'efficience d'utilisation de l'eau de la photosynthèse, telle qu'elle fut définie par Larcher (1980), se réfère uniquement aux échanges gazeux dans les organes photosynthétiques sur des courtes périodes de temps². Plusieurs définitions de l'efficience d'utilisation de l'eau (WUE) coexistent cependant, différant par les échelles spatiale et temporelle qu'elles impliquent (cf. Encadré 1). Dans ce travail, c'est l'efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau (WUE_{int}) qui sera essentiellement considérée.

¹ La restriction de l'aire de distribution géographique de *Q. petraea* au nord et à l'est de l'Europe, par rapport à *Q. robur*, pourrait être également le fait d'une moindre vitesse de recolonisation post-glaciaire du premier. Après les dernières glaciations, *Q. petraea* aurait progressivement colonisé les forêts de *Q. robur*, par introggression, d'où un certain décalage dans les fronts de progression.

² Larcher définit par ailleurs une efficience d'utilisation de l'eau pour la productivité.

Encadré 1 (suite)

A l'échelle de la plante entière et intégrée dans le temps, l'efficacité d'utilisation de l'eau (WUEp) peut s'écrire selon le modèle de Farquhar & Richards (1984) :

$$WUEp = \frac{A}{g_{sw}} \cdot \frac{1}{v} \cdot \frac{12}{18 k} \cdot (1 - \phi) \quad (4)$$

Cette équation met WUEp sous le contrôle de 4 facteurs :

- la régulation physiologique des échanges gazeux foliaires.
- la différence de pression de vapeur d'eau entre l'air et la feuille intégrée sur la période de temps considérée.
- la concentration en carbone de la plante. 12/18 est le rapport des masses molaires du carbone et de l'eau et k est le rapport entre la masse de carbone et la masse végétale totale. Ce facteur k peut varier légèrement selon les espèces et les conditions de croissance.
- la proportion du carbone fixé dégagée (ϕ) par respiration, les exsudations et le turnover des racines ou des branches à l'échelle de la journée ou de la saison. Ce carbone non alloué à la croissance peut représenter de 30 à plus de 50 % de la quantité nette de carbone assimilé durant la phase diurne. Cette proportion est variable en fonction des espèces et des conditions de milieu, et dépend notamment de la concentration en azote des différents compartiments du végétal.

Une relation théorique reliant linéairement l'efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau (A/g_{sw}) et la discrimination isotopique contre le ^{13}C (Δ ; cf. Encadré 2 équation 9) a été proposée par Farquhar *et al.* (1982). La validité de cette relation a été vérifiée expérimentalement à l'échelle instantanée, par la combinaison de mesures d'échanges gazeux et de Δ calculé sur la base des valeurs de composition isotopique ($\delta^{13}\text{C}$) aux entrées et sorties d'une chambre d'assimilation (Farquhar *et al.* 1989). Cette relation a également été confirmée expérimentalement sur une échelle de plusieurs jours par la mesure du $\delta^{13}\text{C}$ d'assimilats néoformés (Brugnoli *et al.* 1988, Borland *et al.* 1994). Des corrélations négatives entre Δ et WUE intégrée sur une longue période de temps ont été observées sur de nombreuses espèces herbacées (Farquhar & Richards 1984, Johnson & Tieszen 1993, Hall *et al.* 1994) ou ligneuses (Ehleringer 1993a, Meinzer *et al.* 1993, Osorio & Pereira 1994, Guehl *et al.* 1995, Le Roux *et al.* 1996, Sun *et al.* 1996). La mesure de la composition isotopique des tissus végétaux (et le calcul de la discrimination isotopique qui s'en suit) constitue ainsi un outil efficace pour l'estimation rétrospective de l'efficacité d'utilisation de l'eau intégrée dans le temps. Cependant, les possibilités d'intégration temporelle (de l'échelle instantanée à l'échelle de la saison de végétation) et spatiale (de l'échelle de la feuille à l'échelle de l'individu) que permet l'utilisation de Δ lui confèrent, bien plus qu'une simple valeur d'estimateur de WUE, une très forte potentialité d'outil de criblage écologique. Les valeurs de Δ peuvent en effet être considérées comme des mesures à long-terme de la concentration intercellulaire de CO_2 , reflétant directement le niveau de compromis réalisé entre la maximisation des gains associés à l'assimilation de CO_2 et la minimisation des pertes associées à la transpiration (Ehleringer 1993a). Ainsi, beaucoup d'autres caractéristiques que la physiologie de la feuille sont associées à la valeur de Δ , comme la conductivité hydraulique dans la plante, la nutrition minérale ou encore la longévité des espèces. La discrimination isotopique est donc utilisée à la fois comme indicateur des processus physiologiques et des conditions environnementales prévalant lors de l'assimilation de CO_2 (Ehleringer 1988, 1993a, Leavitt 1993a, 1993b) et comme outil de comparaison de WUE entre génotypes, groupes d'individus ou taxons (DeLucia & Schlesinger 1991, Osorio & Pereira 1994, Zhang & Marshall 1994, Brooks *et al.* 1997, Bonal *et al.* 2000).

Il existe une composante génétique et une composante environnementale au déterminisme de WUE et de Δ . D'une façon générale, tous les facteurs affectant d'une part la diffusion du CO_2 depuis l'atmosphère jusqu'aux sites de carboxylation, d'autre part la carboxylation elle-même, sont susceptibles de modifier WUE et Δ . La concentration atmosphérique du CO_2 (C_a) influence le taux d'assimilation du CO_2 (A ; cf. Encadré 1, équation 1). Par ailleurs, la concentration intercellulaire du CO_2 (C_i), plutôt que C_a , agit sur la conductance stomatique (g_{sw}) (Mott 1988). L'augmentation de la concentration en CO_2 de l'air se traduit généralement par une augmentation de WUE (Guehl *et al.* 1994, Picon *et al.* 1996a, 1996b). Selon Mott & Parkhurst (1991), les stomates répondent également au déficit de pression de vapeur d'eau (VPD) à travers le taux de transpiration foliaire. Madhavan *et al.* (1991) ont montré qu'une diminution de l'humidité relative entraînait une décroissance de la discrimination isotopique. L'efficacité d'utilisation de l'eau décroît lorsque la disponibilité en eau du sol augmente (Farquhar & Richards 1984, Martin & Thorstenson 1988, Toft *et al.* 1989, Guehl *et al.* 1991, 1994, Picon *et al.* 1996a, Vivin & Guehl 1997). Leavitt (1993a) montre que les variations de Δ dans la cellulose des cernes de croissance des arbres sont fortement influencées par la teneur en eau du sol, ainsi que par les stress hydriques. Pour une large gamme de conditions d'éclairement, la conductance stomatique varie proportionnellement au taux d'assimilation du

Encadré 2

L'élément carbone a deux isotopes stables, ^{12}C et ^{13}C . Le rapport isotopique $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$ est de l'ordre de 1.1%. La **composition isotopique en ^{13}C** s'exprime selon une échelle relative à un standard :

$$\delta^{13}\text{C} = \left(\frac{R_{ech}}{R_{std}} - 1 \right) \times 1000 \quad (5)$$

avec R_{ech} et R_{std} les rapports isotopiques $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$ de l'échantillon et du standard PDB respectivement (Pee Dee Belemnite).

La matière végétale a une composition isotopique en ^{13}C plus faible que l'atmosphère. On définit la **discrimination isotopique du carbone (Δ)** de la manière suivante :

$$\Delta (\text{‰}) = \frac{\delta_{\text{air}} - \delta_{\text{plante}}}{1000 + \delta_{\text{plante}}} \times 1000 \quad (6)$$

Le δ_{plante} étant très petit devant 1000, l'équation (6) est souvent ramenée à sa forme simplifiée :

$$\Delta (\text{‰}) = \delta_{\text{air}} - \delta_{\text{plante}} \quad (7)$$

Les processus de fractionnement isotopique impliqués sont largement différents entre les plantes à métabolisme C_3 et celles à métabolisme C_4 . En première approximation, deux étapes apparaissent discriminantes : la diffusion du CO_2 à travers les stomates et la carboxylation du ribulose biphosphate par la Rubisco. Farquhar *et al.* (1982) ont établi un modèle simple décrivant la discrimination isotopique chez les plantes en C_3 :

$$\Delta = a + (b - a) \cdot \frac{C_i}{C_a} \quad (8)$$

où : a est la discrimination contre le $^{13}\text{CO}_2$ durant la diffusion à travers les stomates
($a = 4.4 \text{ ‰}$, O'Leary 1981)

b est la discrimination contre le $^{13}\text{CO}_2$ par la Rubisco
($b = 27 \text{ ‰}$, Farquhar & Richards 1984)

Il est alors possible de relier Δ aux différentes expressions de l'efficacité d'utilisation de l'eau. Ainsi, par combinaison des équations (3) et (8), l'**efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau** ($\text{mmol} \cdot \text{mol}^{-1}$) peut s'écrire :

$$\frac{A}{g_{sw}} = \frac{C_a}{1.6} \cdot \frac{b - \Delta}{b - a} \quad (9)$$

De la même façon, WUE_p ($\text{mmol} \cdot \text{mol}^{-1}$) est reliée à Δ par la combinaison des équations (4) et (8) :

$$\text{WUE}_p = \frac{C_a}{1.6v} \cdot \frac{b - \Delta}{b - a} \cdot \frac{12}{18} k \cdot (1 - \phi) \quad (10)$$

CO₂ (Wong *et al.* 1985). Néanmoins, WUE et Δ sont largement affectés par les variations d'éclairement (Farquhar *et al.* 1989, Zimmerman & Ehleringer 1990, Israeli *et al.* 1996, Berry *et al.* 1997).

De nombreux autres facteurs de l'environnement sont susceptibles d'influencer WUE ou Δ , comme les polluants atmosphériques (O₃ : Saurer *et al.* 1995 ; SO₂ : Sakata & Suzuki 2000 ; NO : Nussbaum *et al.* 2000), la teneur en azote du sol (Siegwolf *et al.* 2001), la salinité du sol (Flanagan & Jefferies 1989, Poss *et al.* 2000), l'altitude (par le biais de la pression atmosphérique : Vitousek *et al.* 1990, Körner *et al.* 1991), *etc.*

Le déterminisme génétique étroit que suit l'efficacité d'utilisation de l'eau a souvent été décrit chez les herbacées (Farquhar & Richards 1984, Hubick *et al.* 1988, Farquhar *et al.* 1989, Schuster *et al.* 1992, Ehdaie *et al.* 1993, Hall *et al.* 1994), et plus rarement chez les ligneux (Zhang *et al.* 1993, Flanagan & Johnsen 1995, Johnsen *et al.* 1999). Handley *et al.* (1994) ont pu désigner, chez *Hordeum vulgare*, un chromosome portant des gènes impliqués dans le déterminisme de Δ . Des loci à effets quantitatifs (QTL) liés à la variabilité phénotypique de Δ ont pu être identifiés récemment chez *Glycine max* (Mian *et al.* 1996, 1998), *Lycopersicon sp* (Lin *et al.*, 1998) et *Pinus pinaster* (Brendel *et al.* 2002b). De plus, des QTL associés à Δ ont pu être localisés sur la même région génomique que des QTL associés à g_{sw} chez *Pinus pinaster* (Costa 1999) et à la proportion d'azote foliaire (étroitement liée à la quantité de Rubisco, et par conséquent à A) chez *Q. robur* (Brendel, communication personnelle).

Par sa pérennité, le bois fournit un matériel adéquat pour l'étude rétrospective, d'une part de la croissance annuelle des espèces ligneuses, et d'autre part de la discrimination isotopique réalisée par les individus au moment de la synthèse des composants du bois. Il offre en outre l'avantage d'intégrer le fonctionnement des arbres à l'échelle de la couronne entière, et sur une grande partie de la saison de végétation. Bien que le bois soit appauvri en ¹³C par rapport aux tissus foliaires (1-3 ‰), Leavitt & Long (1982) ont montré que le signal isotopique de la cellulose du bois reflétait fidèlement l'évolution de la discrimination isotopique au niveau foliaire. De très nombreuses études ont utilisé ce signal isotopique, soit comme bio-indicateur de variations environnementales passées, soit comme marqueur du fonctionnement écophysologique des arbres. Cependant, étant donné le caractère composite du bois, les proportions variables de ses différents composés et surtout leurs origines métaboliques diverses (associées à des signatures isotopiques distinctes), l'isolement et l'analyse de la fraction cellulosique est *a priori* recommandée et en tout cas classiquement pratiquée (cf. Annexe III).

L'analyse spectrométrique des tissus végétaux fournit une mesure de leur composition isotopique ($\delta^{13}\text{C}$). Cependant, ce $\delta^{13}\text{C}$ est largement influencé par celui du CO₂ de l'air, qui lui-même varie dans l'espace, en fonction de la hauteur dans le couvert forestier (Schleser & Jayasekera 1985, Berry *et al.* 1997, Hanba *et al.* 1997), et dans le temps, en fonction du nyctémère (Szaran 1998), de la saison (Mook *et al.* 1983) et surtout de l'accumulation progressive dans l'atmosphère de CO₂ issu de la combustion d'hydrocarbures. L'injection continue de carbone fossile appauvri en ¹³C (Keeling *et al.* 1979) a conduit à une diminution de -6.7 à -8.3 ‰ de $\delta^{13}\text{C}_{\text{air}}$ entre le début et la fin du siècle précédent. Il est donc indispensable de prendre en compte cette évolution dans les études confrontant des mesures de $\delta^{13}\text{C}$ de tissus végétaux synthétisés à des dates éloignées. Dans ce mémoire, l'emploi du paramètre discrimination isotopique, plutôt que composition isotopique, a été généralisé (les valeurs de $\delta^{13}\text{C}_{\text{air}}$ ont été compilées comme décrit par Bert *et al.* 1997), hormis dans l'annexe

II (où l'ensemble des échantillons proviennent de tissus synthétisés pendant la même saison de végétation).

1.2 Dépérissement des chênaies

1.2.1 Contexte du dépérissement des chênaies

"Un dépérissement est un affaiblissement généralisé dont les causes sont *a priori* mal identifiées, affectant une ou plusieurs espèces et entraînant la mort d'un certain nombre de sujets. Ce terme de symptomatologie caractérise un certain nombre d'anomalies perceptibles à l'œil nu sur le terrain, l'une étant plus particulièrement la mort d'organes pérennes (rameaux, ramilles,...). La notion de dépérissement inclut également une certaine idée d'évolution dans le temps qui traduit le fait que l'issue pour l'arbre dépérissant est jugée grave mais pas obligatoirement fatale" (Delatour 1990).

Bien que certains écrits fassent mention, en France, de dépérissements affectant le Chêne pendant la première moitié du XX^{ème} siècle, voire au cours du siècle précédent (Delatour 1983), les premières études significatives ont émergé à la suite d'une vague de dépérissements apparue vers 1978 à l'échelle nationale. Les arbres adultes essentiellement étaient affectés, et les symptômes communs se résumaient en une décrépitude progressive de l'arbre à partir du sommet du houppier, accompagnée de l'apparition de gourmands le long du tronc et des branches maîtresses. La mort des arbres intervenait fréquemment au terme de deux à trois années d'évolution. Dans la majorité des cas, *Quercus petraea* était indemne, seul *Q. robur* semblant affecté¹. Les études pionnières, en particulier dendrochronologiques (Becker & Lévy 1982, 1983, Durand *et al.* 1983), ont révélé des baisses anormales de croissance à partir de 1976, année de sécheresse prononcée. Par ailleurs, une liaison très nette a pu être établie entre intensité du dépérissement et type de station. Plus précisément, l'ampleur du dépérissement était d'autant plus grande que la réserve utile du sol était faible. Ceci, ajouté au fait que le démarrage du phénomène se soit situé à la suite de la sécheresse de 1976, a conduit à l'hypothèse que le dépérissement était la conséquence de sévères déficits hydriques subis par les arbres, *Q. robur* y étant beaucoup plus sensible que *Q. petraea*. L'ampleur de la répercussion des événements climatiques des dernières décennies sur la santé des chênaies s'expliquerait notamment par des pratiques sylvicoles ayant "poussé" *Q. robur* en dehors de sa niche écologique² (Becker & Le Tacon 1985, Rameau 1990). Cependant, dans des contextes pédo-climatiques particulièrement défavorables sur le plan de l'alimentation hydrique, des dépérissements ont également été enregistrés pour l'espèce *Q. petraea*. D'autres épisodes de dépérissement impliquant un rôle prépondérant des contraintes hydriques ont été référencés en France et en Europe depuis 1976. Particulièrement, le début des années 1990 a été marqué par une forte mortalité de chênes dans de nombreuses régions. Ces dépérissements ont pu revêtir localement un caractère très prononcé, les deux espèces pouvant alors être atteintes.

D'autres facteurs, prédisposants ou aggravants, semblent devoir jouer également un rôle dans les mécanismes de dépérissement. Ainsi, l'aptitude d'un arbre à se rétablir à la suite d'une

¹ *Q. robur* était déjà identifié comme principale victime lors des dépérissements des années 1920.

² Turc (1927) déclarait que le dépérissement du chêne reflétait l'inadaptation du chêne pédonculé aux conditions écologiques et sylvicoles auxquelles il était trop souvent soumis.

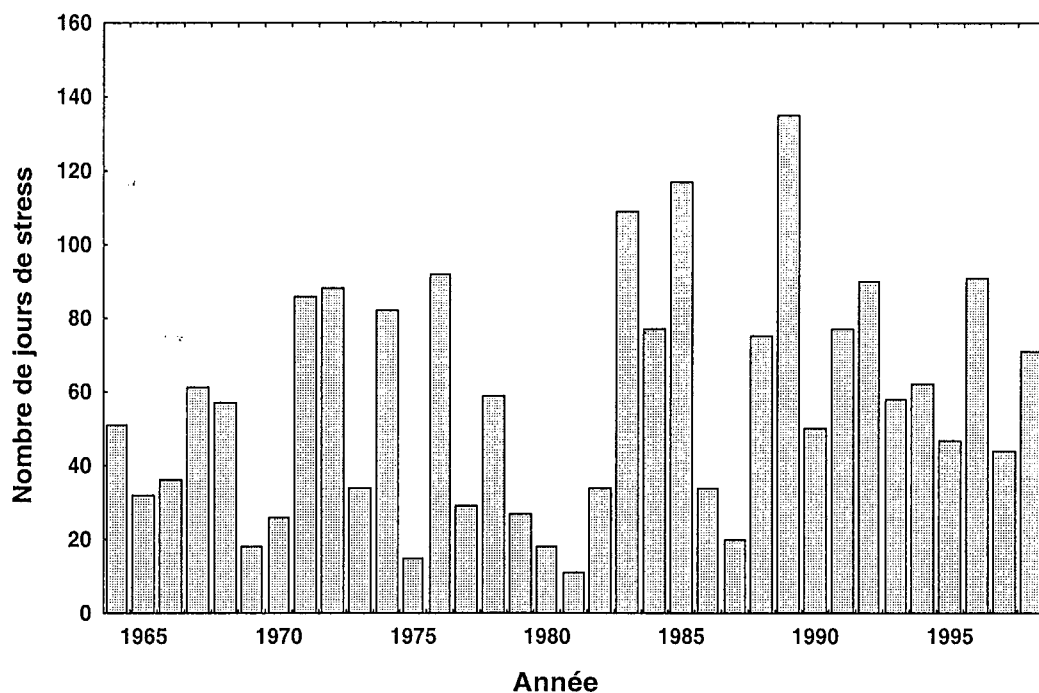


Figure 3. Reconstruction du nombre de jours de stress en forêt de la Harth calculé sur la saison de végétation par modélisation du bilan hydrique pour une réserve utile moyenne de 80 mm. Les données climatiques utilisées sont celles de la station météorologique de Bâle-Saint-Louis (cf. Publication IV). D'après Bréda & Peiffer (1999).

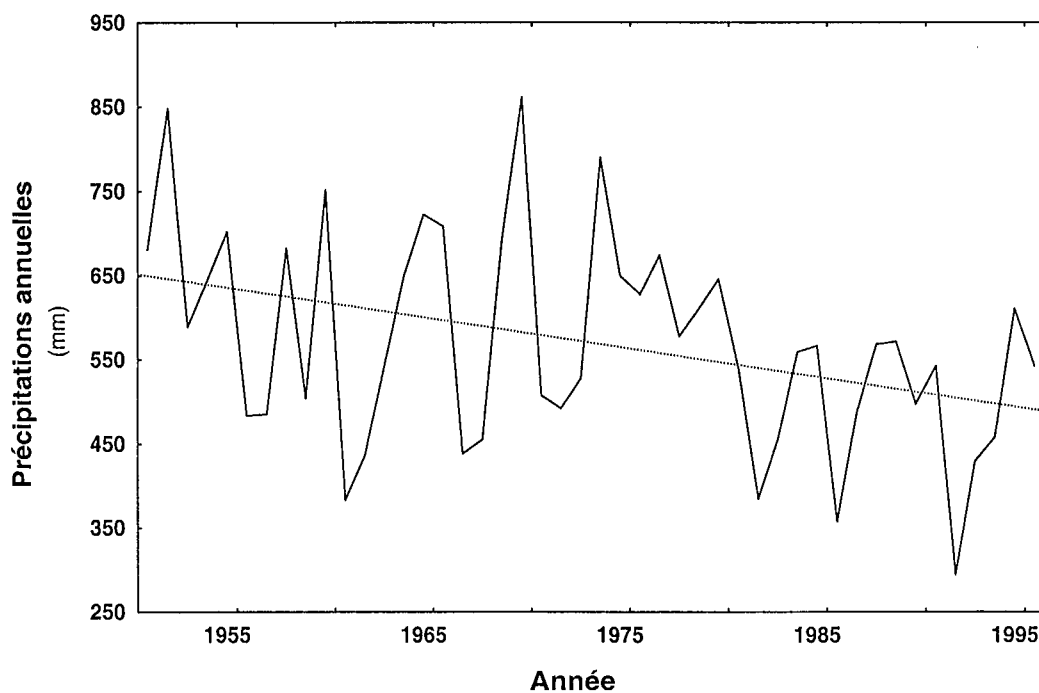


Figure 4. Précipitations annuelles moyennes de 1951 à 1996 relevées sur le site de Sífökút (Hongrie, cf. Publication IV).

sécheresse pourrait être inversement corrélée au degré d'infection de son système racinaire par des champignons pathogènes comme *Collybia fusipes* ou *Armillaria mellea* (Delatour, 1990). Enfin, agissant en synergie avec les épisodes de sécheresse, les actions d'insectes défoliateurs et de champignons foliaires sont souvent évoquées¹ (Nageleisen *et al.* 1991; Nageleisen, 1993).

Les dépérissements de chênaies sont très probablement un phénomène ancien et récurrent en Europe. Néanmoins, les deux dernières décennies du XX^{ème} siècle ont été, dans beaucoup de régions d'Europe, les plus sèches des cinquantes dernières années (Figures 3 et 4), entraînant des dépérissements localement massifs. Les analyses des changements climatiques régionaux en France montrent une augmentation constante des températures annuelles (e.g. 1.2°C entre 1956 et 1997, Lebourgeois 2001). Cette tendance climatique pourrait se traduire régionalement par une augmentation sensible des déficits hydriques. Parmi les différents scénarios d'évolution climatique, sous l'influence de l'accroissement de l'effet de serre, l'augmentation de la fréquence et de l'intensité des épisodes de sécheresse estivale n'est pas à écarter. Par ailleurs, les pratiques sylvicoles actuelles (conversion des taillis sous futaie, prélèvements inférieurs à la production et vieillissement de la chênaie, dans une moindre mesure) tendent à augmenter le volume sur pied moyen des chênaies françaises (+ 17%, soit 27,7 millions de m³ entre 1979 et 1991, Dupouey *et al.* 1999). Ces pratiques ont probablement pour conséquence l'augmentation de la compétition, pour l'eau entre autres, dans les peuplements. La conjonction de ces deux tendances, climatiques et sylvicoles, pourrait accroître les risques de dépérissement dans le futur. Or, si l'évolution climatique paraît irréversible, les modes de conduite sylvicole ne le sont pas. Une meilleure connaissance de la sensibilité des espèces et des individus au dépérissement induit par la sécheresse orienterait utilement la sylviculture vers une réduction des risques.

1.2.2 Marqueurs de sensibilité aux stress

Outre la variabilité existant entre *Q. robur* et *Q. petraea* vis-à-vis de la sensibilité au dépérissement induit par la sécheresse, on observe, quelle que soit l'espèce, une variabilité inter-individuelle de la sensibilité au dépérissement (i.e. présence de survivants après chaque vague de dépérissement). Les bases d'une telle variabilité peuvent être génétiques ou/et environnementales. Un certain nombre de marqueurs de sensibilité aux stress sont connus et permettent d'appréhender des différences phénotypiques, voire génotypiques. Parmi eux, ceux dont l'expression est précoce sont particulièrement intéressants pour la sélection des individus les moins sensibles.

Parmi les marqueurs de vitalité, l'aspect du houppier a souvent été utilisé. Plusieurs indices d'appréciation de la santé des houppiers ont été proposés, basés sur la perte de biomasse foliaire, les modifications de l'architecture de la couronne (aspect des pousses, perte de ramification fine), la coloration du feuillage ou des combinaisons de ces critères. La figure 5 illustre l'utilisation d'un tel indice permettant par ailleurs de discriminer trois groupes de chênes présentant des tendances divergentes de croissance radiale de nombreuses années avant la notation de vitalité du houppier. Bert (1993) montra chez *Abies alba* que les individus

¹ Le schéma 'sécheresse, défoliation puis Oïdium' semble relativement fréquent. A ces étapes d'affaiblissement physiologique succède généralement l'intervention des parasites de faiblesse (insectes (scolytes, agriles), pathogènes racinaires).

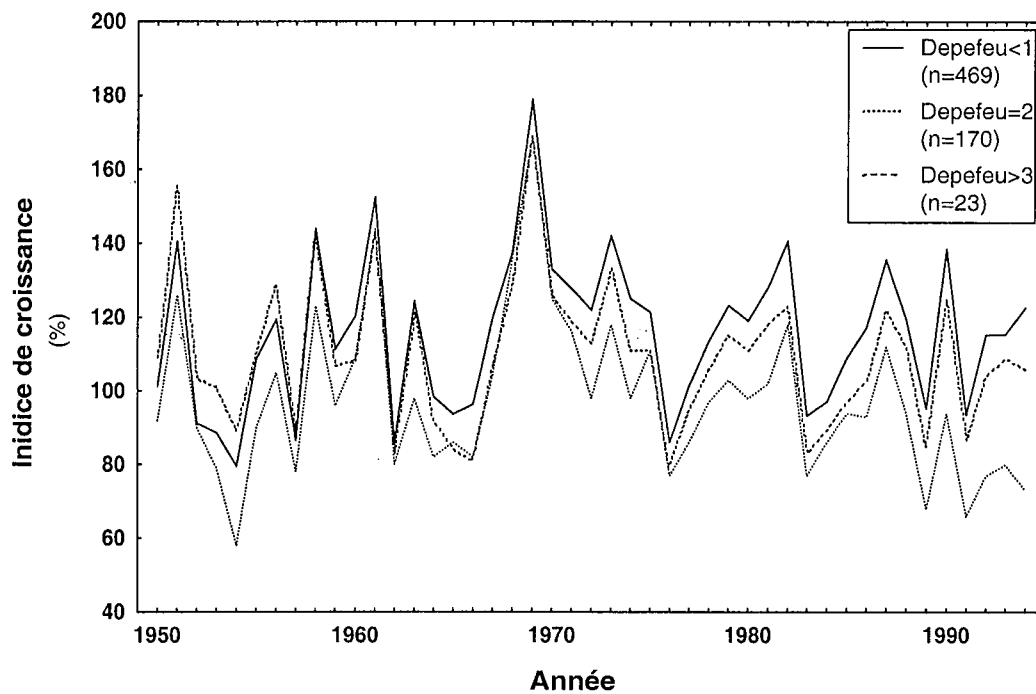


Figure 5. Variation des indices de croissance en surface terrière des chênes de la forêt de la Harth selon l'état du houppier apprécié en 1996. La notation était réalisée selon le protocole DEPEFEU (Nageleisen 1993), accordant une note d'autant plus élevée que les symptômes de dépérissement sont sévères. D'après Bréda (1998).

au feuillage jaunissant avait eut une croissance plus faible que les autres depuis longtemps. Des indices dendrométriques, tels que la hauteur relative de houppier ou le rapport hauteur de l'arbre / diamètre du tronc, permettent également d'apprécier le statut compétitif des arbres.

De très nombreuses études ont mis en évidence des relations entre la croissance radiale des arbres et les facteurs environnementaux, et montré notamment que la croissance radiale était diminuée par les stress (Fox et al 1986, Becker 1989, Cook & Kairiukstis 1989, Hättenschwiler *et al.* 1996, Schweingruber 1996). Waring & Pitman (1985) affirmèrent que la croissance radiale du tronc était un indicateur particulièrement sensible aux stress, car elle disposait d'une faible priorité en ce qui concernait les allocations de ressources. Ainsi, pour progresser dans la connaissance des processus de dépérissement et l'identification des facteurs causals, plusieurs auteurs ont réalisé des études rétrospectives de la croissance d'individus dépérissants, relativement à des individus témoins (Tainter *et al.* 1990, Jenkins & Pallardy 1995, Pedersen 1998).

Le bois d'aubier remplit des fonctions de stockage de réserves carbonées et de conducteur des flux de sève. Bien que 70 à 80 % du flux de sève transitent dans les cernes les plus externes (Granier *et al.* 1994), les variations de surface d'aubier inter-individuelles sont étroitement corrélées aux variations de conductance hydraulique du tronc (d'où l'existence d'une forte relation entre surface d'aubier et surface foliaire). Les variations inter-individuelles de surface d'aubier peuvent donc avoir des répercussions sur les fonctionnements hydrique et carboné des arbres, et constituer un indice de vitalité pertinent. Lévy *et al.* (1992) et Lebourgeois (1999) ont mis en évidence une plus grande largeur d'aubier pour l'espèce *Q. petraea* par rapport à *Q. robur*. Bréda (1998) observa des différences de croissance radiale chez *Q. robur* en fonction d'un indice de surface d'aubier standardisé, avec une croissance d'autant plus importante que la surface était forte. Cette relation était beaucoup moins nette chez *Q. petraea*.

Plusieurs études ont utilisé les quantités de réserves en amidon comme indicateur de l'état physiologique des individus, notamment en réponse à des défoliations (Webb 1981, Gregory & Wargo 1986). Les quantités de réserves dans les différents compartiments de stockage des arbres semblent refléter leur potentiel de croissance future et leur capacité à survivre aux futurs stress (Waring 1992). Lors d'une étude sur le dépérissement de *Acer saccharum*, Renaud & Maufette (1991) montrèrent que les individus ayant le houppier le plus dégradé présentaient des concentrations d'amidon racinaire inférieures aux arbres sains. Cependant, les résultats peuvent être plus complexes, comme l'illustre une étude chez *Q. robur* et *Q. petraea* (Bréda 1998) où les arbres ayant la plus faible concentration d'amidon dans les racines présentaient la plus forte croissance radiale, alors que les arbres à concentration d'amidon intermédiaire étaient ceux dont la croissance radiale moyenne était la plus faible. De toute évidence, les stress perturbent les règles de l'allocation des assimilats entre la croissance et la mise en réserve, mais le déterminisme de ces variations d'investissement en fonction des stress n'est pas encore connu.

Récemment, des comparaisons isoenzymatiques entre chênes (*Q. robur* et *Q. petraea*) dépérissants et sains ont montré que les groupes d'individus dépérissants différaient génétiquement des groupes de chênes sains (Sander & Franke 1999) ; notamment, la diversité génétique était significativement plus grande dans le groupe des individus sains. Aucune déduction ne pouvait néanmoins être faite pour un arbre pris individuellement. Besendorfer *et al.* (1996) ont observé chez *Q. robur* des bandes protéiques distinctes entre les individus (fortement) dépérissants et les autres.

Il existe donc de nombreux indicateurs de vitalité des arbres, souvent associés à la croissance. La croissance radiale elle-même est un marqueur très efficace de la vigueur des individus,

étroitement liée à leur statut social. Or, les liens entre statut social et sensibilité aux stress hydriques (et aux dépérissements qu'ils pourraient engendrer) ne sont pas clairement établis, et les individus dominants également sujets aux dépérissements. Aucun marqueur actuel ne permet réellement de détecter les individus présentant des prédispositions au dépérissement induit par la sécheresse (ni même des déséquilibres physiologiques) avant que ne surviennent le stress déclenchant. Nous proposons que la discrimination isotopique pourrait être un tel marqueur. Deux hypothèses pourraient l'expliquer (i) il existerait des différences génétiques de Δ , ou de caractéristiques qui lui seraient fortement liées, pouvant être à l'origine de différences de vulnérabilité aux déficits hydriques et qui s'exprimeraient longtemps avant l'apparition des événements déclenchant le dépérissement (ii) il existerait des différences microstationnelles engendrant une variabilité de Δ , affecté précocement par la sécheresse, et ainsi marqueur de la disponibilité en eau ou de déclin physiologique.

1.3 Objectifs

Le premier des objectifs de ce travail était d'utiliser des approches très intégratives du fonctionnement des arbres pour progresser dans la compréhension des divergences écologiques présentées par les espèces *Quercus robur* et *Q. petraea*. Les nombreux travaux déjà entrepris dans l'optique de comparaisons écophysiologiques des deux espèces avaient permis de conclure, d'une part, à la ténuité de leurs divergences fonctionnelles, mais également à l'implication prépondérante des relations hydriques dans ces divergences. Il est donc apparu nécessaire de mener les investigations sur des paramètres potentiellement sensibles au statut hydrique des individus et, dans un premier temps, d'avoir accès à des mesures de ces paramètres ne traduisant pas un fonctionnement instantané, mais plutôt un fonctionnement intégré dans le temps. La démarche envisagée a consisté en une étude rétrospective de la discrimination isotopique (Δ) enregistrée dans les cernes du bois d'individus adultes croissant en peuplement géré. Les mesures furent réalisées sur des individus de chacune des deux espèces vivants ensemble dans des peuplements mixtes présentant un état de santé normal.

Menée en parallèle à cette étude, une expérimentation en pépinière devait d'abord permettre de rechercher l'expression de différences interspécifiques d'efficacité d'utilisation de l'eau sur des individus juvéniles, puis de confronter ces résultats à ceux obtenus sur arbres adultes. Les jeunes plants de *Q. robur* et *Q. petraea* croissaient dans des conditions environnementales similaires, favorisant ainsi la mise en évidence d'une variabilité interspécifique de caractères génotypiques. Afin d'appréhender les conditions de l'expression de différences potentielles de WUE_{int} entre les deux espèces, la gamme des conditions environnementales a été élargie par le contrôle de l'éclairement ou de la disponibilité en eau. Ces deux paramètres environnementaux ont été choisis pour tester les interactions génotype*environnement en raison de leur implication dans la différenciation écologique des deux chênes.

Afin de comprendre les répercussions écologiques d'éventuelles différences de WUE_{int} entre les deux espèces sympatriques, il était nécessaire d'évaluer la diversité intraspécifique face à la diversité interspécifique de la discrimination isotopique (Δ). Un autre objectif de ce travail a donc été d'explorer la variabilité intraspécifique de Δ , aussi bien au niveau inter- qu'intra-population. En raison du matériel végétal disponible, cette prospection a principalement été réalisée pour l'espèce *Q. petraea*, bien que quelques données aient pu être collectées pour *Q. robur* également.

Après la recherche de divergences fonctionnelles entre *Q. petraea* et *Q. robur*, une seconde étape était nécessaire pour la compréhension de la plus grande sensibilité de *Q. robur* au dépérissement induit par la sécheresse. Nous avons entrepris plusieurs études sur des peuplements dépérissants, où la cause prépondérante du dépérissement était sans ambiguïté attribuée à la sécheresse. La démarche engagée fut ainsi d'associer les analyses rétrospectives de la croissance radiale et de la discrimination isotopique pour comparer des groupes d'arbres dépérissants et sains. Un des buts était de savoir si des individus sensibles, de fait, au dépérissement présentaient des particularités fonctionnelles (par rapport à des individus résistants) révélées par leur discrimination isotopique ou leur croissance radiale. Le cas échéant, un intérêt particulier était apporté à l'examen de la précocité de l'expression de ces divergences dans la vie des arbres, capables de constituer des marqueurs précoces à la sensibilité au dépérissement. Ce travail intervenait à la fin d'une importante vague de dépérissements, initiés par les conditions climatiques particulièrement défavorables des années 1989 et 1992, et touchant à la fois *Q. petraea* et *Q. robur*. Il nous est rapidement apparu que l'échantillonnage de peuplements présentant côte à côte des individus sains et des individus morts allait constituer une difficulté, vu la rapidité avec laquelle les bois morts étaient exploités par les sylviculteurs. Cet obstacle a conduit, entre autres, à centrer cet examen sur l'espèce *Q. petraea* dont plusieurs peuplements dépérissants étaient encore accessibles.

En résumé, ce travail s'articulait autour de deux questions centrales :

- Existe-t-il des différences d'efficience d'utilisation de l'eau d'origine génétique, entre les espèces *Q. robur* et *Q. petraea*, capables d'expliquer leurs comportements écologiques divergents ?
- Les différences d'efficience d'utilisation de l'eau entre arbres révèlent-elles l'existence d'individus intrinsèquement plus sensibles à la sécheresse que d'autres ?

La synthèse qui suit répond tour à tour à chacune de ces deux questions, à partir des résultats expérimentaux obtenus et des informations disponibles dans la littérature. Enfin, dans une discussion générale, les réponses apportées dans chacune des deux parties sont confrontées pour confirmer ou infirmer l'hypothèse suivante : la plus faible efficience d'utilisation de l'eau de *Q. robur* fait de lui une espèce moins apte à résister à des épisodes de forte sécheresse estivale que *Q. petraea*, du moins lorsque les deux espèces croissent dans des milieux identiques. Les applications potentielles de ces résultats et les perspectives de ce travail concluront ce mémoire.

2 Nouveaux apports pour la différenciation *Q. robur* / *Q. petraea*

2.1 Différenciation morphologique chez les jeunes plants

Alors que le but du présent travail était de progresser dans la compréhension des écologies divergentes de ces deux espèces, il est apparu que les connaissances nécessaires à la différenciation taxonomique des individus juvéniles étaient encore lacunaires. En effet, dans le champ d'étude de la différenciation taxonomique entre *Q. petraea* et *Q. robur* à partir de critères morphologiques foliaires (les seuls critères fiables à ce jour), la quasi-totalité des travaux n'impliquait que des spécimens adultes. En outre, Kleinschmitt *et al.* (1995) ont montré que la morphologie des jeunes plants différait nettement de celle des adultes. Cependant, il existe un besoin de reconnaître formellement les semis des deux espèces, aussi bien chez les scientifiques que chez les forestiers. Plusieurs auteurs ont rapporté que les individus juvéniles présentaient des caractères non spécifiques et que leur identification devait être abandonnée (Kissling 1980, Potter 1994). Nous avons testé cette hypothèse en réalisant une analyse de la morphologie foliaire sur des chênes de deux ans croissant sous différents niveaux d'éclairement, afin de prendre en considération la diversité des conditions de lumière auxquelles les jeunes plants peuvent être soumis en milieu forestier (Publication III). Le matériel végétal employé est le même que celui qui fut utilisé pour la comparaison de WUE_{int} et qui est rapidement décrit dans le chapitre suivant. Par cette étude, nous avons montré que la séparation spécifique des individus juvéniles était toujours possible, avec l'aide de deux variables morphologiques seulement (densité de pilosité du limbe, angle des oreillettes à la base du limbe). Bien que la ségrégation ait été légèrement meilleure avec des feuilles issues de la première pousse, la distinction des deux espèces reste tout à fait possible sur des feuilles de 3^{ème} ou 4^{ème} flush. Les variations de conditions de lumière ont influencé la taille des feuilles mais pas les critères morphologiques impliqués dans la reconnaissance des deux espèces.

*Contrairement aux idées véhiculées depuis longtemps dans la littérature, les individus juvéniles des espèces *Q. robur* et *Q. petraea* présentent des traits morphologiques foliaires qui discriminent nettement deux taxons.*

2.2 Efficience d'utilisation de l'eau chez *Q. robur* et *Q. petraea*

Les différences d'efficience d'utilisation de l'eau observées entre espèces sympatriques peuvent être très importantes, notamment entre espèces présentant des niches écologiques très divergentes (Brooks *et al.* 1997, Guehl *et al.* 1998), mais la nature précise (génétique ou environnementale) et les implications écologiques de ces différences restent très souvent inconnues. Nous avons étudié la variabilité de ce caractère entre *Q. robur* et *Q. petraea*. Les résultats présentés ont été obtenus d'une part sur arbres adultes croissant en peuplement, d'autre part sur des jeunes plants élevés en conditions semi-contrôlées. Une brève présentation des différentes études réalisées dans le cadre de ce travail comparatif entre *Q. robur* et *Q. petraea* introduit cette seconde partie. Les principaux résultats concernant la variabilité interspécifique de l'efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau (WUE_{int}) sont ensuite

rapportés et les causes potentielles de cette variabilité discutées. Un troisième chapitre est consacré à la stabilité des variations interspécifiques en fonction des variations environnementales (rayonnement et alimentation en eau). La juxtaposition de résultats émanant de mesures directes (échanges gazeux) ou indirectes (discrimination isotopique) de WUE_{int} , de surcroît sur des jeunes plants ou des arbres adultes, ainsi que l'utilisation d'un matériel végétal varié (glands, feuilles, bois, cellulose) soulèvent un certain nombre de questions traitées dans un quatrième chapitre. Nous concluons cette deuxième partie en discutant les répercussions écologiques de la variabilité interspécifique de WUE_{int} .

2.2.1 Protocoles expérimentaux

L'étude en milieu naturel a été réalisée dans la forêt de Cîteaux (Bourgogne), sur des chênes de plus de cent ans, étudiés par ailleurs dans le cadre d'une analyse des caractéristiques organoleptiques du bois des chênes de tonnellerie (Feuillat *et al.* 1997) et parfaitement identifiés d'un point de vue taxonomique à l'aide de marqueurs morphologiques foliaires et moléculaires (RAPD, AFLP). Dix peuplements mixtes (*Q. petraea* / *Q. robur*), traités en taillis sous futaie, ont été retenus dans cette forêt où un individu dominant fut sélectionné par espèce ; les 2 arbres furent choisis adjacents, dans chaque peuplement, de façon à comparer des individus exposés à des conditions environnementales similaires. Chacun des individus fut carotté au printemps 1999 et sa croissance radiale analysée. Neuf cernes furent ensuite extraits isolément, correspondant aux années 1965 à 1969 et 1975 à 1980. L'analyse de la discrimination isotopique fut réalisée sur la fraction cellulosique de ces cernes. Deux séquences de cernes correspondant respectivement à un stade jeune (1908-17) et mature (1981-90) furent également analysées. Une description détaillée du protocole expérimental est donnée dans la publication I.

Une deuxième étude en milieu naturel, impliquant cinq forêts du Nord-Est de la France, est venue également compléter la précédente. Dans chacune des cinq forêts, dix individus furent sélectionnés dans un peuplement pur de *Q. petraea*, dix individus dans un peuplement pur de *Q. robur*, et dix individus de chaque espèce dans un peuplement mixte. L'analyse isotopique fut ici pratiquée sur les glands produits par les chênes sélectionnés (cf. Annexe I).

Une expérimentation en milieu semi-contrôlé a été mise en place au printemps 1998 à partir de semis. Elle permet de mesurer la discrimination isotopique d'individus des deux espèces dès la fin de la première saison de végétation, puis de renouveler les mesures l'année suivante (sur de nouveaux individus de deux ans). Les jeunes plants des deux espèces furent répartis dès le début en quatre traitements différant par la quantité de lumière reçue : des ombrières permirent des éclaircissements respectifs de 48, 18 et 8% du traitement de contrôle, correspondant à un éclaircissement naturel. Lors de la seconde année uniquement, un traitement supplémentaire fut imposé à partir du mois de juillet aux plants croissant en pleine lumière : alors que la moitié des plants fut irriguée de façon optimale, l'autre moitié fut soumise à une sécheresse modérée mais continue jusqu'à la fin de l'expérimentation. Lors de la seconde année, des mesures d'échanges gazeux (assimilation carbonée et conductance stomatique) furent réalisées périodiquement sur l'ensemble des plants. La publication II reprend dans le détail l'ensemble de cette étude.

Enfin, une étude en plantations comparatives réalisée uniquement sur l'espèce *Q. petraea*, permet de documenter la variabilité intra-spécifique de la discrimination isotopique. Cette étude complémentaire est présentée dans l'annexe II.

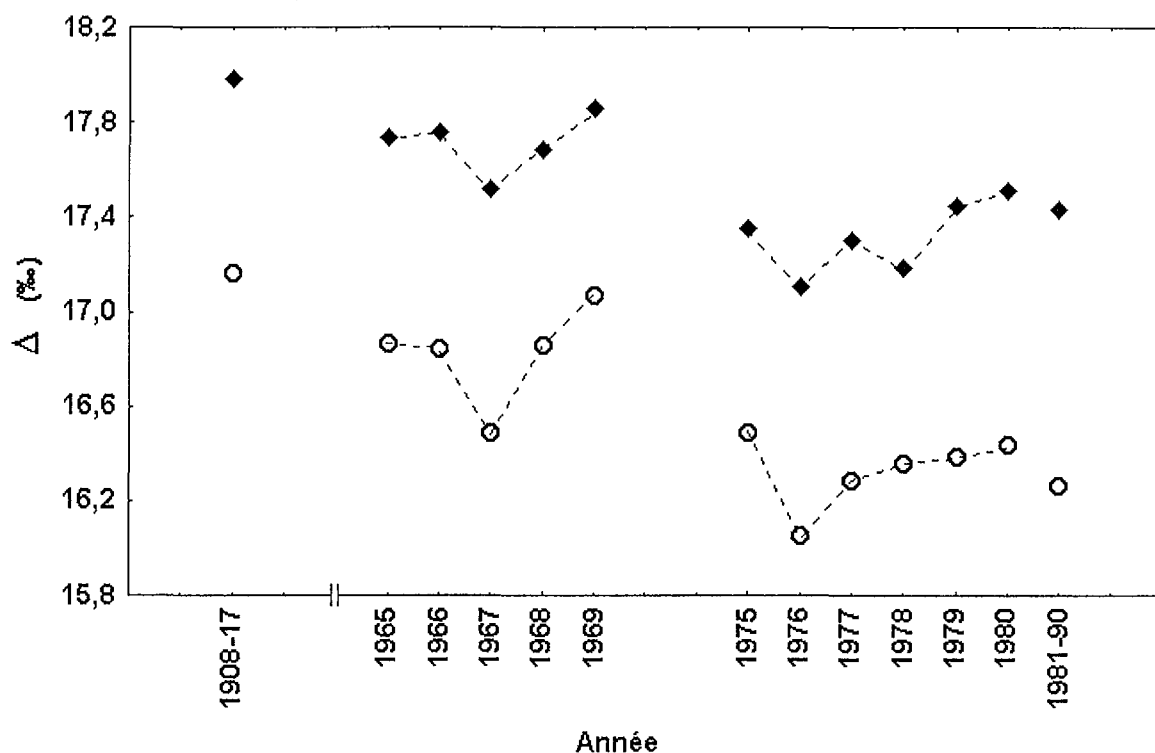


Figure 6. Discrimination isotopique (Δ , ‰) dans la cellulose du bois chez *Quercus petraea* (O) et *Q. robur* (◆) en peuplement mature (forêt de Cîteaux).

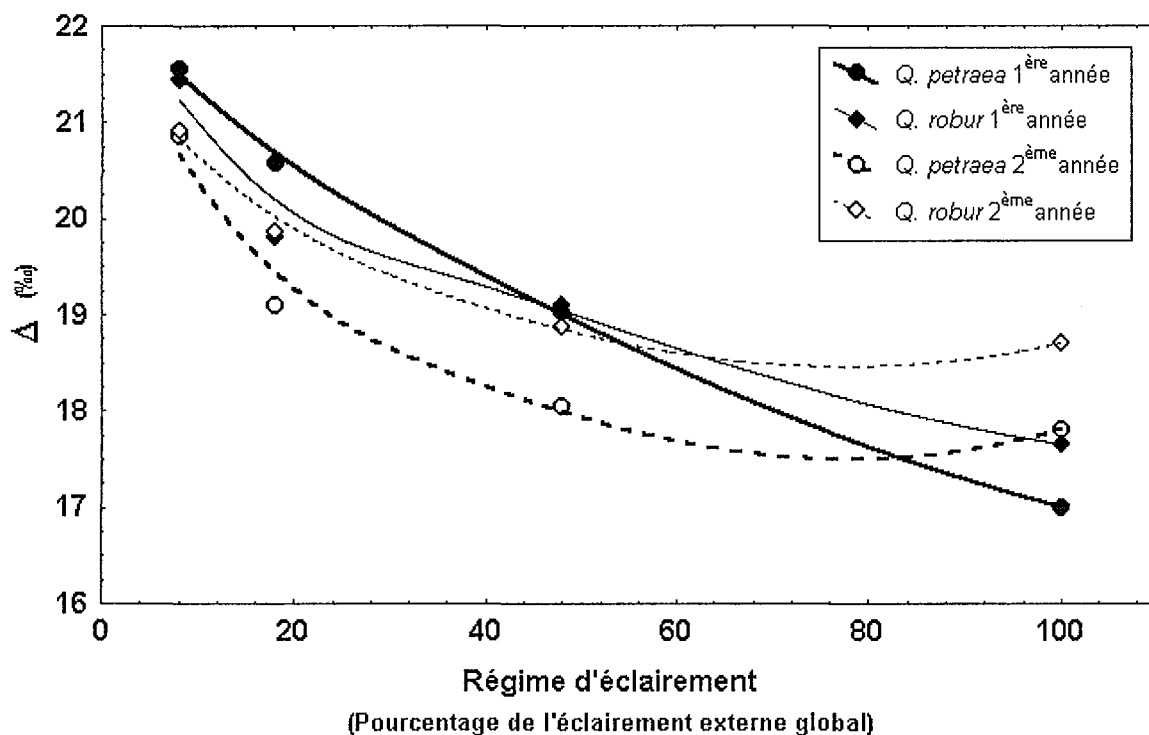


Figure 7. Discrimination isotopique (Δ , ‰), en fin de première et seconde année de croissance, dans le compartiment aérien de jeunes plants de *Quercus petraea* et *Q. robur* élevés en pépinière, en fonction du régime d'éclairement.

2.2.2 Variabilité interspécifique de WUE_{int}

Les mesures de discrimination isotopique pratiquées sur la cellulose du bois des arbres adultes montrèrent sans ambiguïté des valeurs supérieures pour *Q. robur* (Figure 6), interprétables comme une plus forte WUE_{int} pour *Q. petraea*. Cette différence interspécifique était en moyenne de 1‰ et remarquablement stable au cours du temps. Alors que le peuplement était encore à un stade jeune, la différence moyenne de Δ entre les deux espèces était déjà très semblable à celle observée près d'un siècle plus tard sur les mêmes arbres.

Des plus faibles valeurs de Δ dans les glands de *Q. petraea* que dans ceux de *Q. robur* ont également été mesurées dans chacune des six forêts échantillonnées (Publication II, Figure 2 ; Annexe I, Figure 1). Les différences moyennes entre les deux espèces s'étendaient de 0.4 ‰ à 1.5 ‰, en fonction des forêts. Nos observations sur arbres adultes en milieu naturel, accordant systématiquement une plus grande WUE_{int} à *Q. petraea*, étaient ainsi conformes aux résultats de Epron & Dreyer (1993a), obtenus à partir de mesures d'échanges gazeux réalisées *in situ* dans un perchis.

Sur jeunes plants, nous avons également pu montrer des différences interspécifiques de Δ durant les première et deuxième années de croissance pour les individus élevés en pleine lumière et sous ombre moyenne (Figure 7). Néanmoins, seules les conditions de pleine lumière permirent l'expression de valeurs de Δ inférieures chez *Q. petraea* durant les deux années. Cette différence interspécifique de Δ , mesuré sur l'ensemble des tissus aériens des jeunes plants, correspondait à une WUE_{int} supérieure de 7% chez *Q. petraea* par rapport à *Q. robur*. Nos mesures instantanées d'échanges gazeux confirmèrent ces résultats. Seuls les plants élevés en pleine lumière présentaient des différences interspécifiques et notamment une WUE_{int} supérieure de 13% pour *Q. petraea* par rapport à *Q. robur*. Nos résultats s'opposent à ceux de Thomas & Gausling (2000) qui ne mirent en évidence aucune différence d'efficacité d'utilisation de l'eau entre les deux espèces de chênes comparées de façon similaire.

Par ailleurs, les mesures d'échanges gazeux nous ont permis d'attribuer la différence interspécifique de WUE_{int} à des différences de conductance stomatique entre les deux espèces de chênes. On peut noter, à ce propos, des valeurs de conductance stomatique (g_{sw}) et d'assimilation du CO_2 (A) plus élevées chez *Q. robur* que chez *Q. petraea* (respectivement 18 et 34%). Ici encore, l'obtention de différences interspécifiques au niveau de g_{sw} et de A dans notre étude tranchent avec les résultats habituellement rapportés dans la littérature où les deux espèces présentent des fonctionnements similaires (Scuiller 1990, Vivin *et al.* 1993). Seuls Epron & Dreyer (1993a) obtinrent sur arbres adultes des valeurs de A et g_{sw} également plus fortes chez *Q. robur*, pour des individus bien alimentés en eau, toute différence interspécifique d'échanges gazeux instantanés disparaissant en cas de stress hydrique.

Nous avons montré le maintien du rang de classement relatif des individus (toutes espèces confondues), calculé sur la base de leur valeur de Δ (Figure 8), au cours du développement du peuplement en forêt de Cîteaux (avec pour répercussion une grande stabilité des différences interspécifiques de Δ au cours du temps). Cette observation avait déjà été faite par plusieurs auteurs (Donovan & Ehleringer 1994, Flanagan & Johnsen 1995, Goulden 1996, Damesin *et al.* 1998) et venait accréditer l'hypothèse d'un contrôle génétique de Δ et WUE_{int} , sans que l'influence de différences microenvironnementales stables au cours du temps ne puisse toutefois être écartée. Nos mesures réalisées en pépinière, dans des conditions environnementales identiques pour les deux espèces, ont permis de confirmer l'existence d'une base génétique aux différences de WUE_{int} entre *Q. robur* et *Q. petraea*.

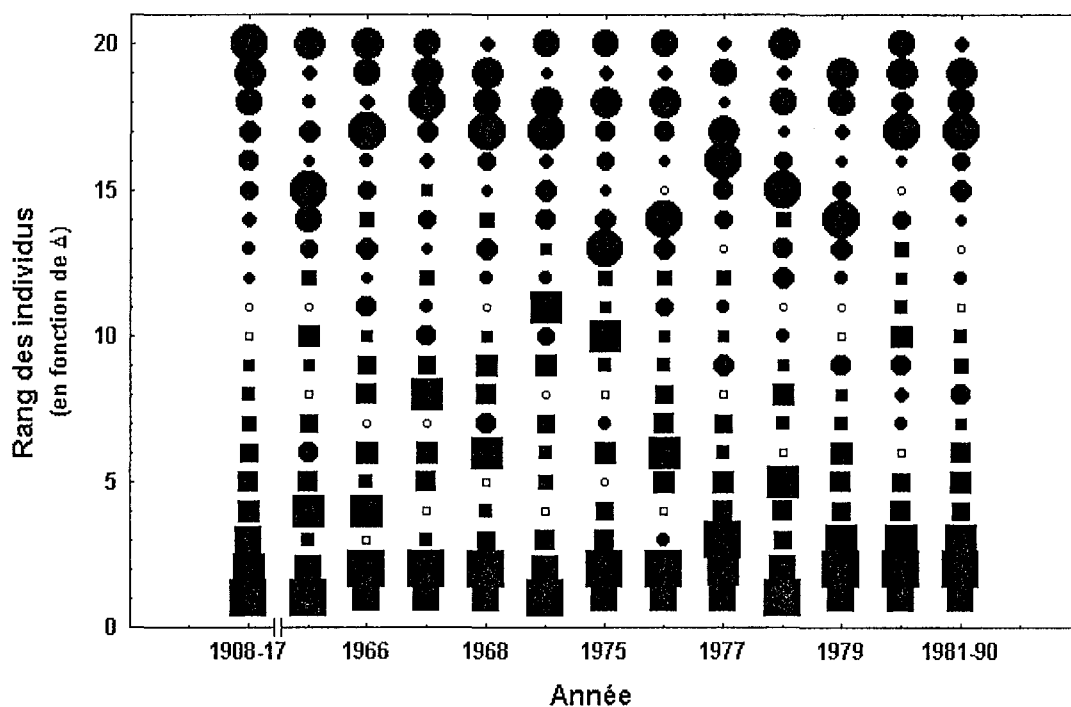


Figure 8. Evolution du rang des individus, calculé sur la base de leur valeur de discrimination isotopique (Δ , ‰), au cours du temps ; *Quercus petraea* et *Q. robur*, forêt de Cîteaux

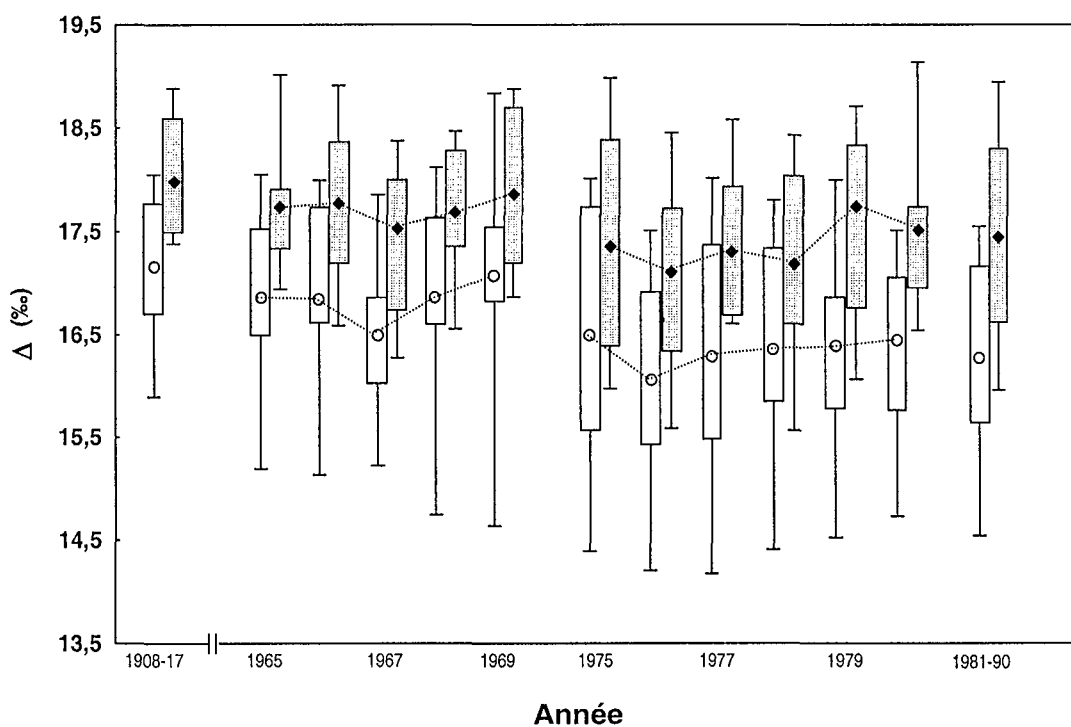


Figure 9. Variabilité intraspécifique de la discrimination isotopique (Δ , ‰) chez *Quercus petraea* (○) et *Q. robur* (◆) en fonction de l'année. Les boîtes à moustaches représentent la moyenne, les quartiles supérieurs et inférieurs, et les minimum et maximum.

Pour l'ensemble des résultats obtenus dans le cadre de ce travail, il existait à côté de la variabilité interspécifique de WUE_{int} (Δ et A/g_{sw}) une très forte variabilité intra-spécifique. Alors qu'à Cîteaux ces variations pouvaient tout aussi bien être d'origine environnementale que génétique (Figure 9 ; Publication I, Tableau 1), les valeurs obtenues en pépinière et en plantations reflétaient spécifiquement la variabilité génétique intra-spécifique de Δ (Annexe II, Figure 2). L'existence d'une telle variabilité a souvent été mise en évidence par ailleurs, à la fois aux niveaux inter- (Zhang *et al.* 1994, Zhang & Marshall 1994, Guehl *et al.* 1995) et intra-population (Leavitt & Long 1986, Guehl *et al.* 1995). Les mesures effectuées sur jeunes plants permirent de montrer que la variabilité intraspécifique de WUE_{int} était due essentiellement aux variations (génétiques) de g_{sw} . Cette observation a également été faite sur *Pinus pinaster* (Brendel, communication personnelle). Les causes et conséquences d'une telle variabilité seront discutées dans le dernier chapitre de ce mémoire.

Nos travaux sont les premiers à mettre en évidence des différences significatives de Δ entre Q. robur et Q. petraea sur des arbres adultes en forêt. Pour la première fois également, nous avons confirmé l'expression de cette différence sur des jeunes plants croissant en conditions semi-contrôlées. Les mesures d'échanges gazeux réalisées sur juvéniles ont confirmé des différences de WUE_{int} et ont permis de montrer qu'elles étaient essentiellement dues à une différence de conductance stomatique et sous fort contrôle génétique. Les mesures de A/g_{sw} étaient généralement en accord avec celles de Δ .

De nombreux travaux ont montré que les propriétés hydrauliques des arbres, notamment la résistance hydraulique des branches de résineux, modulaient la discrimination isotopique lors de la photosynthèse, par le biais de la conductance stomatique (Waring & Silvester 1994, Panek & Waring 1995, Panek 1996, Walcroft *et al.* 1996, Warren & Adams 2000, Brendel *et al.* 2002a). Nous avons fait l'hypothèse que la différence de Δ observée entre les deux espèces croissant à Cîteaux, pourrait être en partie due à l'influence de différences interspécifiques de propriétés hydrauliques du xylème. C'est en effet ce que suggère la très forte corrélation ($r = 0.79$; Figure 10 et Publication I, Tableau 2) que nous avons observée entre Δ , mesuré dans la cellulose des cernes, et un indice de la conductivité hydraulique dans le tronc : la surface totale de vaisseaux dans le bois initial. Bien que la résistance hydraulique dans le tronc soit faible au regard de la résistance xylémique totale de l'arbre (Granier *et al.* 1994), des différences de conductivité hydraulique dans le tronc pourraient être étroitement liées aux propriétés hydrauliques des branches ; ces dernières pourraient contrôler, ou du moins influencer la conductance stomatique. Il est tout à fait remarquable que la relation entre surface conductrice du cerne moyen et Δ soit valide à un niveau intraspécifique et identique pour les deux espèces. En outre, le fait que cette relation soit maximum lorsque la discrimination isotopique était mesurée dans le cerne 1976 (année de très forts déficits hydriques) conforte l'hypothèse d'un lien causal : on s'attend en effet à ce que le degré de contrainte imposé par les propriétés hydrauliques sur la conductance stomatique soit maximum lors des stress hydriques.

Nous émettons l'hypothèse que les variations de Δ , et donc de WUE_{int} soient subordonnées aux propriétés hydrauliques du xylème. Les variations de ces propriétés pourraient expliquer une grande part de la variabilité inter- et intraspécifique de WUE_{int} dans le complexe Q. robur / Q. petraea. Cette hypothèse reste à confirmer.

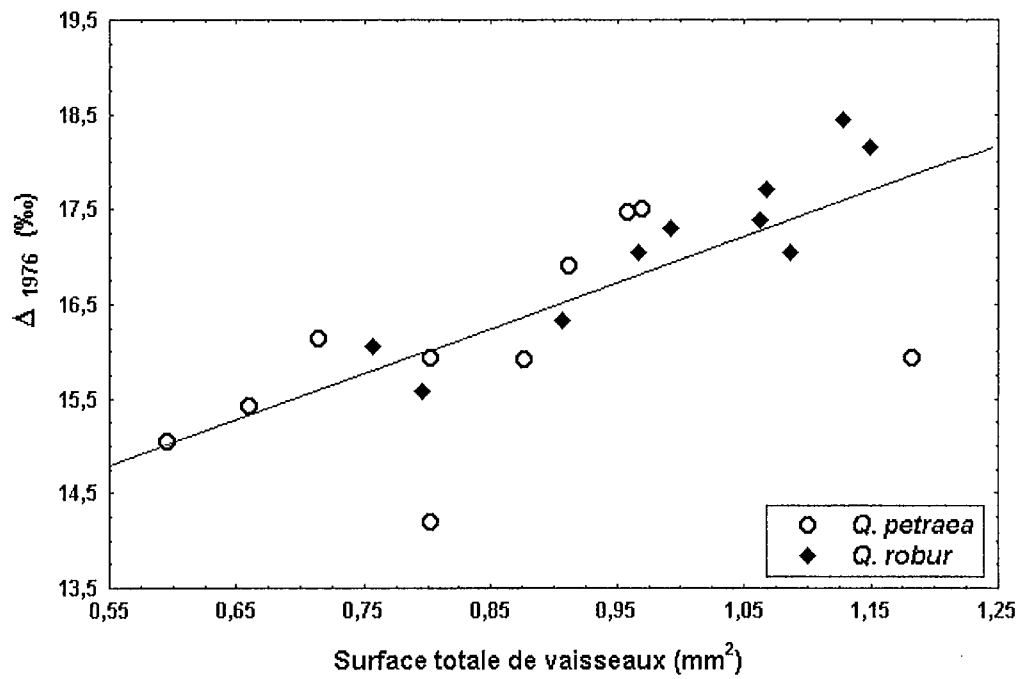


Figure 10. Relation entre la discrimination isotopique (Δ , ‰) mesurée dans le cerne de l'année 1976 et une valeur individuelle moyenne de la surface totale de vaisseaux dans le bois initial chez *Quercus petraea* et *Q. robur*, forêt de Cîteaux. Chaque point représente un individu.

2.2.3 Interactions génotype*environnement

Dans notre étude, l'occurrence d'une sécheresse modérée, sur les jeunes plants croissant en pleine lumière, a entraîné une réduction des échanges gazeux. En contraste avec des résultats antérieurs (Bréda *et al.* 1993, Vivin *et al.* 1993), cet effet était d'ailleurs légèrement plus marqué chez *Q. robur*. Alors que l'on pouvait s'attendre à une augmentation de WUE_{int} , la sécheresse n'a pas modifié le rapport A/g_{sw} , pour aucune des deux espèces. Il est possible que la sécheresse ait induit une légère augmentation de la résistance mésophyllienne (Parkhurst 1994, Rouspard *et al.* 1996) concomitante à la réduction de g_{sw} , de telle sorte que le rapport A/g_{sw} n'ait pas été modifié. La discrimination isotopique, quant à elle, était légèrement diminuée par l'occurrence de la sécheresse, conformément à la théorie (Farquhar & Richards 1984) et aux travaux déjà effectués sur *Q. robur* (Picon *et al.* 1996a, Vivin & Guehl 1997) ou *Q. petraea* (Guehl *et al.* 1994, Picon *et al.* 1996b). Cette faible réponse de l'efficacité d'utilisation de l'eau avait également été soulignée par Thomas & Gausling (2000) pour des jeunes plants des deux espèces soumis à une sécheresse modérée et par Thomas (2000) pour des semis de *Q. petraea* soumis à une sécheresse prononcée. Cependant, les conditions de sécheresse n'ont que très légèrement augmenté la différence interspécifique de Δ , de telle façon qu'aucune interaction génotype*alimentation hydrique sur l'expression de l'efficacité d'utilisation n'a été observée. Cette observation était relativement en adéquation avec la permanence de la différence interspécifique des adultes de Cîteaux. Bien que l'échantillonnage des cernes inclût des années de forte sécheresse et des années particulièrement humides, aucune liaison ne fut détectée entre la valeur de la différence interspécifique et les conditions climatiques. Il semble donc qu'il y ait, à l'échelle de la saison de végétation et sur des chênes adultes, une différence de conductance stomatique relativement stable entre les deux espèces, quelles que soient les conditions hydriques.

La quantité de lumière reçue exerce une très forte influence sur l'efficacité d'utilisation de l'eau (Δ et A/g_{sw}). Les variations de Δ entre les deux régimes d'éclairement extrêmes, telles qu'elles furent mesurées sur les jeunes plants, étaient de 4.5 ‰ et 3.8 ‰ pour *Q. petraea* et *Q. robur*, respectivement (Figure 7). Ces valeurs impliquaient une augmentation plus forte de WUE_{int} chez *Q. petraea* que chez *Q. robur* lorsque l'éclairement augmentait (soit des augmentations respectives de 86 % et 72%, de l'éclairement le plus faible à la pleine lumière). Il existait donc une interaction génotype * lumière dans l'expression phénotypique de WUE_{int} , avec en l'occurrence une disparition totale des différences interspécifiques en faible éclairement, conséquence de fonctionnements stomatique et photosynthétique identiques dans les deux espèces. Avec la réduction de l'éclairement, les facteurs limitants changent et les fonctionnements physiologiques sont davantage conditionnés par la nécessité d'assurer une assimilation carbonée suffisante, que par le contrôle des pertes hydriques. Les contraintes imposées par la régulation stomatique sur l'assimilation du carbone diminuent. L'expression de la différence interspécifique, par le jeu du fonctionnement stomatique est alors abolie. Ainsi, quelle que soit l'espèce, la variabilité de WUE_{int} entre traitements de lumière est essentiellement due aux variations de l'assimilation carbonée.

La différence de WUE_{int} entre les espèces *Q. robur* et *Q. petraea* est relativement indépendante des conditions d'alimentation en eau. Cette observation implique des régulations stomatiques évoluant parallèlement pour les deux espèces en fonction des variations des conditions du milieu. A l'inverse il existe une interaction espèce * lumière.

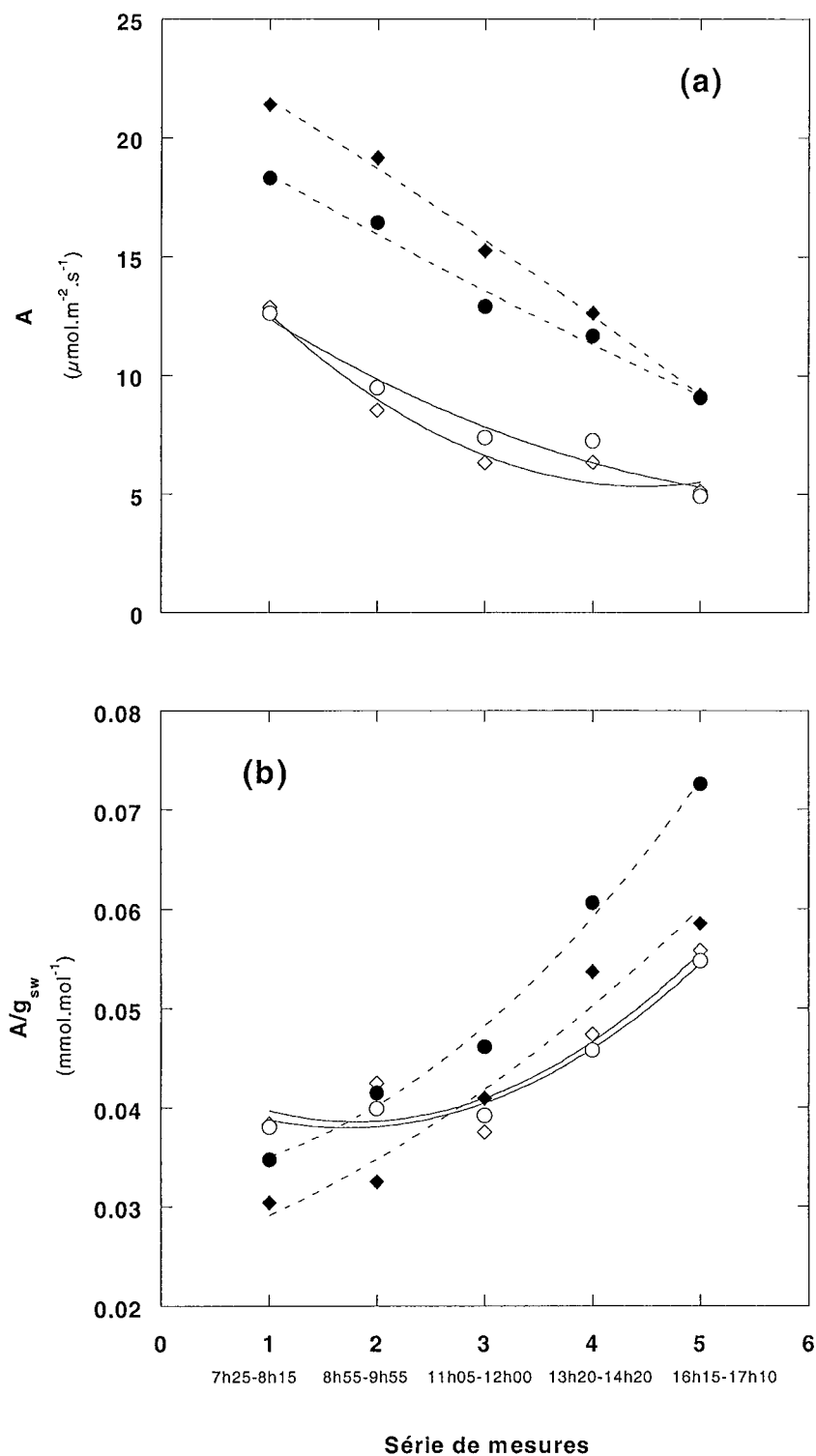


Figure 11. Evolution du taux d'assimilation de CO₂, A , (a) et de l'efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau, A/g_{sw} , (b) chez des jeunes plants de *Quercus petraea* (●) et *Q. robur* (◆) au cours d'une journée sans nébulosité. Les symboles pleins correspondent aux individus témoins, les autres aux individus soumis à un stress hydrique modéré. Chaque point est une moyenne de 10 mesures individuelles.

2.2.4 Changements d'échelle

Dans ce travail, de nombreux changements d'échelle furent réalisés dans l'espace et le temps. Tout d'abord explicitement par l'investigation de WUE_{int} mesurée conjointement (i) à une échelle foliaire et instantanée (A/g_{sw}), et (ii) à une échelle intégrée dans le temps et au niveau de la plante entière (Δ). D'autres changements d'échelle furent implicites par la juxtaposition de valeurs de Δ mesuré dans des compartiments végétaux très différents, et ayant donc des propriétés intégratives variées. Pour cette raison, nous avons essentiellement raisonné sur les différences interspécifiques obtenues dans la cellulose du bois, les cotylédons de glands, les feuilles ou les tiges entières en abandonnant la comparaison des valeurs brutes entre elles.

Lajtha & Getz (1993) suggèrent que les divergences observées entre WUE_{int} à long-terme estimée par Δ et WUE_{int} à court terme mesurée à A_{max} (assimilation nette de CO_2 réalisée en éclaircissement saturant et stable) sont le témoignage de la médiocrité de ce dernier paramètre comme indicateur de réponse des plantes aux variations de l'environnement. L'efficacité d'utilisation de l'eau change au cours de la journée en fonction de la température, de la différence de pression de vapeur entre la feuille et l'atmosphère et de l'ouverture stomatique. Nous avons mis en évidence de telles variations sur les jeunes plants des deux espèces lors de plusieurs cinétiques journalières réalisées au cours de la saison de végétation (Figure 11 : cinétique du 02/09/99). Les mesures de WUE réalisées à A_{max} ont donc plutôt pour effet de comparer les potentiels des plantes que de permettre la compréhension des stratégies des plantes entières, ou de fournir des mesures intégrables sur la saison de végétation. Les divergences entre les mesures de Δ et A/g_{sw} ont souvent été décrites, et notamment dans le cadre de la réponse de jeunes chênes à la sécheresse comme nous l'observons aussi (Picon *et al.* 1996a, 1996b, 1997). Dans notre étude, les mesures d'échanges gazeux étaient évidemment l'expression d'un fonctionnement instantané. Néanmoins, le grand nombre de mesures réalisées à des heures différentes de la journée et par des conditions de nébulosité variées (pourvu qu'elles soient stables), prodiguait théoriquement des valeurs moyennes intégrant relativement bien le fonctionnement des jeunes plants sur l'ensemble de la saison de végétation. De légères divergences dans les résultats subsistaient cependant entre WUE_{int} instantanée (A/g_{sw}) et WUE_{int} à long-terme (Δ), très probablement parce que les mesures instantanées, même répétées dans les conditions qui viennent d'être décrites, ne sont pas totalement représentatives du fonctionnement foliaire intégré dans la mesure de Δ (une intégration saisonnière rétrospective des mesures de A/g_{sw} , pondérées par un terme de type A/A_{max} , pourrait être réalisée en fonction des cinétiques journalières de PAR^1 , en distinguant les éclaircissements diffus et les éclaircissements directs où la courbe de réponse de A en fonction du PAR varie). Il faut également ajouter à cet aspect le fait que l'imprécision sur la mesure des échanges gazeux est bien supérieure à celle sur la mesure d'abondance du ^{13}C . Nous pensons que le bruit dans les mesures d'échanges gazeux restreint partiellement la possibilité de détecter des variations fines d'assimilation de CO_2 et de conductance stomatique.

Par ailleurs, l'utilisation de Δ pour l'estimation de WUE présente également des inconvénients liés aux variations de composition chimique des matériaux analysés (e.g. entre espèces croissant dans un même site) et aux variations dans le rythme journalier de l'activité physiologique ou/et des caractéristiques climatiques, comme la température et la différence de pression de vapeur entre la feuille et l'atmosphère (e.g. pour la même espèce croissant le long d'un gradient environnemental).

¹ PAR : rayonnement photosynthétiquement actif

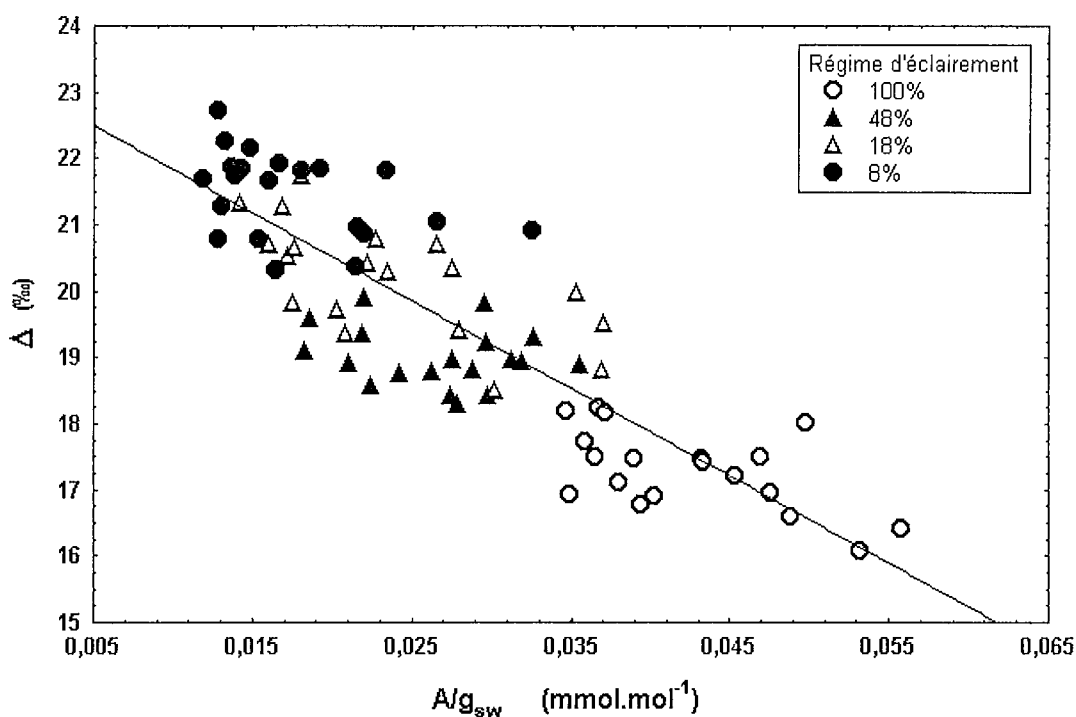


Figure 12. Relation entre la discrimination isotopique (Δ , ‰) et l'efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau chez des jeunes plants de chênes (les 2 espèces sont confondues) croissant sous différents régimes d'éclairement.

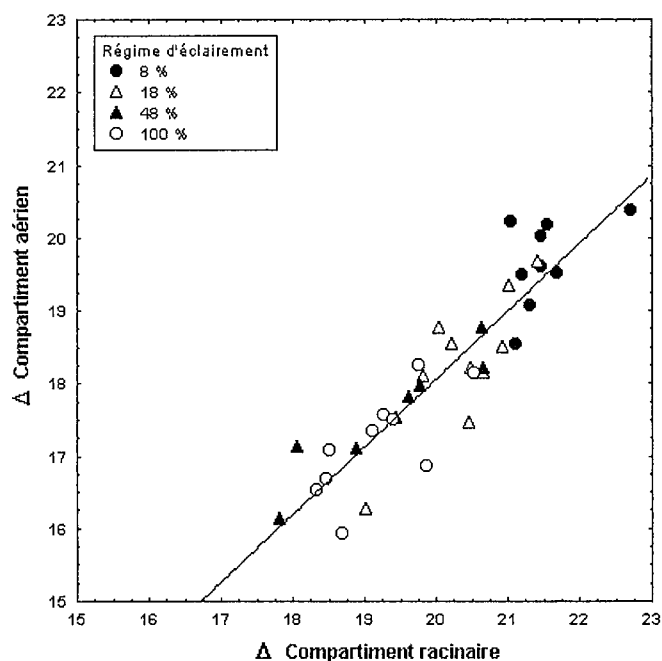


Figure 13. Relation entre la discrimination isotopique (Δ , ‰) des compartiments aérien et racinaire chez des jeunes plants de *Q. robur* élevés sous quatre régimes d'éclairement distincts. La régression linéaire est calculée sur l'échantillon complet (i.e. 10 plants par régime d'éclairement).

Roupsard (1997) soulignait que la relation entre WUE et Δ était très sensible aux conditions environnementales. Les faibles divergences observées entre Δ et A/g_{sw} pourraient mettre en relief l'existence d'autres causes aux variations de Δ que la modulation de la conductance stomatique. En effet, le modèle simplifié présenté en introduction (Encadré 2, équation 8) néglige les effets de plusieurs facteurs potentiels sur la discrimination isotopique foliaire, pris partiellement en compte dans un modèle plus complexe (Farquhar *et al.* 1989). Lloyd *et al.* (1992) et Epron *et al.* (1995) suggérèrent que les différences interspécifiques de Δ dans les feuilles pouvaient être liées à des différences de caractéristiques anatomiques foliaires (influant la conductance diffusionnelle du CO_2 depuis les stomates vers les sites de carboxylation) indépendamment de la régulation des échanges gazeux. Des différences d'activité de l'enzyme PEPc entre les deux espèces de chênes, pour l'instant méconnues, pourraient également aboutir à des discriminations isotopiques distinctes. Enfin, les différences d'activités respiratoire ou photorespiratoire entre *Q. robur* et *Q. petraea* pourraient influencer la différence interspécifique de Δ . Les travaux précurseurs de Duranceau *et al.* (1999) ont mis en évidence un fractionnement de +6 ‰ associé à la respiration nocturne chez *Phaseolus vulgaris*. Ceux de Gillon & Griffiths (1997) font état d'un fractionnement isotopique de -8 ‰ lors de la photorespiration. Ces aspects n'ont pas été étudiés chez les chênes.

Par ailleurs, toutes nos mesures de Δ n'ont pas été réalisées dans les tissus foliaires, mais aussi dans le bois des jeunes plants ou la cellulose des arbres adultes. Plusieurs travaux montrent que le Δ du bois est fortement corrélé à celui de la feuille, mais qu'il existe un fractionnement isotopique entre les deux tissus (Leavitt & Long 1982). Il existe par ailleurs une différence de Δ entre les tissus complets et la cellulose qu'ils contiennent (cf. Annexe III). Selon Schleser (1990), la cellulose foliaire est enrichie d'environ 2 ‰ par rapport à la feuille entière. Cette cellulose foliaire serait par ailleurs appauvrie de 3.5 ‰ par rapport à la cellulose du bois (alors que la différence entre tissus entiers est de 2.5 ‰, Leavitt & Long 1982). Cependant, ces fractionnements isotopiques peuvent varier entre espèces, comme le suggèrent plusieurs études réalisées en milieu tropical (Guehl *et al.* 1998, Bonal 2000). Il semblerait que le transit des assimilats dans la sève n'induisse pas de fractionnement isotopique.

En dépit de ces différents aspects, nous avons observé une très forte corrélation entre Δ , mesuré dans l'ensemble des parties aériennes des jeunes plants, et A/g_{sw} (Figure 12). Cette relation, unique pour les deux espèces, constitue une validation du modèle de Farquhar et de l'utilisation de Δ pour la mesure de WUE_{int} chez les chênes. L'obtention de cette forte corrélation ($r=0.85$, $P<0.0001$) est évidemment largement favorisée par la gamme très étendue des valeurs de Δ et A/g_{sw} entre les deux traitements extrêmes de conditions d'éclairement. La figure 13 illustre la relation observée entre le Δ des parties aériennes et le Δ mesuré dans le compartiment racinaire d'un sous-échantillon de jeunes plants de *Q. robur*. Cette forte corrélation ($r=0.91$ $P<0.0001$) plaide en faveur d'un lien étroit entre les valeurs de A/g_{sw} et de Δ de l'individu entier. Picon (1996) avait montré que Δ s'avérait être un bon descripteur de l'efficacité d'utilisation de l'eau à long terme chez les deux espèces de chênes (en obtenant comme dans notre étude des corrélations significatives entre les mesures de Δ et A/g_{sw})

Les individus juvéniles présentent classiquement des valeurs de Δ plus élevées que les adultes (1 ‰), sans pour autant que ne soient bouleversés les classements entre espèces (Sandquist *et al.* 1993). En ce qui concerne la présente étude, les valeurs de Δ mesuré dans les feuilles des jeunes plants étaient très voisines de celles observées sur arbres adultes. Les valeurs

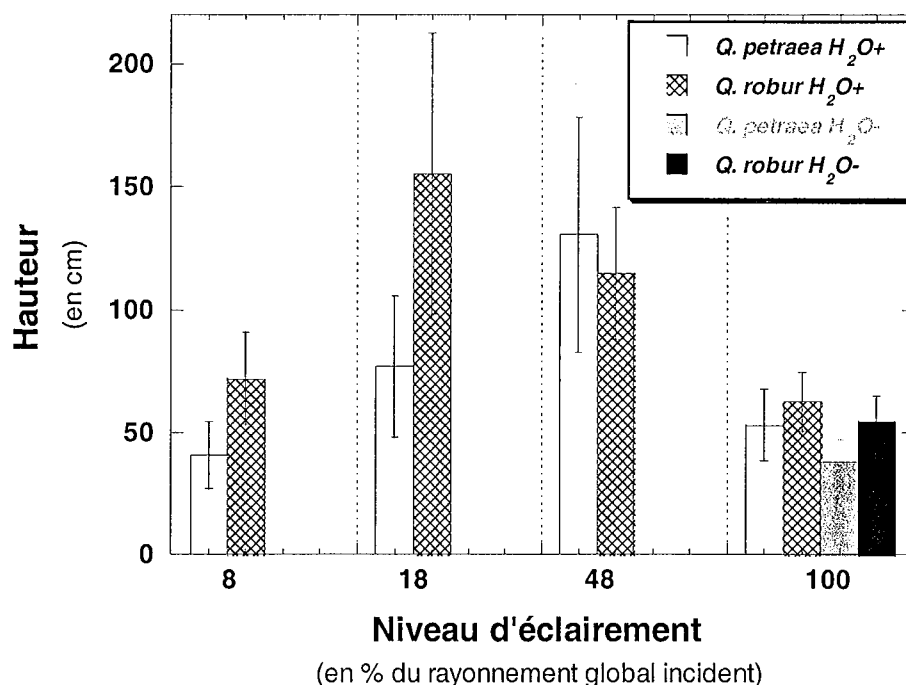


Figure 14. Hauteur moyenne des jeunes plants de *Q. robur* et *Q. petraea* en fonction du niveau d'éclairement et de l'alimentation hydrique. Les barres verticales représentent les écarts-types (n=10).

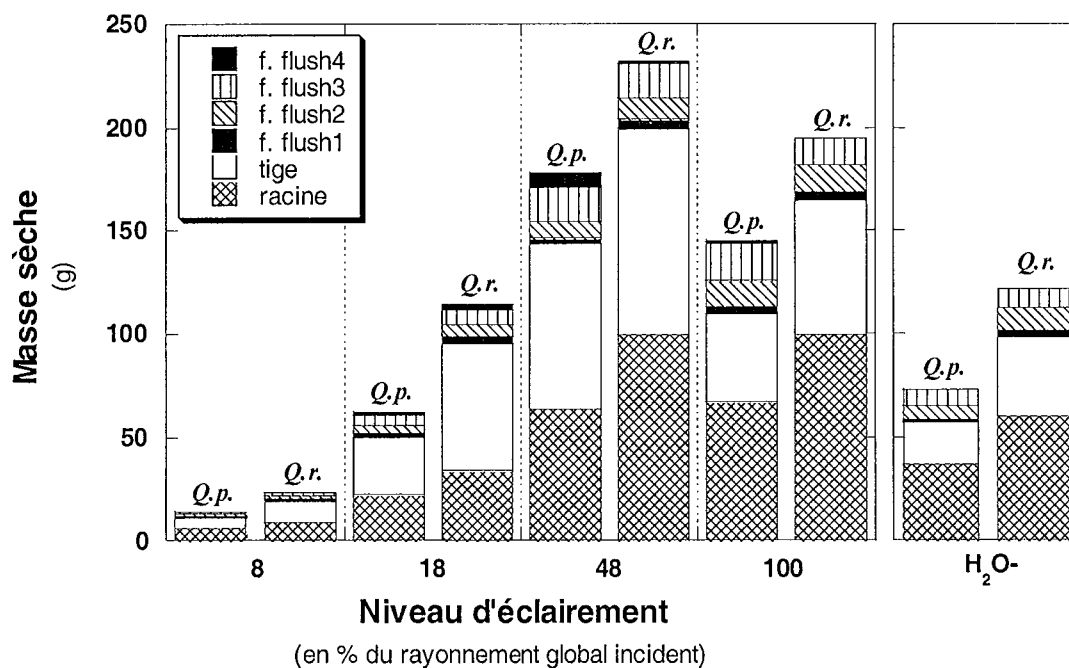


Figure 15. Biomasses moyennes par compartiment (feuilles des différents flushs, tiges, racines) des jeunes plants de *Q. robur* et *Q. petraea* en fonction du niveau d'éclairement et de l'alimentation hydrique.

moyennes de Δ observées sur les feuilles de lumière d'arbres adultes à Cîteaux étaient de $19.2 \pm 1.4 \text{ ‰}$ et $17.9 \pm 1.2 \text{ ‰}$ pour *Q. robur* et *Q. petraea* respectivement. Elles étaient de $19.0 \pm 0.6 \text{ ‰}$ et $18.1 \pm 0.6 \text{ ‰}$ pour les feuilles de la première pousse, puis de $18.3 \pm 0.5 \text{ ‰}$ et $17.5 \pm 0.6 \text{ ‰}$ pour les feuilles de seconde pousse, pour *Q. robur* et *Q. petraea* respectivement.

La discrimination isotopique du carbone est un estimateur efficace de WUE_{int} chez les deux espèces de chênes.

2.2.6 Implications écologiques des différences interspécifiques de WUE_{int}

Nous avons observé des différences d'efficacité d'utilisation de l'eau entre les deux espèces dès le stade des jeunes plants. En conditions de pleine lumière, les individus juvéniles de l'espèce *Q. petraea* exprimaient déjà une meilleure WUE_{int} que ceux de l'espèce *Q. robur*. Sur les jeunes plants, il n'est cependant pas certain que cette différence ait une répercussion sur l'écologie des espèces. En effet, *Q. robur* présente les caractéristiques de dynamique de croissance d'une espèce plutôt pionnière, contrairement à *Q. petraea*. Nos résultats observés en pépinière montrent que des croissances en hauteur (Figure 14) et accumulations de biomasse (Figure 15) nettement supérieures chez *Q. robur* par rapport à *Q. petraea* (hormis à 40% d'éclaircissement où les différences de hauteur ne sont pas significatives), avantagent considérablement le premier d'un point de vue compétitif. Dans une expérimentation menée en pépinière dans le cadre de l'étude de la régénération artificielle des chênes, Généré & Le Bouler (1996) avaient déjà mis en évidence, sur un très large échantillon, la croissance de *Q. robur* supérieure de 25 à 52 % (pour un semis au printemps ou en automne, respectivement) à celle de *Q. petraea* après un an d'élevage seulement. Ces résultats signifient que la seule différence interspécifique de dynamique de croissance suffit à expliquer les différences écologiques entre les deux espèces au stade juvénile.

La plus faible WUE_{int} de *Q. robur* que nous avons mise en évidence pour des arbres adultes en forêt (Publication I, Annexe I) est également parfaitement en accord avec l'idée d'une espèce *Q. robur* de type pionnier, en opposition à une espèce de type stress-tolérant. La plus grande WUE_{int} de *Q. petraea* serait ainsi associée à une plus faible compétitivité au stade juvénile mais aussi permettrait une meilleure vigueur aux stades adultes et probablement une meilleure survie à long terme. La stratégie stress-tolérante de *Q. petraea* ne lui procurerait pas d'avantages à long terme sur *Q. robur* dans tous les types de milieu, mais uniquement dans ceux où les stress hydriques seraient suffisamment fréquents et/ou intenses. La plus faible croissance radiale de *Q. robur* observée à Cîteaux (Figure 16) est une constante des peuplements mélangés, dont les conditions écologiques sont généralement peu adaptées aux exigences de *Q. robur* (Lévy *et al.* 1992). Becker (1984) soulignait d'ailleurs que la répartition actuelle de cette espèce dans la forêt française semblait très marquée par l'influence de l'homme. En effet, l'espèce *Q. robur* plus héliophile et fructifère que *Q. petraea* aurait été favorisée, il y a deux ou trois siècles, par la surexploitation des forêts. Elle serait ainsi sortie de ses sites naturels et aurait colonisé les espaces ouverts ménagés par l'homme (Becker & Lévy 1990 ; Figure 17). La meilleure croissance initiale de *Q. robur* aurait pour effet d'éliminer totalement *Q. petraea* des milieux correspondant à la niche écologique de cette première espèce ; d'où l'inexistence de peuplements mélangés où *Q. robur* présenterait une meilleure vigueur (et par conséquent une plus forte croissance radiale) que *Q. petraea*. Ces conclusions sont à tempérer quelque peu par la considération des effets de la sylviculture, qui

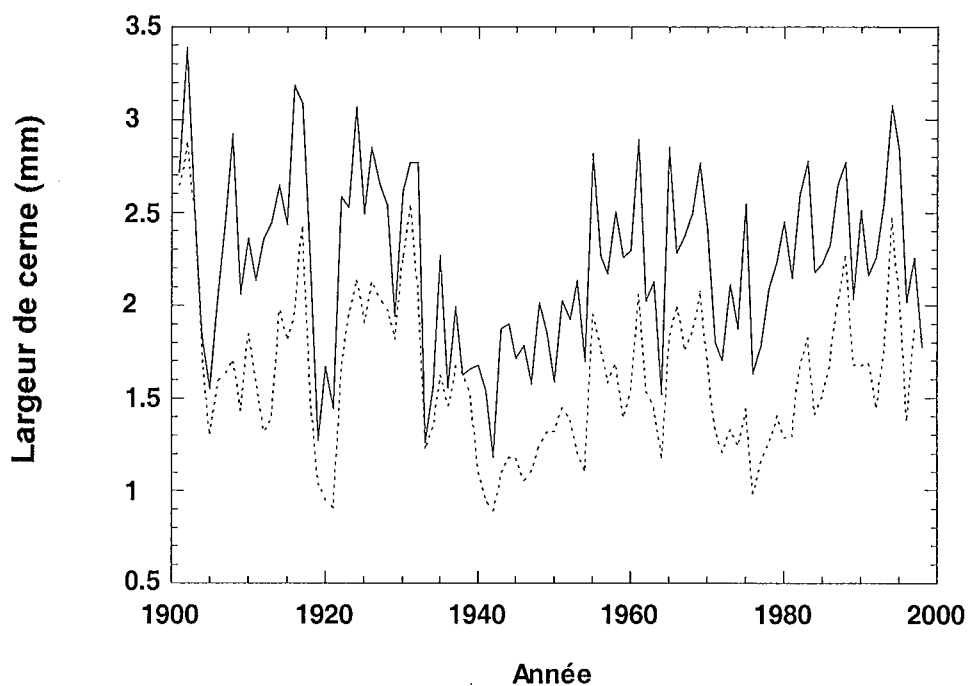


Figure 16. Croissance radiale moyenne de *Q. robur* (en trait pointillé) et *Q. petraea* (en trait plein) au cours du XX^{ème} siècle en forêt de Cîteaux.

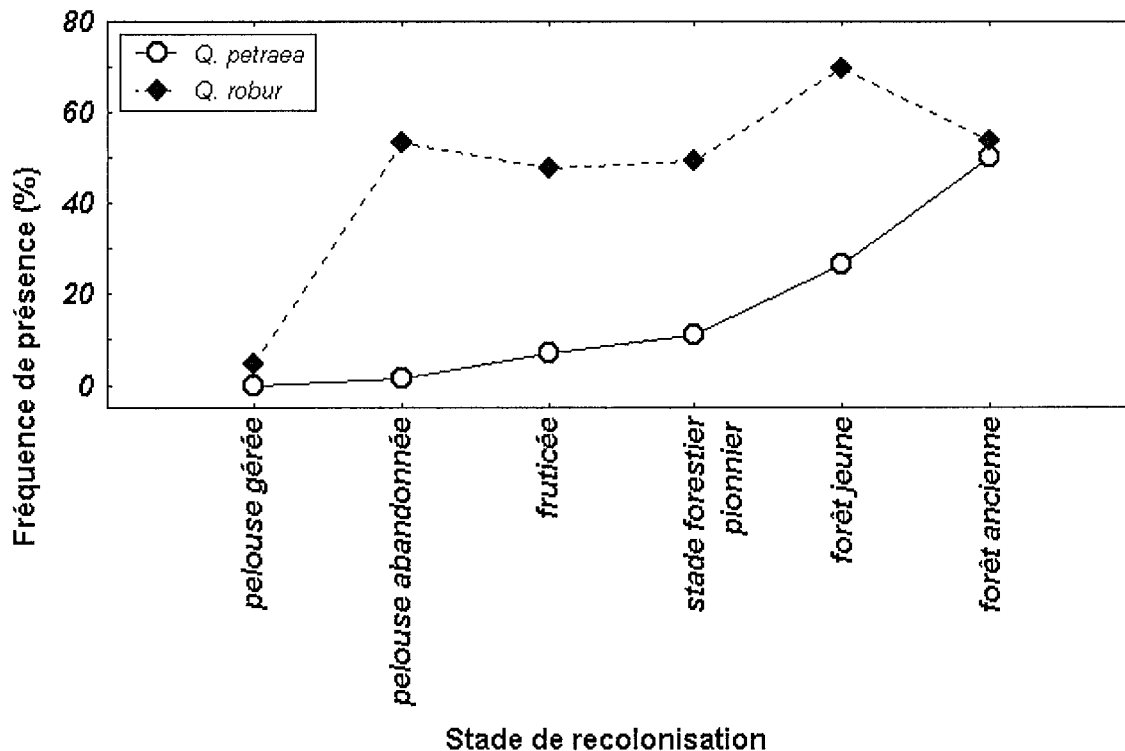


Figure 17. Fréquence de présence des espèces *Q. petraea* et *Q. robur* en fonction du stade de recolonisation, depuis la pelouse gérée jusqu'à la forêt ancienne (Petite Montagne jurassienne, 439 relevés). D'après Sciama (1999).

intervient sur les relations de compétition entre les arbres. La figure 18 illustre les variations de différences interspécifiques de Δ que nous avons observées dans trois forêts distinctes : la forêt de Cîteaux et celle de la Harth représentaient des taillis sous futaie vieillis, alors que la forêt de Champenoux était un perchis (voir Ponton (1998) pour une description des mesures dans les forêts de Champenoux et de la Harth). Contrairement au traitement taillis sous futaie, le traitement régulier de Champenoux donne lieu à l'expression de différences interspécifiques de Δ peu marquées (et inverse). On peut également remarquer une plus faible variabilité intraspécifique à Champenoux qu'à Cîteaux.

Becker & Lévy (1990) ont rapporté que depuis le retour à une gestion sylvicole plus intensive, *Q. robur* serait dans une lente phase de reflux et ne se maintiendrait en toute vigueur que dans ses stations originelles, plus favorables sur le plan édaphique.

La relation que nous avons observée entre Δ et la surface conductrice xylémique moyenne pourrait être également le reflet de la stratégie pionnière de *Q. robur* maximisant les transferts hydriques (et ainsi le potentiel de croissance) alors que *Q. petraea* privilégierait l'évitement de l'embolie. Ces stratégies semblent tout à fait cohérentes avec la connaissance que l'on a des niches écologiques respectives des deux espèces (i.e. fonds de vallon pour *Q. robur*, pente et sommet de coteaux pour *Q. petraea*). Cependant la liaison entre la plus grande sensibilité de *Q. robur* à la cavitation (Cochard *et al* 1992) et sa plus forte conductivité hydraulique n'est pas évidente, et demande donc à être vérifiée. *Q. petraea* serait par ailleurs capable d'améliorer les prélèvements d'eau (et de nutriments ?) par l'initiation de davantage de racines secondaires (Colleu 1983) que *Q. robur*, notamment dans les couches les plus profondes du sol (Bréda *et al.* 1995). Cette différence, dans les conditions pédoclimatiques les plus sèches, pourrait procurer à *Q. petraea* un avantage compétitif conséquent sur *Q. robur*.

Par ailleurs, Field *et al.* (1983) montrèrent que la réduction de la conductance stomatique réduisait également l'efficacité d'utilisation de l'azote 'photosynthétique' instantanée (PNUE). De Lucia & Schlesinger (1991), qui observaient également une corrélation négative entre WUE et PNUE, considèrent que l'équilibre entre WUE et PNUE est le résultat d'un compromis fonctionnel entre les caractères qui maximisent la photosynthèse nette d'une part et l'adaptation morphologique et physiologique à la sécheresse d'autre part. Nos mesures de composition chimique foliaire des arbres de Cîteaux montrèrent peu de différences entre les deux espèces (Tableau I). *Q. robur* avait une concentration massique en azote (et en magnésium, dans une moindre mesure) supérieure à *Q. petraea* ; cette différence interspécifique s'annulait lorsque la concentration était exprimée en fonction de la surface foliaire. Le lien potentiel entre les exigences hydriques et nutritionnelles connues de *Q. robur* reste encore à clarifier.

Le chapitre introductif a montré que les seuls traits jusqu'à présent réellement discriminants entre *Q. robur* et *Q. petraea* étaient d'une part leur morphologie et d'autre part leur distribution écologique. Il est intéressant de noter que ces deux caractéristiques ne sont d'ailleurs pas indépendantes. Il est apparu que les formes de morphologie intermédiaire étaient plus fréquentes dans les milieux eux-mêmes intermédiaires entre les optima écologiques de chacune des deux espèces (Becker 1972, Grandjean & Sigaud 1987), sans que l'on sache toutefois si elles correspondaient à des individus hybrides ou bien résultaient d'une acclimatation aux facteurs du milieu. Nous avons confronté les caractéristiques morphologiques foliaires aux variables écophysologiques des individus juvéniles élevés en

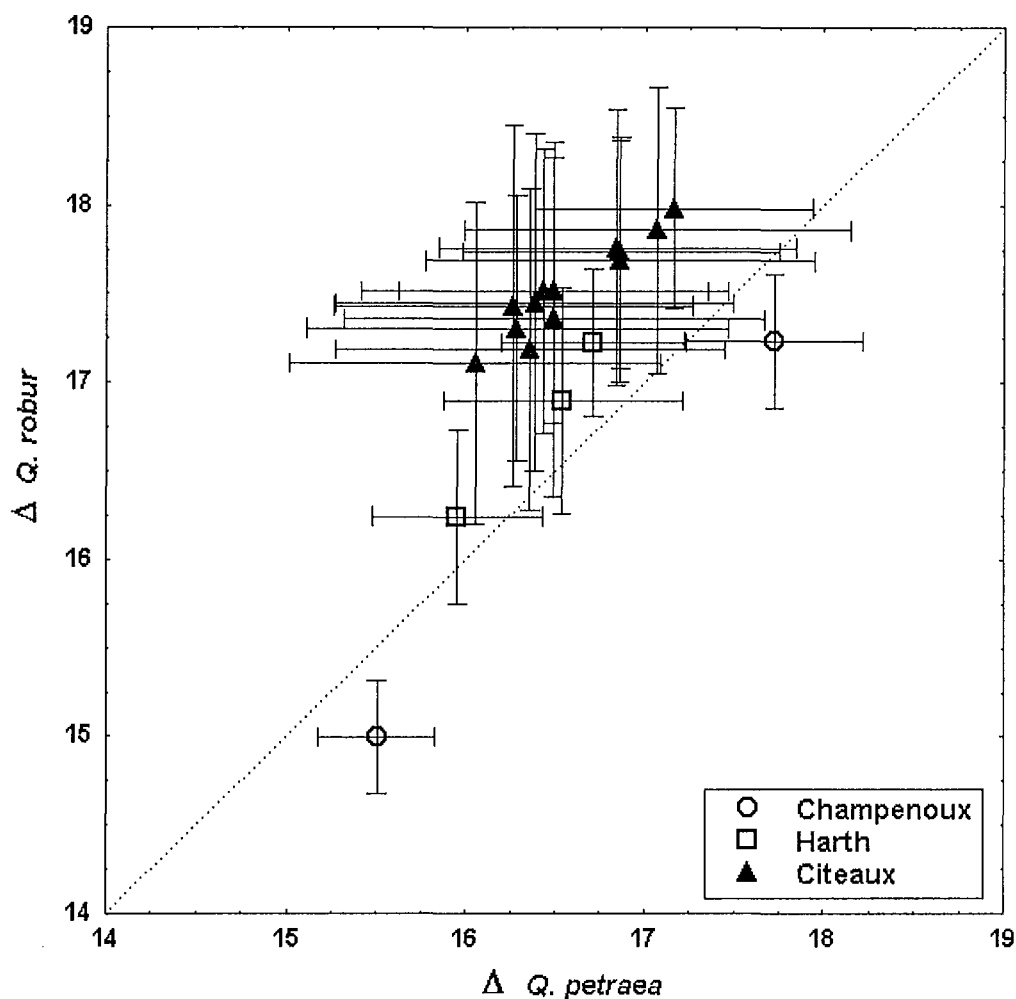


Figure 18. Variations interspécifiques moyennes de discrimination isotopique (Δ , ‰) dans 3 forêts françaises. Chaque point est une moyenne de 10 (Cîteaux, Champenoux) ou 15 (Harth) individus de chaque espèce, pour un site et une période (un cerne individuel ou une séquence de cerne) donnés. Données des forêts de la Harth et de Champenoux d'après Ponton (1998). Les barres horizontales et verticales représentent les écarts-types.

Tableau I. Composition chimique et $\delta^{15}\text{N}$ foliaires de *Quercus petraea* et *Q. robur* (Cîteaux). Moyenne $\pm$ écart-type. La différence interspécifique est testée par un test de comparaison de moyenne de Student. Les P-values du test sont représentées comme suit : (*): $P < 0.1$, *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$, ns : $P > 0.1$.

	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	C (g.g ⁻¹)	N (mg.g ⁻¹)	P (mg.g ⁻¹)	K (mg.g ⁻¹)	Ca (mg.g ⁻¹)	Mg (mg.g ⁻¹)	Mn (mg.g ⁻¹)	Fe (μg.g ⁻¹)
<i>Q. petraea</i>	-5.5 ± 0.8	0.522 ± 0.007	23.3 ± 1.3	0.93 ± 0.13	8.5 ± 1.7	6.7 ± 1.6	1.15 ± 0.30	0.81 ± 0.16	76 ± 22
	ns	ns	**	ns	ns	ns	(*)	ns	ns
<i>Q. robur</i>	-5.2 ± 0.5	0.525 ± 0.005	25.5 ± 1.8	1.00 ± 0.12	8.0 ± 1.3	7.6 ± 0.9	1.46 ± 0.39	0.81 ± 0.16	73 ± 37

pépinière. L'hypothèse formulée était que les individus de morphologie intermédiaire pouvaient présenter des valeurs également intermédiaires d'assimilation, de conductance stomatique et de WUE_{int} (Δ et A/g_{sw}). Aucune relation n'a été mise en évidence entre ces deux types de variables. A Cîteaux, où une analyse identique de la morphologie foliaire avait également été réalisée sur les arbres échantillonnés dans notre étude (Feuillat *et al.* 1997), le même constat a été fait : aucune relation entre les variables morphologiques foliaires et Δ . Toutefois, il faut rappeler que les individus (ou le parent femelle dont ils sont issus, en ce qui concerne les jeunes plants) avaient été choisis pour être le plus caractéristique possible d'une espèce ou de l'autre. Nos différents échantillonnages ne sont donc pas très appropriés pour mettre en évidence ce type de relation. Bacilieri *et al.* (1995) ne trouvèrent aucune corrélation entre les caractères morphologiques, génétiques et phénologiques d'individus de *Q. robur* et *Q. petraea* distribués le long d'un gradient écologique. En contribuant à améliorer la compréhension des divergences de niches écologiques entre les deux espèces, nos résultats repoussent les interrogations à un niveau de diversité différent, celui des écotypes, pour lesquels très peu de données sont pour l'instant disponibles.

La plus forte efficience d'utilisation de l'eau de Q. petraea est cohérente avec sa stratégie d'espèce stress-tolérante présente naturellement dans des milieux plus secs que Q. robur. De même, les caractéristiques pionnières de Q. robur, et notamment sa meilleure croissance initiale et sa plus faible WUE_{int} , expliquent à la fois sa présence sur des milieux où cette espèce est mal adaptée et sa moins bonne vigueur en peuplement mélangé.

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54601 VILLERS-LES-NANCY Cédex

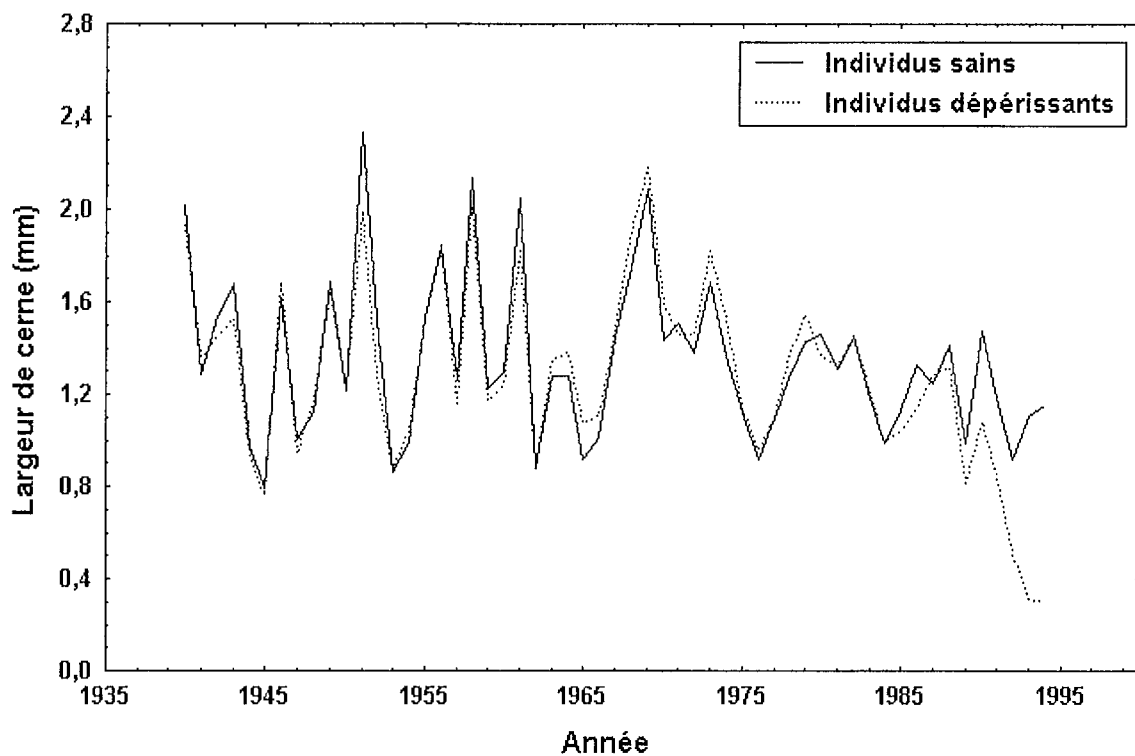


Figure 19. Croissance radiale moyenne d'individus sains (n=5) et dépérissants (n=5) de l'espèce *Q. petraea* en forêt de la Harth.

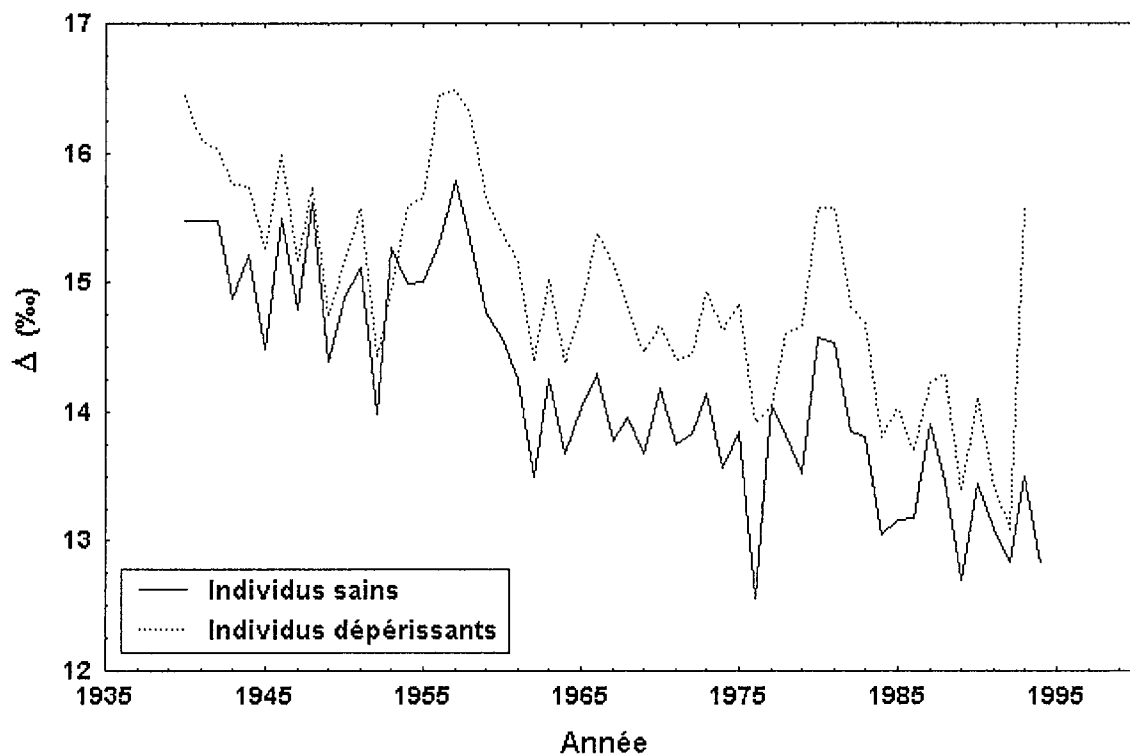


Figure 20. Discrimination isotopique (Δ , ‰) moyenne d'individus sains (n=5) et dépérissants (n=5) de l'espèce *Q. petraea* en forêt de la Harth.

3 Marqueurs de sensibilité au dépérissement chez *Q. petraea*

La sécheresse est le facteur limitant majeur de la croissance des arbres dans les écosystèmes forestiers tempérés. Les stress hydriques peuvent causer des dysfonctionnements importants en affectant la photosynthèse et le fonctionnement hydraulique des végétaux. La sécheresse induit des diminutions concomitantes de la conductance stomatique et de l'assimilation de CO₂ dès que le potentiel hydrique foliaire de base chute en dessous de -1.0 MPa chez *Q. petraea* (Epron & Dreyer 1990, Epron & Dreyer 1993b). L'appareil photosynthétique en lui-même est apparu extrêmement résistant à la déshydratation foliaire (Epron & Dreyer 1992) ; les causes de la réduction d'assimilation du CO₂ en cas de déficit hydrique sont donc essentiellement stomatiques et comparables chez *Q. robur* et *Q. petraea* (Epron & Dreyer 1993a). Cochard *et al.* (1992) font état d'embolie significative pour des potentiels hydriques inférieurs à -2 MPa, et de pertes de conductivité atteignant 50% pour des potentiels de -3.3 MPa et -2.7 MPa pour *Q. petraea* et *Q. robur* respectivement. Chez les chênes, le fonctionnement hydrique en phase liquide étant par ailleurs fortement couplé avec le fonctionnement en phase vapeur, en cas de sécheresse la transpiration est également rapidement ralentie. Des déficits hydriques prolongés pourraient perturber voire stopper la mise en réserve des assimilats et rendre les arbres davantage vulnérables aux stress futurs.

L'étude des dépérissements est particulièrement délicate car il est souvent difficile d'identifier avec certitude le facteur déclenchant. Le rôle prépondérant de la sécheresse a souvent été souligné dans l'étiologie des dépérissements observés dans les chênaies européennes durant les dernières décennies. Les trois sites échantillonnés dans cette étude étaient situés dans des massifs forestiers ayant subi des dépérissements intenses dans les années 1990 et où le contexte (pédo)climatique extrêmement défavorable permit d'attribuer sans aucune ambiguïté le rôle de facteur déclenchant à la sécheresse (Figures 2 et 3). Il s'agit de trois peuplements de *Q. petraea* localisés respectivement dans deux forêts voisines, la Harth et Reiningue (Bas-Rhin), et dans une forêt hongroise (lieu dit Síkfőkút, où *Q. petraea* était en mélange avec *Q. cerris*). Les dépérissements des forêts de la Harth et de Síkfőkút (Hongrie) ont donné lieu à des programmes de recherches (Bréda 1998, Bréda & Peiffer 1999, O'Heix *et al.* 1998). Ce chapitre se réfère essentiellement à des résultats décrits dans le détail dans la publication IV.

3.1 Discrimination isotopique du carbone

La première étude fut réalisée en forêt de la Harth lors d'un projet européen dont le but principal était de tester la réponse climatique de différents marqueurs (Spieker 1998). Cinq individus adultes morts sur pied (nous utiliserons dans la suite du texte le terme 'dépérissant') et cinq individus sains croissant en mélange pied à pied avaient été sélectionnés. Sur l'ensemble de la période 1940-1993 mesurée cerne par cerne, les individus dépérissants avaient des valeurs moyennes de discrimination isotopique (Δ) mesurée dans la cellulose du bois supérieures de 0.6 ‰ à 1.4 ‰ à celles des individus sains (Figure 20). Sur la même période aucune différence de croissance radiale n'était observée entre les deux groupes, hormis pour les cinq dernières années au moment de la mort des individus (Figure 19). Cette observation était particulièrement heuristique puisqu'elle signifiait que 50 ans avant la mort des arbres, Δ discriminait les individus qui mourraient de ceux qui survivraient à la sécheresse.

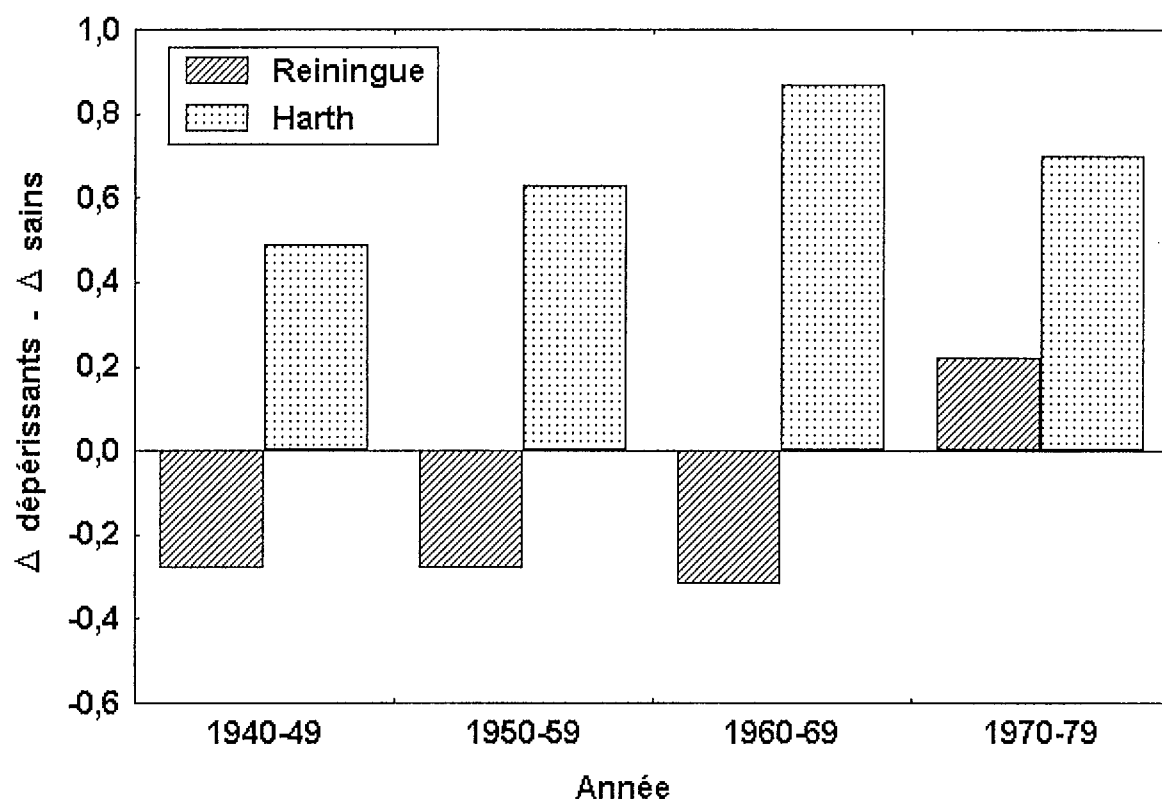


Figure 21. Comparaison entre les échantillonnages des forêts de Reiningue et de la Harth : différence moyenne de discrimination isotopique du carbone (Δ , ‰) observée entre individus déprimés et sains en fonction de la date.

de 1989. Les résultats de cette étude montraient donc que Δ pouvait être un marqueur précoce de la sensibilité au dépérissement induit par la sécheresse. Une hypothèse probable de cette différence de Δ serait que les arbres dépérissants en 1993 étaient génétiquement moins efficaces pour l'utilisation de l'eau que les individus sains. Cette différence exprimée depuis longtemps (au moins 50 ans) n'aurait eu aucune répercussion néfaste sur la vie des arbres (en témoigne leur croissance moyenne strictement similaire à celle des individus sains) jusqu'à la forte sécheresse de 1989 qui aurait provoqué leur mort en 4-5 ans. Nous ne pensons pas cependant qu'une plus faible efficacité d'utilisation de l'eau (7%) puisse en elle-même être la cause unique de la mort fulgurante d'arbres jusque là sains. A l'inverse, Δ pourrait être associé à certaines caractéristiques du fonctionnement de l'arbre dont les différentes expressions entre individus dépérissants et sains étaient décisives sur la vie des arbres. En s'appuyant sur la relation énoncée au chapitre précédent (Figure 10), il se pourrait par exemple que l'expression de Δ soit liée à des variations de degré de vulnérabilité du système hydraulique des arbres.

Etant donnée la taille faible de l'échantillon de la forêt de la Harth, nous avons cherché à confirmer les résultats très prometteurs de cette étude par un nouvel et plus large échantillonnage. Nous avons sélectionné un peuplement dépérissant de *Q. petraea* dans la forêt de Reiningue, voisine de celle de la Harth et présentant un contexte pédoclimatique très similaire. Les résultats obtenus à la Harth avaient montré une assez grande stabilité de la différence de Δ entre les deux groupes d'individus, peu dépendante de plus des variations climatiques inter-annuelles. En conséquence, nous avons mesuré, dans ce second échantillon, la discrimination isotopique dans la cellulose du bois non plus cerne par cerne, mais sur des séquences de 10 cernes correspondant aux décennies 1940, 1950, 1960 et 1970. L'échantillon était composé de dix individus dominants dans chaque groupe. La figure 21 illustre la divergence des résultats observés entre les échantillons de Reiningue et de la Harth. Aucune différence significative entre le groupe des individus sains et celui des dépérissants n'a été observée dans le peuplement de Reiningue alors que la situation paraissait en tout point comparable à celle de la Harth. Quelle que soit la cause de la divergence de ces deux résultats, nous devons moduler la première conclusion : la discrimination isotopique du carbone de la cellulose du bois pourrait, dans certains cas, s'avérer être un marqueur précoce de la sensibilité au dépérissement, mais son application ne semble pas être générale. Nous n'avions cependant aucune information sur le processus de dépérissement de Reiningue, qui par conséquent pouvait être très différent de celui de la Harth (nous n'avions comme élément de comparaison que la proximité géographique des deux forêts, leurs contextes pédoclimatiques d'apparences voisines et la simultanéité des dépérissements).

Afin de comprendre les causes de cette disparité, nous avons réalisé une troisième étude dans un peuplement mélangé (*Q. petraea* / *Q. cerris*) hongrois qui présentait l'avantage d'être géré très extensivement (i.e. les arbres morts ont été laissés sur place). Seule l'espèce *Q. petraea* était concernée par le dépérissement. Pour cette étude, la résolution de la mesure de Δ fut augmentée pour éviter de lisser toute différence potentielle entre les groupes d'individus sains et dépérissants. Dans un cerne de chêne, la largeur du bois final est beaucoup plus conditionnée par les conditions climatiques de l'année en cours que celle du bois initial synthétisé uniquement à partir des réserves. Ainsi, le Δ d'un cerne entier peut, les années sèches, être davantage le reflet de la discrimination isotopique des réserves que l'intégration de l'efficacité d'utilisation de l'eau à l'échelle de la saison de végétation de l'année en cours. Nous avons donc mesuré Δ dans la cellulose du bois final de 17 cernes échelonnés entre 1943 et 1992. L'échantillonnage comprenait des années de forte croissance radiale et des années de faible croissance radiale. Comme à Reiningue, dix individus dominants de l'espèce *Q. petraea*

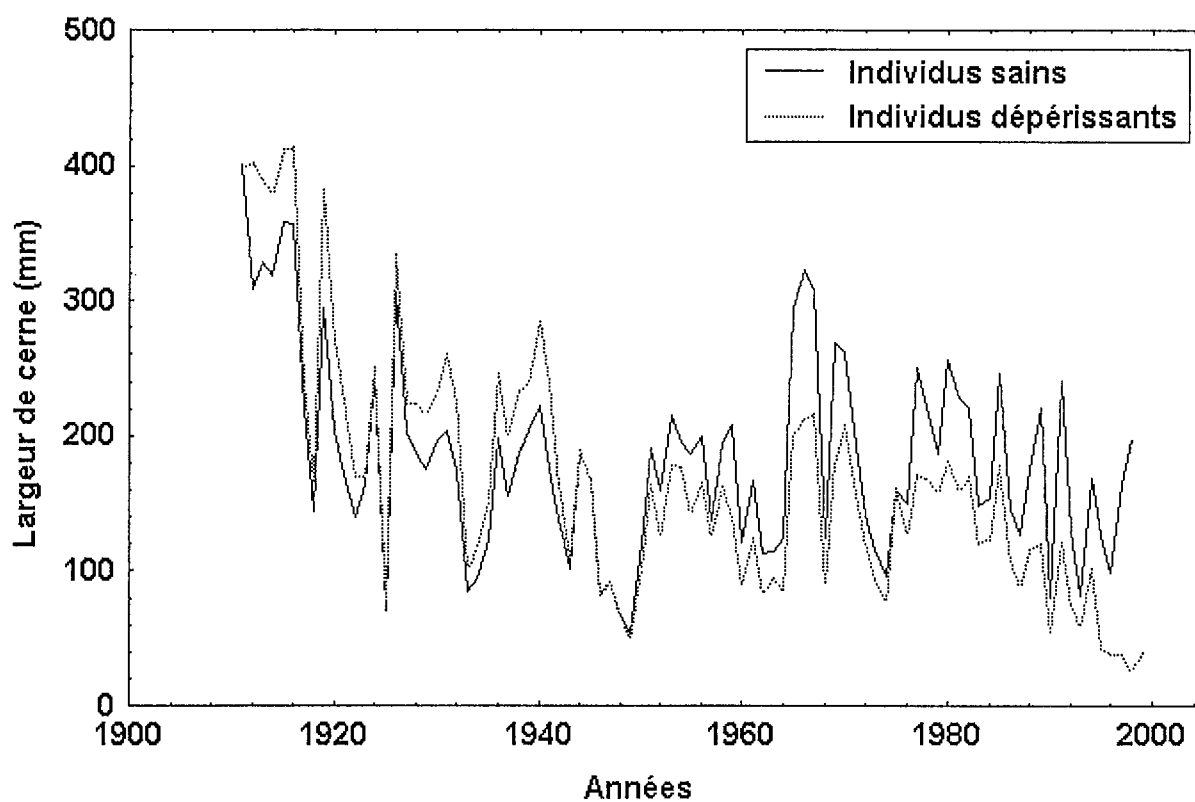


Figure 22. Croissance radiale moyenne d'individus sains (n=10) et dépérissants (n=10) de l'espèce *Q. petraea* en forêt de Síkfökút.

constituaient chacun des groupes « sain » et « déperissant ». Comme à Reiningue, aucune différence de Δ ne fut observée entre les deux groupes (Publication IV, Figure 5).

Si dans un cas sur trois la discrimination isotopique s'est avérée efficace comme marqueur de résistance à la sécheresse, dans deux cas sur trois les résultats furent opposés. Il n'est donc pas possible de conclure dans l'état actuel des recherches. Des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre quelles sont les conditions d'expression de ce marqueur.

3.2 Croissance radiale

Dans chacune des études évoquées dans le chapitre précédent, nous avons également analysé la croissance radiale des arbres sur toute la durée de leur vie. Ici encore, des disparités existent entre les résultats des trois études. Conformément aux observations de plusieurs auteurs (Tainter *et al.* 1990, Pedersen 1998, Jenkins & Pallardy 1995), en Hongrie, le groupe des individus déperissants présentait depuis plusieurs décennies une croissance radiale inférieure à celle du groupe des individus sains (Figure 22). On peut formuler l'hypothèse que des individus moins vigoureux (i.e. légèrement dominés) puissent être plus sensibles aux épisodes de sécheresse. En effet, la profondeur relative de leur enracinement pourrait refléter la position de leur houppier dans la canopée de telle sorte que leur ressource en eau soit plus restreinte que celle d'individus plus dominants. Il est également possible qu'une différence de quantité de réserves puissent exister entre individus dominés (ou plutôt codominants dans notre cas) et dominants et que cette différence puisse conditionner la résistance à plusieurs années de stress successives. Ainsi, Piutti & Cescatti (1997) ont montré chez *Fagus sylvatica* une réponse négative de la croissance radiale au déficit hydrique uniquement chez les individus dominés. Néanmoins, cette étude est un des rares travaux sur le sujet et l'influence du statut social sur la sensibilité aux stress hydriques ne nous semble pas clairement établie. En ce qui concerne le dépérissement des chênes, Buffet (1983) et Clinton *et al.* (1993) précisaient par exemple que les individus touchés étaient majoritairement des individus dominants. A l'inverse des résultats observés en Hongrie, les groupes 'sain' et 'déperissant' présentaient des croissances strictement identiques dans les deux forêts françaises. Il est possible que les processus de dépérissement impliqués en Hongrie, d'une part, et en plaine d'Alsace, d'autre part, soient différents. Mais nous pensons qu'il est davantage probable que l'absence de différences de croissance radiale en Alsace ne soient due qu'à la faible taille des échantillons. Cette hypothèse est d'ailleurs confirmée par les résultats obtenus par Bréda (1998) sur de larges échantillons en forêt de la Harth (Figure 5).

A côté de ces discordances entre études, nous avons mis en évidence une tendance commune aux trois dépérissements : les individus déperissants exprimaient une croissance radiale en moyenne supérieure à celle des individus sains durant les premières années de leur vie, sans que des différences d'âge soient en cause. Il est très remarquable que cette observation soit d'ailleurs présente dans la littérature scientifique, notamment pour le genre *Quercus* (Tainter *et al.* 1990, Dwyer *et al.* 1995, Jenkins & Pallardy 1995), mais pas uniquement (Bert 1992, Peiffer 2000). Notons que ce fait n'est souvent pas relevé par les auteurs eux-mêmes (et donc difficile à dépister dans une revue bibliographique) et qu'il nous paraît très probable qu'il s'avère finalement assez commun. Chez *Picea abies*, Delvaux (1981) notait que la stabilité

hiérarchique était acquise avant la dixième année du peuplement et que seule la suppression de la compétition inter-individuelle pouvait entraîner des perturbations de la hiérarchie. Dans nos observations, aussi bien que dans les quelques exemples bibliographiques, l'inversion des tendances de croissance entre les groupes « sain » et « déperissant » (ou du moins la perte de la croissance dominante des futurs déperissants, comme dans les cas de la Harth et de Reiningue) se produit systématiquement après une phase de forte réduction de la croissance radiale moyenne. Nous pensons que le statut des individus ayant la croissance la plus dynamique durant ces stades jeunes du peuplement pourrait être modifié lors du premier stress hydrique sévère, levant ainsi temporairement les conditions de compétition et permettant à des génotypes plus 'stress-tolérants', jusqu'alors dominés, de gravir des échelons dans la hiérarchie sociale du peuplement. Rien ne nous permet pour l'instant d'étayer davantage cette hypothèse. Notons également qu'Abetz (1988) fit le constat inverse pour l'espèce *Fagus sylvatica* en observant que des arbres aujourd'hui dominants, mais qui ont été dominés dans leur jeunesse, semblaient plus vulnérables au déclin que les dominants "permanents". Il évoqua l'hypothèse d'une plus grande sensibilité à la sécheresse des ex-dominés, conséquence d'un système racinaire plus superficiel.

*L'échantillonnage réalisé pour ces études de comparaison de WUE_{int} était trop restreint pour pouvoir mettre en évidence des différences significative de croissance radiale, hormis en Hongrie. Cette remarque est d'ailleurs également applicable aux mesures de discrimination isotopique du carbone elles-mêmes. Dans ce dernier cas, c'est la lourdeur des du travail de préparation des échantillons qui impose des tailles d'échantillons réduites. Ces résultats ne nous permettent pas de conclure sur le rôle de la croissance radiale comme marqueur de la sensibilité des individus de l'espèce *Q. petraea* à la sécheresse. Par contre, en observant une relation entre la croissance radiale des arbres pendant les premières décennies de leur vie et leur sensibilité au dépérissement, nous avons ouvert une piste de réflexion sur l'importance de l'intégration des notions de compétitions passée et/ou présente pour la compréhension des dépérissements actuels.*

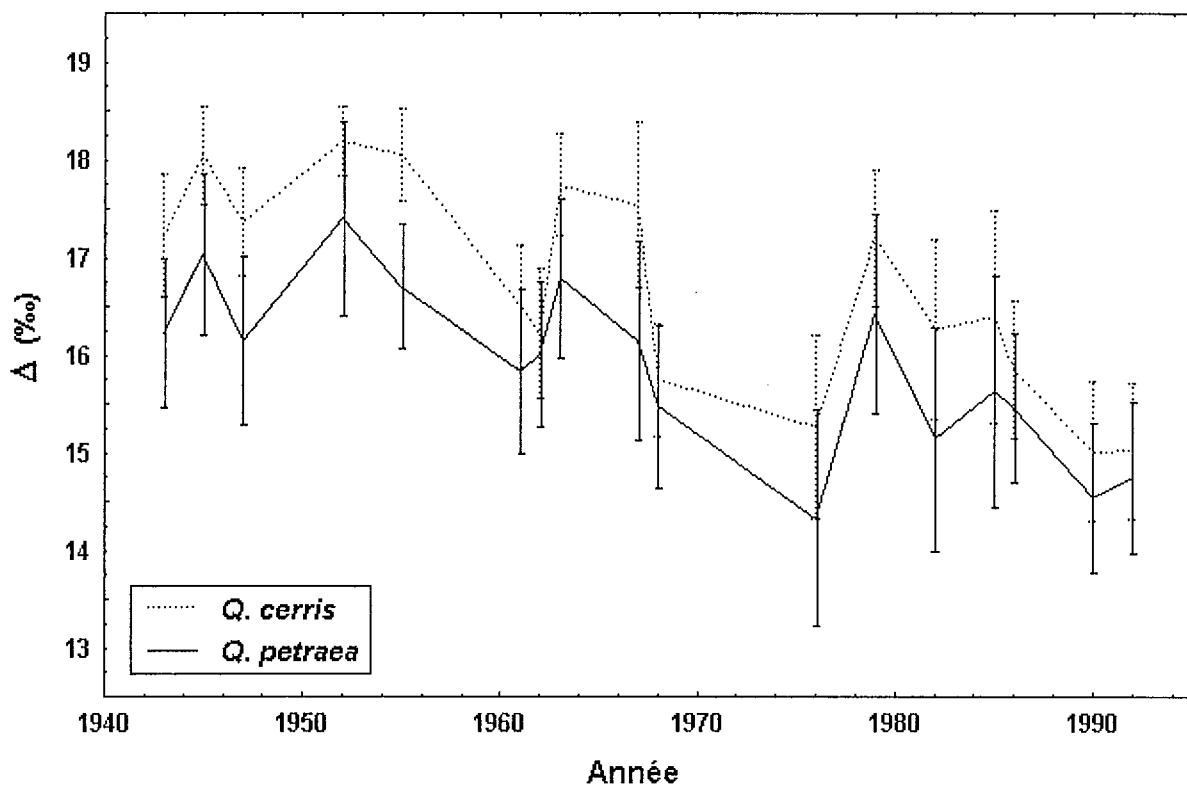


Figure 23. Discrimination isotopique du carbone (Δ , ‰) dans la cellulose du bois final chez *Q. cerris* (n=10) et *Q. petraea* (n=10) en forêt de Síkfökút. Moyenne $\pm$ écart-type, n = 10.

4 WUE_{int} et résistance à la sécheresse

Dans notre étude, Δ n'est pas apparu être un bon marqueur intra-spécifique de la sensibilité des arbres au dépérissement induit par la sécheresse puisque les résultats ne sont concluants que dans un cas sur trois. Nos observations concernant la comparaison entre les deux espèces accordaient une plus forte WUE_{int} à *Q. petraea* par rapport à *Q. robur*, ce qui semblait *a priori* cohérent avec leurs exigences hydriques connues. Par ailleurs, nous avons comparé les valeurs de Δ observées dans le peuplement mixte hongrois sur *Q. petraea* avec celles mesurées sur un échantillon analogue de dix individus de *Q. cerris* (Figure 23). Il est apparu que *Q. cerris*, connu pour être de tempérament plus xérophile que *Q. petraea* (Epron *et al.* 1993, Tognetti *et al.* 1996) et totalement indemne de dépérissement, présentait des valeurs de Δ significativement supérieures, et donc une WUE_{int} plus faible que celle de *Q. petraea*. A la lumière de nos résultats, la relation entre WUE_{int} et résistance à la sécheresse ne semble donc pas suivre de schéma intelligible. Une forte efficacité d'utilisation de l'eau est généralement associée à une plus grande productivité et une plus grande résistance à la sécheresse chez les céréales (Acevedo 1993, Merah *et al.* 2001). Plusieurs auteurs conjecturent également que le maintien d'une forte WUE doit être bénéfique dans un environnement aride (Fisher & Turner 1978, Cowan 1986). L'hypothèse accordant un avantage compétitif aux génotypes capables d'utiliser l'eau plus efficacement, dans un environnement où cette ressource peut s'avérer limitante, semble intuitivement acceptable. Cependant, plusieurs auteurs ont montré que la tolérance à la sécheresse des espèces de milieux arides, évaluée à travers leur distribution d'habitat et par leur capacité à maintenir des taux élevés de photosynthèse nette à des potentiels hydriques de base très négatifs, n'étaient pas liée à de fortes valeurs de WUE (DeLucia & Schlesinger 1991, Lajtha & Getz 1993). De même, plusieurs études révélèrent que les populations (qu'il s'agisse de comparaisons de provenances au sein d'une espèce, ou bien de comparaison d'espèces du même genre) les plus résistantes à la sécheresse étaient également celles qui présentaient les plus fortes valeurs de discrimination isotopique lorsqu'elles étaient cultivées ensemble, et ainsi les plus faibles WUE (Read & Farquhar 1991, Hubick & Gibson 1993, Handley *et al.* 1994, Guehl *et al.* 1995, Lauteri *et al.* 1997). Les faibles valeurs de WUE chez les espèces résistantes à la sécheresse étaient dues aux forts taux de transpiration et aux fortes valeurs de conductance hydraulique dans l'arbre, permettant le maintien d'une assimilation de CO₂, et donc une accumulation de biomasse, même dans des conditions de sécheresse. A l'inverse, une forte sensibilité stomatique pourrait être sélectionnée chez les populations de milieu plus humide où les rares sécheresses sont finalement extrêmement préjudiciables. La conséquence d'une forte WUE peut également être la perte, par évaporation ou consommation par les concurrents, de l'eau (du sol) épargnée (Cohen 1970).

Nous pensons qu'il est assez peu probable que le maintien en permanence d'une forte WUE soit, en soi, un avantage substantiel pour un individu. A l'échelle de la vie d'un arbre, la performance vis-à-vis des compétiteurs passe également par la capacité de croissance. Nombreux sont les caractères (morphologiques, phénologiques et physiologiques) qui à la fois augmentent WUE, limitent les gains de carbone et amoindrissent les performances compétitrices. Une forte WUE est en effet souvent associée à de faibles capacités photosynthétiques et accumulation de biomasse (Cohen 1970, Cowan 1986, Martin & Thorstenson 1988, Donovan & Ehleringer 1991, 1992, 1994) si la limitation stomatique est la première source de variation de WUE. A l'inverse, pour les plantes où la capacité

photosynthétique peut varier entre individus, une forte WUE peut être associée à de forts gains de carbone et croissance (Hubick *et al.* 1988, De Lucia & Heckathorn 1989). Or, dans le cadre de la comparaison des chênes, les variations de WUE_{int} étaient associées essentiellement à des variations de la conductance stomatique. Même si la réduction de la conductance stomatique aboutit à une augmentation de WUE (réduction plus forte de la transpiration que de l'assimilation photosynthétique), elle diminue cependant le taux absolu de la photosynthèse nette. On peut d'ailleurs remarquer que la meilleure WUE_{int} des individus sains de la Harth ne leur procure pas de croissance plus efficace.

De plus, dans le cas où les arbres sont en compétition pour la même ressource hydrique, les individus utilisant la ressource avec économie sont contre-sélectionnés au profit des individus l'utilisant plus rapidement. Une forte WUE_{int} (associée à une consommation réduite en eau) pourrait donc ne pas être un gage de meilleure survie, à moins que d'autres facteurs primordiaux agissent en faveur de sa sélection ou de la sélection de caractères liés à de basses valeurs de Δ (Ehleringer 1993a). Dans une expérience sur un arbuste des milieux arides, *Encelia farinosa*, Ehleringer (1993b) montrait que la mortalité consécutive à une longue période de sécheresse dépendait de la présence de compétiteurs : les individus dont les voisins avaient été retirés survivaient quel que soit leur Δ ; parmi les individus dont les voisins n'avaient pas été retirés, ceux qui ont un Δ bas avaient plus de chance de survivre.

Lajtha & Getz (1993) concluaient que l'efficacité d'utilisation de l'eau n'évolue pas de façon prévisible entre les espèces et ne s'avère pas un bon indice de prédiction de la résistance à la sécheresse des plantes. Force est de constater que la relation entre Δ et résistance à la sécheresse est complexe et encore non comprise. Nous pensons néanmoins que les potentialités de Δ dans ce domaine ne devraient pas être catégoriquement rejetées puisque des résultats concluants existent dans la littérature et dans notre travail (§ 3.1, cas de la Harth). Davantage d'investigations sont nécessaires pour connaître la nature des liens existants entre Δ et les traits de fonctionnement général ciblés (e.g. résistance à la sécheresse), ainsi que les conditions d'expression de ces liens.

5 Conclusions et perspectives

L'analyse de l'efficacité d'utilisation de l'eau d'arbres adultes et de jeunes plants, par deux méthodes indépendantes et complémentaires, a montré un ensemble très cohérent permettant de mieux comprendre les différences de comportement écologique entre les espèces *Q. robur* et *Q. petraea*. L'étude des variations interspécifiques de WUE_{int} réalisée sur des jeunes plants n'avait pas pour but d'expliquer les comportements écologiques différentiels des deux espèces, puisque des traits déjà connus (i.e. dynamique de croissance) le permettaient sans ambiguïté. Par contre, cette expérimentation a permis de confirmer le déterminisme génétique des différences interspécifiques de Δ observées sur des arbres adultes *in situ*. La mesure de la discrimination isotopique contre le ^{13}C fournit théoriquement une estimation de WUE_{int} intégrée dans le temps et à l'échelle de la plante entière. Nous avons montré que cette estimation était valide dans le cadre de la comparaison entre les espèces *Q. robur* et *Q. petraea*, mais aussi dans celui de la réponse à l'éclairement. Enfin, les mesures d'échanges gazeux ont permis de mettre en évidence le rôle de la conductance stomatique, plutôt que celui de l'assimilation, dans l'expression de ces différences interspécifiques de WUE_{int} . Nous considérons davantage les variations d'efficacité d'utilisation de l'eau comme étant le reflet de stratégies écologiques distinctes, associant en outre de nombreux traits à WUE_{int} , que comme celui d'un simple fonctionnement physiologique foliaire. Ainsi, le lien entre WUE_{int} et résistance à la sécheresse ne peut pas être fait directement, dans le sens où WUE_{int} n'est peut-être pas un facteur causal évident de la sélection pour la résistance à la sécheresse. Néanmoins, Δ semble intégrer l'expression de caractères liés au fonctionnement physiologique des individus sous contrainte hydrique. La mise en évidence de la forte corrélation entre Δ mesuré dans le cerne 1976 (année de sécheresse sévère) et la surface conductrice dans le xylème du tronc en est une illustration.

Outre les apports significatifs de nos travaux dans la compréhension des écologies différentielles de *Q. robur* et *Q. petraea*, un certain nombre de questions restent ouvertes et mériteraient d'être traitées. Nous avons rappelé, dans le chapitre précédent, combien la notion de compétition pour la réserve hydrique était importante dans la relation entre l'efficacité d'utilisation de l'eau et la résistance à la sécheresse. Les observations de profondeur d'enracinement sont, pour des raisons évidentes, extrêmement rares. Néanmoins, elles pourraient permettre non seulement d'apporter un élément supplémentaire dans le cas précis de la comparaison écologique de *Q. robur* et *Q. petraea*, mais plus largement, lorsque couplées à des mesures de Δ , de comprendre le rôle des différences d'accès à la réserve hydrique dans les variations de Δ . Une méthode simple consiste à mesurer des potentiels hydriques de base foliaires pendant les périodes de déficit hydrique. Nous avons le projet de réaliser de telles mesures sur les individus échantillonnés dans la forêt de Cîteaux. Cependant les conditions climatiques de l'été 2000 ne furent pas propices à l'observation de déficit hydrique. L'utilisation des isotopes stables $^{18}O/^{16}O$ et/ou D/H pourrait s'avérer pertinente pour la mise en évidence des profondeurs de prélèvement de l'eau par les racines (Flanagan & Ehleringer 1991, Flanagan *et al.* 1992, Valentini *et al.* 1992). Cette technique nécessite toutefois la présence d'un gradient (dans les valeurs de $^{18}O/^{16}O$ et/ou D/H) dans le sol suffisant pour que des différences puissent être mise en évidence au niveau de la plante (sève, cellulose). Enfin, l'examen visuel de la distribution verticale des densités de racines pourrait également être une méthode envisageable, bien que très laborieuse, pour comparer les capacités de prélèvement hydrique des deux chênes (Bréda *et al.* 1995, Thomas 2000). Ce

type d'approche pourrait également être très informatif dans l'étude du dépérissement en comparant des individus sains et dépérissants (mais encore vivants).

Une confirmation de la relation Δ /surface conductrice (i.e. conductivité hydraulique) nous apparaît nécessaire, vu l'intérêt théorique des hypothèses qu'elle implique. La généralité de cette relation au-delà des espèces *Q. robur* et *Q. petraea*, devrait être, selon nous, également testée. Cette relation devrait être recherchée également entre Δ et des mesures directes de conductivité hydraulique, par exemple dans les rameaux. Des mesures de surface conductrice dans les tiges des jeunes plants utilisés dans notre expérimentation (à l'aide de coupes transversales observées en microscopie électronique à balayage) sont en cours de réalisation.

Une importante variabilité intraspécifique a été observée pour WUE_{int} dans l'ensemble de notre travail. Cette variabilité est probablement sous un étroit contrôle génétique. Une forte variabilité génétique de Δ pourrait être indicatrice de changements fréquents dans la direction des pressions de sélection imposées par l'environnement, d'un point de vue temporel (e.g. d'une année à l'autre) ou spatial (e.g. d'un microsite à l'autre). Les deux extrémités de la gamme de distribution des Δ pourraient chacune conférer un avantage sélectif aux individus dans des conditions environnementales particulières (Ehleringer 1993a). Ainsi, la forte variabilité intra-population que nos résultats suggèrent au niveau intraspécifique chez *Q. petraea* et *Q. robur* (Annexes I et II) pourrait être interprétée comme une stratégie d'adaptation (sélection disruptive) pour des espèces longévives exposées à de larges gammes environnementales (Kremer *et al.* 1991). Par ailleurs, le maintien de formes pures de chaque espèce dans un même peuplement, aux niveaux morphologique et écophysiologique, ne peut s'envisager que dans l'hypothèse de l'existence d'environnements hétérogènes, d'une part, et de fortes pressions de sélection (même si elles ne sont que temporaires) sur les caractères morphologiques et/ou écophysiologiques en question d'autre part (sans éluder la possibilité de l'existence de gènes de contrôle communs). Kleinschmit *et al.* (1995) ont montré que le 'type petraea' était légèrement plus variable sur l'ensemble des caractères considérés que le 'type robur'. Kremer *et al.* (1991), puis Moreau (1993) notaient également que *Q. robur* présentait une plus grande homogénéité génétique que *Q. petraea*. Ces observations sont tout à fait en accord avec les hypothèses sur l'introgession du génome de *Q. petraea* dans celui de *Q. robur* : *Q. petraea* bénéficierait à la fois de la diversité génétique qui lui est propre et de celle de *Q. robur*. Nous nous attendions à ce propos à observer une plus grande variabilité de Δ chez *Q. petraea*, mais cette hypothèse n'a pas été vérifiée. L'association des approches de génétique moléculaire et écophysiologique pourrait permettre d'améliorer l'interprétation génétique et fonctionnelle de la variabilité de WUE_{int} chez et entre ces deux espèces, d'une part, et de mieux comprendre les relations avec la résistance à la sécheresse, d'autre part.

Nous avons déjà évoqué les problèmes liés à la petite taille des échantillons utilisés et à la difficulté d'élargir ces échantillons étant donnée la lourdeur des mesures. D'une façon générale la réflexion sur la stratégie d'échantillonnage est toujours complexe dans les études écophysiologiques réalisées *in situ*. En ce qui concerne la comparaison interspécifique, une question récurrente était posée sur le choix des individus à échantillonner. Fallait-il sélectionner des individus des deux espèces dans des peuplements mixtes où les conditions environnementales étaient le plus comparable possible ? Dans ce cas, la position dominante de *Q. petraea* sur *Q. robur* étant la règle générale dans les peuplements mélangés, nous risquions de comparer davantage des statuts sociaux que des espèces différentes. Fallait-il

alors sélectionner des individus typiques et dominants de chaque espèce dans des peuplements purs ? Le biais introduit était tout aussi réducteur puisque le risque était alors de comparer non plus des espèces mais des conditions de milieux. Nous avons choisi un compromis en sélectionnant des individus des deux espèces croissant en mélange pied-à-pied (pour limiter les effets microstationnels) dans des peuplements mélangés et en position de dominance la plus équivalente possible. Dans les milieux intermédiaires, les individus sont généralement considérés comme étant moins typiques taxonomiquement et la fréquence des hybrides y est certainement supérieure comparée aux stations typiques des espèces (Becker 1972, Grandjean & Sigaud 1987). Ce biais avait néanmoins été évité dans notre étude à Cîteaux, les individus ayant été sélectionnés sur des critères morphologiques foliaires de façon à être le plus typique possible de chaque espèce (l'identification ayant été confirmée par la suite à l'aide de marqueurs moléculaires). Notons également que les résultats de l'Annexe II révèlent que les individus intermédiaires n'ont pas des valeurs de Δ intermédiaires. Par ailleurs, un autre type de biais est introduit en choisissant des arbres semblables du point de vue du statut social : il est en effet probable qu'on choisisse d'emblée des individus des deux espèces ayant également des caractéristiques écophysiologiques semblables. Ces considérations ne remettent pas en cause les résultats obtenus dans le cadre de notre travail puisque des différences interspécifiques significatives ont été observées mais montrent la difficulté de ce type d'études en conditions naturelles.

Nous avons souligné également le fait que les différences écologiques existant entre les espèces *Q. robur* et *Q. petraea* étaient la plupart du temps étroitement liées à la notion de compétition, qu'il s'agisse de compétition entre les deux espèces de chênes dans les peuplements mixtes ou encore de compétition avec d'autres espèces dans les jeunes stades de colonisation. Une question fondamentale reste à ce propos irrésolue : nous ne savons pas pour quelle raison intervient l'inversion des statuts de dominance lors de l'évolution des peuplements mixtes de *Q. robur* et *Q. petraea*. Nous avons émis l'hypothèse que l'occurrence de conditions environnementales particulières, notamment de forts déficits hydriques, pourrait intervenir dans ce processus en affaiblissant davantage *Q. robur*. Néanmoins, rien ne permet d'affirmer qu'il ne s'agisse pas d'un phénomène intrinsèque au développement de l'arbre. Nous avons observé une inversion similaire des croissances radiales, indépendamment de l'espèce, dans le cas des dépérissements, sans pouvoir expliquer pourquoi les individus dépérissants avaient en moyenne une plus grande croissance initiale (et donc un statut probablement plus dominant) que les individus sains. Très peu d'études écophysiologiques comparant des individus de différents statuts de dominance ont été réalisées jusqu'à présent, si bien que les différences de sensibilité à la sécheresse entre dominants et dominés ne sont aujourd'hui pas connues. Cette lacune mériterait d'être comblée. Des éléments de réponse pourraient déjà être apportés en réalisant des mesures comparatives de Δ et de potentiels de base (en période de déficit hydrique) sur un grand nombre d'arbres de statuts différents. Des expérimentations *in situ* peuvent également être imaginées, notamment pour découpler les aspects de la compétition pour l'eau d'une part et pour la lumière d'autre part (e.g. utilisation de systèmes de dérivation systématique des précipitations reçues au niveau des dominants vers les racines des dominés).

Le fait que les arbres qui dépérissent avaient en moyenne une croissance radiale supérieure, au début de leur vie, à ceux qui survécurent est un des résultats frappants de l'étude sur le dépérissement. Ce résultat est à rapprocher des constatations faites à propos des divergences de stratégies écologiques entre *Q. robur* et *Q. petraea*. Bien que les arbres dépérissants, dans

deux cas sur trois, ne montrassent pas de différences significatives de WUE_{int} , leur comportement correspondait assez étroitement à celui d'individus ayant une stratégie plus pionnière que ceux qui résistèrent, avec une forte croissance initiale et une faible résistance à la sécheresse. Dans un cas sur trois néanmoins, ce comportement de pionnier était en plus accompagné d'une plus faible WUE_{int} que celle des individus sains, type 'stress-tolérant'.

Notre étude sur jeunes plants a révélé des différences interspécifiques au niveau des échanges gazeux et de la discrimination isotopique alors que la plupart des études précédentes réalisées dans des conditions voisines montraient des fonctionnements identiques pour les deux espèces (Scuiller 1990, Vivin *et al.* 1993, Thomas & Gausling 2000). Nous voudrions souligner ici le soin apporté dans la sélection des individus dans chacune de nos études et l'importance de cette phase lors de comparaison de jeunes plants de *Q. robur* et *Q. petraea*. Les jeunes plants utilisés dans notre étude sont issus de glands échantillonnés rigoureusement dans des peuplements purs (en évitant soigneusement les semenciers de morphologie intermédiaire) et sous un grand nombre d'arbres de façon à maximiser la diversité génétique des semences. A l'inverse, dans la plupart des expérimentations, les plants sont fournis par des pépiniéristes. Or, Bindler (2001) a montré récemment que les plantations de *Q. petraea* réalisées à partir de semences certifiées issues de peuplements classés présentaient de très fortes proportions de *Q. robur* (en moyenne 40%). Les forestiers participent très probablement, dans un second temps, à l'augmentation de ce pourcentage lors du dépressage des peuplements, en avantageant *Q. robur* dont les individus sont plus grands et mieux conformés que ceux de *Q. petraea*. Néanmoins, c'est la non pureté des peuplements classés qui est à l'origine de cette anomalie, amplifiée par l'attrait logique des ramasseurs de graines (payés au poids) pour les glands plus gros et plus lourds de *Q. robur*, puis par le pépiniériste qui favorise également ce dernier d'aspect plus vigoureux que *Q. petraea* (Génére & Le Bouler 1996). Notre étude sur la discrimination taxonomique des jeunes plants, à partir de critères morphologiques foliaires (Publication III), trouve dans ce contexte un cadre d'application opportun.

D'un point de vue sylvicole, nos résultats confirment d'une part la nécessité d'une bonne adéquation entre l'espèce (*Q. robur* ou *Q. petraea*) et la station, et d'autre part, les caractères à tendance respectivement pionnière et dryade du couple *Q. robur* / *Q. petraea*. Nous soulignons donc ici la nécessité d'exercer un contrôle plus fort sur la composition spécifique dans les régénérations et les plantations forestières. En peuplement mixte, les interventions sylvicoles, dans la mesure du possible, devraient viser à éliminer progressivement *Q. robur*, alors que les pratiques actuelles ont plutôt tendance à le privilégier au détriment de *Q. petraea*. Le décalage des martelages, réalisés généralement en hiver, vers la période de végétation permettrait sans doute également d'améliorer la reconnaissance spécifique et de limiter les 'contre-sélections'. Dans les cas où l'éradication à court terme de *Q. robur* ne peut être envisagée, il est nécessaire de pratiquer une sylviculture dynamique en abaissant les niveaux de compétition pour permettre son maintien en bon état sanitaire.

L'utilisation des isotopes stables fournit une des meilleures méthodes pour l'étude et la reconstruction des paléoclimats. A côté de l'étude des carottes glaciaires, des dépôts sédimentaires lacustres ou marins, l'analyse isotopique des cernes d'arbres offre des informations climatiques détaillées pour les zones continentales tempérées. Plusieurs études ont montré qu'il existait une forte corrélation entre la discrimination isotopique contre le ^{13}C et la température (Wilson & Grinsted 1977, Stuiver & Braziunas 1987) ou encore l'humidité relative (Saurer & Siegenthaler 1989). Les chênes, par leur large distribution en Europe et leur longévité, constituent un matériel de choix. Une identification de l'espèce est généralement

effectuée lors de la phase de calibration (e.g. *Q. robur* : Switsur *et al.* 1996, Robertson *et al.* 1997, Raffalli-Delercé 2000). Cependant, aucune distinction spécifique n'est faite sur le matériel issu de bois historique ou fossile (e.g. poutres de bâtiments anciens), bien que la différenciation taxonomique à partir de critères de l'anatomie du bois se soit révélée possible (Feuillat *et al.* 1997). Dans le meilleur des cas, les seuls indices utilisés sont de type écologique lorsque les individus sont prélevés dans des milieux typiques (e.g. milieux alluviaux, tourbières). Or, nous avons montré que les différences moyennes de Δ entre les deux chênes pouvaient atteindre 1‰. Ainsi, confondre les deux espèces revient à introduire un biais pouvant atteindre 4°C ou 14% d'humidité relative dans les modèles climatiques selon Raffalli-Delercé (2000), si aucune standardisation n'est appliquée.

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54601 VILLERS-LES-NANCY Cédex

Références bibliographiques

- Aas G., 1993. Taxonomical impact of morphological variation in *Quercus robur* and *Q. petraea* : a contribution to the hybrid controversy. *Annales des Sciences Forestières* 50 : 107s-113s.
- Aas G. and Friedrich K., 1991. Untersuchungen zur morphologischen Unterscheidung von Stiel- und Traubeneicheln. *Forstwissenschaftliches Centralblatt* 110 : 349-357.
- Abetz Von P., 1988. Untersuchungen zum Wachstum von Buchen auf der Schwäbischen Alb. *Allgemeine Forstzeitung* 159 : 215-223.
- Acevedo E., 1993. Potential of carbon isotope discrimination as a selection criterion in Barley breeding. In Ehleringer J.R., Hall A.E. and Farquhar G.D. (Eds.). Stable isotopes and plant carbon-water relations. Academic Press, San Diego, pp. 399-417.
- Bacilieri R., Ducouso A. and Kremer A., 1995. Genetic, morphological, ecological and phenological differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L. in a mixed stand of Northwest France. *Silvae Genetica* 44 : 1-10.
- Bacilieri R., Ducouso A., Petit R.J. and Kremer A., 1996. Mating system and asymmetric hybridization in a mixed stand of European oaks. *Evolution* 50 : 900-908.
- Becker M., 1972. Quelques observations morphologiques chez le chêne sessile et le chêne pédonculé. *Bulletin de la Société Botanique de France* 119 : 231-236.
- Becker M., 1984. A propos du dépérissement du chêne : réflexion sur la place actuelle de cette espèce dans la forêt française. *Revue géographique des Pyrénées et du sud-ouest*, 55 : 173-180.
- Becker M., 1989. The role of climate on present and past vitality of silver fir forests in the Vosges mountains of northeastern France. *Canadian Journal of Forest Research* 19 : 1110-1117.
- Becker M. and Lévy G., 1982. Le dépérissement du chêne en forêt de Tronçais. Les causes écologiques. *Annales des Sciences Forestières* 39 : 439-444.
- Becker M. and Lévy G., 1983. Le dépérissement du chêne. Les causes écologiques. Exemple de la forêt de Tronçais et premières conclusions. *Revue Forestière Française* 35 : 341-356.
- Becker M. and Lévy G., 1986. Croissance radiale comparée de chênes adultes (*Quercus robur* L. et *Q. petraea* (Matt.) Liebl.) sur sol hydromorphe acide : effet du drainage. *Acta Oecologica Oecologia Plantarum* 7 : 121-143.
- Becker M. and Le Tacon F., 1985. Santé de la forêt : importance d'une sylviculture adaptée aux conditions de milieu. *Revue Forestière Française* 37 (suppl.) : 7-28.
- Becker M. and Lévy G., 1990. Le point sur l'écologie comparée du Chêne Sessile et du Chêne Pédonculé. *Revue Forestière Française* 42 : 148-154.
- Becker M., Lévy G. and Lefèvre Y., 1996. Radial growth of mature pedunculate and sessile oaks in response to drainage, fertilization and weeding on acid pseudogleys soils. *Annales des Sciences Forestières* 53 : 585-594.
- Belgrand M., 1983. Comportement de jeunes plants feuillus (Chêne pédonculé, Chêne rouge, Chêne sessile, Hêtre) sur substrat ennoyé. Adaptations racinaires. Application à la mise

- en valeur forestière des pseudogleys. Thèse Doct.-Ing. I.N.A.-P.G., Document Station de Recherches sur les Sols forestiers I.N.R.A., 188 p. + annexes.
- Berry S.C., Varney G.T. and Flanagan L.B., 1997. Leaf $\delta^{13}\text{C}$ in *Pinus resinosa* trees and understory plants: variation associated with light and CO_2 gradients. *Oecologia* 109 : 499-506.
- Bert D., 1992. Influence du climat, des facteurs stationnels et de la pollution sur la croissance et l'état sanitaire du Sapin pectiné (*Abies alba* Mill.) dans le Jura. Etude phytoécologique et dendrochronologique. Thèse de Doctorat, Nancy I, 200 p.
- Bert D., 1993. Impact of ecological factors, climatic stresses, and pollution on growth and health of silver fir (*Abies alba* Mill.) in the Jura mountains: an ecological and dendrochronological study. *Acta Oecologica* 14 : 229-246.
- Bert D., Leavitt S.W. and Dupouey J.-L., 1997. Variation of wood $\delta^{13}\text{C}$ and water-use efficiency of *Abies alba* during the last century. *Ecology* 78 : 1588-1596.
- Besendorfer V., Zoldos V., Peskan T., Krsnikrasol M., Littvay T. and Papes D., 1996. Identification of potential cytogenetical and biochemical markers in bioindication of common oak forests. *Phyton - Annales Rei Botanicae* 36 : 139-146.
- Bindler P., 2001. Etude taxonomique des chênes dans les plantations de chênes sessiles de la forêt domaniale de la Harth. Observatoire Ecologique de la Harth, ONF, 47 p.
- Bodénès C., Joandet S., Laigret F. & Kremer A., 1997. Detection of genomic regions differentiating two closely related oak species *Quercus petraea* (Matt) Liebl and *Quercus robur* L. *Heredity* 78 : 433-444.
- Bonal D., 2000. Variabilité interspécifique de l'efficacité d'utilisation de l'eau en forêt tropicale humide guyanaise : groupes fonctionnels, interprétation écophysiological, intégration à l'échelle du couvert. Thèse de doctorat, Université Nancy I, 51 p.
- Bonal D., Sabatier D., Montpied P., Trémeaux D. and Guehl J.-M., 2000. Interspecific variability of $\delta^{13}\text{C}$ among trees in rainforests of French Guiana: functional groups and canopy integration. *Oecologia* 124 : 454-468.
- Borland A.M., Griffiths H., Broadmeadow M.S.J., Fordham M.C. and Maxwell C., 1994. Carbon isotope composition of biochemical fractions and the regulation of carbon balance in leaves of the C_3 - crassulacean acid metabolism intermediate *Clusia minor* L. growing in Trinidad. *Plant Physiology* 106 : 493-501.
- Bouchon J. and Trencia J., 1990. Sylviculture et production du chêne. *Revue Forestière Française* 42 : 246-253.
- Bourcet J., 2000. Le cœur du chêne. *Revue Forestière Française* 52 : 239-248.
- Bréda N., 1994. Analyse du fonctionnement hydrique des chênes sessile (*Quercus petraea*) et pédonculé (*Quercus robur*) en conditions naturelles; effets des facteurs du milieu et de l'éclaircie. Thèse de doctorat, Université Nancy I, 59 p.
- Bréda N., 1998. Analyse rétrospective de la croissance radiale des chênes de la forêt Domaniale de la Harth. Dépérissement forestier en vallée du Rhin. Rapport final convention ONF-INRA, 50 p.
- Bréda N. & Peiffer M., 1999. Bilan hydrique et impact des épisodes de sécheresse sur la croissance radiale des chênes. Dépérissement forestier en vallée du Rhin. Rapport final convention ONF-INRA, 60 p.

- Bréda N., Granier A., Barataud F. and Moyne C., 1995. Soil water dynamics in an oak stand. *Plant and Soil* 172 : 17-27.
- Bréda N., Granier A., Dreyer E. and Cochard H., 1993. Field comparison of transpiration, stomatal conductance and vulnerability to cavitation of *Quercus petraea* and *Quercus robur* under water stress. *Annales des Sciences Forestières* 50 : 571-582.
- Brendel O., Handley L. and Griffiths H., 2002a. The $\delta^{13}\text{C}$ of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) needles: spatial and temporal variations. *Annals of Forest Sciences* (sous presse).
- Brendel O., Pot D., Plomion C., Rozenberg P. and Guehl J.M., 2002b. Genetic parameters and QTL analysis of $\delta^{13}\text{C}$ and ring width in maritime pine. *Plant, Cell and Environment* 25 : 945-954.
- Brookes P.C. and Wigston D.L., 1979. Variation of morphological and chemical characteristics of acorns from populations of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L. and their hybrids. *Watsonia* 12 : 315-324.
- Brooks J.R., Flanagan L.B., Varney G.T. and Ehleringer J.R., 1997. Carbon isotope composition of boreal plants : functional grouping of life forms. *Oecologia* 110 : 301-311.
- Brugnoli E., Hubick K.T., Von Caemmerer S. and Farquhar G.D., 1988. Correlation between the carbon isotope discrimination in leaf starch and sugars of C_3 plants and the ratio of intercellular and atmospheric partial pressures of carbon dioxide. *Plant Physiology* 88 : 1418-1424.
- Buffet M., 1983. Le dépérissement du chêne en forêt soumise. *Revue Forestière Française* 35 : 199-204.
- Bussotti F. and Grossoni P., 1998. Des problèmes dans la classification des chênes. Taxonomie en Europe et région méditerranéenne. *Forêt Méditerranéenne* 19 : 278.
- Cohen D., 1970. The expected efficiency of water utilization in plants under different competition and selection regimes. *Israel Journal of Botany* 19 : 50-54.
- Camus A., 1938-9. Les Chênes : monographie du genre *Quercus*. II, Paris, pp. 413-14.
- Carlisle A. and Brown A.H.F., 1965. The assessment of the taxonomic status of mixed oak (*Quercus* spp.) populations. *Watsonia* 6 : 120-127.
- Clinton B.D., Boring L.R. and Swank W.T., 1993. Canopy gap characteristics and drought influences in oak forests of the Coweeta Basin. *Ecology* 74 (5): 1551-1558.
- Cochard H., Bréda N., Granier A. and Aussenac G., 1992. Vulnerability to air embolism of three European oak species (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Q. pubescens* Willd, *Q. robur* L.). *Annales des Sciences Forestières* 49 : 225-233.
- Colleu S., 1983. Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse de jeunes plants de chêne sessile, de chêne pédonculé et de chêne rouge. Mémoire de DEA, Université Nancy I, 61 p.
- Cook E.R. and Kairiukstis L.A. (Eds.), 1989. Methods of dendrochronology : applications in the Environmental Sciences. Kluwer Academic, Boston, 394 p.
- Costa P., 1999. Réponse moléculaire, physiologique et génétique du pin maritime à une contrainte hydrique. Thèse de doctorat, Université Nancy I, 116p.
- Cousens J.E., 1962. Notes on the status of Sessile and Pedunculate Oaks in Scotland and their identification. *Scot. For.* 16 : 170-179.

- Cousens J.E., 1963. Variation of some diagnostic characters of the Sessile and Pedunculate oaks and their hybrids in Scotland. *Watsonia* 5 : 273-286.
- Cowan I.R., 1986. Economics of carbon fixation in higher plants. In Givnish T.J. (Ed.), On the economy of plant form and function. Cambridge University Press : 133-170.
- Damesin C., Rambal S. and Joffre R., 1998. Seasonal and annual changes in leaf $\delta^{13}\text{C}$ in two co-occurring Mediterranean oaks: relations to leaf growth and drought progression. *Functional Ecology* 12 : 778-785.
- Delatour C., 1983. Les dépérissements de chênes en Europe. *Revue Forestière Française* 35 : 265-282.
- Delatour C., 1990. Dépérissement des chênes et pathogènes. *Revue Forestière Française* 42 : 182-185.
- DeLucia E.H. and Heckathorn S.A., 1989. The effect of soil drought on water-use efficiency in a contrasting Great Basin desert and Sierran montane species. *Plant, Cell and Environment* 12 : 935-940.
- DeLucia E.H. and Schlesinger W.H., 1991. Resource-use efficiency and drought tolerance in adjacent great basin and sierran plants. *Ecology* 72 : 51-58.
- Delvaux J., 1981. Différenciation sociale. *Journal Forestier Suisse* 132 : 733-749.
- Dodd R.S., Rafii Z.A. and Zavarin E., 1993. Chemosystematic variation in acorn fatty acids of Californian live oaks (*Quercus agrifolia* and *Quercus wislizeni*). *Biochemical Systematics and Ecology* 21 : 279-285.
- Donovan L.A. and Ehleringer J.R., 1991. Ecophysiological differences among juvenile and reproductive plants of several woody species. *Oecologia* 86 : 594-597.
- Donovan L.A. and Ehleringer J.R., 1992. Contrasting water-use patterns among size and life-history classes of a semi-arid shrub. *Functional Ecology* 6 : 482-488.
- Donovan L. A. and Ehleringer J.R., 1994. Potential for selection on plants for water-use efficiency as estimated by carbon isotope discrimination. *American Journal of Botany* 81 : 927-935.
- Ducousso A., Michaud H. and Lumaret R., 1993. Reproduction and gene flow in the genus *Quercus* L. *Annales des Sciences Forestières* 50 : 91s-106s.
- Duplat P., 1997. Croissance en hauteur dominante du chêne sessile (*Quercus petraea* Liebl) en futaie régulière. *ONF Bulletin technique* 33 : 49-57.
- Duplat P., Champagne P., Chollet F., Ginisty C., Jarret P., Nouveau M., Reteau F., Sevrin E. 1996. Sylviculture du chêne pédonculé. *ONF Bulletin technique* 31 : 15-19.
- Dupouey J.-L., 1983. Analyse multivariable de quelques caractères morphologiques de populations de chênes (*Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) du Hurepoix. *Annales des Sciences Forestières* 40 : 265-282.
- Dupouey J.-L. and Badeau V., 1993. Morphological variability of oaks (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Quercus pubescens* Willd) in North-East of France. Preliminary results. *Annales des Sciences Forestières* 50 : 35-40.
- Dupouey J.-L. and Le Boulter H., 1989. Discrimination morphologique des glands de Chênes sessiles (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) et pédonculé (*Quercus robur* L.). *Annales des Sciences Forestières* 46 : 187-194.

- Dupouey J-L., Pignard G., Badeau V., Thimonier A., Dhôte J-F., Nepveu G., Bergès L., Augusto L., Belkacem S. and Nys C., 1999. Stocks et flux de carbone dans les forêts françaises. *Compte Rendu de l'Académie d'Agriculture Française* 85 : 293-310.
- Duranceau M., Ghashghaie J., Badeck F., Deleens E. and Cornic G., 1999. $\delta^{13}\text{C}$ of CO_2 respired in the dark in relation to $\delta^{13}\text{C}$ of leaf carbohydrates in *Phaseolus vulgaris* L. under progressive drought. *Plant Cell and Environment* 22 : 515-523.
- Durand P., Gelpe J., Lemoine B., Riom J. and Timbal J., 1983. Le dépérissement du chêne pédonculé dans les pyrénées-atlantiques. *Revue Forestière Française* 35 : 357-368.
- Dwyer J.P., Cutter B.E. and Wetteroff J.J., 1995. A dendrochronological study of black and scarlet oak decline in the Missouri Ozarks. *Forest Ecology Management* 75 : 69-75.
- Edhaie B., Barnhart D. and Waines J.G., 1993. Genetic analyses of transpiration efficiency, carbon isotope discrimination and growth characters in breadwheat. In Ehleringer J.R., Hall A.E. and Farquhar G.D. (Eds.). Stable isotopes and plant carbon-water relations. Academic Press, San Diego, pp. 419-434.
- Ehleringer J. R., 1988. Carbon isotope ratios and physiological processes in aridland plants. In P.W. Rundel, J.R. Ehleringer, and K.A. Nagy (eds.), Stable Isotopes in Ecological Research. Ecological Studies Series. Springer-Verlag, New York., pp. 41-54.
- Ehleringer J.R., 1993a. Carbon and water relations in desert plants : an isotopic perspective. In Ehleringer J.R., Hall A.E. and Farquhar G.D. (Eds.). Stable isotopes and plant carbon-water relations. Academic Press, San Diego, pp. 155-172.
- Ehleringer J.R., 1993b. Variation in leaf carbon isotope discrimination in *Encelia farinosa*: implications for growth, competition, and drought survival. *Oecologia* 95 : 340-346.
- Epron D. and 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 Forestières* 47 : 435-450.
- Epron D. and 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.
- Epron D. and Dreyer E., 1993a. Long-term effects of drought on photosynthesis of adult oak trees (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L.) in a natural stand. *New Phytologist* 125 : 381-389.
- Epron D. and Dreyer E., 1993b. Photosynthesis of oak leaves under water stress : maintenance of high photochemical efficiency of photosystem II and occurrence of non-uniform CO_2 assimilation. *Tree Physiology* 13 : 107-117.
- Epron D., Dreyer E. and Aussenac G., 1993. A comparison of photosynthetic responses to water stress in seedlings from 3 oak species : *Quercus petraea* (Matt) Liebl., *Q. rubra* L. and *Q. cerris* L.). *Annales des Sciences Forestières* 53 : 48s-60s.
- Epron D., Godard D., Cornic G. and Genty B., 1995. Limitation of net CO_2 assimilation rate by internal resistances to CO_2 transfert in the leaves of two tree species (*Fagus sylvatica* L. and *Castanea sativa* Mill.). *Plant, Cell and Environment* 18 : 43-51.
- Farquhar G.D. and Richards R.A., 1984. Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes. *Australian Journal of Plant Physiology* 11 : 539-552.

- Farquhar G.D., Ehleringer J.R. and Hubick K.T., 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 40 : 503-537.
- Farquhar G.D., O'Leary M.H. and Berry J.A., 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal Plant of Physiology* 9 : 121-137.
- Ferreira-Dias S., Valente D.G. and Abreu J.M.F., 2001. Pattern recognition of acorns from different *Quercus* species based on oil content and fatty acid profile. *Annals of Forest Science* (soumis).
- Feuillat F., Dupouey J-L., Sciamma D. & Keller R., 1997. A new attempt at discrimination between *Quercus petraea* and *Quercus robur* based on wood anatomy. *Can. J. For. Res.* 27 : 343-351.
- Field C., Merino J. and Mooney H.A., 1983. Compromises between water-use efficiency and nitrogen-use efficiency in five species of California evergreens. *Oecologia* 60 : 384-389.
- Fisher R.A. and Turner N.C., 1978. Plant productivity in the arid and semiarid zones. *Annual Review of Plant Physiology* 29 : 227-317.
- Flanagan L.B. and Ehleringer J.R., 1991. Stable isotope composition of stem and leaf water : applications to the study of plant water use. *Functional Ecology* 5 : 270-277.
- Flanagan L.B. and Jefferies R.L., 1994. Effect of increased salinity on CO₂ assimilation, O₂ evolution and the $\delta^{13}\text{C}$ values of leaves of *Plantago maritima* L. developed at low and high NaCl levels. *Planta* 178 : 377-384.
- Flanagan L.B. and Johnsen K.H., 1995. Genetic variation in carbon isotope discrimination and its relationship to growth under field conditions in full-sib families of *Picea mariana*. *Canadian Journal of Forest Research* 25 : 39-47.
- Flanagan L.B., Ehleringer J.R. and Marshall J.D., 1992. Differential uptake of summer precipitation among co-occurring trees and shrubs in a pinyon-juniper woodland. *Plant, Cell and Environment* 15 : 831-836.
- Fox C.A., Kincaid W.B., Nash III T.H., Young D.L. and Fritts H.C., 1986. Tree-ring variation in western larch (*Larix occidentalis*) exposed to sulfur dioxide emissions. *Canadian Journal of Forest Research* 16 : 283-292.
- Gardiner A.S., 1970. Pedunculate and Sessile Oak (*Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Mattushcka) Liebl.). A review of the hybrid controversy. *Forestry* 43 : 151-160.
- Génére B. and Le Boulter H., 1996. Etudes des performances en pépinière de lots de glands constitués d'un mélange variable en chênes sessile et pédonculé. *Revue Forestière Française* 48 : 21-30.
- Gillon J.S. and Griffiths H., 1997. The influence of (photo)respiration on carbon isotope discrimination in plants. *Plant, Cell and Environment* 20 : 1217-1230.
- Goulden M. L., 1996. Carbon assimilation and water-use efficiency by neighbouring Mediterranean-climate oaks that differ in water access. *Tree Physiology* 16 : 417-424.
- Grandjean G. and Sigaud P., 1987. Contribution à la taxonomie et à l'écologie des chênes du Berry. *Annales des Sciences Forestières* 44 : 35-66.

- Granier A., Anfodillo T., Sabatti M., Cochard H., Dreyer E., Tomasi M., Valentini R. and Bréda N., 1994. Axial and radial water flow in the trunk of oak trees : a quantitative and qualitative analysis. *Tree Physiology* 14 : 1383-1396.
- Gregory R.A. and Wargo P.M., 1986. Timing of defoliation and its effect on bud development, starch reserve, and sap sugar concentration in sugar maple. *Canadian Journal of Forest Research* 16 : 10-17.
- Guehl J.-M., Aussenac G., Bouachrine J., Zimmermann R., Pennes J.-M., Ferhi A. and 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.
- Guehl J.M., Domenach A.M., Bereau M., Barigah T.S., Casabianca H., Ferhi A. and Garbaye J., 1998. Functional diversity in an Amazonian rainforest of French Guyana : a dual isotope approach ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$). *Oecologia* 116 : 316-330.
- Guehl J.-M., Nguyen-Queyrens A., Loustau D. and Ferhi A., 1995. Genetic and environmental determinants of water-use efficiency and carbon isotope discrimination in forest trees. In Sandermann J. and Bonnet-Masimbert M. (Eds.). The Eurosilva Contribution to Forest Tree Physiology, Edition Colloques de l'INRA, Paris, No. 76, pp. 297-321.
- Guehl J.M., Picon C., Aussenac G. and Gross P., 1994. Interactive effects of elevated CO_2 and soil drought on growth and transpiration efficiency and its determinants in two European forest tree species. *Tree Physiology* 14 : 707-724.
- Hall E., Richards R.A., Condon A.G., Wright G.C. and Farquhar G.D., 1994. Carbon isotope discrimination and plant breeding. *Plant Breeding Reviews* 12 : 81-113.
- Hanba Y.Y., Mori S., Lei T.T., Koike T. and Wada E., 1997. Variations in leaf $\delta^{13}\text{C}$ along a vertical profile of irradiance in a temperate Japanese forest. *Oecologia* 110 : 253-261.
- Handley L., Nevo E., Raven J.A., Martinez-Carrasco R., Scrimgeour C.M., Pakniyat H. and Forster B.P., 1994. Chromosome 4 controls potential water-use efficiency ($\delta^{13}\text{C}$) in barley. *Journal of Experimental Botany* 45 : 1661-1663.
- Hättenschwiler S., Schweingruber F.H. and Körner C., 1996. Tree ring response to elevated CO_2 and increased N deposition in *Picea abies*. *Plant, Cell and Environment* 19 : 1369-1378.
- Hubick K.T. and Gibson A., 1993. Diversity in the relationship between carbon isotope discrimination and transpiration efficiency when water is limited. In Ehleringer J.R., Hall A.E. and Farquhar G.D. (Eds.). Stable isotopes and plant carbon-water relations. Academic Press, San Diego, pp. 311-326.
- Hubick K.T., Farquhar G.D. and Shorter R., 1988. Correlation between water-use efficiency and carbon isotope discrimination in diverse peanut (*Arachis*) germplasm. *Australian Journal of Plant Physiology* 13 : 803-816.
- Hubick K.T., Shorter R. and Farquhar G.D., 1988. Heritability and genotype*environment interactions of carbon isotope discrimination and transpiration efficiency in Peanut (*Arachis hypogaeae* L.). *Australian Journal of Plant Physiology* 15 : 799-813.
- Israeli Y., Schwartz A., Plaut Z. and Yakir D., 1996. Effects of light regime on $\delta^{13}\text{C}$, photosynthesis and yield of field-grown banana (*Musa* sp, Musaceae). *Plant, Cell and Environment* 19 : 225-230.

- Jacamon M., 1984. Guide de dendrologie. Tome II, Feuillus, ENGREF, Nancy, 256 p.
- Jenkins M.A. and Pallardy S.G., 1995. The influence of drought on red oak group species growth and mortality in the Missouri Ozarks. *Canadian Journal of Forest Research* 25 : 1119-1127.
- Johnsen K.H., Flanagan L.B., Huber D.A. and Major J.E., 1999. Genetic variation in growth, carbon isotope discrimination, and foliar N concentration in *Picea mariana*: analyses from a half-diallel mating design using field-grown trees. *Canadian Journal of Forest Research* 29 : 1727-1735.
- Johnson R.C. and Tieszen L. L., 1993. Carbon isotope discrimination, water relations, and gas exchange in temperate grass species and accessions. In Ehleringer J.R., Hall A.E. and Farquhar G.D. (Eds.). Stable isotopes and plant carbon-water relations. Academic Press, San Diego, pp. 281-296.
- Jones E.W., 1959. Biological flora of the British Isles. *Quercus* L. *Journal of Ecology* 47 : 169-222.
- Keeling C.D., Mook W.G. and Tans P.P., 1979. Recent trends in the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio of atmospheric carbon dioxide. *Nature* 277 : 121-123.
- Kissling P., 1977. Les poils des quatre espèces de chênes du Jura (*Quercus pubescens*, *Q. petraea*, *Q. robur* et *Q. cerris*). *Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft* 87 : 1-18.
- Kissling P., 1980. Clef de détermination des chênes médioeuropéens (*Quercus* L.). *Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft* 90 : 29-44.
- Kleinschmit J.R.G., Bacilieri R., Kremer A. and Roloff A., 1995. Comparison of morphological and genetic traits of pedunculate oak (*Q. robur* L.) and sessile oak (*Q. petraea* (Matt.) Liebl.). *Silvae Genetica* 44 : 256-269.
- Kleinschmit J. and Kleinschmit J.G.R., 2000. *Quercus robur* - *Quercus petraea*: a critical review of the species concept. Glasnik Za Sumske Pokuse (Eds. Vukelic J. and Anic I.) 37 : 441-452.
- Körner C., Farquhar G.D. and Wong S.C., 1991. Carbon isotope discrimination by plants follows latitudinal and altitudinal trends. *Oecologia* 88 : 30-40.
- Kremer A., Petit R., Zanetto A., Fougère V., Ducousso A., Wagner D. and Chauvin C., 1991. Nuclear and organelle gene diversity in *Quercus robur* and *Q. petraea*. In Müller-Starck G. and Ziehe M. (Eds.). Genetic Variation in European Populations of Forest Trees, Sauerländer's Verlag, Frankfurt am Main, pp. 141-166.
- Kremer A., Dupouey J-L., Cottrell J., Csaikl U., Deans D., Finkeldey R., Goikoetxea P., Jensen J., König A., Van Dam B., Ducousso A. and Badeau V., 2002. Morphological variation in mixed oak stands (*Quercus robur* and *Quercus petraea*) is stable across western European populations. *Annals of Forest Science* (in press).
- Lafouge R., 1990. Sylviculture comparée du chêne rouvre et du chêne pédonculé dans les forêts gérées par l'Office National des Forêts. *Revue Forestière Française* 42 : 269-275.
- Lajtha K. and Getz J., 1993. Photosynthesis and water-use efficiency in pinyon-juniper communities along an elevation gradient in northern New-Mexico. *Oecologia* 94 : 95-101.
- Larcher W., 1980. Physiological Plant Ecology. 2nd edition, Springer Verlag, Berlin

- Lauteri M., Scartazza A., Guido M.C. and Brugnoli E., 1997. Genetic variation in photosynthetic capacity, carbon isotope discrimination and mesophyll conductance in provenances of *Castanea sativa* adapted to different environments. *Functional Ecology* 11 : 675-683.
- Leavitt S.W., 1993a. Seasonal $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ changes in tree rings: species and site coherence, and a possible drought influence. *Canadian Journal of Forest Research* 23 : 210-218.
- Leavitt S.W., 1993b. Environmental information from $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of wood. In *Climate Change in Continental Isotopic Records. Geophysical Monograph* 78 : 325-331.
- Leavitt S.W. and Long A., 1982. Evidence for $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ fractionation between tree leaves and wood. *Nature* 298 : 742-744.
- Leavitt S.W. and Long A., 1986. Stable-carbon isotope variability in tree foliage and wood. *Ecology* 67 : 1002-1010.
- Lebourgeois F., 1999. Les chênes sessile et pédonculé dans le réseau RENECOFOR: Rythme de croissance radiale, anatomie du bois, de l'aubier et de l'écorce. *Revue Forestière Française* 51 : 522-536.
- Lebourgeois F., 2001. Une analyse des changements climatiques régionaux en France entre 1956 et 1997. Réflexions en terme de conséquences pour les écosystèmes forestiers. *Annals of Forest Science* 58 : 733-754.
- Le Roux D., Stock W.D., Bond W.J. and Maphanga D., 1996. Dry mass allocation, water use efficiency and $\delta^{13}\text{C}$ in clones of *Eucalyptus grandis*, *E. grandis* * *camaldulensis* and *E. grandis* * *nitens* grown under two irrigation regimes. *Tree Physiology* 16 : 497-502.
- Lévy G., Becker M. and Duhamel D., 1992. A comparison of the ecology of pedunculate and sessile oaks: radial growth in the centre and northwest of France. *Forest Ecology and Management* 55 : 51-63.
- Lin K.H., Albert T.L., Zhu Y.L., Tauer C.G. and Martin B.C., 1998. Identification of quantitative trait loci associated with water-use efficiency in tomato. Plant and Animal Genome Conference VI. January 18-22. San Diego, CA.
- Lloyd J., Syvertsen J.P., Kriedemann P.E. and Farquhar G.D., 1992. Low conductances for CO_2 diffusion from stomata to the sites of carboxylation in leaves of woody species. *Plant, Cell and Environment* 15 : 873-899.
- Macaire A., 1984. Le dépérissement du chêne pédonculé en forêt communale d'Amance (Aube). *Revue Forestière Française* 35 : 201-205.
- Madhavan S., Treichel I. and O'Leary M.H., 1991. Effects of relative humidity on carbon isotope fractionation in plants. *Botanica Acta* 104 : 292-294.
- Martin B. and Thorstenson Y.R., 1988. Stable carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$), water use efficiency, and biomass productivity of *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon pennellii*, and the F1 hybrid. *Plant Physiology* 88 : 213-217.
- Mayr E., 1942. Systematics and the origin of species. Columbia University Press, New-York, 334 p.
- Meinzer F.C., Goldstein G. and Grantz D.A., 1993. Carbon isotope discrimination and gas exchange in Coffee during adjustment to different soil moisture regimes. In Ehleringer J.R., Hall A.E. and Farquhar G.D. (Eds.). Stable isotopes and plant carbon-water relations. Academic Press, San Diego, pp. 327-345.

- Merah O., Deleens E. and Monneveux P., 2001. Relationships between carbon isotope discrimination, dry matter production, and harvest index in durum wheat. *Journal of Plant Physiology* 158 : 723-729.
- Mian M.A.R., Bailey M.A., Ashley D.A., Wells R., Carter T.E., Parrott W.A. and Boerma H.R., 1996. Molecular markers associated with water use efficiency and leaf ash in soybean. *Crop Science* 36 : 1252-1257.
- Mian M.A.R., Ashley D.A. and Boerma H.R., 1998. An additional QTL for water use efficiency in soybean. *Crop Science* 38 : 390-393.
- Mook W.G., Koopmans M., Carter A.F. and Kelling C.H., 1983. Seasonal, latitudinal, and secular variations in the abundance and isotopic ratios of atmospheric carbon dioxide. 1. Results from land stations. *Journal of Geophysical Research* 88 : 10915-10933.
- Moreau F., 1993. Recherche de marqueurs appliquée à la différenciation moléculaire entre chêne sessile (*Quercus petraea*) et pédonculé (*Quercus robur*). Thèse de doctorat, Université de Poitiers, 129 p.
- Moreau F., Kleinschmit J. and Kremer A., 1994. Molecular differentiation between *Q. petraea* and *Q. robur* assessed by random amplified DNA fragments. *Forest Genetic* 1 : 51-64.
- Moss C.E., 1909. The hybrid oak in Yorkshire and other parts of Britain. *Naturalist*, 113-114.
- Moss C.E., 1910. British oaks. *J. Bot.*, London, 48 : 1-8 and 33-39.
- Mott K.A., 1988. Do stomata respond to CO₂ concentrations other than intercellular ? *Plant Physiology* 86 : 200-203.
- Mott K.A. and Parkhurst D.F., 1991. Stomatal responses to humidity in air and Helox. *Plant Cell and Environment* 14 : 509-515.
- Müller-Starck G., Herzog S. and Hattemer H.H., 1993. Intra- and interpopulational genetic variation in juvenile populations of *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* Liebl. *Annales des Sciences Forestières* 50 : 233s-244s.
- Nageleisen L.-M., Hartmann G. and Landmann G., 1991. Dépérissements d'essences feuillues en Europe Occidentale : cas particulier des Chênes rouvre et pédonculé. Actes du 10^{ème} Congrès Forestier Mondial – Paris, 17-26 sept.
- Nageleisen L.-M., 1993. Les dépérissements d'essences feuillues en France. *Revue Forestière Française* 45 : 605-620.
- Nussbaum S., Geissmann M., Saurer M., Siegwolf R. and Fuhrer J., 2000. Ozone and low concentrations of nitric oxide have similar effects on carbon isotope discrimination and gas exchange in leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Plant Physiology* 156 : 741-745.
- O'Heix B., Toth J.A., Bodea T., Kiss Gy., Vig P., Jakucs P. and Dizengremel P., 1998. Information about studies on Hungarian forest ecosystems. Selected research-papers and future investigations of Síkfőkút long-term project. *Annales des Sciences Forestières* 55 : 613-618.
- O'Leary M., 1981. Carbon isotope fractionation in plants. *Phytochemistry* 20 : 553-567.
- Olsson U., 1975a. On the size and microstructure of pollen grains of *Quercus robur* and *Quercus petraea* (Fagaceae). *Botaniska Notiser* 128 : 256-264.

- Olsson U., 1975b. The structure of stellate trichomes and their taxonomic implication in some *Quercus* species (Fagaceae). *Botaniska Notiser* 128 : 412-424.
- Olsson U., 1975c. Peroxydase isozymes in *Quercus petraea* and *Quercus robur*. *Botaniska Notiser* 128 : 408-411.
- Osorio J. and Pereira J.S., 1994. Genotypic differences in water-use efficiency and ^{13}C discrimination in *Eucalyptus globulus*. *Tree Physiology* 14 : 871-882.
- Panek J.A., 1996. Correlation between stable carbon-isotope abundance and hydraulic conductivity in Douglas-fir across a climate gradient in Oregon, USA. *Tree Physiology* 16 : 747-755.
- Panek J.A. and Waring R., 1995. Carbon isotope variation in Douglas-fir foliage : improving the $\delta^{13}\text{C}$ -climate relationship. *Tree Physiology* 15 : 657-663.
- Pardé L., 1942. Le chêne pédonculé et le chêne rouvre dans les forêts de la région du nord-est de la France. *Revue des Eaux et Forêts* 297-317.
- Parkhurst D.F., 1994. Diffusion of CO_2 and other gases inside leaves. *New Phytologist* 131 : 91-97.
- Pedersen B.S., 1998. The role of stress in the mortality of Midwestern oaks as indicated by growth prior to death. *Ecology* 79 : 79-93.
- Peiffer M., 2000. Variations de la croissance radiale du pin sylvestre au cours du XX^{ème} siècle en forêt de Saint-Avold. Rapport ONF-INRA, 33 p.
- Petit R., Kremer A., Bacilieri R., Ducousso A. and Zanetto A., 1992. Structuration génétique dans le complexe des chênes blancs européens. Actes du colloque en hommage à Jean Pernès, Paris, France : 155-163.
- Petit R., Wagner D. and Kremer A., 1993. Ribosomal DNA and chloroplast DNA polymorphisms in mixed stands of *Quercus robur* and *Quercus petraea*. *Annales des Sciences Forestières* 50 : 41s-47s.
- Petit R.J., Pineau E., Demesure B., Bacilieri R., Ducousso A. and Kremer A., 1997. Chloroplast DNA footprints of postglacial recolonization by oaks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 94 : 9996-10001.
- Petit R.J. et al., 2002. Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management* 156 : 49-74.
- Picon C., 1996. Effets combinés d'un doublement de la concentration en CO_2 de l'air et de sécheresses édaphiques sur la croissance et l'efficacité d'utilisation de l'eau de *Quercus petraea*, *Quercus robur* et *Pinus pinaster*. Thèse de Doctorat, Nancy I, 106 p.
- Picon C., Guehl J.-M. and Aussenac G., 1996a. Growth dynamics, transpiration and water-use efficiency in *Quercus robur* plants submitted to elevated CO_2 and drought. *Annales des Sciences Forestières* 53 : 431-446.
- Picon C., Guehl J.M. and Ferhi A., 1996b. Leaf gas exchange and carbon isotope composition responses to drought in a drought-avoiding (*Pinus pinaster*) and a drought-tolerant (*Quercus petraea*) species under present and elevated atmospheric CO_2 concentrations. *Plant, Cell and Environment* 19 : 182-190.

- Picon C., Ferhi A. and Guehl J.M., 1997. Concentration and $\delta^{13}\text{C}$ of leaf carbohydrates in relation to gas exchange in *Quercus robur* under elevated CO_2 and drought. *Journal of Experimental Botany* 48 : 1547-1556.
- Piutti E. and Cescatti A., 1997. A quantitative analysis of the interactions between climatic response and intraspecific competition in European beech. *Canadian Journal of Forest Research* 27: 277-284.
- Ponton S., 1998. Comparaison de l'efficience d'utilisation de l'eau du chêne pédonculé (*Quercus robur* L.) et du chêne sessile (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.). Relations avec la sensibilité des chênes au dépérissement. Mémoire de DEA, Université Paris XI, 35 p.
- Poss J.A., Grattan S.R., Suarez D.L. and Grieve C.M., 2000. Stable carbon isotope discrimination: an indicator of cumulative salinity and boron stress in *Eucalyptus camaldulensis*. *Tree Physiology* 20 : 1121-1127.
- Potter S.M., 1994. Practical methods for distinguishing the two native British oaks and their intermediates. *Quarterly Journal of Forestry* 88 : 27-34.
- Raffalli-Delercé G., 2000. Variabilité climatique des derniers siècles : apport des analyses isotopiques des cernes d'arbres dans une région sous influence océanique. Thèse de Doctorat, Paris XI, 257 p.
- Rameau J.-C., 1990. Comportement dynamique du chêne pédonculé et du chêne sessile dans les successions forestières. *Revue Forestière Française* 42 : 155-164.
- Read J. and Farquhar G., 1991. Comparative studies in *Nothofagus* (Fagaceae). I. Leaf carbon isotope discrimination. *Functional Ecology* 5 : 684-695.
- Renaud J.P. and Maufette Y., 1991. The relationships of crown dieback with carbohydrate content and growth of sugar maple (*Acer saccharum*). *Canadian Journal of Forest Research* 21 : 1111-1118.
- Robertson I., Rolfe J., Switsur V.R., Carter A.H.C. and Hall M.A., 1997. Signal strength and climate relationships in $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ ratios of tree ring cellulose from oak in southwest Finland. *Geophysical Research Letters* 24 : 1487-1490.
- Roupsard O., 1997. Ecophysiologie et diversité génétique de *Faidherbia albida* (Del.) A. Chev. (syn. *Acacia albida* Del.), un arbre à usages multiples d'Afrique semi-aride. Thèse de Doctorat, Nancy I., 59 p.
- Roupsard O., Gross P. and Dreyer E., 1996. Limitation of photosynthetic activity by CO_2 availability in the chloroplasts of oak leaves from different species and during drought. *Annales des Sciences Forestières* 53 : 243-254.
- Rushton B.S., 1974. The origin and possible significance of variation of leaf structure in the two native British oak species, *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. D. Phil. thesis, University of York.
- Rushton B.S., 1976. Pollen grain size in *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. *Watsonia* 11 : 137-140.
- Rushton B.S., 1977. Artificial hybridization between *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. *Watsonia* 11 : 229-236.
- Rushton B.S., 1978. *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. : a multivariate approach to the hybrid problem, 1. Data acquisition, analysis and interpretation. *Watsonia* 12 : 81-101.

- Sakata M. and Suzuki K., 2000. Evaluating possible causes for the decline of Japanese Fir (*Abies firma*) forests based on $\delta^{13}\text{C}$ records of annual growth rings. *Environmental Science and Technology* 34 : 373-376.
- Sander T. and Franke A., 1999. Genetic comparison of damaged and undamaged stands of Pedunculate oak and Sessile oak (*Quercus robur* L. and *Quercus petraea* [Matuschka] Liebl.) in Baden-Württemberg with particular consideration of site, stand structure, former silvicultural treatment and environmental impacts. Projektträgerschaft, Programm Lebensgrundlage, Umwelt und ihre Sicherung (BWPLUS), Forschungsbericht FZKA-BWPLUS. 104 p.
- Sandquist D., Schuster W.S.F., Donovan L.A., Phillips S.L. and Ehleringer J.R., 1993. Differences in carbon isotope discrimination between seedlings and adults of southwestern desert perennial plants. *The Southwestern Naturalist* 38 : 212-217.
- Saurer M. and Siegenthaler U., 1989. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratios in trees are sensitive to relative humidity. *Dendrochronologia* 7 : 9-13.
- Saurer M., Maurer S., Matyssek R., Landolt W., Günthardt-Goerg M.S. and Siegenthaler U., 1995. The influence of ozone and nutrition on $\delta^{13}\text{C}$ in *Betula pendula*. *Oecologia* 103 : 397-406.
- Schleser G.H. and Jayasekera R., 1985. $\delta^{13}\text{C}$ -variations of leaves in forests as an indication of reassimilated CO_2 from the soil. *Oecologia* 65 : 536-542.
- Schleser G.H., 1990. Investigations of $\delta^{13}\text{C}$ pattern in leaves of *Fagus sylvatica* L. *Journal of Experimental Botany* 41 : 565-572.
- Schmull M. and Thomas F.M., 2000. Morphological and physiological reactions of young deciduous trees (*Quercus robur* L., *Q. petraea* [Matt.] Liebl., *Fagus sylvatica* L.) to waterlogging. *Plant and Soil* 225 : 227-242.
- Schuster W.S.F., Phillips S.L., Sandquist D. and Ehleringer J.R., 1992. Heritability of carbon isotope discrimination in *Gutierrezia microcephala* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 79 : 216-221.
- Schwarz O., 1993. *Quercus* L. In Tutin T.G., Burges N.A., Chater A.O., Edmonson J.R., Heywood V.H., Moore D.M., Valentine D.H., Walters S.M., Webb D.A. (eds.). *Flora europaea*, Vol. I. 2nd ed., Cambridge University Press, Cambridge, 72-76.
- Schweingruber F.H., 1996. Tree Rings and Environment Dendroecology. Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research, Birmensdorf. Paul Haupt Verlag, Berne, 609 pp.
- Sciama D., 1999. Dynamique de la végétation forestière dans les terrains en déprise agricole en Petite Montagne jurassienne. Thèse de doctorat, ENGREF, 268 p.
- Scuiller I., 1990. Exploration de la variabilité des comportements écophysologiques de semis de chênes blancs européens soumis à la sécheresse. Thèse de doctorat, Université de Nancy I, 76 p.
- Siegwolf R., Matyssek R., Saurer M., Maurer S., Günthardt-Goerg M.S., Schmutz P. and Bucher J.B., 2001. Stable isotope analysis reveals differential effect of soil nitrogen and nitrogen dioxide on the water use efficiency in hybrid poplar leaves. *New Phytologist* 149 : 233-246.
- Spieker H. (Ed.), 1998. Dendroecological analysis of climate-growth relations of five important European tree species along an east-west transect: Black Forest, Vosges

- Mountains, Lorraine Plain. Concluding report. European contract EV 5 V-CT94-0437, Bruxelles, 106 pp.
- Steinhoff S., 1993. Results of species hybridization with *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. *Annales des Sciences Forestières* 50 : 137s-143s.
- Stuiver M. and Braziunas T.F., 1987. Tree cellulose $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotope ratios and climatic changes. *Nature* 328 : 58-60.
- Sun Z.J., Livingston N.J., Guy R.D. and Ethier G.J., 1996. Stable carbon isotopes as indicators of increased water-use efficiency and productivity in white spruce (*Picea glauca* (Moench) Voss) seedlings. *Plant, Cell and Environment* 19 : 887-894.
- Switsur R., Waterhouse J., Field E.M. and Carter A.H.C., 1996. Climatic signals from stable isotopes in oak trees from East Anglia, Great Britain. In Dean J.S., Meko D.M. and Swetnam T.W. (Eds.), *Tree Rings, Environment and Humanity, Radiocarbon*, p. 637-645.
- Szaran J., 1998. Seasonal variations of $\delta^{13}\text{C}$ values and CO_2 concentration in the air during vegetation growth. *Isotopes in Environmental Health Studies* 34 : 341-348.
- Tainter F.H., Retzlaff W.A., Starkey D.A. and Oak S.W., 1990. Decline of radial growth in red oaks is associated with short-term changes in climate. *European Journal of Forest Pathology* 20 : 95-105.
- Thomas F.M., 2000a. Vertical rooting patterns of mature *Quercus* trees growing on different soil types in northern Germany. *Plant Ecology* : 147 : 95-103.
- Thomas F.M., 2000b. Growth and water relations of four deciduous tree species (*Fagus sylvatica* L., *Quercus petraea* [Matt.] Liebl., *Q. pubescens* Willd., *Sorbus aria* [L.] Cr.) occurring at Central-European tree-line sites on shallow calcareous soils: physiological reactions of seedlings to severe drought. *Flora* 195:104-115.
- Thomas F.M. and Gausling T., 2000. Morphological and physiological responses of oak seedlings (*Quercus petraea* and *Q. robur*) to moderate drought. *Annals of Forest Science* 57 : 325-333.
- Toft N.L., Anderson J.E. and Nowak R.S., 1989. Water use efficiency and carbon isotope composition of plants in a cold desert environment. *Oecologia* 80 : 11-18.
- Tognetti R., Raschi A., Béres C., Fenyvesi A. and Ridder H.W., 1996. Comparison of sap flow, cavitation and water status of *Quercus petraea* and *Quercus cerris* trees with special reference to computer tomography. *Plant, Cell and Environment* 19 : 928-938.
- Turc L., 1927. Notes sur le dépérissement du chêne pédonculé dans les forêts du haut nivernais. *Revue des Eaux et Forêts* : 561-565.
- Tyree M.T. and Cochard H., 1996. Summer and winter embolism in oak: Impact on water relations. *Annales des Sciences Forestières* 53 : 173-180.
- Valentini R., Scarascia Mugnozza G.E. and Ehleringer J.R., 1992. Hydrogen and carbon isotope ratios of selected species of a Mediterranean macchia ecosystem. *Functional Ecology* 6 : 627-631.
- Van Valen L., 1976. Ecological species, multispecies and oaks. *Taxon* 18 : 13-19.
- Vitousek P.M., Field C.B. and Matson P.A., 1990. Variation in foliar $\delta^{13}\text{C}$ in Hawaiian *Metrosideros polymorpha*: a case of internal resistance ? *Oecologia* 84 : 362-370.

- Vivin P. and Guehl J. M., 1997. Changes in carbon uptake and allocation patterns in *Quercus robur* seedlings in response to elevated CO₂ and water stress: an evaluation with ¹³C labelling. *Annales des Sciences Forestières* 54 : 597-610.
- Vivin P., Aussenac G. and Lévy G., 1993. Differences in drought resistance among three deciduous oak species grown in large boxes. *Annales des Sciences Forestières* 50 : 221-233.
- Wagner P.A. and Dreyer E., 1997. Interactive effects of waterlogging and irradiance on the photosynthetic performance of seedlings from three oak species displaying different sensitivities (*Quercus robur*, *Quercus petraea* and *Quercus rubra*). *Annales des Sciences Forestières* 54 : 409-429.
- Walcroft A.S., Silvester W.B., Grace J.C., Carson S.D. and Waring R.H., 1996. Effects of branch length on carbon isotope discrimination in *Pinus radiata*. *Tree Physiology* 16 : 281-286.
- Waring R.H., 1992. Characteristic of trees predisposed to die. *Bioscience* 37 : 569-574.
- Waring R.H. and Pitman G.B., 1985. Modifying lodgepole pine stands to change susceptibility to mountain pine beetle attack. *Ecology* 66 : 889-897.
- Waring R.H. and Silvester W.B., 1994. Variation in foliar $\delta^{13}\text{C}$ values within the crowns of *Pinus radiata* trees. *Tree Physiology* 14 : 1203-1213.
- Warren C.R. and Adams M.A., 2000. Water availability and branch length determine delta C-13 in foliage of *Pinus pinaster*. *Tree Physiology* 20 : 637-643.
- Webb W.L., 1981. Relation of starch content to conifer mortality and growth loss after defoliation by the Douglas-fir tussock moth. *Forest Science* 27 : 224-232.
- Wigston D.L., 1975. The distribution of *Quercus robur* L., *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., and their hybrids in south-western England, 1. The assessment of the taxonomic status of populations from leaf characters. *Watsonia* 10 : 345-369.
- Wilson A.T. and Grinsted M.J., 1977. ¹³C/¹²C in cellulose and lignin as palaeothermometers. *Nature* 265 : 133-135.
- Wong S.C., Cowan I.R. and Farquhar G.D., 1985. Leaf conductance in relation to rate of CO₂ assimilation. II. Effects of short-term exposures to different photon flux densities. *Plant Physiology* 78 : 826-829.
- Zhang J.W. and Marshall J.D., 1994. Population differences in water-use efficiency of well-watered and water-stressed western larch seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* 24 : 92-99.
- Zhang J., Fins L. and Marshall J.D., 1994. Stable carbon isotope discrimination, photosynthesis gas exchange, and growth differences among western larch families. *Tree Physiology* 14 : 531-539.
- Zhang J., Marshall J.D. and Jaquish B.C., 1993. Genetic differentiation in carbon isotope discrimination and gas exchange in *Pseudotsuga menziesii*. *Oecologia* 93 : 80-87.
- Zimmerman, J.K. and Ehleringer J.R., 1990. Carbon isotope ratios are correlated with irradiance levels in the Panamanian orchid *Catasetum viridiflavum*. *Oecologia* 83 : 247-249.

Carbon isotope discrimination and wood anatomy variations in mixed stands of *Quercus robur* and *Quercus petraea*

S. PONTON,¹ J.-L. DUPOUEY,¹ N. BRÉDA,¹ F. FEUILLAT,² C. BODÉNÈS³ & E. DREYER¹

¹Unité Mixte de Recherches INRA-UHP-Nancy, 'Ecologie et Ecophysiologie Forestières', F-54280 Champenoux, France,

²Laboratoire de Recherches sur les Produits Forestiers, ENGREF-INRA, 14 rue Girardet, F-54042 Nancy Cedex, France and

³Laboratoire de Génétique et d'Amélioration des Arbres Forestiers, INRA, BP 45, F-33611 Cestas-Gazinet Cedex, France

ABSTRACT

The two most common oak species in western Europe, *Quercus robur* and *Quercus petraea*, display different ecological behaviours, particularly with respect to their responses to drought. The ecophysiological basis of this niche difference is not understood well. Here we test the hypothesis that these two species present distinct water use efficiencies (WUEs), using the carbon isotope discrimination approach. Leaves and 13 dated ring sequences were sampled in 10 pairs of adult trees growing side by side. Carbon isotope composition was measured on cellulose extracts. In addition, relationships between carbon isotope discrimination and wood anatomy were assessed at the tree level. *Quercus robur* displayed a 1.0‰ larger isotopic discrimination than *Q. petraea*, and therefore a lower intrinsic WUE (–13%). This interspecific difference of isotopic discrimination was quite stable with time and independent of tree radial growth and climate fluctuations. A strong positive correlation was observed between average tree values of earlywood vessel surface area and ¹³C isotopic discrimination. This correlation was even higher with ¹³C of the 1976 dry year ($r = 0.86$). These observations led to the hypothesis that hydraulic properties of xylem could exert a constraint on leaf gas exchange, resulting in a larger WUE for individuals with smaller vessel cross-section area.

Key-words: Interspecific variability; oak; tree ring; vessel area; water use efficiency.

INTRODUCTION

Quercus robur L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. are two of the most important sympatric broad-leaved forest tree species in western Europe. These two species display a high genetic proximity but different ecological behaviours. Difficulties have been encountered in detecting genetic markers of the interspecific differentiation (Petit, Wagner & Kremer 1993), although a few distinctive genomic regions were observed recently (Bodénès *et al.* 1997). Nevertheless, leaf morphology (Dupouey & Badeau 1993) and wood anatomy (Feuillat *et al.* 1997) clearly differentiate the

two species. Oaks are affected recurrently by important decline episodes; severe cases were recorded in France at the end of the 1970s and the beginning of the 1990s. Drought is now considered to be the primary cause of many of these decline episodes (Landmann *et al.* 1993). In addition, *Q. robur* was often more prone to decline than *Q. petraea* (Becker & Lévy 1982; Landmann *et al.* 1993). Ecological surveys showed that *Q. robur* was distributed in soils with larger water and nutrient availabilities than *Q. petraea* (Lévy, Becker & Duhamel 1992; Bréda *et al.* 1993). Despite these differences recorded *in situ*, most of the comparative ecophysiological studies conducted with seedlings under controlled conditions resulted in only small differences between the two species. Vivin, Aussenac & Lévy (1993) observed a higher death rate in *Q. robur* saplings than in *Q. petraea* saplings subjected to a very severe water stress, whereas gas exchange (net CO₂ assimilation and transpiration) decreased similarly in the two species with decreasing soil water availability. Experiments with adult trees in a stand in north-eastern France revealed few distinctive functional features. The drought-induced decline of stomatal conductance and total transpiration was very close in the two species (Bréda *et al.* 1993; Epron & Dreyer 1993). Nevertheless, a slightly higher vulnerability to water-stress-induced xylem embolism (Cochard *et al.* 1992; Tyree & Cochard 1996), a lower intrinsic water use efficiency (WUE) (Epron & Dreyer 1993) and a shallower root system (Bréda *et al.* 1995) were found in *Q. robur* as compared with *Q. petraea*. Our knowledge of the ecophysiological differences between these two oak species is still not sufficient to understand clearly the observed differences in their ecological niches.

In the present study, we tested whether carbon isotope discrimination (Δ), a functional marker of time-integrated WUE, differed between the two species. Isotope discrimination has been used widely as a screening tool for interspecific differences among forest tree species (Guehl *et al.* 1998; Bonal *et al.* 2000). Because trees, like other plants, have to transpire water in order to fix carbon, genotypes that use water more efficiently could have a competitive advantage over other ones. Water use efficiency is defined as the ratio of plant biomass production to plant transpiration (transpiration efficiency, WUE_t), or, at leaf level, as the ratio of net carbon dioxide assimilation to transpiration (WUE_i). Carbon isotope discrimination has been shown to

Correspondence: Jean-Luc Dupouey.

E-mail: dupouey@nancy.inra.fr

be negatively correlated with WUE_i and WUE_e (reviewed by Farquhar, Ehleringer & Hubick 1989). The isotope discrimination recorded in plant tissue therefore provides a time- and plant-integrated estimate of WUE .

Wood anatomy differs significantly between *Q. robur* and *Q. petraea*. Earlywood width, as well as the number of vessel rows and total vessel surface area in the earlywood, is significantly larger in *Q. robur* than in *Q. petraea*, independently of the total year ring width. Conversely, the relative area of fibre zones is significantly higher in *Q. petraea* than in *Q. robur* (Feuillat *et al.* 1997). The potential consequences of such anatomical differences on hydraulic properties may be detectable in the carbon isotope signal recorded in plant tissues. A close correlation between hydraulic properties and Δ has been hypothesized several times but rarely observed (Waring & Silvester 1994; Ryan & Yoder 1997; Bonal *et al.* 2000). The underlying idea is that the levels of resistance to water transfer in the trees may exert a strong constraint on stomatal conductance and therefore WUE and Δ (Jones & Sutherland 1991).

We had two primary objectives in the present study. Firstly, to determine whether significant differences in WUE , assessed from Δ measurements, existed between the two *Quercus* species in mixed stands. To accomplish this, we compared the isotopic composition of leaves and wood cellulose extracted from a range of annual rings in several pairs of trees, each pair including a tree of each species. Secondly, to test if interspecific and between-tree differences in Δ could be related to differences in anatomical properties of the wood, especially vessel characteristics.

MATERIALS AND METHODS

Tree sampling and growth analysis

Fourteen mixed plots of *Q. robur* and *Q. petraea* were selected in the forest of Cîteaux (Feuillat *et al.* 1997), 25 km from Dijon (eastern France). These stands came from natural regeneration and have been managed as coppice with standards, with hornbeam (*Carpinus betulus* L.) growing under a dominant canopy of oaks. Soils belonged to the luvisol-redoxysol type, with an intermittently waterlogged layer at a depth of 30 cm, and were developed on loams. Slopes were nearly horizontal. Extractable soil water was high (above 200 mm) and mean annual rainfall close to 700 mm. In each plot, two adjacent dominant trees from each of the species were selected. These 56 individuals were ascribed to one or the other of the two species based on a leaf morphology analysis (Dupouey & Badeau 1993). Moreover, molecular analyses were performed on 47 of the 56 trees identified previously, with random amplified polymorphic DNA (RAPD) and amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. Five RAPD primers and one AFLP-PEC (primer enzyme combination) were selected, because they allowed the amplification of fragments that presented significant frequency differences between the two species, following the protocols detailed in Bodénès *et al.* (1997) for the RAPD technique and in Ger-

ber *et al.* (2000) for the AFLP technique. Finally, the molecular analysis provided nine RAPD and two AFLP markers.

Girth, tree height, relative crown length and horizontal crown projection area were recorded for each tree. Based on one core per tree, annual ring width were measured to the nearest 1/100 mm with a semiautomated device and afterwards cross-dated according to the procedure of Becker (1989).

Four of the 14 plots were discarded because of abrupt radial growth changes, which suggested important variations of the former dominance status of trees. In each of the 10 remaining plots, one tree of each species was chosen (trees with the most symmetrical crown selected by visual estimation). The 20 trees selected displayed mean ages of 138 and 151 years for *Q. petraea* and *Q. robur*, respectively. This difference was not significant ($P = 0.09$). According to Leavitt & Long (1984), and in order to increase the amount of wood available for the isotopic analysis, eight cores were sampled (in four opposite directions) per tree at 1.30 m during early spring 1999 and dried in ambient air.

Stable carbon isotope analysis

For the study of interspecific differences in isotopic discrimination, two timescales were considered: (i) a year-by-year analysis centred on a short time period, including years with different climatic conditions (and diverse annual ring widths); (ii) an analysis of two contrasting periods of the stand history. For the year-by-year analysis, 11 rings (earlywood plus latewood) were cut individually from each of the eight cores per tree. They corresponded to the years 1965–69 and 1975–80, which were periods of high and low growth, respectively. For the larger timescale analysis, two ring sequences were extracted, corresponding to the time periods 1907–1918 (young stage of the stand development) and 1981–1990 (mature adult stand), respectively. For each year or time period, the eight rings or ring sequences from a single tree were composited and ground. To avoid artefacts due to radial translocation of carbon (Tans, De Jong & Mook 1978), and because wood is composed of various metabolites that undergo different isotopic fractionations (Benner *et al.* 1987), isotopic analyses were performed on holocellulose extracted from wood as described by Leavitt & Danzer (1993).

In addition, 100 top-crown, sun-exposed leaves per tree were collected during the beginning of August 1999. All leaves from each tree were mixed, so that the carbon isotope composition was analysed on one sample per tree.

Stable carbon isotope abundance of wood cellulose and leaf tissues were measured with a continuous flow elemental analyser (Carlo Erba Analyser-NA1500; CE Instruments, Rodano, Italy) interfaced with an isotope mass spectrometer (Finnigan Mat; Delta S, Bremen, Germany). Stable carbon isotope ratio was expressed as the $^{13}\text{C} : ^{12}\text{C}$ ratio relative to Pee Dee Belemnite. The precision of spectrometric analysis (standard deviation in δ) of a laboratory standard (ground needles of *Pinus pinaster*) was 0.19‰ ($n = 32$).

Carbon isotope discrimination against air (Δ) has the advantage of taking into account the time course of atmospheric ^{13}C composition (δ_a). The relationship between Δ and δ is as follows:

$$\Delta = \frac{\delta_a - \delta_p}{1 - \delta_p},$$

where δ_p refers to the isotopic composition of the photosynthesis products (wood cellulose or leaf material in this case). At the beginning of the century, δ_a was about -6.7‰ , compared with about -8‰ in 1990. Data for δ_a were estimated as indicated in Bert, Leavitt & Dupouey (1997).

Wood anatomy measurements

Anatomical data collected in a previous study by Feuillat *et al.* (1997) were used for the present comparison between wood anatomy and carbon isotope discrimination. The methodology is briefly resumed as follows. One core was taken per tree; juvenile and sapwood zones were discarded; four ~ 2-mm-wide rings were selected per core for image analysis. These rings were equally distributed along the core to represent different age classes. Thus, the rings used for isotopic and anatomical measurements were independent within a tree. X-ray photographs were prepared following the classical method of Polge, Lemoine & Deret (1977). The x-ray films were digitized using a charged coupled device (CCD) camera mounted on binoculars and coupled with a microcomputer. Each selected ring was analysed using semiautomated software developed under the Visilog® image analysis system (NOESIS, Les Ulis, France) (Anonymous 1992). Image thresholding and drawing of the different wood tissue boundaries were conducted manually in a 3.5-mm-wide window along the tangential direction. Size and proportion of tissues (earlywood and latewood vessels, fibres, parenchyma) were characterized. The total number of earlywood vessels, and the number of rows they formed, were counted. For each vessel, the following measurements were taken: lumen area and tangential, maximum, minimum and mean lumen diameters. Lumen area was cumulated over the earlywood vessel population of a given ring, giving the earlywood vessel surface area (EVSA). Measurements from the four selected rings per tree were finally averaged.

Data analysis

Data were analysed using the SAS statistical package (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) (SAS 1988). One *Q. petraea* outlier value of earlywood vessel surface area was discarded from the calculations. Pearson and Spearman (rank) correlation coefficients and simple and multiple linear regressions were used as exploratory tools. A correspondence analysis (CA) was performed on molecular data. Because of missing values, nine of the 47 trees could not be included in the CA. Leaf morphological variables were analysed by principal component analysis. For the study of

interspecific variation, an analysis of variance was carried out. The following hierarchical model was used:

$$\Delta_{ijk} = a + b_i + c_{j(i)} + d_k + e_{ijk}, \quad (\text{model 1})$$

where Δ_{ijk} = measured values of Δ for tree j , within species i , at year or time sequence k , a = constant, b_i = effect of species i , $c_{j(i)}$ = effect of tree j within species i , d_k = effect of year or time sequence k and e_{ijk} = error term.

RESULTS

Interspecific variability of isotopic discrimination

Both morphological and molecular markers provided a clear distinction between the two species (Fig. 1). Radial growth in the two species over the last century is shown in Fig. 2. *Quercus petraea* has displayed larger annual ring widths than *Q. robur* since the beginning of the century (27% more on the average).

Variations of Δ with time period and species are shown in Fig. 3a. There was a clear difference in Δ between the two species in all rings or ring sequences measured. Mean Δ_{wood} fluctuated between 16‰ and 17.2‰ for *Q. petraea* and between 17.1‰ and 18‰ for *Q. robur*. For the two species, the lowest value was observed in the ring of the dry year (1976) and the highest in that of the period 1908–17.

Over the whole century, there was a significant tendency for Δ to decline from 17.2‰ to 16.3‰ and from 18.0‰ to 17.4‰ for *Q. petraea* and *Q. robur*, respectively. The negative long-term trend in Δ_{wood} was steeper for *Q. petraea* than for *Q. robur* [slopes -0.014‰ year^{-1} ($P = 0.006$) and -0.010‰ year^{-1} ($P = 0.01$), respectively]. Mean Δ_{wood} was 16.6‰ and 17.5‰, and mean Δ_{leaf} was 17.7‰ and 18.9‰ for *Q. petraea* and *Q. robur*, respectively. Interspecific differences in isotopic discrimination ($\Delta_{Q.robur} - \Delta_{Q.petraea}$) varied between 0.8‰ and 1.2‰, with a mean value of 1.0‰ (Fig.

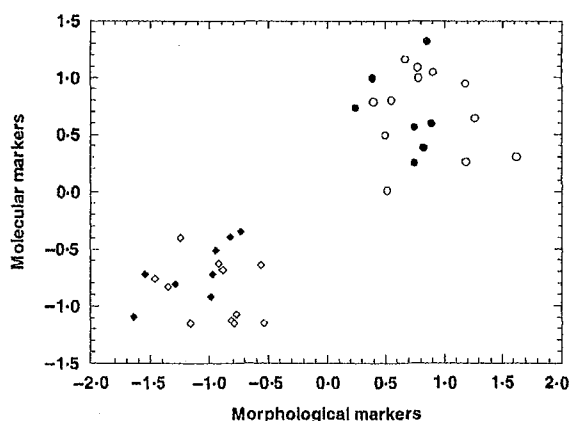


Figure 1. Multivariate analyses of morphological and molecular markers of 38 oaks in the Cîteaux forest (circles = *Q. petraea*; diamonds = *Q. robur*). Closed symbols correspond to trees that were retained for the carbon isotope measurements.

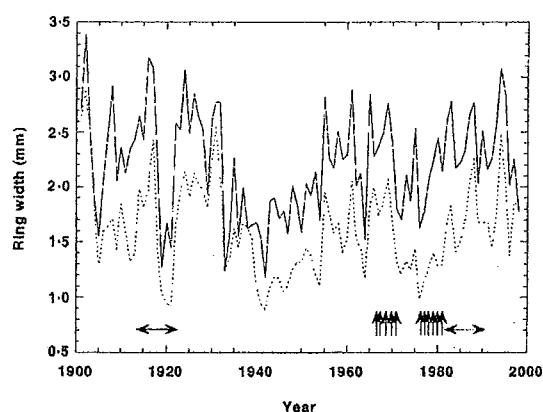


Figure 2. Average ring width displayed during the 20th century by 20 co-occurring *Q. robur* (dotted line) and *Q. petraea* (solid line) trees. Arrows indicate the individual rings and ring sequences that were selected for carbon isotope measurements.

3b). The apparent tendency of this interspecific difference to increase with time was not statistically significant. Results of a multiple linear regression including monthly temperature and rainfall revealed no significant relationship between the interspecific difference of Δ and these climatic data.

The analysis of variance (model 1, Table 1) showed that species, tree within species and time period had significant effects on Δ_{wood} . This model explained 87% of total Δ_{wood} variance. The partition of sum of squares showed that interspecific variation represented 23% of the total variation, whereas 68% was due to intraspecific variability and only 9% due to interannual variations. A one-factor analysis of variance of Δ in the leaves showed that the species effect was still significant, although lower than in wood cellulose ($F = 5.0$, $P = 0.04$).

A positive correlation was found between mean annual Δ_{wood} and mean ring width ($r = 0.74$, $P = 0.004$ and $r = 0.85$, $P = 0.0002$ for *Q. petraea* and *Q. robur*, respectively). The species regression lines were parallel but had significantly different intercepts ($P = 0.03$) (Fig. 4).

Table 1. Analysis of variance of the effects of species, tree within species and time period on carbon isotope discrimination in the wood cellulose

Source of variation	d.f.	SS	F-value
Species	1	57.7	353.7***
Tree (species)	18	166.4	56.6***
Time period	12	21.3	10.9***
Model	31	245.8	48.6***

d.f., degrees of freedom; SS, sum of squares.

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

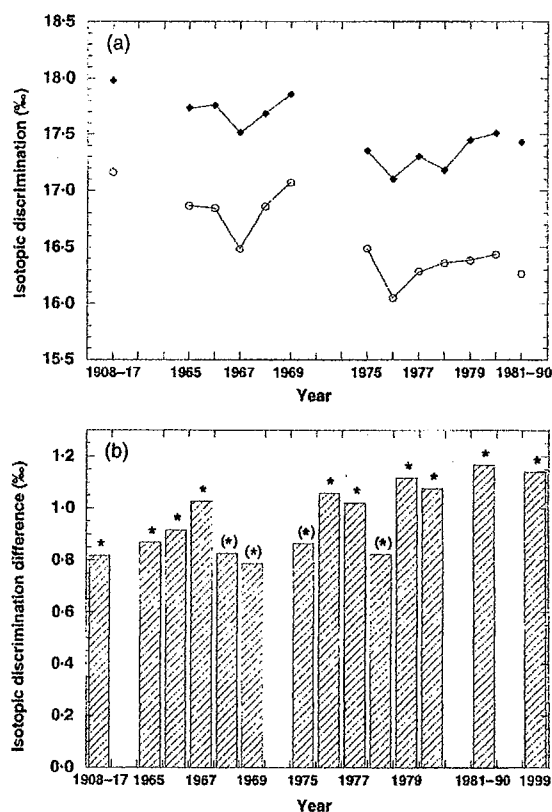


Figure 3. (a): Carbon isotope discrimination (Δ_{wood}) recorded in the cellulose of annual rings in the trunk of the two oak species ($\circ = Q. petraea$; $\bullet = Q. robur$) as a function of the year of formation of the annual rings. Each point is the mean of 10 Δ_{wood} values, corresponding to 10 selected trees by species. (b): Interspecific differences ($Q. robur - Q. petraea$) of isotopic discrimination as a function of time. For 1999, the represented difference was recorded in the leaf carbon (Δ_{leaf}). P -values of the t -test of comparison of means per species are as follows: (*) = $P < 0.1$; * = $P < 0.05$; ** = $P < 0.01$; *** = $P < 0.001$, and $P > 0.1$ otherwise.

Between-tree variability of isotopic discrimination and relationship with wood anatomy

As shown in Table 1, the largest variability in isotopic discrimination occurred at the intraspecific level, between trees: the average standard deviation of Δ_{wood} over the 10 trees and the 13 time periods was 1.0‰ for *Q. petraea* and 0.8‰ for *Q. robur*. Standard deviations of Δ_{leaf} were 1.0 and 1.2‰ for *Q. petraea* and *Q. robur*, respectively. Respective ranges of Δ measured in wood and leaves were 3.2‰ and 3.1‰ in *Q. petraea* and 2.4‰ and 3.5‰ in *Q. robur*. However, we observed that the ranking of the trees according to their Δ_{wood} values remained very similar over all time periods. Rank correlations displayed an average value of 0.82 ($P < 0.004$), with no decrease when the interval between considered time periods increased.

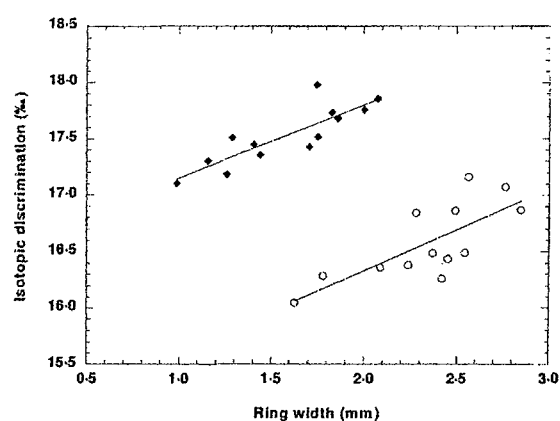


Figure 4. Relationship between average values of Δ_{wood} and ring width from each time period ($\circ = Q. \text{petraea}$, $\blacklozenge = Q. \text{robur}$). Each point is the mean of 10 Δ_{wood} values, corresponding to the 10 selected trees per species.

In order to explore this between-tree variability, relationships between Δ and dendrometrical and wood anatomical parameters were assessed. No significant relationship was found between mean isotopic discrimination per tree and any dendrometrical parameter (height, crown base height, relative crown length, girth, horizontal crown projection area and age), globally or by species (Table 2a).

In contrast, a strong correlation was observed between average Δ_{wood} per tree and average EVSA ($r = 0.79$, $P = 0.0001$) (Table 2b). *Quercus robur* displayed significantly larger values of isotopic discrimination (lower intrinsic WUE) and EVSA. A correlation calculation was made for each time period between EVSA (which was constant whatever the considered time period) and individual values of Δ . The best correlation was observed for 1976 (Fig. 5), the driest year studied (233 mm of precipitation from May to September compared with an average century value of 320 mm). Whatever the time period, correlations were larger for *Q. robur* than for *Q. petraea*. EVSA was better linked with earlywood vessels number ($r = 0.67$, $P = 0.002$) than with average surface area of individual vessels ($r = 0.43$, $P = 0.06$). Correlations between average Δ_{wood} and earlywood vessels number or average surface area of individual vessels remained low ($r = 0.48$, $P = 0.004$ and $r = 0.44$, $P = 0.06$, respectively). Furthermore, significant correlations were observed between the average Δ_{wood} and the ratio of earlywood width to total ring width ($r = 0.55$, $P = 0.01$), a parameter that is linked with EVSA and is easier to measure.

EVSA has been shown to be the most discriminating feature in the interspecific analysis of wood anatomy (Feuillat *et al.* 1997). Interestingly, there were no significant differences of intercept and slope between the *Q. robur* and *Q. petraea* regressions of Δ_{wood} upon EVSA, neither for the 1976 data nor for average Δ . This means that between-

Table 2. Pearson correlation coefficients between mean isotopic discrimination per tree and dendrometrical parameters (a) and between mean or 1976 isotopic discrimination and anatomical features (b)

(a)	Mean Δ_{wood}		
	<i>Q. robur</i> (<i>n</i> = 10)	<i>Q. petraea</i> (<i>n</i> = 10)	<i>Q. robur</i> and <i>Q. petraea</i> (<i>n</i> = 20)
Total height	-0.20	-0.35	-0.36
Crown base height	-0.41	-0.03	-0.06
Relative crown length	-0.30	-0.08	-0.10
Girth	-0.52	-0.01	-0.25
Crown horizontal projection area	-0.49	-0.12	-0.36
Age	-0.42	0.13	0.07

(b)	Mean Δ_{wood}			Δ_{1976}		
	<i>Q. robur</i> (<i>n</i> = 10)	<i>Q. petraea</i> (<i>n</i> = 10)	<i>Q. robur</i> and <i>Q. petraea</i> (<i>n</i> = 20)	<i>Q. robur</i> (<i>n</i> = 10)	<i>Q. petraea</i> (<i>n</i> = 10)	<i>Q. robur</i> and <i>Q. petraea</i> (<i>n</i> = 20)
Mean ring width	0.23	-0.16	-0.32	0.39	0.16	-0.12
1976 ring width	0.40	0.042	-0.18	0.51	0.26	-0.05
	(<i>n</i> = 10)	(<i>n</i> = 9)	(<i>n</i> = 19)	(<i>n</i> = 10)	(<i>n</i> = 9)	(<i>n</i> = 19)
Earlywood vessel surface area	0.84**	0.62(*)	0.79***	0.92***	0.72*	0.86***
Earlywood vessels number	0.28	0.32	0.48*	0.41	0.26	0.51*
Average surface area of individual vessels	0.64*	0.42	0.44(*)	0.60(*)	0.56	0.51*
Ratio of earlywood width to total ring width	0.55	0.28	0.55*	0.62*	0.36	0.62**

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

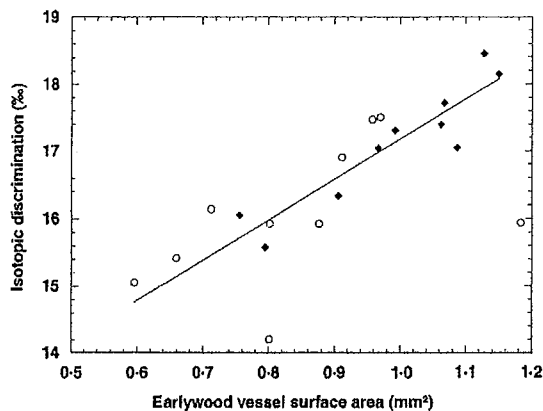


Figure 5. Relationship between isotopic discrimination during 1976 and average tree earlywood vessel surface area ($r = 0.79$, $P = 0.0001$) ($\circ = Q. petraea$, $\blacklozenge = Q. robur$).

tree differences in earlywood vessel surface area were sufficient to account for species differences of isotopic discrimination.

DISCUSSION

Interspecific variability in isotopic discrimination and WUE

Our results highlight the occurrence of interspecific differences in isotopic discrimination (in both wood cellulose and leaves) among adult trees from the two oak species, *Q. petraea* and *Q. robur*, growing in mixed stands. According to the Francey–Farquhar model (Francey & Farquhar 1982), it may be assumed that *Q. robur* displayed a lower intrinsic WUE than *Q. petraea* (average 13%). This difference is in agreement with measurements of instantaneous intrinsic WUE (ratio of net carbon assimilation rate to stomatal conductance for water vapour) recorded by Epron & Dreyer (1993) in a natural stand (average difference of 15% in a sample of four trees from each species). Two main sources of variation – one related to genotype and the other to environment – may be invoked to explain this interspecific variability in isotopic discrimination.

The observed interspecific differences in Δ_{wood} , and thus intrinsic WUE, had already appeared at the beginning of stand life (a century ago) and were kept almost constant with time. Both species displayed a decreasing Δ trend during the 20th century. This long-term trend in Δ has already been identified in several other species (Bert *et al.* 1997, Duquesnay *et al.* 1998). It could be because of the tree or stand age effects (changes of microenvironmental conditions during stand maturation and physiological changes related to structural development of the trees with ageing) or global environmental changes, such as the increase in atmospheric CO_2 concentration or nitrogen deposition. In our study, the effects of tree age and date were confounded, so that the separation between these two types of causes was not possible.

Besides the significant species effects, a large intraspecific variability was also observed. Intra-site variability of Δ is known to be large and ranges of values observed in each species (2.4‰ and 3.2‰ in *Q. robur* and *Q. petraea*, respectively) were of the same order of magnitude as those proposed by Leavitt & Long (1986) (2–3‰). The relative ranking among individual trees concerning Δ_{wood} was maintained throughout successive years, as found in numerous studies (Donovan & Ehleringer 1994; Flanagan & Johnsen 1995; Goulden 1996; Damesin, Rambal & Joffre 1998). This suggests strong genetic control over Δ .

Moreover, the homogeneity of environmental conditions observed in the sampled stands, as well as the lack of relationship between individual Δ_{wood} and any dendrometrical parameter, strengthens the hypothesis of a genetic control over the observed inter- and intraspecific differences of Δ . High heritabilities have been recorded for carbon isotope discrimination ($h^2 = 0.6$ – 0.9 , Farquhar *et al.* 1989). Nevertheless, it is not possible here to strictly dismiss the hypothesis that stable individual differences in Δ could be partly due to microsite differences (Battaglia & Williams 1996).

In mixed stands, *Q. petraea* commonly displays a larger radial growth than *Q. robur* (Lévy *et al.* 1992). However, no significant correlation was observed between the average individual Δ and the average individual ring width (Table 2b). Thus, if a higher WUE provides trees with some competitive advantage, this is due to processes not recorded in radial growth, such as the ability to survive strong drought events or the amount of carbon stored after the cessation of radial growth.

Relationship between isotopic discrimination and hydraulic properties of trees

The strong relationship observed in this study between Δ_{wood} and EVSA may be an index for the influence of the hydraulic properties of trees on carbon isotope discrimination. This relationship was exactly the same for *Q. robur* and *Q. petraea*, and thus seems to be of general applicability among trees of the white oak complex.

According to Poiseuille's law, xylem hydraulic conductivity is a function of conduit dimensions, and thus a function of EVSA. Interindividual variations in Δ , and in intrinsic WUE, are due to differences in stomatal conductance that may be linked with differences in xylem hydraulic conductivity. Different mechanisms directly coupling stomatal conductance to root-to-leaf conductance have been proposed (Sperry 2000; Nardini & Salleo 2000). An evolutionary trade-off between hydraulic conductivity and vulnerability to xylem embolism may also be the reason for an indirect link between stomatal and xylem conductance (Tyree, Davis & Cochard 1994). The better correlation observed between Δ (and WUE) and EVSA for the year 1976, which was affected by a long severe drought, suggests a causal link between these two variables because the degree of constraint imposed by hydraulic properties on stomatal conductance is expected to increase during water shortage.

Nevertheless, the alternative hypothesis that the relationship between isotopic discrimination and EVSA is not directly causal but due to a common controlling factor cannot be discarded definitely. It is often assumed that resistance to water transport along the soil-to-leaf pathway is higher at the intervessel junctions (because of low conductance of pit membranes) or at branch junction constrictions. Consequently, vessel diameter is not always the most limiting factor controlling the total resistance to water transfer. Thus, the relationship we observed between Δ and EVSA could be the indirect consequence of a more global correlation between hydraulic conductances of the different components of the total hydraulic system.

CONCLUSIONS

The present study revealed a lower Δ in *Q. petraea* than in *Q. robur*. This can be interpreted as the result of a higher intrinsic WUE. The strong relationship recorded between Δ and the earlywood vessel surface area supports the hypothesis of interspecific differences in hydraulic conductance related to the respective species' ecological optimum. Under natural conditions, *Q. robur* preferentially colonizes wet bottom lands whereas *Q. petraea* prefers slopes and the tops of hills. Even small environmental differences in soil water regime may strongly select plant genotypes with adapted strategies for water transport reflected in hydraulic architecture. *Quercus robur* appears as a species maximizing water transfer capacity in the xylem, whereas *Q. petraea* seems to favour the avoidance of drought-induced embolism. This view takes into account the lower vulnerability to drought-induced embolism observed in *Q. petraea* and the larger growth rates of *Q. robur* observed with seedlings or adult trees growing in pure and well-watered stands.

In most mixed stands, like the forest of Cîteaux, habitats are more favourable to *Q. petraea* but *Q. robur* has been introduced or maintained by forestry management. This may in turn lead to the observed higher sensitivity of *Q. robur* to drought-induced declines.

ACKNOWLEDGMENTS

S.P. was supported by a PhD grant from Institut National de la Recherche Agronomique and from the Regional Council of Lorraine. This study was carried out with financial support from the Commission of the European Communities, Agriculture and Fisheries (FAIR) specific RTD programme (PATHOAK), CT97-3926 ('Long-term dynamics of oak ecosystems: assessment of the role of root pathogens and environmental constraints as interacting decline inducing factors'). It in no way represents the views of the Commission or its services or their future policy in this area. We gratefully acknowledge the technical assistance of Patrick Behr, Christian Kieffer and Sébastien Diette during field work and measurements. We thank Claude Bréchet for advice in mass-spectrometric analysis, Jean-Marc Guehl for

helpful discussions and Christopher Swanston for correcting the English grammar of the manuscript.

REFERENCES

- Anonymous (1992) *Visilog 4® Reference Guide*. Noesis, Vélizy, France.
- Battaglia M. & Williams K.J. (1996) Mixed species stands of *Eucalyptus* as ecotones on a water supply gradient. *Oecologia* **108**, 518–528.
- Becker M. (1989) The role of climate on present and past vitality of silver fir forests in the Vosges mountains of northeastern France. *Canadian Journal of Forest Research* **19**, 1110–1117.
- Becker M. & Lévy G. (1982) Le dépérissement du chêne en forêt de Tronçais. Les causes écologiques. *Annales des Sciences Forestières* **39**, 439–444.
- Benner R., Fogel M.L., Sprague E.K. & Hodson R. (1987) Depletion of ^{13}C in lignin and its implication for carbon isotope studies. *Nature* **329**, 708–710.
- Bert D., Leavitt S.W. & Dupouey J.-L. (1997) Variation of wood $\delta^{13}\text{C}$ and water use efficiency of *Abies alba* during the last century. *Ecology* **78**, 1588–1596.
- Bodénès C., Joandet S., Laigret F. & Kremer A. (1997) Detection of genomic regions differentiating two closely related oak species, *Quercus petraea* (Matt) Liebl and *Quercus robur* L. *Heredity* **78**, 433–444.
- Bonal D., Barigah T.S., Granier A. & Guehl J.-M. (2000) Late stage canopy trees species with extremely low $\delta^{13}\text{C}$ and high stomatal sensitivity to seasonal soil drought in the tropical rainforest of French Guiana. *Plant, Cell and Environment* **23**, 445–459.
- Bréda N., Granier A., Barataud F. & Moyne C. (1995) Soil water dynamics in an oak stand. *Plant and Soil* **172**, 17–27.
- Bréda N., Granier A., Dreyer E. & Cochard H. (1993) Field comparison of transpiration, stomatal conductance and vulnerability to cavitation of *Quercus petraea* and *Quercus robur* under water stress. *Annales des Sciences Forestières* **50**, 571–582.
- 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.). *Annales des Sciences Forestières* **49**, 225–233.
- Damesin C., Rambal S. & Joffre R. (1998) Seasonal and annual changes in leaf $\delta^{13}\text{C}$ in two co-occurring Mediterranean oaks: relations to leaf growth and drought progression. *Functional Ecology* **12**, 778–785.
- Donovan L.A. & Ehleringer J.R. (1994) Carbon isotope discrimination, water use efficiency, growth, and mortality in a natural shrub population. *Oecologia* **100**, 347–354.
- Dupouey J.-L. & Badeau V. (1993) Morphological variability of oaks (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* (Matt) Liebl, *Quercus pubescens* Willd) in northeastern France: preliminary results. *Annales des Sciences Forestières* **50**(suppl.), 35–40.
- Duquesnay A., Bréda N., Stievenard M. & Dupouey J.-L. (1998) Changes of tree-ring $\delta^{13}\text{C}$ and water use efficiency of beech (*Fagus sylvatica* L.) in north-eastern France during the past century. *Plant, Cell and Environment* **21**, 565–572.
- Epron D. & Dreyer E. (1993) Long-term effects of drought on photosynthesis of adult oak trees (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl. & *Quercus robur* L.) in a natural stand. *New Phytologist* **125**, 381–389.
- Farquhar G.D., Ehleringer J.R. & Hubick K.T. (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**, 503–537.
- Feuillat F., Dupouey J.-L., Sciana D. & Keller R. (1997) A new attempt at discrimination between *Quercus petraea* and *Quercus*

- robur* based on wood anatomy. *Canadian Journal of Forest Research* **27**, 343–351.
- Flanagan L.B. & Johnsen K.H. (1995) Genetic variation in carbon isotope and its relationship to growth under field conditions in full-sib families of *Picea mariana*. *Canadian Journal of Forest Research* **25**, 39–47.
- Francey R.J. & Farquhar G.D. (1982) An explanation of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ variation in tree rings. *Nature* **290**, 28–31.
- Gerber S., Mariette S., Streiff R., Bodénès C. & Kremer A. (2000) Comparison of microsatellites and amplified fragment length polymorphism markers for parentage analysis. *Molecular Ecology* **9**, 1037–1048.
- Goulden M.L. (1996) Carbon assimilation and water use efficiency by neighbouring Mediterranean-climate oaks that differ in water access. *Tree Physiology* **16**, 417–424.
- Guehl J.M., Domenach A.M., Bereau M., Barigah T.S., Casabianca H., Ferhi A. & Garbaye J. (1998) Functional diversity in an Amazonian rainforest of French Guyana: a dual isotope approach ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$). *Oecologia* **116**, 316–330.
- Jones H.G. & Sutherland R.A. (1991) Stomatal control of xylem embolism. *Plant, Cell and Environment* **14**, 607–612.
- Landmann G., Becker M., Delatour C., Dreyer E. & Dupouey J.-L. (1993) Oak dieback in France: historical and recent records, possible causes, current investigations. In *Rundgespräche der Kommission für Ökologie* Bd 5 (ed. Bayerische Akademie der Wissenschaften), pp. 97–114. Verlag F. Pfeil, Munich.
- Leavitt S.W. & Danzer S.R. (1993) Method for batch processing small wood samples to holocellulose for stable-carbon isotope analysis. *Analytical Chemistry* **65**, 87–89.
- Leavitt S.W. & Long A. (1984) Sampling strategy for stable carbon analysis of tree rings in pine. *Nature* **311**, 145–147.
- Leavitt S.W. & Long A. (1986) Stable-carbon isotope variability in tree foliage and wood. *Ecology* **67**, 1002–1010.
- Lévy G., Becker M. & Duhamel D. (1992) A comparison of the ecology of pedunculate and sessile oaks: radial growth in the centre and northwest of France. *Forest Ecology and Management* **55**, 51–63.
- Nardini A. & Salleo S. (2000) Limitation of stomatal conductance by hydraulic traits: sensing or preventing xylem cavitation? *Trees* **15**, 14–24.
- Petit R.J., Wagner D.B. & Kremer A. (1993) Ribosomal DNA and chloroplast DNA polymorphisms in mixed stands of *Quercus robur* and *Quercus petraea*. *Annales des Sciences Forestières* **50**(suppl.), 41–47.
- Polge H., Lemoine M. & Deret E. (1977) Etude de la variabilité spécifique et infraspécifique de la structure juvénile du bois de chêne à l'aide d'un analyseur d'images. *Annales des Sciences Forestières* **34**, 285–292.
- Ryan M.G. & Yoder B.J. (1997) Hydraulic limits to tree height and tree growth: what keeps trees from growing beyond a certain height? *Bioscience* **47**, 235–242.
- SAS (1988) *SAS/STAT User's Guide, Release 6.03 Edition*. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Sperry J.S. (2000) Hydraulic constraints on plant gas exchange. *Agricultural and Forest Meteorology* **104**, 13–23.
- Tans P.P., De Jong A.F.M. & Mook W.G. (1978) Chemical pretreatment and radial flow of ^{14}C in tree rings. *Nature* **271**, 234–235.
- Tyree M.T. & Cochard H. (1996) Summer and winter embolism in oak: impact on water relations. *Annales des Sciences Forestières* **53**, 173–180.
- Tyree M.T., Davis S.D. & Cochard H. (1994) Biophysical perspectives of xylem evolution: is there a tradeoff of hydraulic efficiency for vulnerability to dysfunction? *IAWA Journal* **15**, 335–360.
- Vivin P., Aussenac G. & Lévy G. (1993) Differences in drought resistance among three deciduous oak species grown in large boxes. *Annales des Sciences Forestières* **50**, 221–233.
- Waring R.H. & Silvester W.B. (1994) Interpreting variation in carbon isotopes within tree crowns. *Tree Physiology* **14**, 1203–1213.

Received 15 December 2000; received in revised form 28 April 2001; accepted for publication 28 April 2001

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54601 VILLERS-LES-NANCY Cédex

Comparison of water-use efficiency of seedlings from two sympatric oak species: genotype × environment interactions

STÉPHANE PONTON,¹ JEAN-LUC DUPOUEY,¹ NATHALIE BRÉDA¹ and ERWIN DREYER^{1,2}

¹ Unité Mixte de Recherches, INRA-UHP-Nancy "Ecologie et Ecophysiologie Forestières," F 54280 Champenoux, France

² Author to whom correspondence should be addressed (dreyer@nancy.inra.fr)

Received June 11, 2001; accepted October 14, 2001; published online March 1, 2002

Summary Seedlings of two sympatric oak species, *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., were grown in common garden conditions to test for potential interspecific differences in intrinsic water-use efficiency (WUE). Intrinsic water-use efficiency was estimated based on carbon isotope composition of shoots ($\delta^{13}\text{C}$) and on gas exchange measurements (ratio of net CO_2 assimilation rate to stomatal conductance (A/g_{sw})). In addition, genotype × environment interactions were tested by subjecting the seedlings to four irradiance treatments (8, 18, 48 and 100% of incident solar irradiance) imposed by neutral shading nets, and, in the 100% irradiance treatment, two watering regimes. In all treatments, initial growth of *Q. robur* was faster than that of *Q. petraea*. In both species, there was a tight correlation between $\delta^{13}\text{C}$ and A/g_{sw} . Intrinsic water-use efficiency increased with increasing irradiance (almost doubling from 8 to 100% irradiance), and this effect paralleled the increase in A with increasing irradiance. In full sun, WUE of *Q. petraea* seedlings was 10–15% higher than in *Q. robur* seedlings, with the difference attributable to a difference between the species in g_{sw} . The interspecific difference in WUE was maintained during drought, despite the appreciable increase in WUE and decrease in growth imposed by drought. No interspecific differences in WUE were observed at low irradiances, suggesting a strong genotype × environment interaction for WUE. These findings confirm the existence of interspecific genetic differences in WUE, but also show that there is large intraspecific variability and plasticity in WUE. The initially greater height and biomass increments in *Q. robur* seedlings illustrate the ability of this species to out-compete *Q. petraea* in the early stages of forest regeneration. For adult trees growing in closed canopies, the high WUE of *Q. petraea* may contribute significantly to its survival during dry years, whereas the low WUE of *Q. robur* may account for the frequently observed declines in adult trees of this species following drought.

Keywords: carbon isotope composition, gas exchange, interspecific variability, light, *Quercus petraea*, *Quercus robur*.

Introduction

Quercus robur L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. are important, sympatric, broad-leaved forest tree species in western Europe. These species display a high genetic proximity with only a few distinctive genomic regions separating one from the other (Bodénès et al. 1997). It has often been observed that *Q. robur* exhibits severe declines after drought events, whereas *Q. petraea* is much less affected. Soil water deficit is a major inducing factor in many of these decline episodes (Landmann et al. 1993). Such declines were particularly obvious in France after the drought events of 1976 (Becker and Lévy 1982) and during the 1980s. In addition to these observations, ecological surveys show that *Q. robur* is more frequent on soils with high water and nutrient availability than *Q. petraea* (Lévy et al. 1992). However, *Q. robur* may colonize habitats beyond its ecological niche, for instance on soils of low mineral fertility, high acidity and low water availability. This occurs as a result of management practices and because the species exhibits pioneering ecological characteristics. In unsuitable habitats, *Q. robur* frequently displays lower radial growth than co-occurring *Q. petraea* (Becker and Lévy 1982, 1990).

Numerous studies have focused on possible ecophysiological traits underlying the difference in drought tolerance between *Q. robur* and *Q. petraea*. Under natural conditions, adult *Q. robur* trees display a slightly higher vulnerability to water-stress-induced xylem embolism (Cochard et al. 1992, Tyree and Cochard 1996), a shallower root system (Bréda et al. 1993) and a lower intrinsic water-use efficiency (WUE; estimated as the ratio of net CO_2 assimilation rate to stomatal conductance) (Epron and Dreyer 1993) than adult *Q. petraea* trees. However, it is difficult to draw firm conclusions from these studies because many were based on local observations and short-term measurements made on a limited number of trees.

Unlike the ratio of net carbon dioxide assimilation to stomatal conductance for water vapor (A/g_{sw}), which provides an instantaneous measure of WUE, carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$) provides a time-integrated estimate of WUE (Farquhar et al. 1989). Recently, Ponton et al. (2001) reported that $\delta^{13}\text{C}$

of wood cellulose of the two species growing in mixed adult stands differed, indicating a 13% lower WUE for *Q. robur* compared with *Q. petraea*. This difference was stable with time, being already visible during the early stages of tree development, and occurring during both wet and dry years. Although a genetic basis for such in situ differences is highly probable, an interacting effect of micro-environmental variation could not be excluded. Therefore, we tested whether similar interspecific differences in WUE could be detected between seedlings of the two species growing under controlled and homogeneous conditions.

Reduced soil water availability results in increased $\delta^{13}\text{C}$, i.e., increased WUE (Farquhar et al. 1989, Picon et al. 1996, Brugnoli et al. 1998, Roupsard et al. 1998). Because the two oak species differ in drought tolerance, we also tested whether the potential interspecific difference in WUE was affected by varying soil water availability. In addition to water availability, variability in irradiance is a major factor governing seedling growth in forest ecosystems. *Quercus robur* is more heliophilic than *Q. petraea* during the early stages of development. It is also well known that $\delta^{13}\text{C}$ increases with irradiance (Farquhar et al. 1989, Broadmeadow and Griffiths 1993); e.g., in vertical transects from lower-canopy to upper-canopy leaves. However, the increase in $\delta^{13}\text{C}$ from lower-canopy leaves to upper-canopy leaves may be a result of the combined effects of changes in $\delta^{13}\text{C}$ of source CO_2 , which is usually lower in the lower canopy because of respiratory recycling below canopies (Schleser and Jayasekera 1985, Berry et al. 1997, Hanba et al. 1997), and of changes in WUE (Farquhar et al. 1989, Zimmerman and Ehleringer 1990). It is possible that changes in WUE occur in response to decreased vapor pressure deficit (VPD) or as a result of the direct effects of a change in irradiance. In an experiment with banana (*Musa* sp.), large decreases in A/g_{sw} and $\delta^{13}\text{C}$ were observed when incident irradiance was reduced experimentally with almost no change in VPD, indicating that the effect could be attributed largely to reduced photosynthetic capacity (Israeli et al. 1996).

Our first objective was to determine whether the interspecific differences in WUE observed in adult trees (Ponton et al. 2001) are genetically determined, i.e., species specific, and whether they are expressed in seedling phenotypes. Our second objective was to evaluate the impact of gradients in light availability on oak $\delta^{13}\text{C}$ and to compare light-induced variations in WUE between the two species. We assessed WUE by means of both gas exchange measurements (A/g_{sw}) and carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$). The gas exchange measurements were used to infer inter- and intraspecific differences in WUE were a result of stomatal control or changes in photosynthetic capacity.

Materials and methods

In autumn 1997, acorns were collected under individual trees of *Q. petraea* and *Q. robur* in two adjacent pure stands of each species growing in the forest of Perseigne, France (48°24'21" N, 0°19'33" W). Adult trees were identified based on acorn

peduncle size and characteristic leaf traits (Dupouey and Badeau 1993). Acorns were heat treated to destroy fungi (Delatour et al. 1980) and treated with the fungicide, Rodiazan®, then stored at -1 °C. After weighing, acorns were sown during May 1998, in 10-dm³ plastic containers filled with a 2:1 (v/v) sand:peat mixture. The pots were placed in an experimental nursery (Champenoux, Nancy, France). The seedlings were automatically irrigated twice a day and fertilized twice during summer (Nutricote®, Chisso-Asahi, Tokyo, Japan, N:P:K, 13:13:13 + trace elements, 40 g per pot).

The containers were distributed among three shelters built with polyethylene nets incorporating aluminum strips. Different mesh sizes provided transmitted irradiances corresponding to 8 (deep shade), 18 (medium shade) and 48% (light shade) of external global radiation. The control treatment (100%; full sun) was installed in a net-free area. A mobile weather station recorded the mean climate in the different shelters during Year 1 (2 weeks in each shelter), and permanently installed sensors (thermistors and Vaisala hygrometers (Vaisala, Helsinki, Finland)) provided records of temperature and relative humidity in Year 2. The shelter transmittance resulted in global radiation and photosynthetic photon flux densities close to the target values. Air temperature was only slightly modified by the shelters (data not shown). During 1999, the shelter temperature exceeded the lowest (below 15 °C) and highest (above 25 °C) external temperatures by 1 °C at most. The deviation was greater in the deep shade shelter than in the other treatments. In the 15–25 °C range, there was no visible deviation from external temperatures. The VPD in the shelters was usually slightly lower than in full light, and the difference varied from 80 to 160 Pa over the range 0 to 2500 Pa. No significant difference in VPD was detected among the three shelters.

From July 5, 1999 to the end of the experiment, the seedlings growing in full sun were divided into two sets of 20 individuals (10 *Q. petraea* and 10 *Q. robur*). A moderate drought was applied to one group of seedlings, whereas the other group was well watered. Three or four times a week, all containers were weighed and water added to maintain soil water content at field capacity for the control treatment, and at 30% of field capacity for the water-stress treatment. To avoid uncontrolled water supply by rain, a polyethylene roof was erected above the seedlings.

The experiment was continued for two growing seasons (from seed germination until the end of summer 1999). Growth and $\delta^{13}\text{C}$ were measured at the end of each season, on 10 seedlings per species and treatment. Gas exchange measurements were performed during the second year on the seedlings that had been selected for growth and isotopic composition measurements.

Gas exchange measurements and water relations

Net CO_2 assimilation rate (A) and stomatal conductance (g_{sw}) to water vapor were monitored weekly between June 2 and September 2, 1999, with a portable photosynthesis system (LI-6200, Li-Cor, Lincoln, NE) with a 4-dm³ assimilation

chamber, on 10 saplings per species in each of the five treatments. Measurements were performed on one sun-exposed leaf per tree under various, but stable, conditions of sunshine. Leaves were selected on the last fully expanded growth flush, and the measurement leaf was changed after each new growth flush. At the end of the experiment, seedlings had developed two or three flushes, depending on the irradiance treatment. Drought stress began after full expansion of the second growth flush. Gas exchange parameters were calculated on a leaf area basis. Leaf area was estimated a posteriori with an area meter (Delta T Devices, Cambridge, U.K.).

Volumetric soil water content was assessed several times during the drought experiment by time domain reflectometry (Trase system, Soil Moisture Equipment, Santa Barbara, CA). Predawn (Ψ_{pd}) and midday (Ψ_{md}) leaf water potentials were measured with a pressure chamber (PMS Instrument, Corvallis, OR) on September 8, 1999 (end of the drought experiment) on one leaf per seedling.

Growth measurements

At the end of the first year (summer 1998), 10 seedlings were harvested per treatment and species. Height, stem basal diameter and total leaf area (LI-3000A and LI-3100, Li-Cor) were measured. Roots were washed, and leaves, stems and roots were oven dried at 60 °C for 72 h. Dry biomass was estimated per compartment (roots, stems, leaves from the successive growth flushes). Mean leaf mass per area (LMA) was calculated for each flush and seedling.

During the second year, height and diameter were measured on 100 saplings at the beginning and at the end of the growth season. At the end of the experiment (September 1999), all seedlings were harvested, and biomass was estimated as at the end of the first year.

Carbon isotope composition measurement

Before sowing, $\delta^{13}\text{C}$ was measured in the cotyledons of 10 acorns per species. At the end of the first year (summer 1998), all leaves from each single flush were pooled for each of the 10 selected seedlings per species and treatment. Stable carbon isotope composition was measured in leaves ($\delta^{13}\text{C}_{\text{flush1}}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{flush2}}$) and stem ($\delta^{13}\text{C}_{\text{stem}}$). The same measurements were performed on all 100 remaining seedlings at the end of the second year (summer 1999). In addition, to analyze the effect of drought on stem isotopic composition, $\delta^{13}\text{C}$ of third flush stems (flush developed during the drought) was measured. Dry material was finely ground and a 1-mg sample was analyzed. Stable carbon isotope composition was measured with a continuous-flow elemental analyzer (Carlo Erba Analyzer-NA1500, Rodano, Italy) interfaced with an isotope mass spectrometer (Finnigan Mat, Delta S, Bremen, Germany). Stable carbon isotope ratio was expressed as the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio relative to the Pee Dee Belemnite standard ($\delta^{13}\text{C}$; ‰). The precision of spectrometric analysis (standard deviation of δ) of a laboratory standard (ground needles of *Pinus pinaster* Ait.) was 0.19‰ ($n = 32$). Leaf nitrogen concentration on an area basis was calculated from the mass-based nitrogen concentration

(measured with the elemental analyzer) and LMA.

An integrated $\delta^{13}\text{C}$ value of the whole shoot was calculated as the mean of the leaf and stem compartment values weighted by their respective biomass.

Data analysis

The experiment was analyzed as a full factorial design with two main factors: species (two levels) and irradiance regime (four levels), with 10 replicate saplings per treatment. The effect of drought was analyzed separately, as a two factorial design (species and irrigation regime), with 10 replicates. The following model (Model 1) was applied in both cases:

$$Y_{ijk} = a + b_i + c_j + (bc)_{ij} + e_{ijk}, \quad (\text{Model 1})$$

where Y_{ijk} = measured values for seedling k , within species j , under treatment i ; a = constant; b_i = effect of light or drought; c_j = effect of species j ; $(bc)_{ij}$ = interaction between effects of treatment and species; and e_{ijk} = error term.

Data are presented as means $\pm$ standard deviation, with $n = 10$. Data were analyzed with the SAS statistical package (1988; SAS Institute, Cary, NC). The relationship between variables was estimated by Pearson's correlation coefficients. At the intra-treatment level, correlation analysis was performed on the residuals of Model 1 in order to take the whole sampling into account. Bonferroni tests were used for comparisons of means.

Results

Growth

Acorn biomass was significantly ($P < 0.001$) larger in *Q. robur* (3.2 ± 0.8 g) than in *Q. petraea* (1.6 ± 0.4 g). At the end of the first year of growth (1998), seedlings had accumulated around 2 to 8 g total biomass, and significant interspecific differences in biomass were detected between light treatments ($P < 0.05$), with higher values for *Q. robur* than for *Q. petraea* in all treatments (Figure 1). The effect of irradiance varied with species. Total biomass of *Q. robur* seedlings increased with increasing irradiance up to 48% of incident irradiance, then slightly decreased in full sun, whereas total biomass of *Q. petraea* did not vary significantly among irradiance treatments during the first growing season. The irradiance regime also influenced seedling height, root/shoot ratio, total leaf area and leaf mass to area ratio (LMA) in both species ($P < 0.001$). Across all treatments and both species, there was a significant positive correlation between acorn and seedling biomass $r^2 = 0.64$, $P < 0.001$). This correlation was lower for *Q. robur* alone $r^2 = 0.50$, $P < 0.001$) and not significant for *Q. petraea* $r^2 = 0.27$, $P > 0.05$). In full sun, a significant correlation between acorn weight and seedling biomass $r^2 = 0.90$, $P < 0.001$), height $r^2 = 0.91$, $P < 0.001$), basal stem diameter $r^2 = 0.88$, $P < 0.001$), total leaf area $r^2 = 0.87$, $P < 0.001$) and root/shoot ratio $r^2 = -0.70$, $P < 0.05$) was detected in *Q. robur* seedlings. These high correlations suggest a maternal effect on seedling growth during the first year.

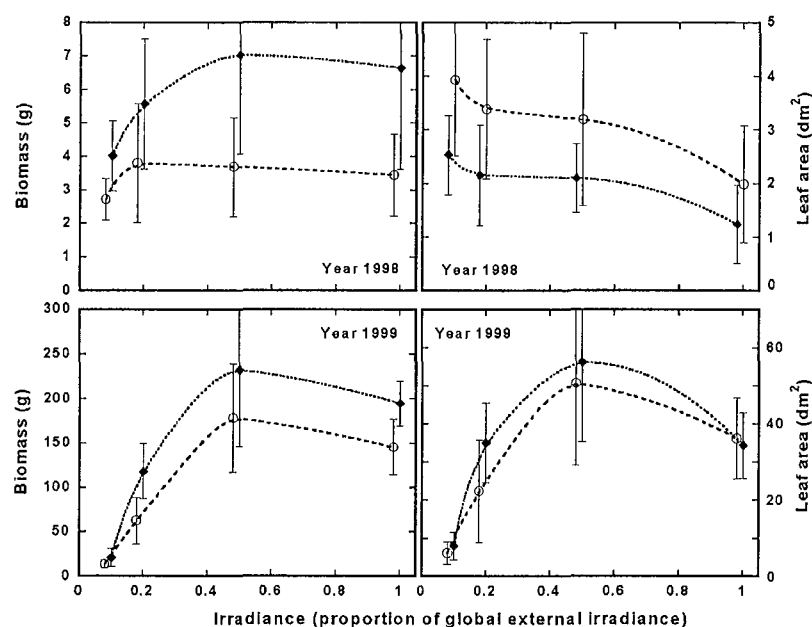


Figure 1. Total biomass and leaf area of two oak species ($\circ$: *Q. petraea*; $\blacklozenge$: *Q. robur*) measured at the end of the first and second year of growth as a function of irradiance regime expressed as fraction of external solar irradiance. Values are means $\pm$ SD.

Biomass increment was 3–20 times larger during the second year than during the first year, depending on irradiance regime (Figure 1). Again, *Q. robur* had a larger biomass than *Q. petraea* (30 to 100% larger depending on irradiance). In both species, biomass increment increased significantly with increasing irradiance from 8 to 48% of incident irradiance (Figure 1), but decreased slightly as incident irradiance increased from 48 to 100%. Final height, stem diameter and total leaf area paralleled the response of biomass to irradiance (Table 1), except for *Q. robur* height, which was maximum in the treatment providing 18% of incident irradiance. There was an increasing trend in LMA with both irradiance and growth flush. Root/

shoot ratio was unaffected by irradiance (data not shown). Leaf N concentration per area (N_a) was similar in the two species and increased significantly ($P < 0.01$) with irradiance. Overall, irradiance effects on growth parameters were larger and interspecific differences were smaller during the second year than during the first year of growth.

Drought was moderate but constant throughout the summer (not shown). Drought significantly ($P < 0.001$) reduced pre-dawn leaf water potential (Ψ_{pd}) from -0.20 to -0.51 MPa in *Q. petraea*, and from -0.28 to -0.55 MPa in *Q. robur*, but had no effect on midday leaf water potential (Ψ_{md}). No interspecific difference was observed in leaf water potential. After

Table 1. Mean height, leaf mass to area ratio (LMA) and leaf nitrogen concentration per unit leaf area (N_a) at the end of the first and second year of growth as a function of irradiance regime (expressed as fraction of external solar irradiance). Values are means $\pm$ SD, $n = 10$. Different letters within an irradiance regime and a year indicate significant interspecific differences.

Species		8%	18%	48%	100%
<i>Year 1998</i>					
Height (cm)	<i>Q. petraea</i>	27.1 $\pm$ 3.1 a	22.7 $\pm$ 7.4 a	16.1 $\pm$ 4.4 a	11.2 $\pm$ 2.8 a
	<i>Q. robur</i>	31.2 $\pm$ 7.5 a	30.2 $\pm$ 6.4 b	27.7 $\pm$ 9.7 b	19.0 $\pm$ 5.7 b
LMA (g m ⁻²)	<i>Q. petraea</i>	48.7 $\pm$ 5.5 b	60.1 $\pm$ 5.9 b	67.2 $\pm$ 6.8 a	89.6 $\pm$ 11.8 a
	<i>Q. robur</i>	38.7 $\pm$ 2.6 a	54.8 $\pm$ 5.9 a	61.0 $\pm$ 7.7 a	87.0 $\pm$ 8.8 a
N_a (g m ⁻²)	<i>Q. petraea</i>	1.7 $\pm$ 0.3 a	2.1 $\pm$ 0.2 a	2.2 $\pm$ 0.4 a	2.6 $\pm$ 0.6 a
	<i>Q. robur</i>	1.5 $\pm$ 0.2 a	2.0 $\pm$ 0.2 a	2.3 $\pm$ 0.4 a	2.7 $\pm$ 0.5 a
<i>Year 1999</i>					
Height (cm)	<i>Q. petraea</i>	40.8 $\pm$ 13.9 a	76.8 $\pm$ 28.7 a	130.4 $\pm$ 47.7 a	53.2 $\pm$ 14.5 a
	<i>Q. robur</i>	72.1 $\pm$ 18.7 b	155.2 $\pm$ 57.3 b	114.8 $\pm$ 26.7 a	62.6 $\pm$ 12.1 a
LMA (g m ⁻²)	<i>Q. petraea</i>	39.9 $\pm$ 15.7 a	59.8 $\pm$ 7.0 b	63.8 $\pm$ 10.4 a	55.7 $\pm$ 33.2 a
	<i>Q. robur</i>	41.3 $\pm$ 6.6 a	49.5 $\pm$ 12.3 a	58.7 $\pm$ 1.7 a	69.3 $\pm$ 38.4 a
N_a (g m ⁻²)	<i>Q. petraea</i>	1.6 $\pm$ 0.4 a	2.0 $\pm$ 0.4 a	1.8 $\pm$ 0.4 a	2.3 $\pm$ 0.6 a
	<i>Q. robur</i>	1.5 $\pm$ 0.2 a	1.9 $\pm$ 0.4 a	1.8 $\pm$ 0.2 a	2.7 $\pm$ 0.3 a

each biweekly watering, soil volumetric water content reached about 30 and 15% in the control and water-stress treatments, respectively. It decreased to 19 and 10% when measured before the next watering.

Growth was affected more severely by drought in *Q. petraea* than in *Q. robur*, although no significant interaction between species and drought was detected. Drought limited biomass increment (38 and 50% decrease with respect to controls in *Q. robur* and *Q. petraea*, respectively, $P < 0.001$), total leaf area (18 and 55%, $P < 0.001$) and diameter ($P < 0.001$), but did not modify the root/shoot ratio. Height of water-stressed seedlings was less than that of controls in *Q. petraea* only ($P < 0.05$).

Stable carbon isotope ($\delta^{13}\text{C}$)

Significant differences ($P < 0.001$) in $\delta^{13}\text{C}$ of acorns were detected between *Q. petraea* ($-24.2 \pm 1.1\text{‰}$) and *Q. robur* ($-25.7 \pm 1.2\text{‰}$, Figure 2). During the first year of growth, $\delta^{13}\text{C}$ of shoots increased significantly with irradiance in both species ($P < 0.001$, Figure 2). However, the increase was larger for *Q. petraea* (2.5‰) than for *Q. robur* (1.8‰), indicating a 51 and 38% increase in WUE with increasing irradiance for *Q. petraea* and *Q. robur*, respectively (Farquhar et al. 1989). Values of $\delta^{13}\text{C}$ followed the same pattern in stems and leaves of the two growth flushes, but were higher in leaves from the second flush than in leaves from the first flush, and lower in stems (not shown). The interspecific difference in $\delta^{13}\text{C}$ was significant in shoots ($P < 0.001$) and stems ($P < 0.001$), but not in leaves (Table 2). However, within each treatment, the interspecific difference in $\delta^{13}\text{C}$ was significant only in the 18% of incident irradiance treatment ($P < 0.05$) and in full sun ($P < 0.01$) for $\delta^{13}\text{C}_{\text{shoot}}$.

During the second year (summer 1999), most of the seedlings produced three flushes. The effect of irradiance on $\delta^{13}\text{C}_{\text{shoot}}$ followed the same pattern as during the first year, but was more marked (4.5 and 3.8‰ difference between the deep shade and full sun treatments for *Q. petraea* and *Q. robur*, respectively, yielding 86 and 72% greater WUE; Figure 2). This increase was a result of lower values in the treatment providing 8% of incident irradiance and higher values in full sun during the second year. Model 1 revealed no significant difference between species in any plant organ (Table 2). When each

Table 2. Analysis of variance of effects of intensities (four intensities), species (*Q. robur* and *Q. petraea*) and the irradiance $\times$ species (Irrad. $\times$ Spec.) interaction on $\delta^{13}\text{C}$ of stems, leaves (Flush 1, 2 and 3) and whole shoot after 1 and 2 years of growth. Values correspond to the F -value. The P -values are denoted as: (*) = $P < 0.1$; * = $P < 0.05$; ** = $P < 0.01$; *** = $P < 0.001$; and nonsignificant otherwise.

	Leaves (Flush 1)	Leaves (Flush 2)	Leaves (Flush 3)	Stems	Shoot
Year 1998					
Irradiance	6.4***	42.1***	–	35.2***	52.0***
Species	1.3	3.4(*)	–	10.6**	14.4***
Irrad. $\times$ Spec.	1.4	0.9	–	2.7(*)	1.4
Model	3.5**	18.3***	–	17.5***	23.9***
Year 1999					
Irradiance	71.1***	98.6***	108.1***	164.1***	161.2***
Species	0.7	1.4	1.4	1.3	0.07
Irrad. $\times$ Spec.	2.7(*)	6.2***	5.4**	4.5**	4.2**
Model	32.0***	45.8***	48.8***	72.4***	71.2***

treatment was analyzed separately (Figure 2), significant interspecific differences in $\delta^{13}\text{C}_{\text{shoot}}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{leaf}}$ were observed in the 18% of incident irradiance treatment ($P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively) and in full sun ($P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively). This difference was significant in $\delta^{13}\text{C}_{\text{stem}}$ ($P < 0.01$) only in full sun. The interspecific difference in $\delta^{13}\text{C}_{\text{shoot}}$ corresponded to a 7% higher WUE in *Q. petraea* than in *Q. robur* in full sun, and to a lower WUE in the treatment providing 18% of incident irradiance.

In both species, water-stressed seedlings displayed significantly higher $\delta^{13}\text{C}_{\text{shoot}}$ than controls (1.0 and 0.8‰ for *Q. petraea* and *Q. robur*, respectively, i.e., 10 and 9% higher WUE; Figure 3). Under drought conditions, the interspecific difference in $\delta^{13}\text{C}$ remained significant ($P < 0.01$) in stems, leaves and shoot (Table 3). This difference slightly increased $\delta^{13}\text{C}$ in the shoot (0.1‰) and leaves (0.3‰), but had no effect on $\delta^{13}\text{C}$ in stems, compared with control seedlings.

Leaf gas exchange

Irradiance affected net carbon assimilation rate (A), stomatal conductance (g_{sw}) and instantaneous WUE (A/g_{sw}), with an interspecific difference only in A (Table 4). Water supply af-

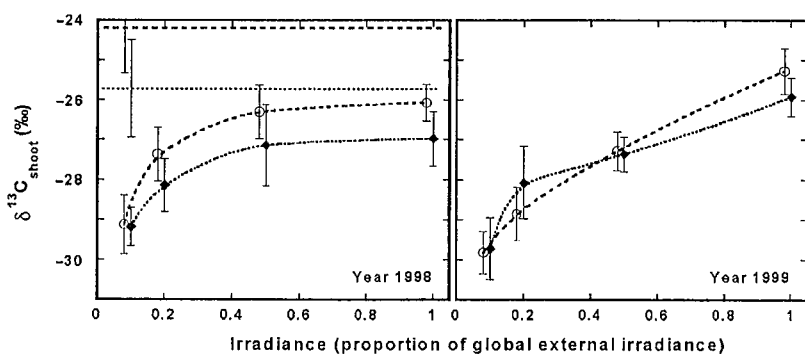


Figure 2. Variation in $\delta^{13}\text{C}$ in shoots of seedlings of the two oak species measured at the end of the first and second years of growth as a function of irradiance regime. Values are means $\pm$ SD, $n = 10$. Horizontal lines correspond to the mean $\delta^{13}\text{C}$ of 10 acorns per species (long dashes: *Q. petraea*; short dashes: *Q. robur*).

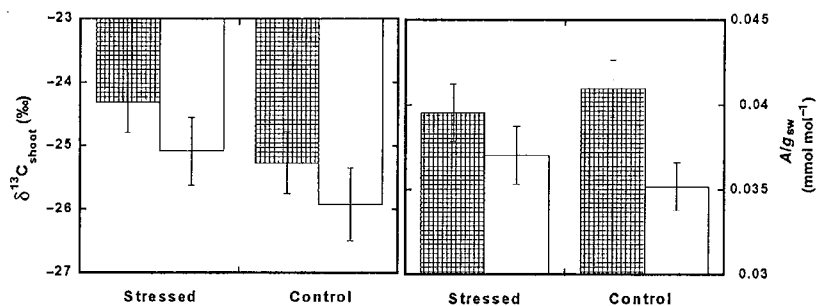


Figure 3. Mean $\delta^{13}\text{C}$ (measured in shoots at the end of the second year of growth) and A/g_{sw} of water-stressed and control seedlings from the two oak species. Values are means $\pm$ SD (cross-hatched columns: *Q. petraea*, blank columns: *Q. robur*).

fects A and g_{sw} but not A/g_{sw} , whereas interspecific differences were detected for g_{sw} and A/g_{sw} .

As expected, A increased almost four times as irradiance increased from 8 to 100% of full sun ($P < 0.001$, Figure 4). The increase in A was larger for *Q. robur* than for *Q. petraea*. In the latter species, a plateau was reached at 18% of incident solar irradiance. Stomatal conductance (g_{sw}) paralleled A in *Q. robur*. In *Q. petraea*, g_{sw} increased as incident irradiance increased from 8 to 18% but remained stable as incident irradiance increased from 18 to 100%. Instantaneous water-use efficiency (A/g_{sw}) increased with increasing irradiance in *Q. petraea* (43%, $P < 0.001$), and in *Q. robur* (27%, $P < 0.05$), but displayed a plateau at incident irradiances above 48% in *Q. robur* (data not shown). Interspecific differences in A ($P < 0.05$), g_{sw} ($P < 0.001$) and A/g_{sw} ($P < 0.001$) were observed only in full sun. *Quercus robur* displayed higher A and g_{sw} than *Q. petraea* (18 and 34%, respectively), and 11% lower A/g_{sw} values. At the intra-treatment level under control conditions, A/g_{sw} was strongly correlated with g_{sw} (linear relationship with $1/g_{\text{sw}}$: $n = 80$, $r = 0.77$, $P < 0.001$) but not with A . However, the inter-treatment variations in A/g_{sw} were mainly a result of variations in A , because positive correlations were observed between treatment mean A/g_{sw} and both A ($n = 4$, $r = 0.93$) and g_{sw} ($n = 4$, $r = 0.79$).

Relationships between $\delta^{13}\text{C}$ and A/g_{sw} were recorded on the leaves of the last growth flush, and averaged for each seedling (12 repeated individual measurements per leaf). A tight correlation was observed between A/g_{sw} and $\delta^{13}\text{C}_{\text{shoot}}$ ($n = 40$, $r = 0.87$, $P < 0.001$ for *Q. petraea* and $n = 40$, $r = 0.82$, $P < 0.001$ for *Q. robur*; Figure 5). Correlations of the same order of mag-

nitude were observed with $\delta^{13}\text{C}_{\text{leaf}}$ of the last developed flush instead of $\delta^{13}\text{C}_{\text{shoot}}$. A large fraction of the observed variability was related to variability in A (Table 4). When taking into account only the intra-treatment variability under control conditions, $\delta^{13}\text{C}_{\text{shoot}}$ was significantly correlated with both A/g_{sw} ($n = 80$, $r = 0.42$, $P < 0.001$) and g_{sw} ($n = 80$, $r = -0.49$, $P < 0.001$), but not with A .

Water-stressed seedlings of both species displayed significantly lower values of A and g_{sw} than controls ($P < 0.001$, not shown). The effect of water stress on gas exchange was more pronounced for *Q. robur* than for *Q. petraea*, but did not significantly change A/g_{sw} . Under drought conditions, there was no difference in A , g_{sw} and A/g_{sw} between the two *Quercus* species. No significant correlation was observed between $\delta^{13}\text{C}$ and gas exchange in water-stressed seedlings.

Discussion

Interspecific differences in $\delta^{13}\text{C}$ and WUE in *Q. petraea* and *Q. robur* seedlings in full sun

In agreement with observations in adult oaks (Ponton et al. 2001), seedlings of *Q. petraea* consistently displayed a higher $\delta^{13}\text{C}$ when grown in full sun than did seedlings of *Q. robur*. This difference translated into a 7 to 10% larger WUE in *Q. petraea* than in *Q. robur* during the second year of growth,

Table 4. Analysis of variance of the effects of irradiance (a) or drought (b), species and their interaction on net carbon assimilation (A), stomatal conductance to water vapor (g_{sw}) and instantaneous WUE (A/g_{sw}) measured during the second year of growth. Values correspond to the F -value. The P -values are denoted as: (*) = $P < 0.1$; * = $P < 0.05$; ** = $P < 0.01$; *** = $P < 0.001$; and nonsignificant otherwise.

Source of variation	A	g_{sw}	A/g_{sw}
a. Irradiance	268.6***	45.0***	9.6***
Species	12.4***	2.9	0.0
Irradiance $\times$ Species	3.4*	4.6**	2.1
Model	118.6***	21.8***	5.1***
b. Water supply	41.5***	42.9***	0.1
Species	2.5	10.5***	11.3**
Water supply $\times$ Species	2.9	5.2*	1.8
Model	15.7***	19.8***	4.5**

Table 3. Analysis of variance of the effects of water supply, species, and water supply $\times$ species (Water $\times$ Spec.) interaction on $\delta^{13}\text{C}$ of leaves (Flush 1, 2 and 3), stems and shoot at the end of the second year of growth. Values correspond to the F -value. The P -values are denoted as: (*) = $P < 0.1$; * = $P < 0.05$; ** = $P < 0.01$; *** = $P < 0.001$; and nonsignificant otherwise.

Year 1999	Leaves (Flush 1)	Leaves (Flush 2)	Leaves (Flush 3)	Stems	Shoot
Water supply	4.0(*)	9.3**	15.2***	39.6***	29.3***
Species	20.5***	19.1***	9.9**	24.8***	18.5***
Water $\times$ Spec.	0.6	0.1	0.0	0.0	0.1
Model	8.4***	9.5***	8.4***	22.1***	16.4***

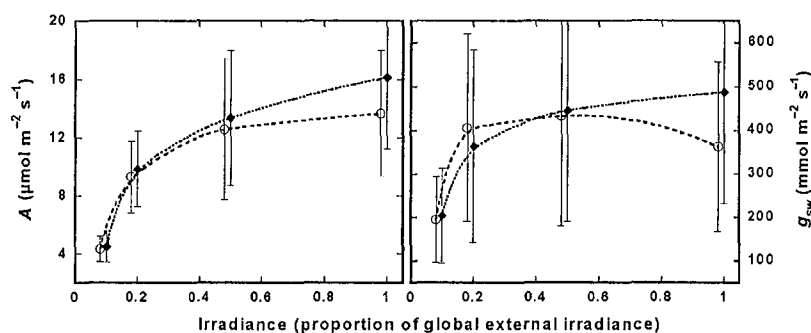


Figure 4. Net CO₂ assimilation rate and stomatal conductance of two oak species as a function of irradiance regime. Values are means $\pm$ SD; $n = 10$ individuals and 12 repeated measurements.

which is close to the 13% difference estimated in adult trees (Ponton et al. 2001). However, it contrasts with the lack of interspecific difference reported in other seedling studies (Thomas and Gausling 2000). Likewise, gas exchange measurements on seedlings grown in lysimeters (Vivien et al. 1993) revealed no difference between species. Our gas-exchange-based estimates of WUE resulted in a 11–14% interspecific difference, similar to the 15% found in a sample of four adult trees from each species (Epron and Dreyer 1993).

When data from all irradiance treatments were analyzed, $\delta^{13}\text{C}$ was found to be closely correlated with A/g_{sw} . This tight correlation obtained during the second year of growth validates the use of $\delta^{13}\text{C}$ as a time-integrated estimate of WUE. Such validation is usually difficult to obtain because of discrepancies in time integration among the two variables (instantaneous for A/g_{sw} and integrated over the growth season for $\delta^{13}\text{C}$). Similar validations have been found when comparing continuous online measurements of $\delta^{13}\text{C}$ and gas exchange (Farquhar et al. 1989, von Caemmerer and Evans 1991), or when using soluble carbohydrate $\delta^{13}\text{C}$, which integrates dis-

crimination over short timescales (Brugnoli et al. 1988, 1998, Picon et al. 1997). In addition, we demonstrated that, within an irradiance treatment, i.e., at the inter-plant and interspecific level, the variability in $\delta^{13}\text{C}$ was largely related to variation in g_{sw} and not to A , which is similar to findings in tropical tree species (Bonal et al. 2000).

The interspecific differences in $\delta^{13}\text{C}$ recorded during the second year of growth were probably largely a result of discrimination during CO₂ assimilation. Similar data recorded after the first year of growth have to be analyzed with more caution. Indeed, the large interspecific difference in $\delta^{13}\text{C}$ of acorns, and the small difference in biomass between acorns and seedlings suggests a maternal effect resulting from carbon translocation from acorns to seedlings.

The interspecific difference in WUE was related to a difference in g_{sw} , because *Q. petraea* was found to operate at smaller g_{sw} than *Q. robur*. Although we did not establish why *Q. petraea* operates at low g_{sw} in full sun, the hydraulic constraints may be larger in *Q. petraea* than in *Q. robur* (Ponton et al. 2001).

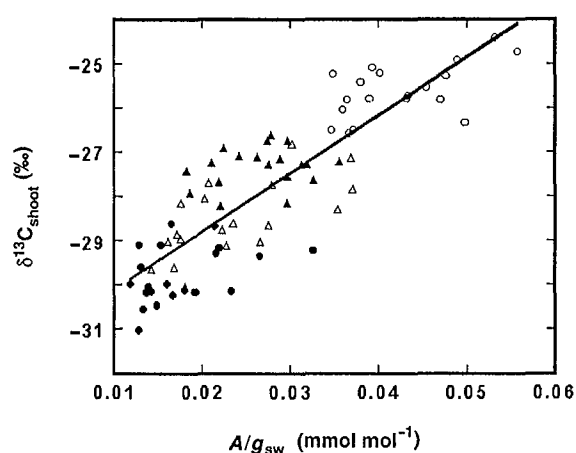


Figure 5. Relationship between individual $\delta^{13}\text{C}_{\text{shoot}}$ and mean instantaneous water-use efficiency (A/g_{sw} , 12 repeated measurements per leaf, last developed growth flush) in seedlings of *Q. petraea* and *Q. robur* grown in four irradiance regimes (●: 8%, △: 18%, ▲: 48%, ○: 100%). The linear regression between A/g_{sw} and $\delta^{13}\text{C}_{\text{shoot}}$ was similar for the two species.

Effect of irradiance on $\delta^{13}\text{C}$ and WUE

Several authors have shown that decreasing irradiance immediately results in lower leaf $\delta^{13}\text{C}$ (von Caemmerer and Evans 1991). Similar effects of irradiance have been observed in time-integrated discrimination studies under field conditions (Broadmeadow and Griffiths 1993, Collet et al. 1996, Koesmaryono et al. 1998, Carelli et al. 1999) and in forest stands (Zimmerman and Ehleringer 1990, Berry et al. 1997, Hanba et al. 1997). In banana plants grown at several irradiances, leaf $\delta^{13}\text{C}$ decreased by 2.5‰ as external global irradiance decreased from 100 to 30% (Israeli et al. 1996). In our study, increasing incident irradiance from 8 to 100% resulted in a large range of $\delta^{13}\text{C}$ values (4.5‰ in *Q. petraea* and 3.8‰ in *Q. robur* in shoots harvested at the end of the second year of growth). A large range of A/g_{sw} values in response to increasing irradiance was also found in both species. However, the irradiance treatments had a smaller effect on A/g_{sw} than on $\delta^{13}\text{C}$, probably because shoot $\delta^{13}\text{C}$ values are integrated over a larger timescale than leaf $\delta^{13}\text{C}$, and over an even larger timescale than instantaneous A/g_{sw} values. Beside temporal effects, spatial effects could also account for some of the difference

between $\delta^{13}\text{C}$ and A/g_{sw} , because gas exchange was only measured on sun-exposed leaves whereas $\delta^{13}\text{C}$ integrated the functioning of the whole photosynthetic area, including the contribution of shaded leaves.

Because ambient conditions, including air temperature, VPD and atmospheric CO_2 concentrations, were similar in all treatments, variations in $\delta^{13}\text{C}$ among treatments were probably caused by the irradiance treatments. Carbon assimilation more than tripled as incident irradiance increased from 8 to 100%, whereas g_{sw} only doubled. Thus, variations in WUE along the irradiance gradient were caused mainly by variations in A , as observed in *Coffea* sp. (Carelli et al. 1999), tropical shrubs (Jackson et al. 1993) and banana (Israeli et al. 1996). Observations made on tropical orchids (*Catasetum viridiflavum* Hook) revealed no change in mass-based leaf N concentration, and led to the conclusion that irradiance influences $\delta^{13}\text{C}$ predominantly by increasing stomatal limitation to photosynthesis (Zimmerman and Ehleringer 1990). In our study, increasing leaf N concentrations (area based) with increasing irradiance indicate that irradiance-induced variations in WUE were a result of changes in photosynthetic capacity (data not shown). Lower WUE in shaded plants than in sun-exposed plants is consistent with the concept that maximizing carbon gain is a more important constraint on survival under conditions of low light than the maintenance of high WUE through restriction of gas exchange.

Genotype $\times$ environment interactions on $\delta^{13}\text{C}$ and WUE

Time-integrated WUE estimated by $\delta^{13}\text{C}$ measurements was increased by water stress, as the theory predicted and as already observed in *Quercus* species (Guehl et al. 1994, Picon et al. 1996). However, these results contrast with reports by Thomas and Gausling (2000) and Thomas (2000) that mild drought and severe drought, respectively, have no effect on WUE of *Q. petraea* seedlings. In our study, the interspecific difference in $\delta^{13}\text{C}$ was maintained and even slightly increased during drought, whereas interspecific differences in A , g_{sw} or A/g_{sw} were not detected. Moreover, drought markedly decreased A and g_{sw} , but in the same proportion so that A/g_{sw} was the same in control and water-stressed seedlings. One reason for the discrepancy between WUE estimated as A/g_{sw} and $\delta^{13}\text{C}$ during drought could be related to the timing of the gas exchange measurements. During drought, a large fraction of carbon is assimilated early in the day when stomata are open, whereas gas exchange measurements were made during the afternoon, when stomata were already closed. Therefore, the measured values of A/g_{sw} are probably a poor reflection of the values generally prevailing during drought. We conclude that there was no strong environment $\times$ genotype interaction on $\delta^{13}\text{C}$ in response to drought.

The interspecific difference in WUE observed in full sun was not detected under shade conditions. Abrams (1994) also observed that genotypic variations in ecophysiological characteristics were not expressed in all phenotypes, e.g., shade plants. The most likely explanation is that, at low irradiances, the constraints imposed on carbon assimilation by stomata are

released, allowing maximum carbon gain despite lowered photosynthetic capacity. This explanation implies that, at low irradiances, *Q. robur* and *Q. petraea* have similar values of g_{sw} and do not express the potential, genetically controlled, interspecific difference. Our measurements of gas exchange support this view, because A and g_{sw} were similar in the two species in the shade treatments.

Conclusion

Quercus petraea seedlings had 10–15% higher WUE than *Q. robur* seedlings in full sun, despite growth under common conditions. This result supports the hypothesis, previously elaborated from studies of adult trees, that the interspecific difference in WUE has a genetic basis. The interspecific difference was maintained in seedlings subjected to drought in the full sun treatment, but disappeared at low irradiances, when carbon gain is probably maximized regardless of water use. It is unlikely that this small interspecific difference in WUE provides a competitive advantage to *Q. petraea* seedlings under natural conditions, given that the initial growth of *Q. robur* seedlings is far more rapid under all conditions. However, the interspecific difference in WUE, which is observed in both seedlings and adult trees, likely has a significant impact on survival in adult stands, where it has been observed that *Q. robur* frequently declines following drought, whereas *Q. petraea* is much less affected. Thus, low WUE can be regarded as a characteristic of pioneering species. We conclude that, in these two sympatric oak species, there is an inverse relationship between initial growth rate and long-term survival in drought-prone habitats. *Quercus robur* tends to maximize growth and exhibits low adult tree survival following drought, whereas the slow growth exhibited by *Q. petraea* is associated with the long-term survival of adult trees in drought-prone environments.

Acknowledgments

This study received financial support from the Commission of the European Communities, Agriculture and Fisheries (FAIR) specific RTD programme (PATHOAK), CT97-3926 ("Long term dynamics of oak ecosystems: assessment of the role of root pathogens and environmental constraints as interacting decline inducing factors"). Conclusions presented are solely the responsibility of the authors and in no way represent the views of the Commission. S. Ponton was supported by a Ph.D. grant from the Institut National de la Recherche Agronomique and from the Regional Council of Lorraine. We gratefully acknowledge the technical assistance of Roger Schipfer, Sébastien Diette, Jean-Marie Gioria, François Géréma, Patrick Behr, Jean-Marie Desjeunes and Christian Kieffer during fieldwork and measurements. We thank Claude Bréchet for advice in spectrometric analysis and Jean-Marc Guehl for helpful discussions on water-use efficiency and carbon isotope discrimination.

References

- Abrams, M.D. 1994. Genotypic and phenotypic variation as stress adaptations in temperate tree species: a review of several case studies. *Tree Physiol.* 14:833–842.

- Becker, M. and G. Lévy. 1982. Le dépérissement du chêne en forêt de Tronçais: les causes écologiques. *Ann. Sci. For.* 39:439–444.
- Becker, M. and G. Lévy. 1990. Le point sur l'écologie comparée du chêne sessile et du chêne pédonculé. *Rev. For. Fr.* 42:148–154.
- Berry, S.C., G.T. Varney and L.B. Flanagan. 1997. Leaf $\delta^{13}\text{C}$ in *Pinus resinosa* trees and understory plants: variation associated with light and CO_2 gradients. *Oecologia* 109:499–506.
- Bodénès, C., S. Joandet, F. Laigret and A. Kremer. 1997. Detection of genomic regions differentiating two closely related oak species *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L. *Heredity* 78: 433–444.
- Bonal, D., D. Sabatier, P. Montpied, D. Trémeaux and J.-M. Guehl. 2000. Interspecific variability of $\delta^{13}\text{C}$ among canopy trees in rainforests of French Guiana: functional groups and relationship with leaf water potential. *Oecologia* 124:454–468.
- Bréda, N., A. Granier, E. Dreyer and H. Cochard. 1993. Field comparison of transpiration, stomatal conductance and vulnerability to cavitation of *Quercus petraea* and *Quercus robur* under water stress. *Ann. Sci. For.* 50:571–582.
- Broadmeadow, M.S.J. and H. Griffiths. 1993. Carbon isotope discrimination and the coupling of CO_2 fluxes within forest canopies. *In* Stable Isotopes and Plant Carbon–Water Relations. Eds. J.R. Ehleringer, A.E. Hall and G.D. Farquhar. Academic Press, San Diego, pp 109–129.
- Brugnoli, E., K.T. Hubick, S. von Caemmerer, S.C. Wong and G.D. Farquhar. 1988. Correlation between the carbon isotope discrimination in leaf starch and sugars of C_3 plants and the ratio of intercellular and atmospheric partial pressures of carbon dioxide. *Plant Physiol.* 88:1418–1424.
- Brugnoli, E., A. Scartazza, M. Lauteri, M.C. Monteverdi and C. Maguas. 1998. Carbon isotope discrimination in structural and non-structural carbohydrates in relation to productivity and adaptation to unfavourable conditions. *In* Stable Isotopes, Integration of Biological, Ecological and Geochemical Processes. Ed. H. Griffiths. Bios Scientific Publishers, Oxford, pp 133–146.
- Carelli, M.L., J.I. Fahl, P.C.O. Trivelin and R.B. Queiroz-Voltan. 1999. Carbon isotope discrimination and gas exchange in *Coffea* species grown under different irradiance regimes. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 11:63–68.
- Cochard, H., N. Bréda, A. Granier and G. Aussenac. 1992. Vulnerability to air embolism of three European oak species (*Quercus petraea*, *Q. pubescens*, *Q. robur*). *Ann. Sci. For.* 49:225–233.
- Collet, C., J.-M. Guehl, H. Porchet and A. Ferhi. 1996. Effect of two forest grasses differing in their growth dynamics on the water relations and the growth of *Quercus petraea* seedlings. *Can. J. Bot.* 74:1562–1571.
- Delatour, C., C. Müller and M. Bonnet-Masimbert. 1980. Progress in acorn treatment in a long term storage prospect. *In* Proc. IUFRO International Symposium on Forest Tree Seed Storage, Ontario, Canada, pp 126–133.
- Dupouey, J.-L. and V. Badeau. 1993. Morphological variability of oaks (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Quercus pubescens* Willd.) in North-East of France. Preliminary results. *Ann. Sci. For.* 50:35–40.
- Epron, D. and E. Dreyer. 1993. Compared effects of drought on photosynthesis of adult oak trees (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L.) in a natural stand. *New Phytol.* 125: 381–389.
- Farquhar, G.D., J.R. Ehleringer and K.T. Hubick. 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40:503–537.
- Guehl, J.-M., C. Picon, G. Aussenac and P. Gross. 1994. The interactive effects of elevated CO_2 and drought on growth and transpiration efficiency in two European forest tree species. *Tree Physiol.* 14:707–724.
- Hanba, Y.Y., S. Mori, T.T. Lei, T. Koike and E. Wada. 1997. Variations in leaf $\delta^{13}\text{C}$ along a vertical profile of irradiance in a temperate Japanese forest. *Oecologia* 110:253–261.
- Israeli, Y., A. Schwartz, Z. Plaut and D. Yakir. 1996. Effects of light regime on $\delta^{13}\text{C}$, photosynthesis and yield of field-grown banana (*Musa* sp., Musaceae). *Plant Cell Environ.* 19:225–230.
- Jackson, P.C., F.C. Meinzer, G. Goldstein, N.M. Holbrook, J. Cavellier and F. Rada. 1993. Environmental and physiological influences on carbon isotope composition of gap and understory plants in a lowland tropical forest. *In* Stable Isotopes and Plant Carbon–Water Relations. Eds. J.R. Ehleringer, A.E. Hall and G.D. Farquhar. Academic Press, San Diego, pp 131–140.
- Koesmaryono, Y., H. Sugimoto, D. Ito, T. Haseba and T. Sato. 1998. Photosynthetic and transpiration rates of soybean as affected by different irradiances during growth. *Photosynthetica* 35:573–578.
- Landmann, G., M. Becker, C. Delatour, E. Dreyer and J.-L. Dupouey. 1993. Oak dieback in France: historical and recent records, possible causes, current investigations. *In* Zustand und Gefährdung der Laubwälder, Rundgespräche der Kommission für Ökologie Bd. Ed. Bayerische Akademie der Wissenschaften. Verlag F. Pfeil, Munich, pp 97–114.
- Lévy, G., M. Becker and D. Duhamel. 1992. A comparison of the ecology of pedunculate and sessile oaks: radial growth in the Centre and Northwest of France. *For. Ecol. Manage.* 55:51–63.
- Picon, C., A. Ferhi and J.-M. Guehl. 1997. Concentration and $\delta^{13}\text{C}$ of leaf carbohydrates in relation to gas exchange in *Quercus robur* under elevated CO_2 and drought. *J. Exp. Bot.* 48:1547–1556.
- Picon, C., J.-M. Guehl and A. Ferhi. 1996. Leaf gas exchange and carbon isotope composition responses to drought in a drought-avoiding (*Pinus pinaster*) and a drought tolerant (*Quercus petraea*) species under present and elevated atmospheric CO_2 concentrations. *Plant Cell Environ.* 19:182–190.
- Ponton, S., J.L. Dupouey, N. Bréda, F. Feuillat, C. Bodénès and E. Dreyer. 2001. Carbon isotope discrimination and wood anatomy variations in mixed stands of *Quercus robur* and *Quercus petraea*. *Plant Cell Environ.* 24:861–868.
- Roupsard, O., H. Joly and E. Dreyer. 1998. Variability of initial growth, water-use efficiency and carbon isotope discrimination in seedlings of *Faidherbia albida* (Del.) A. Chev., a multipurpose tree of semi-arid Africa. Provenance and drought effect. *Ann. Sci. For.* 55:329–348.
- Schleser, G.H. and R. Jayasekera. 1985. $\delta^{13}\text{C}$ -Variations of leaves in forests as an indication of reassimilated CO_2 from the soil. *Oecologia* 65:536–542.
- Thomas, F.M. 2000. Growth and water relations of four deciduous tree species (*Fagus sylvatica* L., *Quercus petraea* [Matt.] Liebl., *Q. pubescens* Willd., *Sorbus aria* (L.) Cr.) occurring at Central-European tree-line sites on shallow calcareous soils: physiological reactions of seedlings to severe drought. *Flora* 195:104–115.
- Thomas, F.M. and T. Gausling. 2000. Morphological and physiological responses of oak seedlings (*Quercus petraea* and *Q. robur*) to moderate drought. *Ann. For. Sci.* 57:325–333.
- Tyree, M.T. and H. Cochard. 1996. Winter and summer embolism in Oaks: impacts on water relations. *Ann. Sci. For.* 53:173–180.
- Vivin, P., G. Aussenac and G. Lévy. 1993. Differences in drought resistance among 3 deciduous oak species grown in large boxes. *Ann. Sci. For.* 50:221–233.

- von Caemmerer, S. and J.R. Evans. 1991. Determination of the average partial pressure of CO₂ in chloroplasts from leaves of several C₃ plants. *Austr. J. Plant Physiol.* 18:287–305.
- Zimmerman, J.K. and J.R. Ehleringer. 1990. Carbon isotope ratios are correlated with irradiance levels in the panamanian orchid *Catasetum viridiflavum*. *Oecologia* 83:247–249.

**Leaf morphology as species indicator in seedlings of
Quercus robur L. and *Q. petraea* (Matt.) Liebl.:
modulation by irradiance and growth flush**

Stéphane Ponton, Jean-Luc Dupouey* and Erwin Dreyer

Unité Mixte de Recherches INRA-UHP-Nancy, "Ecologie et Ecophysiologie
Forestières" F-54280 Champenoux, France

*Corresponding author: dupouey@nancy.inra.fr

Short title: Variability of leaf morphology in oak seedlings

Abstract

The morphological description of leaves provide the more reliable criteria to discriminate the two oak species *Quercus petraea* and *Q. robur*. However, most of the studies only assessed leaf morphology of adult trees, whereas interspecific variations between seedlings were poorly documented. We have studied variations of leaf morphology of two-year-old seedlings growing in a common garden experiment and exposed to different irradiance regimes. Leaf morphology measurements were performed on leaves from each flush. A clear interspecific discrimination was observed. This discrimination was slightly better with first flush leaves. Irradiance influenced leaf size, but did not affect characters usually used to discriminate the two species. A discriminant function, based on the two best traits (lamina pilosity density and angle of auricles at the lamina basis), provided less than 0.5% leaf misclassification. It appeared that, contrary to general assumption, species recognition was efficient whatever the irradiance regime, and even slightly better under light shade.

morphology/leaf/light/flush/oak

Résumé

La discrimination taxonomique des espèces *Quercus petraea* et *Q. robur* est essentiellement basée sur l'examen de la morphologie foliaire. Alors que l'ensemble des travaux sur le sujet concerne des arbres adultes, nous avons étudié les variations morphologiques foliaires de jeunes plants de *Q. petraea* et *Q. robur* croissant sous différents régimes d'éclairement. La morphologie des feuilles des différents flush a été analysée durant la deuxième année de croissance des plants en pépinière. L'utilisation d'une analyse factorielle des correspondances portant sur l'ensemble de l'échantillon et intégrant toutes les variables morphologiques aboutit à une discrimination interspécifique nette dans la majorité des cas. La discrimination apparaît cependant meilleure pour les feuilles de premier flush. Le régime d'éclairement a principalement affecté la taille des feuilles. Les variables usuelles de la discrimination morphologique entre *Q. petraea* et *Q. robur* n'ont pas été influencées par les différences d'éclairement. Une fonction discriminante a été construite avec les deux meilleures variables (densité de pilosité du limbe et angle des oreillettes), aboutissant à moins de 0.5% de feuilles mal classées. Contrairement aux observations habituelles, la discrimination des espèces était possible quel que fût le climat lumineux de croissance, et même légèrement meilleure sous ombre légère.

morphologie/feuille/lumière/flush/chêne

Introduction

An efficient identification of *Quercus petraea* and *Q. robur* is essential for foresters and scientists because these two interfertile and sympatric oak species display different ecological requirements [15]. Because of the large variability among individuals in morphological features, this identification may be difficult, in particular within mixed stands where the taxonomical status of trees is rather woolly. Leaf morphology remains one of the most reliable criteria to discriminate the two species [1, 6, 8, 11, 12, 14]. Consequently, many studies comparing *Q. petraea* and *Q. robur* use identification criteria based on leaf morphology. In particular, genetic studies aiming to define specific molecular markers rely on morphological characters to identify species [5, 17, 18].

Most of the studies assessing interspecific variations of leaf morphology were performed on sun leaves of adult trees. Kleinschmit et al. [13] analysed the morphology of offspring coming from controlled crosses and reported the occurrence of a juvenile leaf morphology, which differed clearly from the morphology of adult individuals. Nevertheless, there is a need to unequivocally identify seedlings from the two species in natural regeneration (i.e. shaded by the surrounding adult trees). On sun leaves of adult trees, the best features discriminating between the two species are pilosity development, presence of intercalary veins, length of petiole and angle of auricles at the lamina basis [2, 6, 7]. However, leaf morphology is influenced by shading. Besides the well-known increase of leaf size and decrease of thickness under shade, Blue and Jensen [4] indicated that sun leaves of oak (*Q. velutina*, *Q. rubra* and *Q. palustris*) had larger and deeper sinuses, a narrower blade and a higher number of veins than shade leaves located at the same level in the crown. Rushton [22] and Baranski [3] considered that, for leaf characters, the typical expression of the genotype of a tree occurs in the most light-exposed part of the crown.

Another source of variation of leaf morphology is related to the polycyclic character of the growth of oak seedlings that usually build two or three growth flushes during a growing season. Kissling [12] found that leaves of the second flush had a narrower basis, shallower lobes, a reduced pubescence and a shorter petiole than those of the first flush. This is of particular importance as the shape of the lamina base, pilosity and petiole length are among the main criteria used to discriminate the two species.

The objectives of the present studies were:

- to check whether the discrimination among the two species was still possible (i) on seedlings, (ii) under different light environments and (iii) with leaves from various growth flushes
- to examine the variations induced in leaf morphology of seedlings exposed to different irradiance regimes during their growth
- to assess the variations induced in morphology between flushes and to compare these variations with light-induced variations
- to provide a useful tool for a rapid identification of oak seedlings from these two species, under different irradiance levels and at different stages of development.

To answer these questions, seedlings of *Q. petraea* and *Q. robur* were grown under different irradiance regimes during two years. Leaf morphology measurements were performed at the end of the experiment.

Table I. List of descriptors of leaf morphology measured or calculated. Letters in parentheses refer to labelled points in Fig. 1.

Primary variables

Dimensional characters

PL: petiole length (A-B, cm)
 LL: lamina length (B-D, cm)
 PERI: lamina perimeter (cm)
 AREA: lamina surface area (cm²)
 LW: maximal lamina width (E-F, cm)
 LWL: length of lamina to the largest width (B-G, cm)
 MASS: leaf mass (g)

Lobes and veins

NLOB: number of lobes (except the terminal lobe, irrigated by the midrib)
 NLUB: number of lobules (lobes irrigated by a the third order vein)
 LOBL: mean of the length of the six largest lobes (e.g. HI, mm)
 LOBT: mean of the thickness of the six largest lobes (e.g. LK, mm)
 LOBH: mean of the heights of the six largest lobes (e.g. JM, mm)
 NIV: number of intercalary veins (veins irrigating a sinus)
 AURI: average angle of auricles at the lamina basis (e.g. A-B-C, °)
 AVEIN: mean of the vein angles of the six largest lobes (e.g. K-G-D, °)
 ASIN: mean of the sinus angles of the six largest lobes (e.g. I-J-K, °)
 ALOB: mean of the angles of the six largest lobes (e.g. J-K-M, °)

Abaxial pubescence

PPD: petiole pilosity density, score from 0 (hairless) to 6 (dense pilosity); grading system from Kissling [12]
 MPD: midrib pilosity density
 LPD: lamina pilosity density
 PPL: hair length on the petiole, graded from 0 (hairless) to 4 (very long)
 MPL: hair length on the midrib
 LPL: hair length on the lamina

Calculated variables

PRL: relative length of the petiole, PL / (LL+PL) (%)
 LRW: relative width of the lamina, LW / LL (%)
 LWRL: relative length of lamina at largest width, LWL / LL (%)
 ARPE: surface area to perimeter ratio, AREA / PERI
 ISOP: isoperimetric deficit, $1 - (4\pi \cdot \text{AREA} / \text{PERI}^2)$
 ELD: elliptic deficit, $(\pi \cdot \text{LL} \cdot \text{LW}) / (4 \cdot \text{AREA})$
 IVLOB: number of intercalary veins per lobe, NIV / NLOB (%)
 RLIV: relative length of intercalary vein (e.g. ON/PN, %)
 PERINL: perimeter to number of lobes ratio, PERI / NLOB (cm)
 LUBLOB: number of lobules per lobe, NLUB / NLOB (%)
 LMA: leaf mass per area, MASS / AREA (g.cm⁻²)

Material and methods

Plant material

Acorns were collected during autumn 1997 in two adjacent pure stands of *Q. petraea* and *Q. robur* in the forest of Perseigne (48°24'21"N, 0°19'33" W, Western France). Adult trees were identified based on acorn peduncle size and characteristic leaf traits [7]. The two specific sets of acorns were a composite harvest from many trees. Acorns were sown in an experimental nursery (Champenoux, Nancy, N.E. France) during spring 1998. Seedlings were grown in 10 litres plastic containers filled with a sand/peat mixture (2/1, v/v) until autumn 1999. They were automatically irrigated twice a day and fertilised two times during summer (Nutricot[®], N/P/K 13/13/13 + trace elements, 4 g.l_(substrate)⁻¹). Before germination, the containers were distributed to four treatments differing by the irradiance levels: 8 (deep shade), 18 (medium shade), 48 (light shade) and 100% (full sun) of external global radiation. Shading was obtained using shelters built with polyethylene nets incorporating aluminium strips. Three different mesh sizes provided the required levels of transmitted irradiance. Ten seedlings were randomly selected per species during autumn 1999 in each of the four irradiance treatments. A detailed description of the experimental design and microclimate is provided in Ponton et al. [20].

Morphological analysis

At the end of the experiment, seedlings had developed up to four growth flushes. This flush number was influenced by growth irradiance, but there was no significant interspecific difference within an irradiance regime. Before leaf senescence, one fully expanded leaf per flush was sampled from each seedling. Leaves of flush four were discarded because they occurred on only 21% individuals of the total sample. For each growth flush on the main stem, the largest leaf of the final rosette (tip of the growth unit) was harvested. Selected leaves were free of insect attacks or disease. Measurements were performed with a digitizing tablet interfaced with a computer. The protocol of leaf morphology assessment is described by Dupouey & Badeau [7]. Twenty-three variables were measured and used to derive 11 calculated variables (Table I, Figure 1). These variables concern various aspects of leaf morphology such as size, shape and pilosity. The dry mass of each leaf was measured and the leaf mass to area ratio calculated.

Statistical analysis

Data were analysed using the SAS statistical package (SAS, version 6.03, Institute Inc., Cary, NC, USA) [23]. The set of morphological descriptors included quantitative continuous variables as well as quantitative discrete (counted variables) and qualitative variables (describing pubescence). In order to analyse the relationships between these variables, all the quantitative continuous variables were converted into scored variables, each made of five equidistributed groups (equal number of observations). When discrete and qualitative variables contained initially more than five groups, initial groups were combined into five new groups

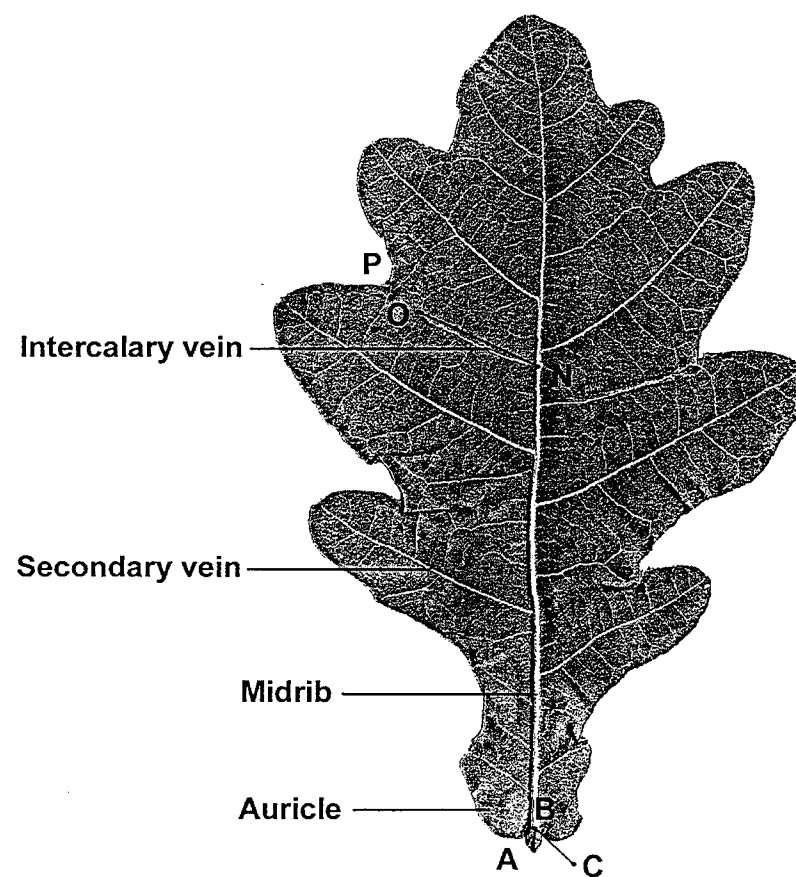
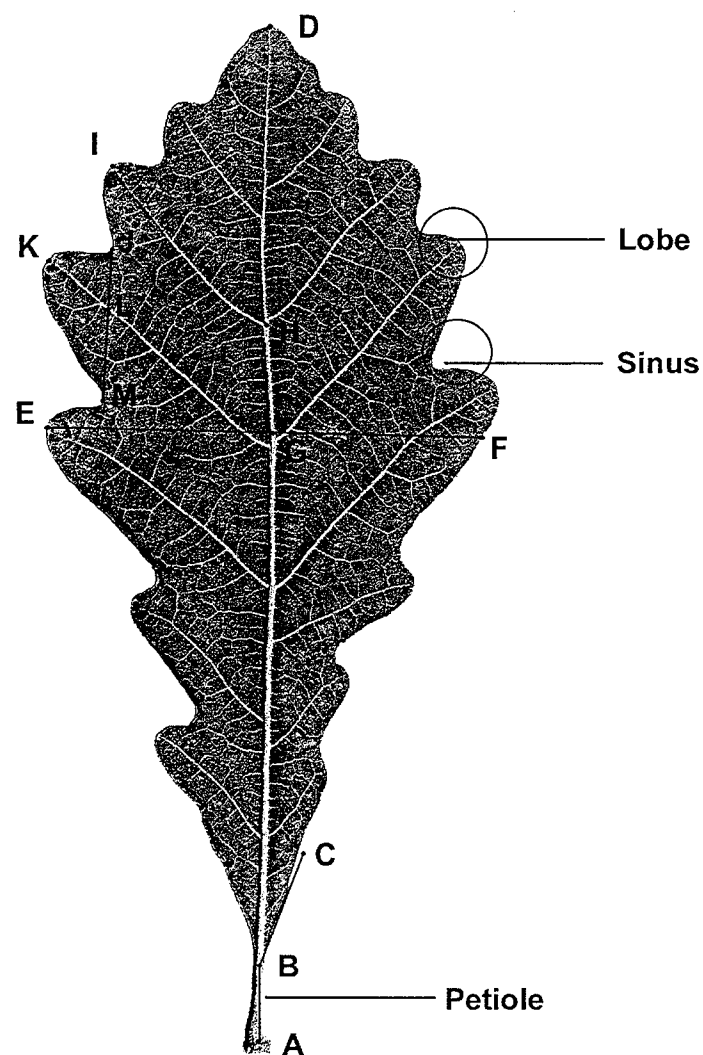


Figure 1. Typical leaf of *Q. robur* and *Q. petraea* indicating the landmarks used for morphological measurements.

with equal or nearly equal numbers of observations. Then, these 34 variables*5 classes were analysed by multiple correspondence analysis (MCA). A stepwise discriminant analysis was performed to select the two best variables for species discrimination.

The sampling design is displayed in Table II. The effects of species, irradiance regime and growth flush on continuous morphological variables and on MCA factors were tested with an analysis of variance (ANOVA). The following linear model was used:

$$Y_{ijkl} = a + b_i + c_j + d_k + (bc)_{ij} + (bd)_{ik} + (cd)_{jk} + e_{ijkl} \quad (\text{model 1})$$

with Y_{ijkl} : measured value for flush k of seedling l, within species i, under irradiance regime j,

a : constant,

b_i : effect of species i,

c_j : effect of irradiance regime j,

d_k : effect of flush k,

$(bc)_{ij}$: interaction between effects of species and irradiance regime,

$(bd)_{ik}$: interaction between effects of species and flush,

$(cd)_{jk}$: interaction between effects of irradiance regime and flush,

e_{ijkl} : error term.

Third order interactions between irradiance, species and flush effects were never significant. Thus, they were finally excluded from the calculations. The effect of species, irradiance regime and growth flush on quantitative discrete (PL, NLOB, NLUB, NIV) and qualitative morphological variables (pubescence related variables) were separately tested using Chi-square tests. Tukey studentized range tests (HSD) were used for multiple comparisons of means. Pearson and Spearman (rank) correlation coefficients were used as exploratory tools. Data are presented as means $\pm$ standard deviation.

Table II. Sampling design: leaves number per species, irradiance regime and flush.

	Species	Flush	8%	18%	48%	100%
Number of leaves	<i>Q. petraea</i>	1	10	10	9	9
		2	9	10	8	9
		3	5	9	8	10
	<i>Q. robur</i>	1	10	10	10	10
		2	9	10	10	10
		3	8	10	10	8

Table III. Sources of variations (species, irradiance regime, flush and their interactions) for morphological variables and coordinates on the first two axis of MCA, revealed by ANOVA. P-values are symbolized as follows: *: P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001, and non significant otherwise. Variables for which no significant effect was observed are not shown.

Variable	Species	Irradiance	Flush	Species*light	Species*flush	light*flush
MASS	***	***	***	*		*
LMA	***	***	***			***
LL		***	***		*	
LTOT	**	***	***		*	
LW		***				
LWL	*	***	***		**	
PERI		***	***			
AREA	*	***	***			
PRL	***	***	***	*		*
LRW			***			
ARPE	***	***	*			*
ISOP	***	**	***			***
ELD	***	*	***			
RLIV	***		***		***	
PERINL	***	***	***	**		
LUBLOB			*			
IVLOB	***		***			
AURI	***		**			
LOBL	***	***				
LOBT	***	***	***		*	
LOBH	***	***	**			
AVEIN			**	*		
ASIN	**		*			***
ALOB	***					*
MCAaxis1	***	***	***	*	**	*
MCAaxis2	***	***	***			

Table IV. χ^2 test of species, light and flush effects on morphological discrete variables. Stars as in Table III.

Variable	Species	Irradiance	Flush
PL	***		**
PPD	***		
PPL	***	*	
MPD	***		
MPL	***	*	*
LPD	***		
LPL	***		***
NLOB	***		
NLUB		**	*
NIV	***		***

Results

Modulation of leaf morphology by irradiance

The effects of irradiance regime on leaf morphology were mainly visible on size related variables (Tables III and IV), but also on relative length of petiole (PRL) and leaf mass per area (LMA). Irradiance regime was the first source of variation (25% of total variability) for leaf length (LL+PL). Very significant correlations occurred between leaf length and other dimensional traits (LWL, PERI, AREA, LOBL, LW, LOBT,...Table V). Beside these expected correlations, a weaker but still significant correlation was observed with petiole length ($r=0.58$, $P<0.001$ for *Q. petraea* and $r=0.37$, $P<0.001$ for *Q. robur*) which is usually considered to be one of the most suitable traits to discriminate the two species. No correlation occurred with relative petiole length. Leaf length was maximum under medium shade (12.5 ± 2.4 cm), decreased in light shade (11.6 ± 2.3 cm) and deep shade (10.3 ± 1.9 cm), and was minimum under full sun (9.1 ± 2.2 cm). The other size variables (MASS, LW, LWL, PERI, SURF, NLOB, LOBL, LOBT, LOBH) displayed the same trend. This pattern of irradiance regime-induced variations was observed on both species, although it was slightly more marked on *Q. robur* (larger magnitude of values from medium shade to full sun). As expected, leaf mass per area gradually increased with increasing irradiance. Leaves of medium and light shades had a higher degree of dissection of the blade than leaves of deep shade and full sun (ELD, ISOP). This dissection was weakly related to leaf size ($r=0.26$, $P<0.001$ and $r=0.22$, $P<0.01$, respectively; Table V).

Leaf morphology variation among growth units

Flushing was the second source of variation in leaf size (20% and 7% of the total variability of leaf length and surface area, respectively; Tables III and IV). Leaf size increased from the first to the third flush (e.g. average leaf lengths were 9.4 ± 2.0 cm, 11.5 ± 2.4 cm and 12.1 ± 2.4 cm, from first to third flush), in both species. The dissection of lamina (ELD, ISOP) increased from the first to the third flush, even if the number of lobes to perimeter ratio slightly decreased. The effects of flush on leaf size and dissection of lamina was larger on *Q. petraea* than on *Q. robur* (larger magnitude of values from flush 1 to flush 3). For both species, the number of intercalary veins (NIV) increased from flush 1 to 3 (0.3 ± 0.6 to 2.3 ± 1.6 for *Q. petraea*, 2.5 ± 0.5 to 3.9 ± 1.7 for *Q. robur*). Pubescence of lamina (LPL) decreased from flush 1 to 3, in *Q. petraea* only. The angle of lamina basis (AURI) in *Q. petraea* was larger in flushes 1 and 2 than in flush 3. In *Q. robur*, auricles at the lamina basis were slightly more developed in flush 3 than in flush 2 (i.e. larger AURI values in flush 2).

Species differentiation

The three first synthetic variables of MCA explained 6.9%, 6.6% and 4.0% of the total variance, respectively, for a total of 170 classes analysed. The first factor was highly correlated with morphological traits that are usually recognized as species specific (in descending order of correlation: AURI, LPD, MPD, NIV, LPL,...). The second factor of MCA correlated with size variables (in descending order of

Table V. Significant Pearson's correlation ($P < 0.05$) between leaf length (LL+PL) and others morphological traits ($n=221$) or coordinates on the first two axis of MCA. Stars as in Table III.

Variables	Coefficient of correlation
LL	0.99 ***
LWL	0.89 ***
PERI	0.89 ***
AREA	0.89 ***
LOBL	0.81 ***
MCA axis2	0.79 ***
LW	0.77 ***
LOBT	0.76 ***
MASS	0.74 ***
ARPE	0.71 ***
PERINL	0.58 ***
LOBH	0.52 ***
MCA axis1	-0.44 ***
PL	0.43 ***
LRW	-0.35 ***
NLOB	0.32 ***
ELD	0.26 ***
ISOP	0.22 **
NLUB	0.22 **
LMA	-0.14 *

Table VI. Ranking of the morphological traits that discriminated the two oak species according to a stepwise discriminant analysis. Stars as in Table III.

rank	variable	partial r^2
1	LPD	0.82 ***
2	AURI	0.40 ***
3	IVLOB	0.06 ***
4	ISOP	0.03 **
5	PL	0.02 *
6	ASIN	0.02 *

correlation: LOBL, LL, LW, AREA, PERI, LWL,...). The third synthetic variable was mainly related to the degree of dissection of the lamina (in descending order of correlation: ARPE, AREA, ISOP, ELD, ASIN, ALOB,...). The plane of the first two axes of MCA showed a clear discrimination of the two species, with partial overlapping (Figure 2). Total separation of the two species on this plane was only obtained with leaves from the first flush (data not shown).

The first variables selected by stepwise discriminant analysis of leaves were lamina pilosity density (LPD) and the average angle of auricles at lamina basis (AURI) (Table VI). The following discriminant function was calculated (Figure 3):

$$ID_1 = 2367 - 537 * LPD - 13 * AURI$$

This function provided positive ID_1 values for *Q. robur* and negative ones for *Q. petraea*. According to this function, the percentage of misclassification of leaves was below 0.5% (one misclassified leaf over 221). The whole data set showed a very clear bimodal distribution for ID_1 values (Figure 4). The degree of discrimination between the two species was separately tested for each flush by a comparison of mean ID_1 values. The discrimination was larger for the leaves from the first flush ($F=827$, $P<0.001$), intermediate for the leaves from the second flush ($F=540$, $P<0.001$), and lower for the leaves from the third flush ($F=463$, $P<0.001$). Tested by the same method within each irradiance regime, the species discrimination was larger in light shade ($F=723$, $P<0.001$) than in medium shade ($F=548$, $P<0.001$), and lower under full sun ($F=342$, $P<0.001$) and deep shade ($F=339$, $P<0.001$). The only one misclassified leaf came from the third flush of a *Q. robur* seedling growing under deep shade.

Ranking of the seedlings according to their ID_1 values varied over the flushes. Rank correlations were not significant for *Q. robur* ($P>0.05$) and only significant between flushes 1 and 2 ($r = 0.35$, $P < 0.05$) and between flushes 2 and 3 ($r = 0.37$, $P < 0.05$) for *Q. petraea*.

To compare our results obtained on seedlings with those obtained for adult trees, another discriminant function was calculated based on petiole length (PL) and number of intercalary veins (NIV), as proposed by Dupouey & Badeau [7] and Kremer et al. [14]:

$$ID_2 = 4178 - 1507 * PL + 900 * NIV$$

Using this function resulted in the misclassification of 13 *Q. robur* and 11 *Q. petraea* leaves (11 %).

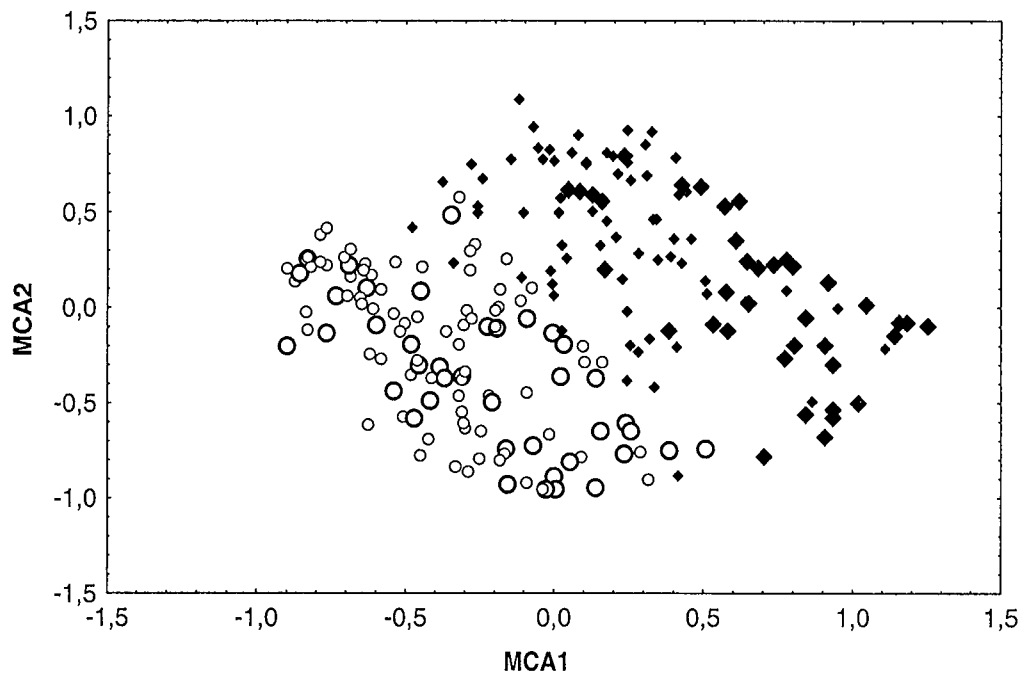


Figure 2. Position of the 221 leaves along the first two factors of a multiple correspondence analysis (MCA). Large symbols: flush 1, small symbols: flushes 2 and 3, ○: *Q. petraea*, ◆: *Q. robur*.

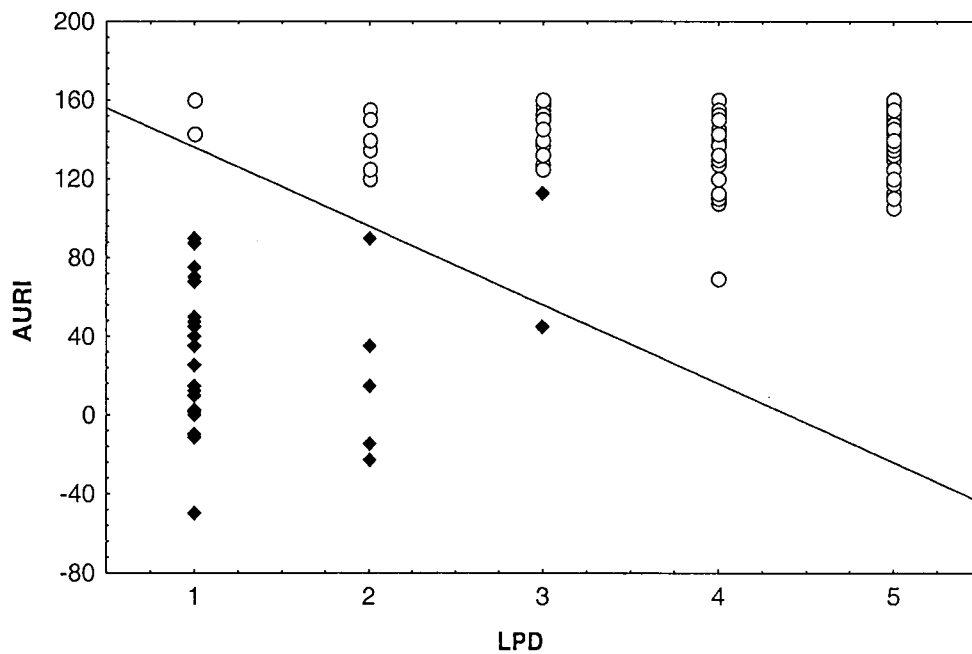


Figure 3. Distribution of the 221 leaves according to the average angle of auricles at lamina basis (AURI) and the lamina pilosity density (LPD). The diagonal straight line represent the discriminant line $2367 - 537 * LPD - 13 * AURI = 0$. ○: *Q. petraea*, ◆: *Q. robur*.

Discussion

The multivariate correspondence analysis separated the sampled leaves into 2 groups corresponding to the two oak species, *Q. robur* and *Q. petraea* (Figure 2). As frequently mentioned, no absolute diagnostic character discriminating the two species could be detected [1, 2]. However, species discrimination was already very efficient with a combination of only two morphological traits. This situation is in agreement with what has been classically observed on sun leaves collected from first growth flush of adult trees, where a clear bimodal distribution was detected for synthetic discriminant variables [2, 7, 14].

On adult trees, Bacilieri et al. [2] observed 1% misclassification by means of a factorial discriminant analysis computed with 16 morphological characters, and Kremer et al. [14] calculated a discriminant function resulting in 1.6% misclassification. This rate was obtained using samples of five leaves per tree and increased up to 5.6% with samples of only one leaf. Based on average angle of auricles at lamina basis (AURI) and lamina pilosity density (LPD), our discriminant function (ID₁) revealed only one misclassified leaf (Figure 3). These two traits appeared to be very discriminant but are not very easy to measure. However, using petiole length (PL) and number of intercalary veins (NIV), as did Kremer et al. [14], to calculate another discriminant function (ID₂) resulted in 11% misclassification in our sampling. Thus, these two traits were not as reliable in the case of young seedlings as for adults.

Even if species identification was always possible with ID₁ values, it appeared that the discrimination between *Q. robur* and *Q. petraea* was better for leaves from the first flush than from the followings. Leaves from flushes 2 and 3 differed less from each other than they did from flush 1, as already observed by Masarovicova & Pozgaj [16]. Potter [21] reported that leaves exhibit a larger variability on the second than on the first flush. These observations could be related to the fact that the first growth unit is entirely preformed in the winter bud, whereas the second and third growth unit bear both preformed and neoformed portions [9]. Neoformed leaves could be more influenced by environment as compared to preformed leaves which are probably under a stronger genetic control. One may notice that both lammas (second flush) and epicormic shoots [10] are entirely neoformed, and that many authors recommended that leaves from both lammas and epicormic shoots should be discarded from samples used for species discrimination [12, 19, 21].

According to the result of the F-test of species effect on ID₁ under each irradiance regime, it appeared that individuals growing under intermediate levels of shade displayed the most interspecific-discriminating features. This observation opposes the common practice for adult trees, where shaded leaves are discarded for species identification [4, 7, 19, 22]. Morphological variations induced by variations of irradiance regime or growth rhythm were mainly detected in leaf size and lobe expansion traits (Figure 5). In this way, shade and flushing had similar effects on leaf morphology. Nevertheless, it should be noticed that the efficient traits for species identification (pubescence, NIV, AURI, PRL) were not correlated to leaf size. On the other hand, NIV was influenced by the flush, what could partially explain the mediocre species separation of ID₂ values. To a lower extent, AURI

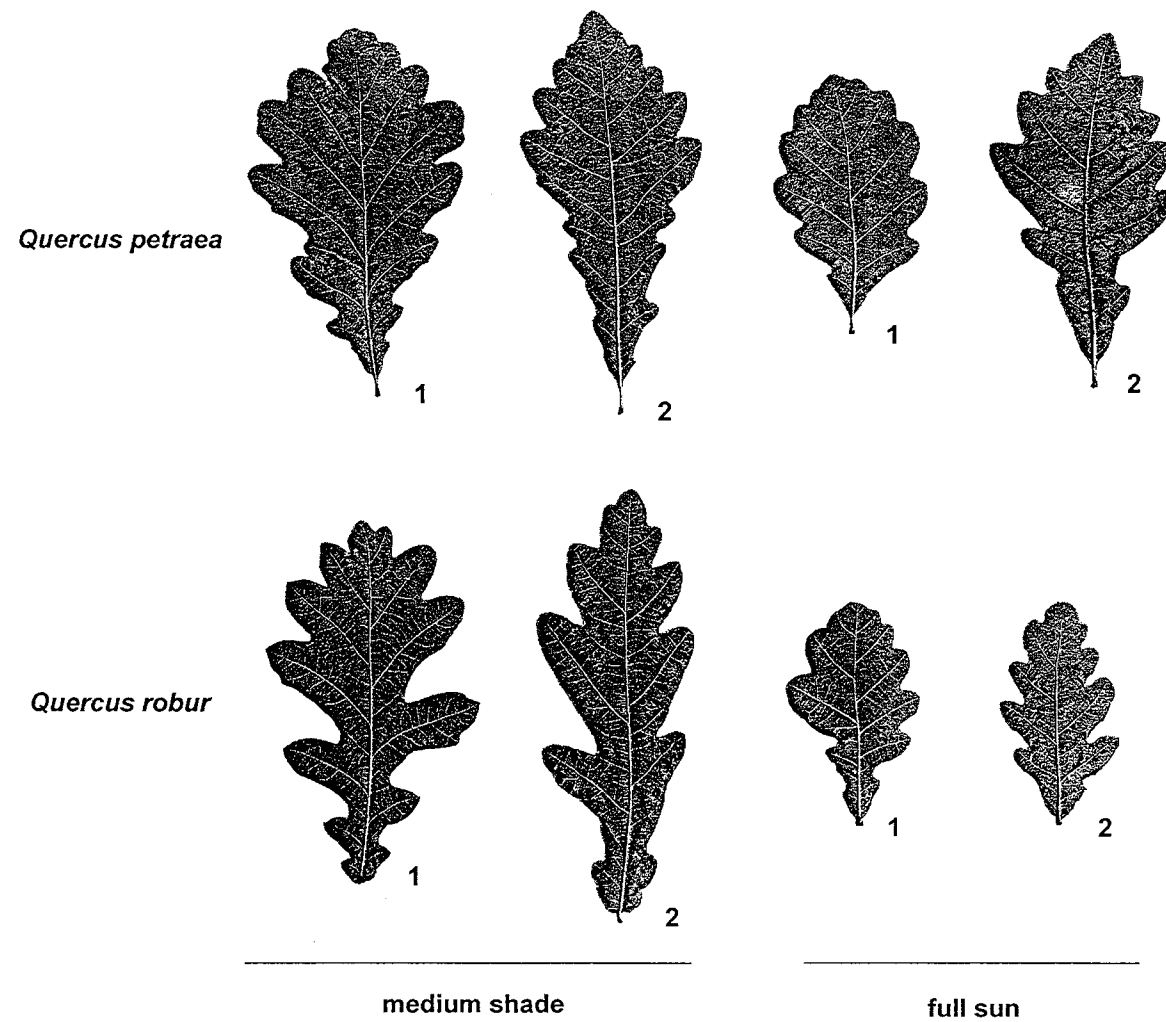


Figure 5. Typical leaves of *Q. robur* and *Q. petraea* growing under full sun or medium shade. Leaves from flushes 1 and 2 were sampled on the same tree.

and LPL were also influenced by flush whereas no effect of irradiance regime was observed on them. Thus, shaded seedlings could be efficiently identified, but leaves from the first flush should be preferred to other ones. Moreover, one can note that under natural regeneration conditions, the fraction of global irradiance reaching forest floor is generally between 20 and 40%, which corresponds to the range of irradiance where the specific discrimination was the best in our study.

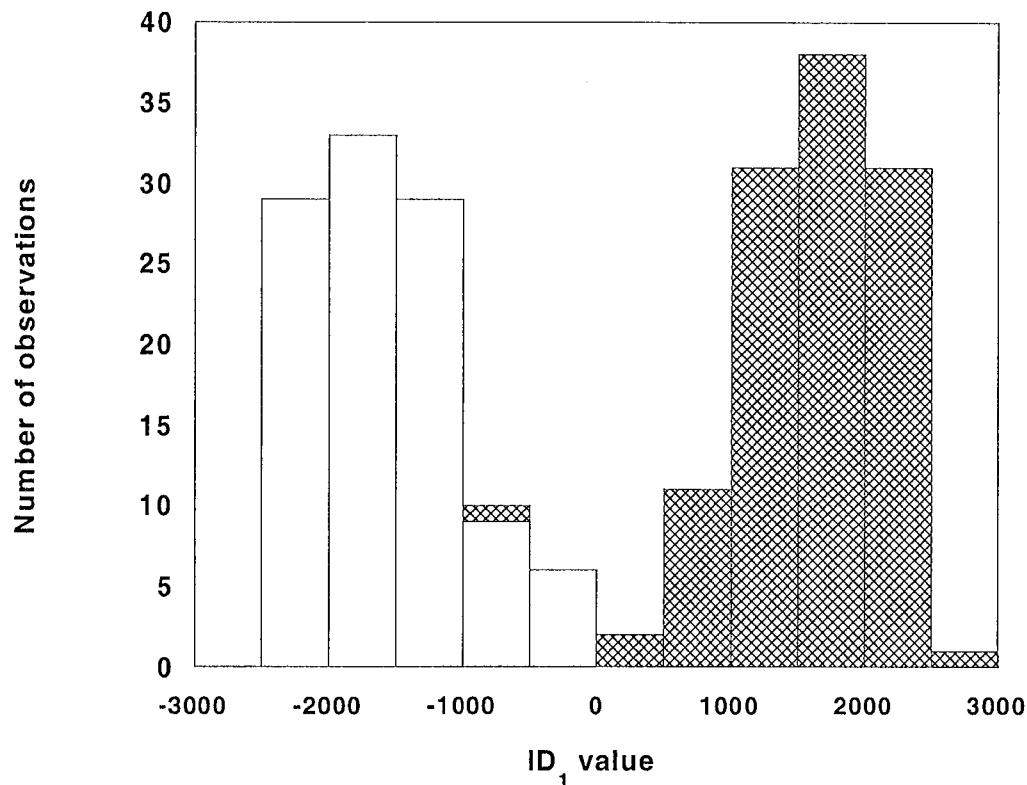


Figure 4. Distribution of the discriminant function values: $ID_1 = 2367 - 537 * LPD - 13 * AURI$ for the 240 tested leaves.

Conclusion

Our results showed a clear interspecific discrimination with leaves sampled on oak seedlings exposed to different irradiance regimes and collected on various annual growth units. Identification of the species, at the seedling stage, was possible using only two morphological traits, the density of pilosity of the lamina and the average angle of auricles at the lamina basis. Consequently, *Q. robur* and *Q. petraea* offspring can be discriminated in natural environment, whenever shaded or not by surrounding adult trees, and using preferably leaves from the first flush. Discrimination could probably be even improved with the calculation of a discriminant function based on several leaves collected on the same tree.

Acknowledgements

S. Ponton was supported by a PhD grant from the Institut National de la Recherche Agronomique and from the Regional Council of Lorraine. We gratefully acknowledge the technical assistance of Roger Schipfer, Virginie Legroux, Sébastien Diette and Christian Kieffer for morphological analyses, and of Jean-Marie Gioria for seedling cultivation. Financial support from the French initiative "GIP-Ecofor" for experiment installation is gratefully acknowledged. The study was partly carried out with a financial support from the Commission of the European Communities, Agriculture and Fisheries (FAIR) specific RTD programme (PATHOAK), CT97-3926 ("Long term dynamics of oak ecosystems: assessment of the role of root pathogens and environmental constraints as interacting decline inducing factors").

References

- [1] Aas G., Taxonomical impact of morphological variation in *Quercus robur* and *Q. petraea*: a contribution to the hybrid controversy. Ann. Sci. For. 50 (1993) 107s-113s.
- [2] Bacilieri R., Ducousso A. and Kremer A., Genetic, morphological, ecological and phenological differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L. in a mixed stand of Northwest France. Silvae Genet. 44 (1995) 1-10.
- [3] Baranski M., An analysis of variation within white oak (*Quercus alba* L.). North Carolina Agric. Exp. Sta. Tech. Bull. No. 236 (1975) 176 p.
- [4] Blue M.P. and Jensen R.J., Positional and seasonal variation in oak (*Quercus*; Fagaceae) leaf morphology. Am. J. Bot. 75 (1988) 939-947.
- [5] Bodénès C., Joandet S., Laigret F. and Kremer A., Detection of genomic regions differentiating two closely related oak species *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L. Heredity 78 (1997) 433-444.
- [6] Dupouey J.-L., Analyse multivariable de quelques caractères morphologiques de populations de chênes (*Quercus robur* L. et *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) du Hurepoix. Ann. Sci. For. 40 (1983) 265-282.
- [7] Dupouey J.-L. and Badeau V., Morphological variability of oaks (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Quercus pubescens* Willd) in northeastern France: preliminary results. Ann. Sci. For. 50 (1993) 35s-40s.
- [8] Feuillat F., Dupouey J.-L., Sciamia D. & Keller R., A new attempt at discrimination between *Quercus petraea* and *Quercus robur* based on wood anatomy. Can. J. For. Res. 27 (1997) 343-351.
- [9] Fontaine F., Chaar H., Colin F., Clément C., Burrus M. and Druelle J.-L., Preformation and neoformation of growth units on 3-year-old seedlings of *Quercus petraea*. Can. J. Bot. 77 (1999) 1623-1631.
- [10] Fontaine F., Druelle J.-L., Clément C., Burrus M. and Audran J.-C., Ontogeny of proventitious epicormic buds in *Quercus petraea*. I. In the 5 years following initiation. Trees 13 (1998) 54-62.
- [11] Grandjean G. and Sigaud P., Contribution à la taxonomie et à l'écologie des chênes du Berry. Ann. Sci. For. 44 (1987) 35-66.
- [12] Kissling P., Clef de détermination des chênes médioeuropéens (*Quercus* L.). Ber. Schweiz. Bot. Ges. 90 (1980) 29-44.
- [13] Kleinschmit J.R.G., Bacilieri R., Kremer A. and Roloff A., Comparison of morphological and genetic traits of pedunculate oak (*Q. robur* L.) and sessile oak (*Q. petraea* (Matt.) Liebl.). Silvae Genet. 44 (1995) 256-269.
- [14] Kremer A., Dupouey J.-L., Cottrell J., Csaikl U., Deans D., Finkeldey R., Goikoetxea P., Jensen J., König A., Van Dam B., Ducousso A. and Badeau V., Morphological variation in mixed oak stands (*Quercus robur* and *Quercus petraea*) is stable across western European populations. Ann. For. Sci. (in press).
- [15] Lévy G., Becker M. & Duhamel D., A comparison of the ecology of pedunculate and sessile oaks: radial growth in the centre and northwest of France. For. Ecol. Manag. 55 (1992) 51-63.
- [16] Masarovicova E. and Pozgaj J., Comparative analysis of the leaf area in three oak species - a methodical contribution. Biologia (Bratislava) 43 (1988) 449-457.

- [17] Moreau F., Kleinschmit J.R.G. and Kremer A., Molecular differentiation between *Quercus petraea* and *Quercus robur* assessed by random amplified DNA fragments. Forest. Genet. 1 (1994) 51-64.
- [18] Muir G., Fleming C.C. and Schlötterer C., Species status of hybridizing oak. Nature 405 (2000) 1016.
- [19] Olsson U., A morphological analysis of phenotypes in populations of *Quercus* (Fagaceae) in Sweden. Bot. Notiser 128 (1975) 55-68.
- [20] Ponton S., Dupouey J-L., Bréda N. and Dreyer E., Comparison of water-use efficiency of seedlings from two sympatric oak species: genotype*environment interactions. Tree Physiol. 22 (2002) (in press).
- [21] Potter S.M., Practical methods for distinguishing the two native British oaks and their intermediates. Q. J. For. 88 (1994) 27-34.
- [22] Rushton B.S., *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. : a multivariate approach to the hybrid problem, 1. Data acquisition, analysis and interpretation. Watsonia 12 (1978) 81-101.
- [23] SAS/STAT User's Guide, Version 6.03, SAS Institute Inc., Cary, N.C., 4th edit., 1989, 1848 p.

Variations in ring width and carbon isotope discrimination of wood cellulose in declining *Quercus* stands

5

Stéphane Ponton¹, Jean-Luc Dupouey^{*1}, Nathalie Bréda¹

10

Gerdhard Helle², Gerdhard Schleser², Gabor Varbiro³ and Erwin Dreyer¹

15

¹ Unité Mixte de Recherches INRA-UHP-Nancy "Ecologie et Ecophysiologie Forestières", F-54280 Champenoux, France² Kernforschungszentrum Jülich, Institut für Chemie und Dynamik der Geosphäre. KFA Jülich, Postfach 1930, D-52428 Jülich, Germany³ KLTE, Ökológia Tanszék, H-4010 Debrecen, Pf. 71, Hungary

20

^{*}Corresponding author: dupouey@nancy.inra.fr

25

30

Short title: $\Delta^{13}\text{C}$ in declining oaks

Introduction

In the Manion's "decline-disease" concept (1981), forest decline results from successively operating sources of stress, classified as "predisposing", "contributing" and "inciting" factors. Recent declines in forest stands have often been analysed as resulting from multiple and interacting environmental stresses caused for instance by air pollution, biotic factors, drought or climate change (Tainter *et al.* 1984, Krause *et al.* 1986, Becker 1989, Bert 1993, McLaughlin and Downing 1995). Moreover, declining trees are generally considered to be more prone to injuries by pathogens or pests (Clinton *et al.* 1993, Jones *et al.* 1993). For instance, drought stressed oaks are more prone to suffer defoliation by insects, frequently followed by mildew infection (*Microsphaera alphitoides* Griff. and Maubl.) of the regrowing foliage. There is also some evidence that trees affected by repeated defoliations are highly susceptible to abiotic constraints such as drought. Water stress, atmospheric pollution, nutrient deficiency; insects or pathogens are likely to weaken tree physiological resistance to further stress and thus, the primacy of such effects is difficult to establish.

In the past decades, European oak forests have been seriously affected by decline processes (Luisi *et al.* 1993, Landmann *et al.*, 1993, Führer 1998, Oszako and Delatour 2000, Ragazzi *et al.* 2000). *Quercus petraea* and *Q. robur*, two major species of natural forests in Western and Central Europe, are both recurrently affected by dieback. However, when the two species coexist in mixed stands, *Quercus robur* is always more severely affected than *Q. petraea* (Becker & Lévy 1982). Declining stands are usually associated with visual symptoms such as thinning of the crowns and excessive mortality. Several studies have highlighted the dominating role of water stress in many of these decline episodes (Landmann *et al.* 1993). Mortality rates have been locally very high, but death never affected all the trees. Within species and stand, some trees suffered more from decline than others. Between-tree variability in survival rate may be due to genetic or/and to environmental factors and may have detectable effects on tree functions before death. Tree ring analysis provides one of the best tools to study long-term relationships between trees and environment because it allows a retrospective approach. Radial growth is a particularly sensitive stress marker within trees (Waring & Pitman 1985). Relationship between drought and decline of American red oak species have already been highlighted by means of radial growth analyses (Tainter *et al.* 1990, Jenkins & Pallardy 1995, Pedersen 1998). Furthermore, variations in carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$) have been used as a powerful index for the type and degree of stresses experienced by trees. The $\delta^{13}\text{C}$ record of annual growth rings provides information on the history of stresses related to environmental changes, which could be implied in the forest decline. Water stress have been shown to cause increased $\delta^{13}\text{C}$ as a time integrated consequence of reduced stomatal conductance and increased ci/ca (Freyer 1979, Francey & Farquhar 1982, Leavitt & Long 1989, Dupouey *et al.* 1993, Leavitt 1993, McNulty & Swank 1995, Saurer *et al.* 1997, NGuyen-Queyrens *et al.* 1998). These studies all concentrated on the inter-annual variability of drought effects, but none investigated in parallel inter-annual and inter-individual variability of $\delta^{13}\text{C}$ despite its potential for assessing differences in drought stress responses and potential long term derives in stress responses among individual trees.

The objective of our study was to understand the inter-tree variability in decline sensitivity, within the same species and the same stand. We have compared declining

and healthy trees in three different stands that experienced strong oak diebacks at the end of XXth century, attributed to drought-induced stress. The study was based on the retrospective analysis of width and $\delta^{13}\text{C}$ of tree-ring and on a comparison of declining (and sometimes already dying trees) and of surviving ones.

Material and methods

Site and tree sampling

Three sites were selected for investigations:

Two sites were situated in the French part of the Rhine valley. They were both *Quercus petraea* stands (with some *Q. robur* patches) located in the Harth (47°45'N, 7°30'E) and Reiningue (47°45'N, 7°12'E) forests, respectively. These two sites growing on well-drained sandy/rocky soils, 20 km away from one another, were subjected to similar dry environments with a low average level of precipitation (580 mm annual mean). Recurrent severe drought affected these forests, leading to growth decrease since the drought of 1972. The succession of dry years like 1976, 1983, 1985 and especially 1989 resulted in a marked oak decline during the early 90's. Dieback affected both *Q. petraea* and *Q. robur*, although the latter species was the most severely affected (large crown damage and larger death rates). During 1997, the level of defoliation, as measured by infrared remote sensing, rose to 29% in the Harth forest. Mean monthly precipitation and temperature of the meteorological station of Basel (13 and 30 km away from the Harth and Reiningue sites, respectively) were available from 1861 to 1989. In the Harth site, a daily soil water balance model provided also stress indices for the 1964-1995 period as the number of days with relative extractable water below a 0.4 threshold (Spiecker 1998).

The third site was a mixed stand of *Q. petraea* and *Q. cerris* located in the Síkfőkút Project forest (47°90'N, 20°46'E; O'Heix *et al.* 1998) which is part of the National Park of Bükk Mountain region, Hungary. The decline began in the late 1970's and affected more than 70% (mortality rate) of the *Q. petraea* population until the end of the 1990's, whereas *Q. cerris* remained unscathed. Soil was a brown forest soil. Climate changes (2.5°C and 4.0°C average increase for annual and summer temperature between 1978 and 1994, decrease of precipitation) were considered as the major factor inducing oak decline (O'Heix ?), although other interacting factors like soil acidification could be involved also (Jakucs *et al.* 1986). Mean monthly precipitation, temperature and relative air moisture of the meteorological station of Miskolc (30 km away from the site) were available from 1950 to 1990 for precipitation and from 1978 to 1995 for temperature. In addition, annual values of precipitation, air and soil moistures, temperature and global radiation were recorded in the Síkfőkút station from 1973 to 1996.

Dead trees or trees that showed very severe decline symptoms (branch mortality in the crown above 80%) were selected when their dominant position in the stand was still evident (large DBH, no competitor). These are referred to as 'declining' tree throughout the text. For each selected declining tree, the closest dominant tree of the same species, with a similar circumference, but with no or few crown symptoms, was also sampled. In the framework of a large survey of climate growth relations in the Vosges and the Black Forest (Spiecker 1998), five declining and five healthy *Q. petraea* trees were selected in the Harth forest (Table I). Ten *Q. petraea* trees of each health category were chosen in both sites of Reiningue and Síkfőkút. In addition, ten dominant (healthy) *Q. cerris* were also selected in the Síkfőkút site.

Table I. Sampling design.

Sites	Species	Declining trees	Surviving trees	Years of $\Delta^{13}\text{C}$ tree-ring analysis	Fraction of the year-ring analysed
Harth (France)	<i>Q. petraea</i>	5	5	year by year 1940-1994	latewood
Reiningue (France)	<i>Q. petraea</i>	10	10	decades 1940's, 1950's, 1960's, 1970's	early+latewood
Síkfőkút (Hungary)	<i>Q. petraea</i> <i>Q. cerris</i>	10 10	10 -	year by year 1943, 45, 47, 52, 55, 61, 62, 63, 67, 68, 76, 79, 82, 85, 86, 90, 92	latewood

Table II. Average annual radial growth (mm) for a cambial age of 30 to 80 years in the Harth, Reiningue and Síkfőkút forests. Average radial growth (Lebourgeois 1999) was computed from 614 *Q. petraea* trees distributed in 21 French forests.

	Surviving trees	Dead trees
Harth	1.80	1.92
Reiningue	1.75	1.97
Síkfőkút	1.72	1.36
Lebourgeois 1999	1.96	-

Tree growth analysis

According to Leavitt & Long (1984), and in order to increase the amount of available wood for the isotopic analysis, three to seven cores were sampled (in four opposite directions) per tree at 1.30 m and dried in ambient air. Trees were cored in 1995, 1998 and 2000 in the Harth, Reiningue and Síkfökút sites, respectively. Based on two orthogonal cores per tree, annual ring width were measured to the nearest 1/100 mm with a semi-automated device and afterwards cross-dated.

Stable carbon isotope analysis

In the Harth site, a year-by-year analysis (year rings from 1940 to 1994) of carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$) was performed on each of the ten selected trees. Seventeen rings were selected from 1943 to 1992 in the Síkfökút site (Table I), including years with high and others with low radial growth. These single tree-ring measurements were based on latewood only. In the Reiningue site, four ring sequences were extracted corresponding to four decades prior to the decline: 1940's, 1950's, 1960's, 1970's; isotopic analysis was achieved on total wood (earlywood + latewood). For each year or time period, all the rings or ring sequences from a single tree were pooled together and ground. To limit the effects of potential ring to ring carbon exchanges (Tans *et al.* 1978, Benner *et al.* 1987) carbon isotopes analyses were performed on holocellulose extracted from wood, as described by Leavitt & Danzer (1993).

Stable carbon isotope abundance of wood cellulose was measured with a continuous-flow elemental analyser interfaced with an isotope mass spectrometer. Stable carbon isotope ratio was expressed as the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio relative to Pee Dee Belemnite. Samples from Reiningue and Síkfökút were measured in Nancy, and samples from the Harth in Jülich. The precision of spectrometric analysis (standard deviation in δ) of a laboratory standard was 0.1‰ in the two laboratories. Results were expressed as values of carbon isotope discrimination against air (Δ) which has the advantage of taking into account the time course of atmospheric ^{13}C composition (δ_a). The relationship between Δ and δ is as follows:

$$\Delta = \frac{\delta_a - \delta_p}{1 + \delta_p},$$

where δ_p refers to the isotopic composition of the photosynthesis products (wood cellulose). Data for δ_a were estimated as indicated in Bert, Leavitt & Dupouey (1994).

Statistical analysis

For the study of variations between healthy and declining trees (inter-category variations), an analysis of variance was carried out, by using the following linear model:

$$Y_{ijk} = a + b_i + c_{j(i)} + d_k + e_{ijk} \quad \text{model (1)}$$

where Y_{ijk} = measured values of Δ (or ring width) for tree j , within category i , at year or time sequence k ,

a = constant,

b_i = effect of category i ,

$c_{j(i)}$ = effect of tree j within category i ,

d_k = effect of year or time sequence k ,

e_{ijk} = error term.

The relationship between variables was estimated using Pearson's and Spearman's correlation coefficients. A standardization was applied to the Δ (except for the Reiningue site) and ring width series for each health category to remove long-term trends, by using the following formula:

$$X_{\text{standardized year } n} = \ln (X_{\text{unstandardized year } n} / X_{\text{unstandardized year } n-1})$$

where X was Δ or ring width.

Data are presented as means $\pm$ standard deviation. Data were analysed using the SAS statistical package (SAS Institute 1988).

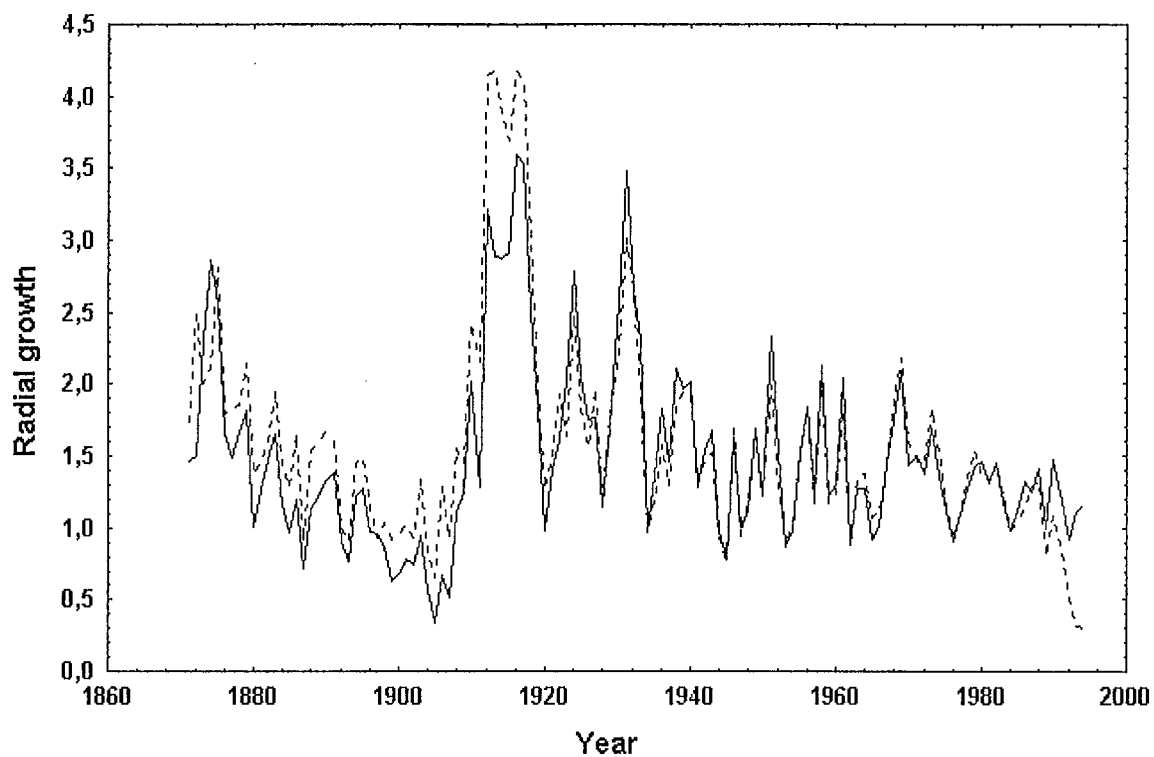


Figure 1. Average annual radial growth (mm) of declining (dashed line) and healthy trees (full line) at the Harth site.

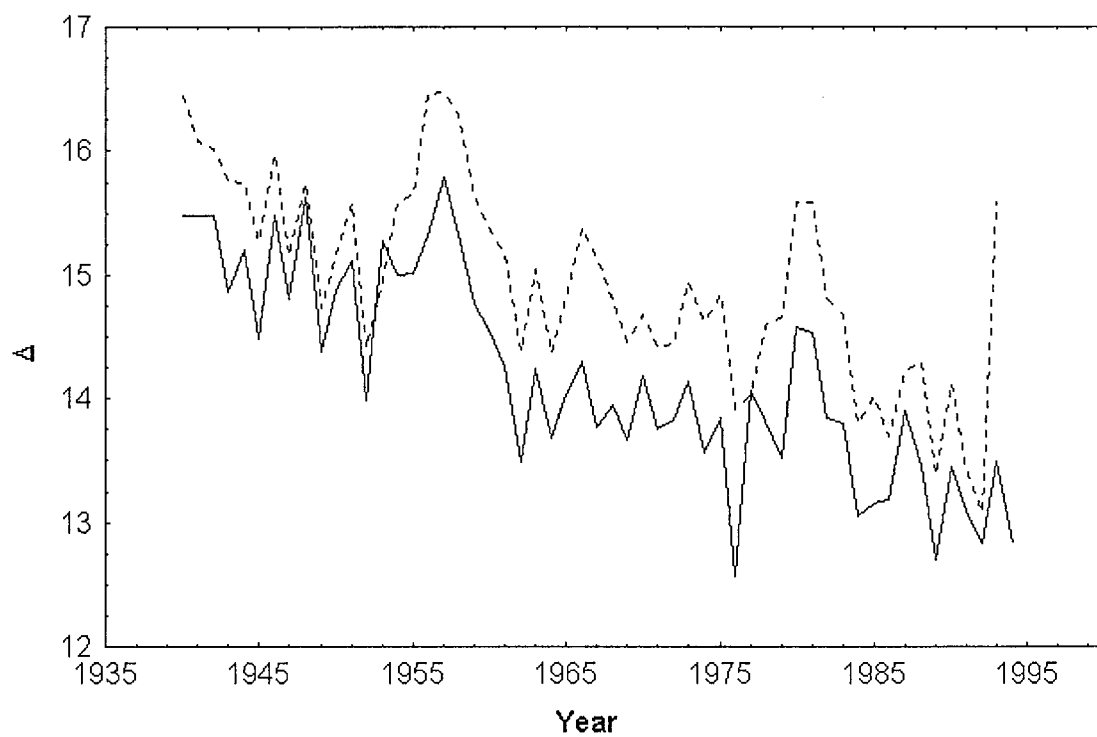


Figure 2. Average carbon isotope discrimination (Δ , ‰) of declining (dashed line) and healthy trees (full line) at the Harth site.

Table III. Years of significant differences between average isotopic discrimination of dead (n=5) and live trees (n=5) in the Harth forest, as tested by a t-test. P-value of the t-test as follows: (*): $P < 0.1$, *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

Year	difference (‰)	P-value
1941	0.6	(*)
1943	0.9	*
1945	0.8	*
1956	1.1	(*)
1958	1.0	(*)
1959	0.9	(*)
1960	0.8	(*)
1961	0.9	(*)
1962	0.9	(*)
1963	0.8	*
1964	0.7	*
1965	0.8	(*)
1966	1.1	*
1967	1.4	**
1968	0.8	*
1969	0.8	*
1971	0.7	(*)
1973	0.8	(*)
1974	1.1	**
1975	1.0	*
1976	1.3	**
1978	0.8	*
1979	1.1	*
1980	1.0	*
1981	1.1	(*)
1982	1.0	(*)

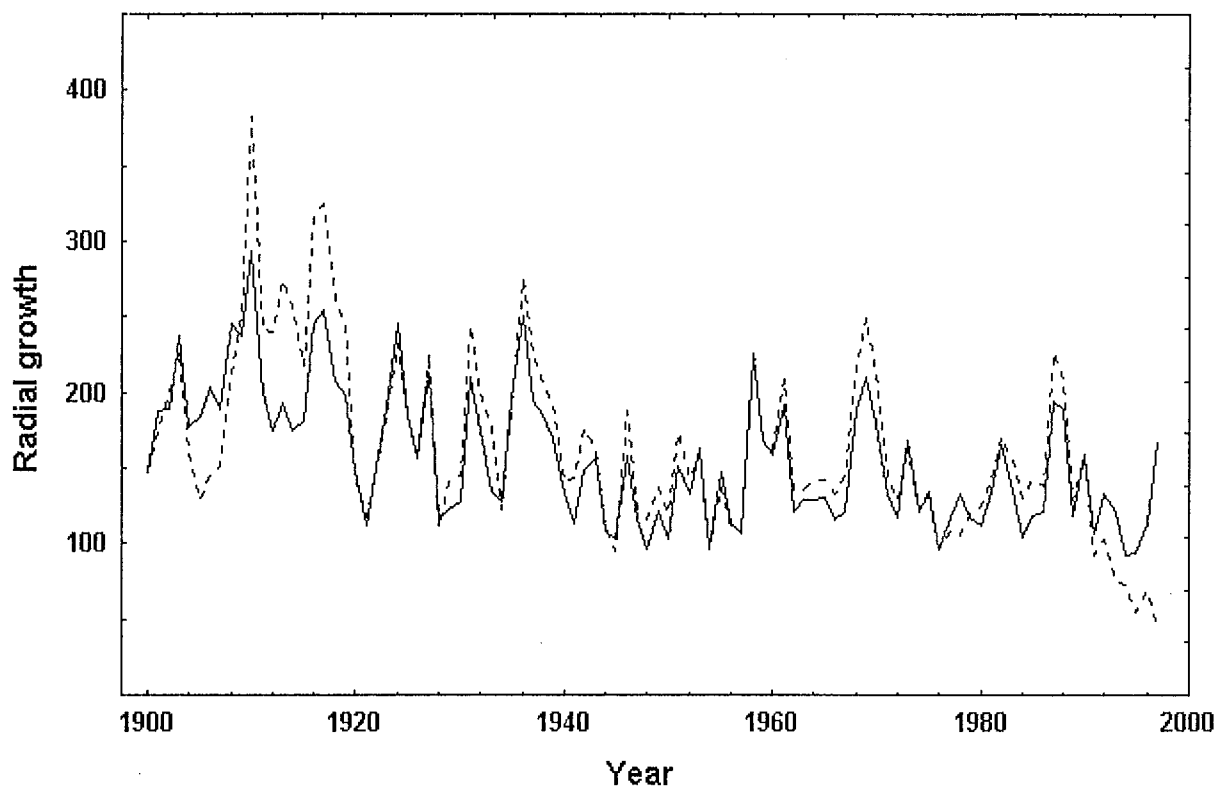


Figure 3. Average annual radial increment (mm) of declining (dashed line) and healthy (full line) trees at the site of Reiningue.

Results

There was no difference of age between healthy and dead trees neither in the Harth forest (range = 119 to 123 years at the time of coring, mean = 120), nor in Reiningue (range = 107 to 154, mean = 126), or in Hungary (range = 80 to 90, mean = 88). Whatever the site, these trees displayed on average, a low growth rate (Table II).

Radial growth analysis

Harth site

Between 1873 (first date at which all studied trees were present) to 1920, the later declining trees displayed on average a 23% larger annual radial increment than healthy ones (Figure 1). Declining and healthy trees displayed similar increments and the declining ones diverged from healthy only during the last five years, after 1989 which was the driest among the last 30 years. The difference became significant only during 1993 and 1994 ($P < 0.0001$). To avoid the impact of extreme growth rates, trees were ranked for their radial growth every year, and a mean rank was computed for the declining and healthy trees. This confirmed the occurrence of a larger radial growth in later declining trees from 1824, and the lack of difference between them until the final breakdown of radial growth during the 90s. A severe increase of radial growth began around 1910, probably after a clearing in the stand. After 1910, a negative long-term trend of ring width (ring width = $38.9 - 0.02 \cdot \text{date}$, $r^2 = 0.36$) was observed on both declining and healthy trees and radial growth decreased down to the rates prevailing before clearing. The intra-tree autocorrelation for ring width was high ($r = 0.66$ and $r = 0.75$ in healthy and declining trees, respectively, $P < 0.0001$, $n = 122$). The average standardized ring width was correlated with the sum of precipitation from May to August ($r = 0.44$, $P = 0.0017$).

Reiningue site

From 1900 to 1990, declining trees displayed a slightly larger radial growth (+8%) than healthy trees (Figure 3). An analysis of variance (model 1) for the 1900-1990 period showed that the health category accounted for less than 1% of the total variability, whereas 14% was explained by an intra-category variability and 39% by the date (Table IV). After 1990, radial increment of declining trees dropped dramatically ($P = 0.01$, $n = 16$) in 1993 (after this date, the number of surviving declining trees was reduced to 4, and no statistical test could be performed). The average rank of declining trees was slightly but permanently higher than that of healthy ones from 1909 to 1990. The inter-tree autocorrelation for ring width was large ($r = 0.55$ and $r = 0.60$ for healthy and declining trees, respectively, $P < 0.0001$, $n = 90$). A negative long-term trend of ring width was observed in the two categories (ring width = $1886 - 0.88 \cdot \text{date}$, $r^2 = 0.23$). The standardized ring width was positively correlated with the sum of precipitations from April to August ($r = 0.34$, $P = 0.0005$) and negatively with August temperature ($r = -0.23$, $P = 0.03$).

Síkfőkút site

Before 1943, later-declining *Q. petraea* trees displayed a larger average radial increment than healthy ones (+ 17%; Figure 4). After a short period during the late 40s

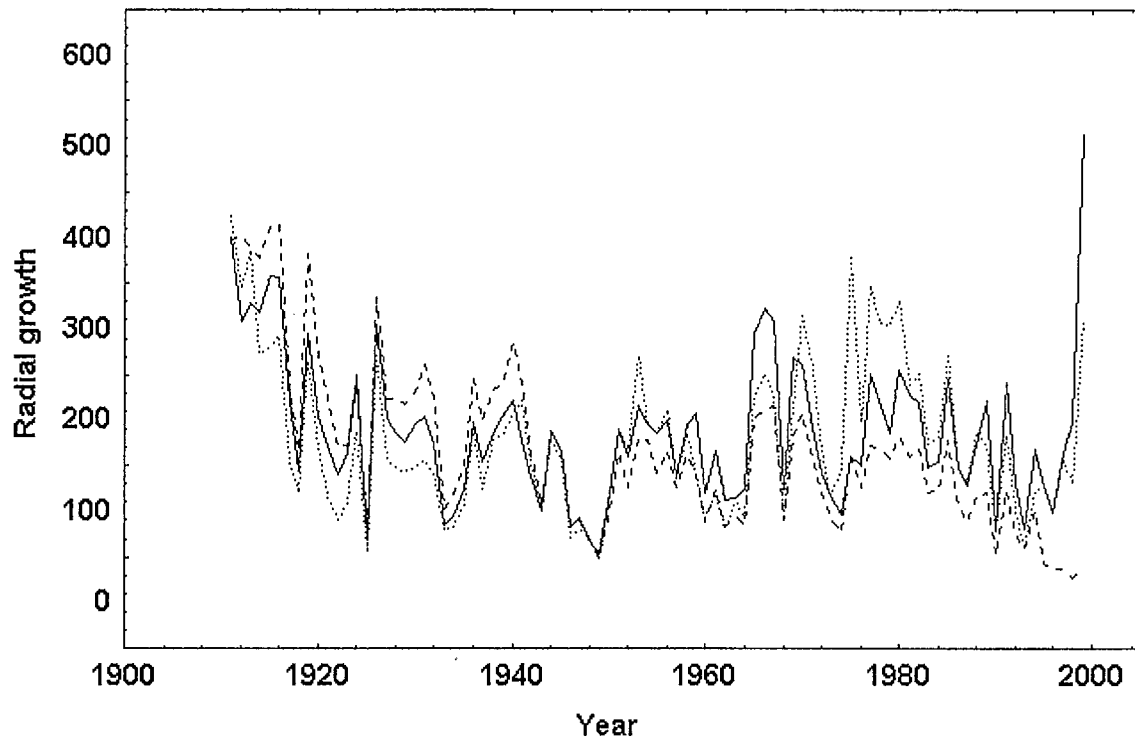


Figure 4. Average annual radial growth (mm) of declining (dashed line) and healthy (full line) *Q. petraea* trees and healthy *Q. cerris* trees (dotted line) at the Síkfökút site.

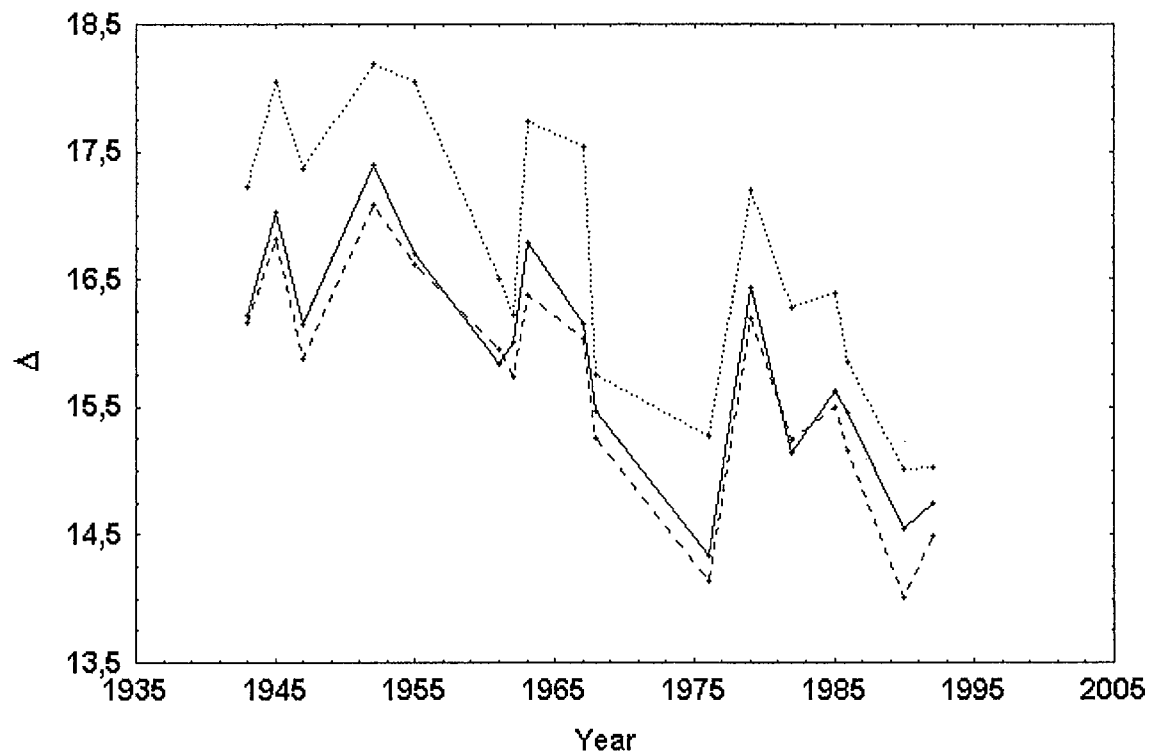


Figure 5. Average carbon isotope discrimination (Δ , ‰) of declining and healthy *Q. petraea* and *Q. cerris* trees at the Síkfökút site as a function of time. (*Q. cerris*: dotted line, healthy *Q. petraea*: full line, declining *Q. petraea*: dashed line).

Table IV. Analysis of variance (model 1) of the effects of health category, tree within health category and time period on carbon isotope discrimination in wood cellulose and tree-ring width.

	Δ				ring width			
	df	SS	F	p	df	SS	F	p
Harth								
model	60	470	30.8	<0.0001	76	169	27.8	<0.0001
health	1	66	260.9	<0.0001	1	0	3.2	0.07
date	51	314	24.2	<0.0001	67	148	27.5	<0.0001
tree (health)	8	90	44.1	<0.0001	8	21	33.4	<0.0001
error		117		$r^2=0.80$	603	48		$r^2=0.78$
Reiningue								
model	22	43	8.7	<0.0001	109	$5.8 \cdot 10^6$	18.2	<0.0001
health	1	0	1.4	0.2	1	$81 \cdot 10^3$	27.4	<0.0001
date	3	15	22.0	<0.0001	90	$4.2 \cdot 10^6$	15.9	<0.0001
tree (health)	18	28	6.8	<0.0001	18	$1.5 \cdot 10^6$	29.3	<0.0001
error		12		$r^2=0.78$				$r^2=0.54$
Síkfőkút								
model	35	333	41.2	<0.0001	60	$3.0 \cdot 10^6$	30.2	<0.0001
health	1	3	14.1	0.0002	1	$0.5 \cdot 10^6$	284.8	<0.0001
date	16	225	60.9	<0.0001	41	$2.0 \cdot 10^6$	29.7	<0.0001
tree (health)	18	105	25.5	<0.0001	18	$0.5 \cdot 10^6$	17.1	<0.0001
error				$r^2=0.83$				$r^2=0.70$

Table V. Average carbon isotopic discrimination (Δ , ‰) of alive and dead trees, and difference ($\Delta_{\text{dead}} - \Delta_{\text{alive}}$), during the decades 1940's, 50's, 60's and 70's in the Harth and Reiningue forests. Mean $\pm$ SD, $n = 10$. P-value of the t-test of mean comparison as follows: (*): $P < 0.1$, *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$, and non significant otherwise.

	Harth			Reiningue		
	Δ_{dead}	Δ_{alive}	$\Delta_{\text{d}} - \Delta_{\text{a}}$	Δ_{dead}	Δ_{alive}	$\Delta_{\text{d}} - \Delta_{\text{a}}$
1940-49	15.8 ± 0.4	15.2 ± 0.6	0.6	16.3 ± 0.7	16.5 ± 0.9	-0.2
1950-59	15.7 ± 0.7	15.1 ± 0.5	0.6	16.3 ± 0.7	16.6 ± 0.8	-0.3
1960-69	14.9 ± 0.5	14.0 ± 0.4	0.9 *	15.7 ± 0.7	16.0 ± 0.7 ($n = 9$)	-0.3
1970-79	14.6 ± 0.5	13.8 ± 0.5	0.8 *	15.5 ± 1.0 ($n = 9$)	15.3 ± 0.7	0.2

of similar and very low increment (the lowest from the century), radial increment of declining trees remained below that of healthy ones. This divergence, initiated during 1951, was maintained until the death of the declining trees, more pronounced after each growth dip. The time course of the average yearly ring width rank of declining vs. healthy trees confirmed this observation. From 1920 (first date at which all the trees were present) to 1943, 5% of the total variability was explained by category (against 25% by the intra-category variability and 46% by the date). Results of ANOVA (model 1) for the 1951-1992 (last date to which all the trees were present) are displayed in Table IV: the total variability was broken down into inter-category (11%), intra-category (12%) and inter-annual variability (47%). During this period, later-declining trees displayed a 25% lower radial increment than healthy ones. A significant long-term decrease was observed in radial growth of declining *Q. petraea* (ring width = $2763 - 1.33 \cdot \text{date}$, $r^2=0.22$) from 1920 to 1992 (whereas an increasing one was detected in *Q. cerris* during the same time). No long-term trend was detected between 1951 and 1992, neither for healthy, nor for declining trees (idem for healthy *Q. cerris*). The autocorrelation of ring width was lower than in the two previous sites ($r=0.28$ $P=0.018$ and $r=0.45$ $P<0.0001$, for healthy and declining *Q. petraea* trees, respectively, and $r=0.46$ $P<0.0001$ for *Q. cerris*; $n=71$). Among healthy trees, there was a significant ($F=12.63$, $P=0.0004$), but weak, interspecific differences in radial growth (+4% in *Q. petraea* on the whole 1920-1999 period), as well as a significant ($F=7.63$, $P<0.0001$) interaction between the species and the date effect.

13C data analysis

Harth site

Isotopic discrimination against ^{13}C (Δ) was in average larger (smaller water use efficiency, WUE) in later-declining trees from 1940 to 1994 (Figure 2). The difference between the two categories varied between 0.6 and 1.4‰ (Table III, average for the 1940-1993 period : 0.7 ± 0.4 ‰). A significant effect of health category, tree within category and year of tree-ring formation occurred on Delta from 1940 to 1991, explaining 80% of total variability (Table IV). Inter-category, intra-category and inter-annual variability represented 11, 15 and 54 % of total variability, respectively. In addition, a long-term decrease affected Δ similarly in declining and healthy trees during the 1940-1991 period (16.0 to 14.0 ‰ in declining trees; $\Delta = 91.0 - 0.0387 \cdot \text{date}$, $r^2=0.55$) and from 15.4 to 13.2 ‰ in healthy trees ($\Delta = 99.4 - 0.0433 \cdot \text{date}$, $r^2=0.65$). The autocorrelation of the average Δ was high ($r=0.70$ and $r=0.55$ in healthy and declining trees, respectively, $P<0.0001$, $n=53$). No correlation was observed between standardized Δ and standardized ring width ($r=0.22$, $P>0.1$ for declining trees and $r=0.18$, $P>0.1$ for healthy trees). The standardized Δ (healthy + declining trees) was strongly correlated with the number of days with drought stress ($r=-0.63$, $P=0.0005$, date=1964 to 1989), the mean annual temperature ($r=-0.49$, $P=0.0003$, date=1940 to 1989) and the sum of precipitations from may to august ($r=0.47$, $P=0.0007$, date=1940 to 1989). There was no relationship between the inter-category difference of Δ and climatic variable of the current year, but a significant correlation was observed between this inter-category difference and the number of days with drought stress of the previous year ($r=-0.46$, $P=0.02$).

Reiningue site

No difference in Δ was visible between healthy and declining trees (Table V). Model 1 explained 78% of the total variability, due to intra-category (50% of the total variability) and time (28% of the total variability; Table IV). Spearman rank correlations decreased from 0.70 ($P=0.0006$, $n=20$) between $\Delta_{1940\text{'s}}$ and $\Delta_{1950\text{'s}}$ to 0.51 ($P=0.3$, $n=19$) between $\Delta_{1940\text{'s}}$ and $\Delta_{1970\text{'s}}$. No relationship was observed between Δ and tree girth. An average Δ value was calculated per decades (weighted by ring width) from 1940 to 1979, with the Harth data, and given in Table V for comparison with Reiningue. On the whole, the Δ values were higher in the Reiningue site than in the Harth site by more than 1‰.

Síkfökút site

The declining trees displayed a slightly lower Δ (i.e. higher WUE) than the healthy trees (15.7 ± 1.0 and 15.9 ± 1.2 ‰, respectively). According to model 1, the effect of the health category was significant ($P=0.0002$), but the variability due to this factor was very low (<1%) as compared to those due to the date (56%) and the intra-category variability (26%).

Among healthy trees, *Q. cerris* displayed a permanent 5% higher Δ (i.e. lower WUE) than *Q. petraea*. This interspecific difference was significant ($P<0.05$) for the years 1943 to 1955, 1963, 1967 and 1982 (Figure 5). There is a significant relationship between this interspecific difference and the sum of precipitation from May to August ($r=-0.60$, $P=0.03$, $n=13$).

Discussion

Several lines of evidence (dry context according to climate and soils, rapid decrease of radial growth after a series of dry years, absence of other decline inducing factors like defoliation) point to drought as a major decline inducing factor in the selected oak stands. Water stress can cause deep dysfunctions in tree physiology, affecting both water relations and carbon budget. The degree of damage varies according to intensity, time span and frequency of drought events endured by each individual, depending on both intrinsic and extrinsic factors. Survival and recovery are possible if the stress does not exceed a critical intensity and duration, and additionally, if the trees are spared the attack by xylophagous insects and root pathogens. In the three selected forests, high levels of decline were recorded, dividing trees into two populations: healthy and declining oaks.

Radial growth

In the Hungarian forest, declining *Q. petraea* trees displayed a lower average radial growth than healthy trees over forty years prior to death (Figure 4). Several authors reported that dead oaks had grown at a slower rate than surviving neighbours for decades prior to their deaths (Pedersen 1998, Jenkins & Pallardy 1995). The pattern of decline, as exhibited by radial growth, was quite different in both French forests, since the growth divergence between the two categories appeared less than ten years prior to death (Figures 1 and 3).

Tainter *et al.* (1990) found that declining trees were more sensitive to climate (higher correlations between radial growth and climatic variables) than healthy trees. They hypothesized that severe droughts could weaken populations of trees which were impacted later by single-season short-term droughts that previously would have had only a temporary effect. Sensitivity of trees to water stress depends on social category, past competition, genetic features and microtopography.

One of the consequences of decline episodes is the release of trees from competition pressure and improved access to limiting resources. Defoliation and death of small rootlets, added to increased solar radiation and precipitation reaching the ground, stimulate decomposition and mineralization (Waring & Pitman 1985).

Carbon isotope discrimination

A reduced soil water availability usually results in decreased Δ (i.e. increased WUE; Farquhar *et al.* 1989, Leavitt & Long 1989, Leavitt 1993, Picon *et al.* 1996, Rouspard *et al.* 1998). Studying the decline of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*), Sakata (1996) found a significantly lower $\delta^{13}\text{C}$ (i.e. higher Δ , lower WUEi) in needles of healthy trees, as compared to declining trees, and hypothesized that water stress was the cause of stomatal closure and of decline in the driest sites. In our study, we could expect that declining trees were subjected to water shortage, for instance due to shallower soil or superficial rooting, leading to a lower Δ . Results in Síkfőkút showed such a tendency. On the other hand, we could also hypothesize that genotypes that use water more efficiently could have a competitive advantage over the others, particularly when drought occurs recurrently. This hypothesis seemed confirmed in the Harth forest.

Moreover, in a previous study (Ponton *et al.* 2001), we compared healthy *Q. petraea* and *Q. robur* trees growing side by side in mixed stands, and found a permanent lower Δ (i.e. higher intrinsic WUE) in wood cellulose of *Q. petraea*, known to be most drought tolerant. On the opposite, our study in Síkfökút site revealed that *Q. cerris*, the most drought tolerant species in the mixed stand, displayed a larger Δ (i.e. lower intrinsic WUE) than *Q. petraea*.

The long-term decrease in Δ observed in the three sites was probably due to the long-term change of atmospheric CO_2 concentration (Bert 1997, Duquesnay *et al.* 1998, Feng 1999).

Social category

A noteworthy occurrence was the inversion of annual growth levels of surviving vs. dead trees, during the transition from juvenile to mature stages of the stand development: trees which were dead at the time of sampling, had displayed higher growth rates during the first decades of their life (before the age of 30-50). Such a pattern was already noticed in several studies dealing with oak decline in North America (Tainter *et al.* 1990, Biocca *et al.* 1993, Dwyer *et al.* 1995, Jenkins & Pallardy 1995) or silver fir decline in Europe (Bert 1993). Trends inversion were generally sudden, following a strong decrease of growth (e.g. severe drought period), as observed in the Hungarian forest. This occurrence seems to imply that trees which had displayed the largest growth, and consequently held more dominant position in their past than now-healthy trees (since there was no age difference between the two health category), were also the most vulnerable to stress. In a pure even-aged beech (*Fagus sylvatica*) forest, Piutti & Cescatti (1995) found that growth response to climate varies with competition: suppressed trees displayed a negative response to water deficit, contrary to dominant trees which were only sensitive to water surplus (negative response). One interpretation of this observation is that dominant trees access to larger soil water reserve whereas suppressed trees have to share water with neighbours. In a beech forest affected by dieback, Abetz (1988) observed a relationship between magnitude of damage and social category of trees during their pole stage. Now-dominant trees which had been codominant or intermediate several decades ago were more prone to decline than forever dominants, as a consequence of larger sensitivity to severe water deficit due to a shallower root depth. Mandallaz *et al.* (1986) reported that dominant silver fir (*Abies alba*) trees displayed the highest probability to be safe, whereas the opposite situation could happened for beech. Lu (1992) shown that, during drought, leaf pre-dawn water potential of 30 year's old spruce trees (*Picea abies*) were more negative on dominant trees than on suppressed ones. Characterisation of canopy gaps in southern Appalachian mixed-*Quercus* forests supported the hypothesis that most of the individuals affected by drought were large older trees that were more susceptible to agents of stress (Clinton *et al.* 1993). A large survey of oak health realised on 658 trees distributed on 68 plots spread over the whole Harth forest did not reveal any differences of damage intensity among different social category (Bréda, personal communication).

Thus, the interactions between social category of individual trees and their sensitivity to drought is still rather controversial. Furthermore, several authors reported that dominant trees could be the most damaged by insect defoliation (Rubstov 1996). However, even if we can not completely discard the hypothesis of the involvement of such factors in the growth inversion, this later interpretation seems quite improbable.

A more likely hypothesis was that a high WUE might be less beneficial on the wettest years because it frequently comes at the expense of rapid growth (Austin *et al.* 1990) or competition (De Lucia & Schlesinger 1991). Respective benefits caused by differences of WUE could compensate in an environment subjected to frequent water stresses, until the occurrence of a stronger drought damaged irreparably the most sensitive individuals. Nevertheless, this hypothesis only matched with the case of the Harth site, where trees with the highest WUE displayed the lower initial growth and better resisted to the strong drought crisis of the 1990's.

Acknowledgements

S. Ponton was supported by a PhD grant from the Institut National de la Recherche Agronomique and from the Regional Council of Lorraine. We gratefully acknowledge the technical assistance of Paul Tessot and Patrick Behr, and the help of Claude Bréchet for isotopic analyses. The study was partly carried out with a financial support from the Commission of the European Communities, Agriculture and Fisheries (FAIR) specific RTD programme (PATHOAK), CT97-3926 ("Long term dynamics of oak ecosystems: assessment of the role of root pathogens and environmental constraints as interacting decline inducing factors").

References

- Abetz P., 1988. Untersuchungen zum Wachstum von Buchen auf der Schwäbischen Alb. Allg. Forst. Jagdztg. 159 (11/12): 215-223.
- Austin R.B., Craufurd P.Q., Hall M.A., Acevedo E., Da Silveira Pinheiro B. and Ngugi E.C.K., 1990. Carbon isotope discrimination as a means of evaluating drought resistance in barley, rice and cowpeas. Bull. Soc. Bot. Fr. Actual. Bot. 137 : 21-30.
- Becker M. & Lévy G., 1982. Le dépérissement du chêne en forêt de Tronçais. Les causes écologiques. Ann. Sci. For. 39: 439-444.
- Becker M. 1989. The role of climate on present and past vitality of silver fir forests in the Vosges mountains of northeastern France. Can. J. For. Res. 19: 1110-1117.
- Benner R., Fogel M.L., Sprague E.K. and Hodson E., 1987. Depletion of ^{13}C in lignin and its implications for stable carbon isotope studies. Nature 329: 708-710.
- Bert D., 1993. Impact of ecological factors, climatic stresses, and pollution on growth and health of silver fir (*Abies alba* Mill.) in the Jura mountains: an ecological and dendrochronological study. Acta Oecologica 14 (2): 229-246.
- Bert D., Leavitt S.W. and Dupouey J.-L., 1997. Variation of wood $\delta^{13}\text{C}$ and water-use efficiency of *Abies alba* during the last century. Ecology 78: 1588-1596.
- Biocca M., Tainter F.H., Starkey D.A., Oak S.W. and Williams J.G., 1993. The persistence of oak decline in the western North Carolina Nantahala Mountains. Castanea 58: 178-184.
- Clinton B.D., Boring L.R. and Swank W.T., 1993. Canopy gap characteristics and drought influences in oak forests of the Coweeta Basin. Ecology 74 (5): 1551-1558.
- De Lucia E.H. and Schlesinger W.H., 1991. Ressource-use efficiency and drought tolerance in adjacent Great Basin and Sierran plants. Ecology 71: 51-58.
- Dupouey J.-L., Leavitt S., Choisnel E. and Jourdain S., 1993. Modelling carbon isotope fractionation in tree rings based on effective evapotranspiration and soil water status. Plant Cell Env. 16: 939-947.
- Duquesnay A., Bréda N., Stievenard M. and Dupouey J.-L., 1998. Changes of tree-ring $\delta^{13}\text{C}$ and water-use efficiency of beech (*Fagus sylvatica* L.) in north-eastern France during the past century. Plant Cell Env. 21: 565-572.
- Dwyer J.P., Cutter B.E. and Wetteroff J.J., 1995. A dendrochronological study of black and scarlet oak decline in the Missouri Ozarks. For. Ecol. Manage. 75 (1-3): 69-75.
- Farquhar G.D., Ehleringer J.R. and Hubick K.T., 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 40: 503-537.
- Feng X., 1999. Trends in intrinsic water-use efficiency of natural trees for the past 100-200 years: A response to atmospheric CO_2 concentration. Geochim. Cosmochim. Acta 63: 1891-1903.
- Francey R.J. and Farquhar G.D., 1982. An explanation of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ variations in tree rings. Nature 297: 28-31.
- Freyer H.D., 1979. On the ^{13}C record in tree rings. Part I. ^{13}C variations in northern hemispheric trees during the last 150 years. Tellus 31: 124-137.

Führer E., 1998. Oak decline in Central Europe: a synopsis of hypotheses. In Proceedings: Population, Dynamics, Impacts, and Integrated Management of Forest Defoliating Insects, McManus M.L. and Liebhold A.M. (eds.). USDA Forest Service General Technical Report NE-247, 7-24.

Jakucs P., Meszaros I., Papp B.L. and Toth J.A., 1986. Acidification of soil and decay of sessile oak in the "Sikfokut Project" area (N-Hungary). Acta Bot. Hung. 32: 303-322.

Jenkins M.A. and Pallardy S.G., 1995. The influence of drought on red oak group species growth and mortality in the Missouri Ozarks. Can. J. For. Res. 25: 1119-1127.

Jones E.A., Reed D.D., Mroz G.D., Liechty H.O. and Cattelina P.J., 1993. Climate stress as a precursor to forest decline: paper birch in northern Michigan, 1985-1990. Can. J. For. Res. 23: 229-233.

Krause G.H.M., Arndt U., Brandt G.J., Bucher J., Kenk G. and Matzner E., 1986. Forest decline in Europe: development and possible causes. Water, Air and Soil Pollut. 31: 647-668.

Landmann G., Becker M., Delatour C., Dreyer E. and Dupouey J.-L., 1993. Oak dieback in France: historical and recent records, possible causes, current investigations. In Rundgespräche der Kommission für Ökologie Bd 5 (ed. Bayerische Akademie der Wissenschaften), pp. 97-114. Verlag F. Pfeil, Munich.

Leblanc D.C. and Raynal D.J., 1990. Red spruce decline on Whiteface Mountain, New York : II. Relationships between apical and radial growth decline. Can. J. For. Res. 20: 1415-1421.

Leavitt S.W., 1993. Seasonal $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ changes in tree rings : species and site coherence, and a possible drought influence. Can. J. For. Res. 23: 210-218.

Leavitt S.W. and Danzer S.R., 1993. Method for batch processing small wood samples to holocellulose for stable-carbon isotope analysis. Analytical Chemistry 65: 87-89.

Leavitt S.W. and Long A., 1984. Sampling strategy for stable carbon isotope analysis of tree rings in pine. Nature 311: 145-147.

Leavitt S.W. and Long A., 1989. Drought indicated in carbon-13/carbon-12 ratios of southwestern tree rings. Water resources bulletin 25 (2): 341-347.

Lebourgeois F., 1999. Les chênes sessile et pédonculé (*Quercus petraea* Liebl. et *Quercus robur* L.) dans le réseau RENECOFOR : rythme de croissance radiale, anatomie du bois, de l'aubier et de l'écorce. Rev. For. Fr. 51 (4): 522-536.

Lu P., 1992. Ecophysiologie et réaction à la sécheresse de trois espèces de conifères (*Abies alba* Miller, *Picea abies* (L.) Karsten et *Pinus sylvestris* L.); effet de l'âge. Ph.D. thesis, University of Nancy I, Nancy, France, xxx p.

Luisi N., Lerario P. and Vannini A., 1993. Recent advances in studies on oak decline. Proceedings of an International Congress, Selva di Fasano, Italy, 541 p.

Mandallaz D., Schlaepfer R. and Arnould J., 1986. Dépérissement des forêts: essai d'analyse des dépendances. Ann. Sci. For. 43: 441-458.

Manion P.D., 1981. Tree disease concepts. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, USA.

- McLaughlin S.B. and Downing D.J., 1995. Interactive effects of ambient ozone and climate measured on growth of mature forest trees. *Nature* 374: 252-254.
- McNulty S.G. and Swank W.T., 1995. Wood $\delta^{13}\text{C}$ as a measure of annual basal area growth and soil water stress in a *Pinus strobus* Forest. *Ecology* 76 (5): 1581-1586.
- Nguyen-Queyrens A., Ferhi A., Loustau D. and Guehl J. M., 1998. Within-ring $\delta^{13}\text{C}$ spatial variability and interannual variations in wood cellulose of two contrasting provenances of *Pinus pinaster*. *Can. J. For. Res.* 28: 766-773.
- O'Heix B., Kiss Gy., Bodea T., Toth J.A., Berki L. and Dizengremel P., ?. Forest decline in Hungary - Sikfokut Project - Relation with monitored microclimate changes. ?.
- O'Heix B.C., Tóth J.A., Bodea T., Kiss Gy., Vig P., Jakucs P. and Dizengremel P., 1998. Information about studies on Hungarian forest ecosystems. Selected research-papers and future investigations of Sikfokut long-term project. *Ann. Sci. For.* 55: 613-618.
- Oszako T. and Delatour C., 2000. Recent advances on oak health in Europe. International Scientific Conference, Warsaw, 22-24 Nov. 1999, Forest Research Institute, Warsaw, EFI, 281 p.
- Pedersen B.S., 1998. The role of stress in the mortality of Midwestern oaks as indicated by growth prior to death. *Ecology* 79 (1):79-93.
- Picon C., Guehl J.-M. and Ferhi. A., 1996. Leaf gas exchange and carbon isotope composition responses to drought in a drought-avoiding (*Pinus pinaster*) and a drought tolerant (*Quercus petraea*) species under present and elevated atmospheric CO_2 concentrations. *Plant Cell Env.* 19: 182-190.
- Piutti E. and Cescatti A, 1997. A quantitative analysis of the interactions between climatic response and intraspecific competition in European beech. *Can. J. For. Res.* 27: 277-284.
- Ponton, S., Dupouey J.L., Bréda N., Feuillat F., Bodénès C. and Dreyer. E., 2001. Carbon isotope discrimination and wood anatomy variations in mixed stands of *Quercus robur* and *Quercus petraea*. *Plant Cell Env.* 24: 861-868.
- Ponton S., Dupouey J-L., Bréda N. and Dreyer E., 2002. Comparison of water-use efficiency of seedlings from two sympatric oak species: genotype*environment interactions. *Tree Physiol.* 22: 413-422.
- Ragazzi A., Dellavalle I., Moricca S., Capretti P. and Raddi P., 2000. Decline of oak species in Italy. Problems and perspectives. *Accademia Italiana di Scienze Forestali*, Florence, 257 p.
- Roupsard O., Joly H. and Dreyer E., 1998. Variability of initial growth, water-use efficiency and carbon isotope discrimination in seedlings of *Faidherbia albida* (Del.) A. Chev., a multipurpose tree of semi-arid Africa. Provenance and drought effect. *Ann. Sci. For.* 55: 329-348.
- Rubtsov V.V., 1996. Influence of repeated defoliations by insects on wood increment in common oak (*Quercus robur*). *Ann. Sci. For.* 53: 407-412.
- Sakata M., 1996. Evaluation of possible causes for the decline of Japanese Cedar (*Cryptomeria japonica*) forests based on elemental composition and $\delta^{13}\text{C}$ of needles. *Environ. Sci. Techn.* 30 (7): 2376-2381.

SAS. 1988. SAS/STAT user's guide. Release 6.03 edition. SAS Institute Inc., Cary, N.C.

Saurer M., Borella S., Schweingruber F. and Siegwolf R., 1997. Stable carbon isotopes in tree rings of beech : climatic versus site-related influences. *Trees* 11: 291-297.

Spieker H. (ed.), 1998. Dendroecological analysis of climate-growth relations of five important European tree species along an east-west transect: Black Forest, Vosges Mountains, Lorraine Plain. Concluding report. European contract EV 5 V-CT94-0437, Bruxelles, 106 pp.

Tainter F.H., Fraedrich S.W. and Benson D.M., 1984. The effect of climate on growth, decline, and death of northern red oaks in the western North Carolina Nantahala Mountains. *Castanea* 49: 127-137.

Tainter F.H., Retzlaff W.A., Starkey D.A. and Oak S.W., 1990. Decline of radial growth in red oaks is associated with short-term changes in climate. *Eur. J. For. Path.* 20: 95-105.

Tans P.P., De Jong A.F.M. and Mook W.G., 1978. Chemical pretreatment and radial flow of ^{14}C in tree rings. *Nature* 271, 234–235.

Waring R.H. and Pitman G.B., 1985. Modifying lodgepole pine stands to change susceptibility to mountain pine beetle attack. *Ecology* 66 (3): 889-897.

Annexe I : Discrimination isotopique du carbone chez *Quercus robur* et *Q. petraea* le long d'un gradient écologique

Le matériel récolté dans le cadre d'une étude de comparaison écophysologique d'écotypes de *Q. petraea* et *Q. robur* a été utilisé pour estimer les variations de discrimination isotopique du carbone (Δ) entre *Quercus robur* et *Q. petraea*. Δ a été mesuré sur une fraction des glands destinés à la plantation.

Matériel et méthodes

Cinq transects ont été sélectionnés dans des forêts suffisamment vallonnées (Mondon (54), Lure (70), Vitrimont (54), Charmes (88) et Cuve (70)) pour présenter des gradients écologiques marqués (déterminés par la disponibilité en eau et la présence de nappes temporaires). Chaque transect était composé de 3 stations localisées respectivement en fond de vallon, en sommet de plateau, et en position topographique intermédiaire. En bas de pente, le peuplement était caractérisé par la nette prédominance de *Q. robur*, alors qu'essentiellement composé de *Q. petraea* en sommet de pente. Les deux espèces étaient présentes en peuplement mixte dans la station intermédiaire. En se basant sur la taille du pédoncule fructifère, dix individus typiques de l'espèce dominante ont été sélectionnés pour la récolte de glands, dans les stations haute et basse, constituant respectivement les lots '*Q. petraea* purs' et '*Q. robur* purs'. Dans la station intermédiaire, 20 individus présentant des caractéristiques morphologiques intermédiaires, mais rattachables à une des deux espèces, ont permis de constituer un lot de dix individus dits '*Q. robur* intermédiaires' ainsi qu'un lot de dix individus '*Q. petraea* intermédiaires'. Une centaine de glands a été ramassée au pied de chaque arbre sélectionné, puis stockée à -2°C pendant plusieurs mois après thermothérapie (Delatour et al. 1980) et traitement fongicide. Après retrait des cuticules, puis élimination des glands pourris, trois glands par individus ont été choisis et broyés finement ensemble. La discrimination isotopique (Δ) du broyat a ensuite été mesurée pour chacun des 198 échantillons ([5 gradients * 40 individus] – 2 valeurs manquantes).

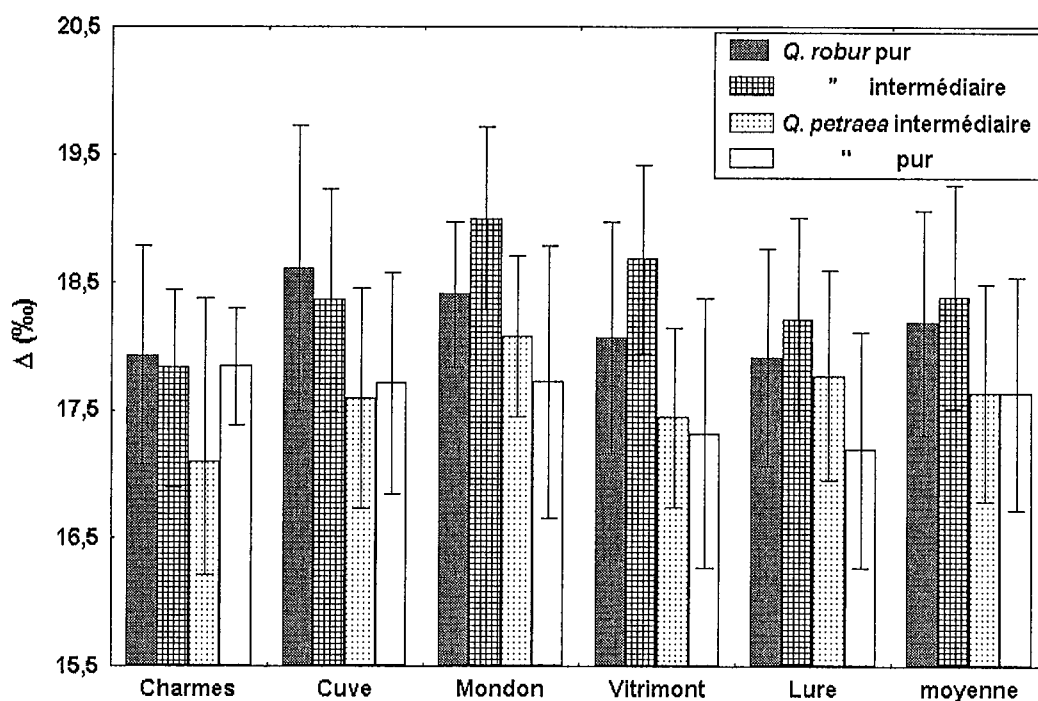


Figure 1. Discrimination isotopique (Δ , ‰) des glands de *Q. robur* et *Q. petraea* en fonction du site et de leur type morphologique ($n = 10$) et moyenne par type morphologique ($n = 50$). Les barres verticales représentent les écarts-types.

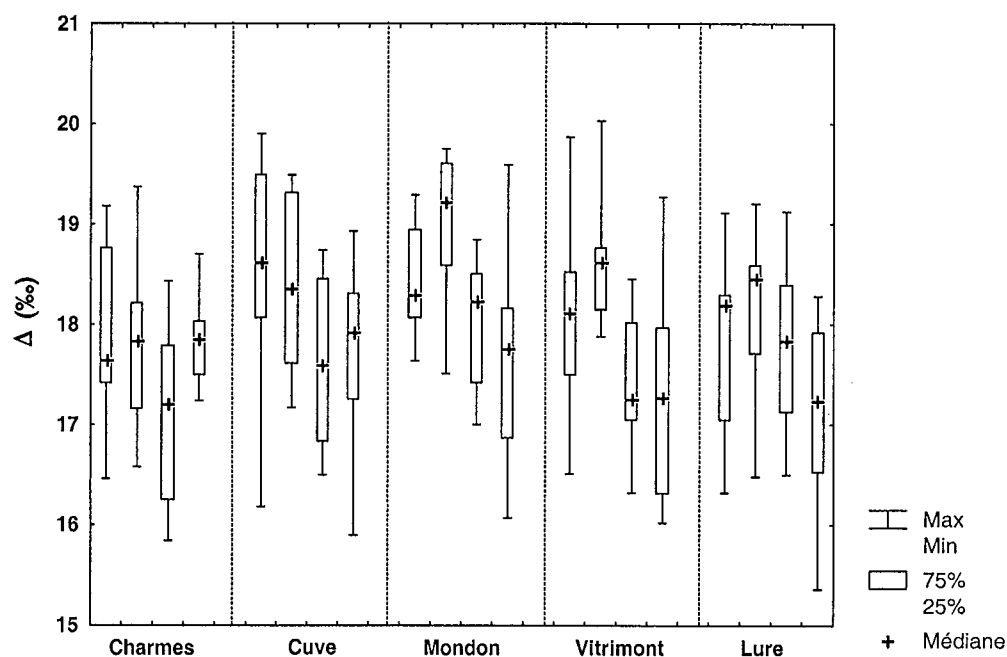


Figure 2. Distribution de la discrimination isotopique (Δ , ‰) des glands de *Q. robur* et *Q. petraea* en fonction du site et de leur type morphologique ($n = 10$). L'ordre d'apparition des catégories est identique à celui de la figure 1.

Le modèle d'analyse de variance suivant a été utilisé pour l'analyse de ces données :

$$Y_{ijk} = a + b_j + c_k + e_{ijk} \quad (\text{modèle 1})$$

avec Y_{ijk} : Δ de l'individu i , dans l'espèce j et le site k ,

a : constante,

b_j : effet de l'espèce j (*Q. robur* ou *Q. petraea*),

c_k : effet du site k ,

e_{ijk} : terme d'erreur.

L'interaction site*espèce, testée dans une première phase, a été retirée du modèle final car non significative.

Résultats

Les effets de l'espèce ($F=36.0$, $P<0.0001$) et du site ($F=3.5$, $P<0.01$) sur la discrimination isotopique des glands (modèle 1) sont responsables de 15% et 6%, respectivement, de la variabilité totale du Δ . Les valeurs moyennes de Δ sur l'ensemble des sites sont $17.6 \pm 0.9\text{‰}$ pour *Q. petraea* et $18.3 \pm 0.9\text{‰}$ pour *Q. robur* (Figure 1). Les différences de valeurs moyennes entre deux sites s'étendent de 0.1‰ (entre Charmes et Lure) à 0.6‰ (entre Charmes et Mondon). Il n'y a pas de différence significative de Δ entre les types intermédiaires et leur espèce de rattachement. L'amplitude des valeurs de Δ , tout site confondu, est de 4.2‰ pour *Q. petraea* et de 3.8‰ pour *Q. robur* (Figure 2); l'amplitude de l'échantillon complet est de 4.7‰.

Référence

Delatour C., Müller C. and Bonnet-Masimbert M., 1980. Progress in accorns treatment in a long term storage prospect. *In* Proceedings of IUERO International Symposium of Forest Tree Seed Storage, PNFI, Ontario, Canada, Sept. 23-27, 1980, pp. 126-133.

Annexe II : Variation intra-spécifique de la discrimination isotopique du carbone chez *Q. petraea*

Afin d'estimer la variabilité intra-spécifique de la discrimination isotopique (Δ) dans l'espèce *Quercus petraea*, des individus originaires de diverses provenances européennes ont été échantillonnés dans des plantations comparatives.

Matériel et méthodes

Cinq sites ont été retenus dans un dispositif européen de plantations comparatives de *Q. petraea* (Tableau I) permettant de tester le comportement des provenances dans des situations écologiques et climatiques distinctes. Parmi les provenances en croissance sur l'ensemble du dispositif, dix ont été sélectionnées de façon à contraster au maximum l'échantillonnage, au moins du point de vue de l'origine géographique (conséquemment les climats des sites d'origine variaient du type océanique au type continental en passant par le type méditerranéen). Le tableau I présente les provenances échantillonnées pour chacun des sites ; seul le site de Sillégny regroupait l'ensemble des provenances. Au moment de l'échantillonnage, les individus achevaient leur 11^{ème} saison de végétation. Les plants sont issus de glands récoltés dans les peuplements sélectionnés et semés en pépinière expérimentale à Guéméné-Penfao (CEMAGREF-FFN). Après trois ans d'élevage en pépinière, les plants furent acheminés et plantés dans les différents sites. Suivant les sites, chaque provenance était représentée en trois (Müncheberg, Plön et Whykeham) ou quatre blocs (Sillégny et Vierzon) de 24 individus. Pour chaque provenance, dix arbres ont été sélectionnés au hasard (en éliminant au préalable les individus dominés par la végétation accompagnatrice). Sur chaque arbre, un lot de 100 feuilles de lumière a été prélevé. Les feuilles atypiques, jaunes ou endommagées par des insectes ou champignons furent évitées lors de la collecte. Le même échantillonnage a été effectué pour chaque bloc, portant l'effectif à 30 ou 40 individus (i.e. 300 à 400 feuilles) échantillonnés par provenance sur un site. A l'exception du site de Sillégny, où les mesures de Δ ont été effectuées pour chaque arbre individuellement (1 mesure = 1 lot de 100 feuilles), toutes les feuilles d'une même provenance étaient regroupées à l'intérieur de chaque bloc (1 mesure = 10 lots de 100 feuilles). Après récolte, les feuilles ont été séchées à 40°C pendant 72 heures, broyées et la composition isotopique du broyat déterminée.

Tableau I. Plan d'échantillonnage : sites et provenances sélectionnés dans un réseau européens de plantations comparatives de *Q. petraea*.

<i>Sites</i> <i>Provenances</i>	Müncheberg (Allemagne) (52°05'N 14°05'E)	Plön (Allemagne) (54°10'N 10°23'E)	Sillégnny (France) (48°59'N 6°13'E)	Vierzon (France) (47°27'N 2°09'E)	Wykeham (Angleterre) (54°26'N -0°54'E)
Angleterre	X	X	X		X
Allemagne	X		X		X
Autriche			X		
Berce (France)	X	X	X	X	X
Danemark	X	X	X	X	X
Fontainebleau (France)			X		
Georgie			X		
Nicé (France)			X		
Pologne	X	X	X	X	X
Turquie		X	X	X	X

Pour le site de Sillégny, l'individualisation des mesures par arbre a permis de prendre en compte la variabilité inter-arbre pour chaque provenance (et chacun des quatre blocs). Le modèle d'analyse de variance suivant a été utilisé:

$$Y_{ijk} = a + b_j + c_k + (bc)_{jk} + e_{ijk} \quad (\text{modèle 1})$$

avec Y_{ijk} : Δ de l'individu i , dans la provenance j et le bloc k ,

a : constante,

b_j : effet de la provenance j ,

c_k : effet du bloc k ,

$(bc)_{jk}$: interaction entre les effets de la provenance et du bloc,

e_{ijk} : terme d'erreur.

Une analyse de variance sur l'ensemble des cinq sites a également été réalisée. Pour harmoniser l'échantillonnage, les moyennes par provenance et par bloc ont été calculées à Sillégny et utilisées dans le modèle linéaire suivant:

$$Y_{jkl} = a + b_j + d_l + e_{jkl} \quad (\text{modèle 2})$$

avec Y_{jkl} : Δ de la provenance j , dans le bloc k et le site l ,

a : constante,

b_j : effet de la provenance j ,

d_l : effet du site l ,

e_{jkl} : terme d'erreur.

Le faible nombre d'observations pris en compte dans ce modèle ne permettait pas de tester l'interaction entre les effets 'site' et 'provenance'. Dans le texte, les moyennes présentées correspondent aux estimations des moindres carrés $\pm$ écart-type; elles ont été comparées au moyen d'un test de comparaison multiple de Tukey-Kramer.

Résultats

Le modèle 1 expliquait 26% de la variabilité totale de Δ observée dans le site de Sillégny. Les effets 'provenance', 'bloc' et l'interaction étaient significatifs ($F=5.9$ $P<0.0001$, $F=6.6$ $P=0.0002$ et $F=1.6$ $P=0.03$, respectivement). Les variabilités dues aux provenances et aux blocs représentaient respectivement 11% et 4% de la variabilité totale. L'amplitude maximale de Δ observée sur l'échantillon complet de Sillégny était de 5‰ (et de 4.7‰ pour la seule provenance Angleterre dans le bloc IV). L'amplitude moyenne de Δ à l'intérieur d'une

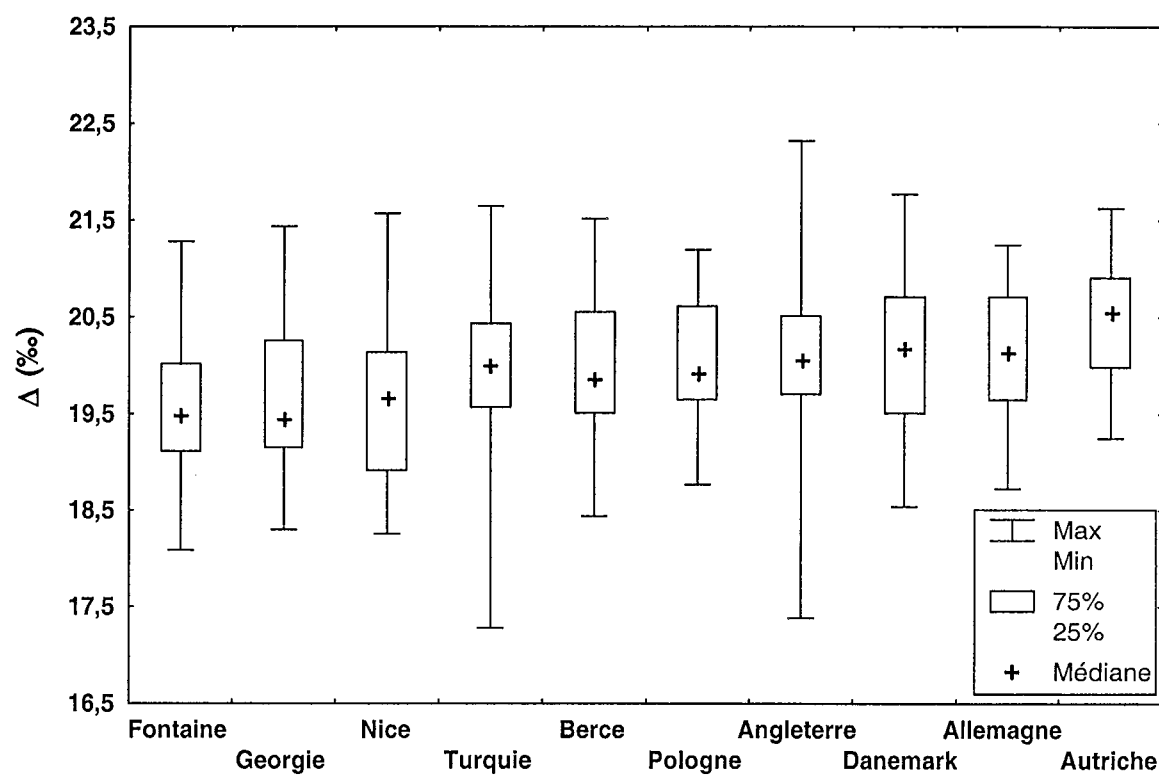


Figure 1. Discrimination isotopique (Δ , ‰) des provenances de *Q. petraea* croissant à Sillégny.

provenance est de 3.3‰. Les valeurs moyennes de Δ s'étendaient de 19.6 ± 0.7 ‰ à 20.5 ± 0.6 ‰, avec un moyenne de 19.96 ± 0.6 ‰ (Figure 1).

L'effet du site ($F=186.7$, $P<0.0001$) expliquait 96% de la variabilité prise en compte par le modèle 2 ($r^2=0.98$), 4% seulement étant ainsi dus à l'effet 'provenance' ($F=3.7$, $P=0.01$). Cependant, ce fort effet 'site' était totalement conditionné par les valeurs de Δ du site Müncheberg (17.1 ± 0.2 ‰), significativement ($P<0.0001$) inférieures aux valeurs des autres sites (19.7 ± 0.2 ‰, 20.0 ± 0.3 ‰, 19.8 ± 0.3 ‰ et 19.6 ± 0.3 ‰, pour Plön, Sillégny, Vierzon et Wykeham respectivement ; Figure 2). Une analyse de variance (modèle 2) excluant le site de Müncheberg ne permettait pas d'attribuer d'effet significatif au site ($F=2.9$, $P=0.08$), l'effet 'provenance' restant faible ($F=2.8$, $P=0.05$).

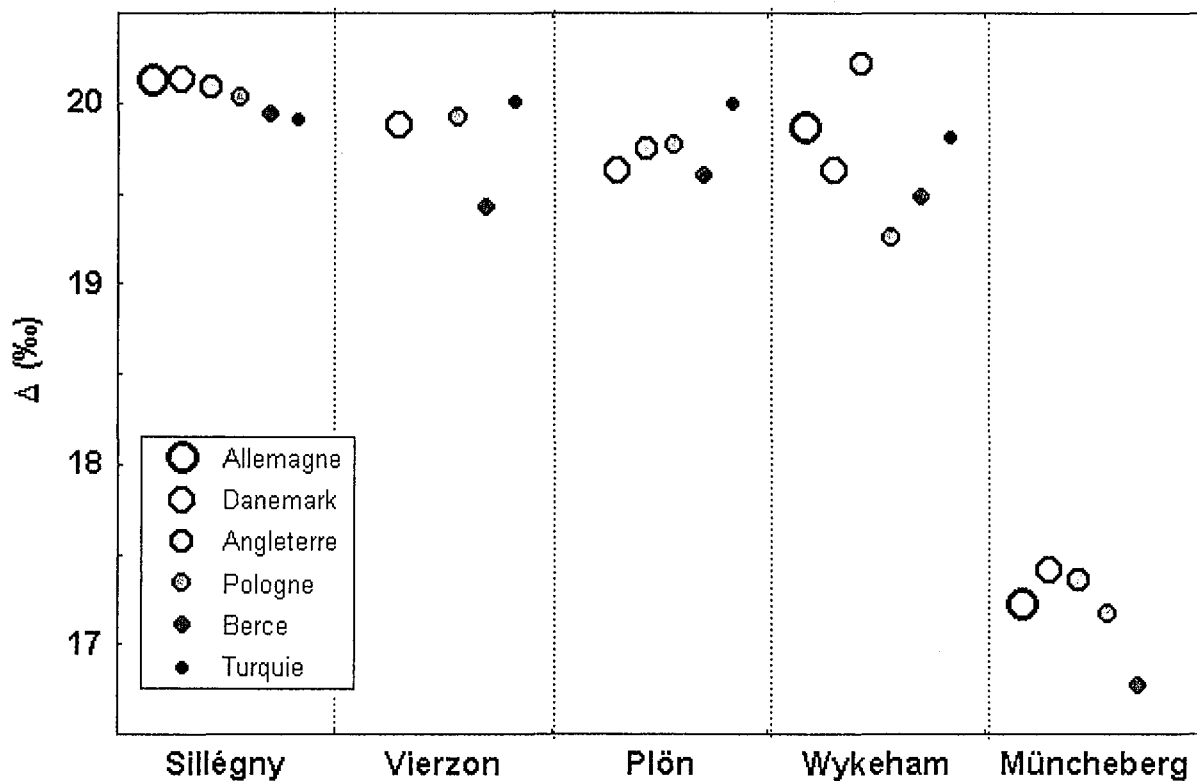


Figure 2. Discrimination isotopique (Δ , ‰) moyenne des provenances de *Q. petraea* croissant sur les cinq sites échantillonnés. Chaque bâton est la moyenne de 3 (Müncheberg, Plön, Wykeham) ou 4 valeurs (Sillégny, Vierzon).

Annexe III : Mesure de la discrimination isotopique du carbone dans la cellulose du bois

La discrimination isotopique contre le ^{13}C peut varier fortement entre les différents métabolites et/ou les différents organes d'une plante (Figures 1 et 2). Chez les ligneux, le xylème est un matériau constitué de composants biochimiques de natures variées et dont les biosynthèses induisent des fractionnements isotopiques distincts. Ses constituants présentent donc des valeurs de discrimination isotopique différentes. Alors que les lipides (Park et Epstein 1961, DeNiro & Epstein 1977) et les lignines sont appauvris respectivement de 5-10‰ et 2-6‰ (Wilson & Grinsted 1977, Benner et al. 1987), relativement aux produits initiaux de la photosynthèse, les pectines sont enrichies. La cellulose du bois est légèrement enrichie par rapport au tissu entier ($\sim 1\text{‰}$). Ces constituants peuvent varier qualitativement et quantitativement (Gindl *et al.* 2000) entre espèces, individus, à l'intérieur d'un même individu et pour un même cerne, verticalement dans le tronc ou radialement entre bois initial et final (Wilson & Grinsted, 1977). Il est donc important, *a fortiori* dans le cadre de comparaisons interspécifiques, de s'intéresser à un composé purifié et de composition biochimique invariable. La cellulose est classiquement employée car elle présente l'avantage, outre le fait d'être le constituant majoritaire du bois, de ne pas être remobilisée d'un cerne à l'autre, contrairement aux autres composants (Tans & Mook, 1980). Ce dernier aspect, d'importance moindre lors de l'analyse de longues séquences, devient primordial pour des cernes isolés.

Afin de vérifier la qualité de la relation entre la discrimination isotopique (Δ) du bois entier et celle de la cellulose, des mesures ont été réalisées sur des aliquotes de bois et de cellulose issues d'échantillons communs. Deux méthodes d'extraction de cellulose ont été ensuite comparées, d'après les valeurs de Δ obtenues pour les extraits cellulosiques. La première méthode, décrite par Leavitt & Danzer (1993), est classiquement utilisée mais présente l'inconvénient d'impliquer des produits nocifs et d'être beaucoup plus longue à réaliser que la récente méthode développée par Brendel *et al.* (2000).

Matériel et méthodes

a)

Six individus de l'espèce *Quercus robur* ont été sélectionnés et quatre carottes par arbres ont été prélevées. Les cernes correspondant aux années 1998 et 1999 ont été extraits des carottes. Pour chaque arbre, les quatre cernes d'une même année ont été regroupés et broyés ensemble. Sur chacun des 12 échantillons, une aliquote de 1 ± 0.1 mg de broyat de bois a été prélevée et

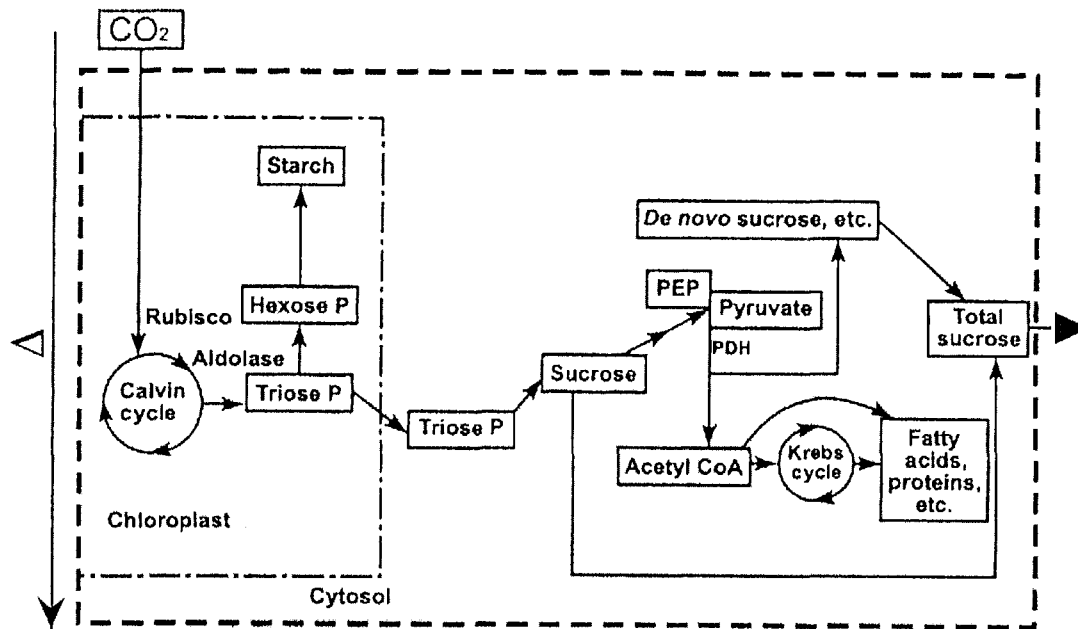


Figure 1. Représentation schématique des différentes étapes de fractionnement isotopique du carbone dans le métabolisme foliaire d'une plante en C₃. D'après Terwilliger *et al.* 2001.

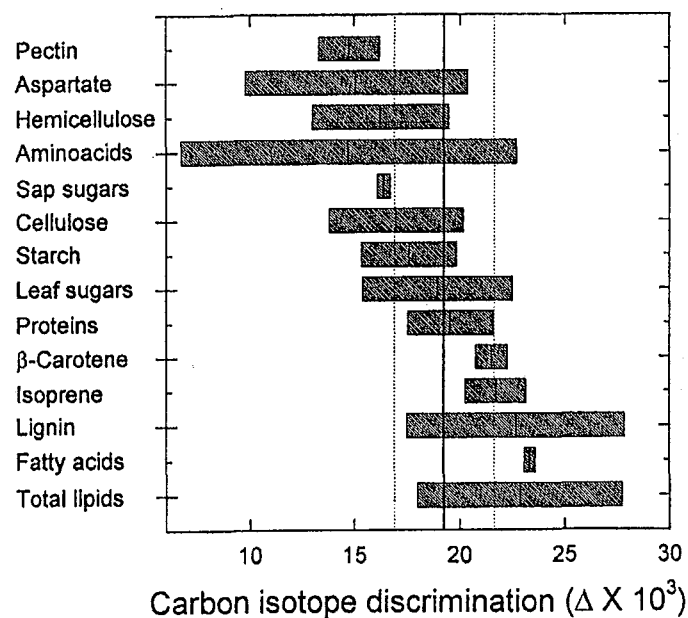


Figure 2. Gamme de variation de la discrimination isotopique contre le ¹³C de différents métabolites des plantes en C₃. Les lignes verticales représentent l'amplitude des variations de la discrimination isotopique de la feuille entière. D'après Brugnoli & Farquhar 2000.

sa composition isotopique analysée. Une extraction de cellulose a été pratiquée sur le broyat restant (56 ± 35 mg). La méthode utilisée est celle décrite par Leavitt & Danzer (1993) qui permet l'obtention d'holocellulose (cellulose + hémicellulose). La composition isotopique a été mesurée sur une aliquote de 1 ± 0.1 mg. La précision du spectromètre est de 0.1 ‰ (écart-type de 13 répétitions d'un échantillon standard).

b)

A partir de broyat de bois excédentaire, fournit par 16 (huit *Q. petraea* et huit *Q. robur*) des 20 individus échantillonnés à Cîteaux (séquence de cernes 1981-90 ; Publication I), une nouvelle extraction de cellulose fut réalisée selon la méthode décrite par Brendel *et al.* (2000). La discrimination isotopique des extraits cellulosiques fut mesurée dans les mêmes conditions que lors de la première série de mesures. Les résultats des deux méthodes ont été comparés.

Résultats

a) (Figure 3)

La différence de composition isotopique moyenne est de 0.9 ± 0.2 ‰ entre la cellulose et le bois ($\Delta_{\text{bois}} - \Delta_{\text{cellulose}}$). Les valeurs de $\Delta_{\text{cellulose}}$ et Δ_{bois} sont très fortement corrélées ($r=0.97$, $P<0.0001$, $n=12$). Les équations des droites de régression sont pour les années 1998 et 1999 : $\Delta_{\text{cellulose}} = 0.92 * \Delta_{\text{bois}} - 1.03$ et $\Delta_{\text{cellulose}} = 0.98 * \Delta_{\text{bois}} + 0.22$, respectivement. Les ordonnées à l'origine de ces droites sont significativement différentes ($F=8.6$, $P=0.016$). Les coefficients des pentes ne sont pas significativement différents de 1 ($F=0.73$, $P=0.4$).

b) (Figure 4)

Les rendements d'extraction (cellulose / bois total) étaient de 56 % et 26 % pour les méthodes Leavitt & Danzer (1993) et Brendel *et al.* (2000), respectivement. Les corrélations entre les valeurs de Δ_{Leavitt} et Δ_{Brendel} étaient de 0.77 ($P=0.03$, $n=8$) pour *Q. robur* et 0.98 ($P=0.0001$, $n=8$) pour *Q. petraea*. La relation est néanmoins la même pour les deux espèces (pas de différences de pentes, ni d'ordonnées à l'origine entre les droites de régression calculées pour chaque espèce). La pente de la droite de régression ($n=16$: sans distinction d'espèce) n'est pas significativement différente de 1. Les valeurs moyennes, 16.7 ± 1.0 ‰ pour la méthode Brendel et 16.1 ± 1.0 ‰ pour la méthode Leavitt, sont significativement différentes ($t=4.54$, $P=0.0004$). L'ajout, après extraction, de 1 ml de NaOH (1M) permet de mettre en évidence, par une coloration jaune soutenue, la présence de lignine dans les extraits cellulosiques. A l'inverse, la même opération effectuée sur la cellulose obtenue par la méthode Leavitt & Danzer n'a pas entraîné de modification de couleur.

Discussion

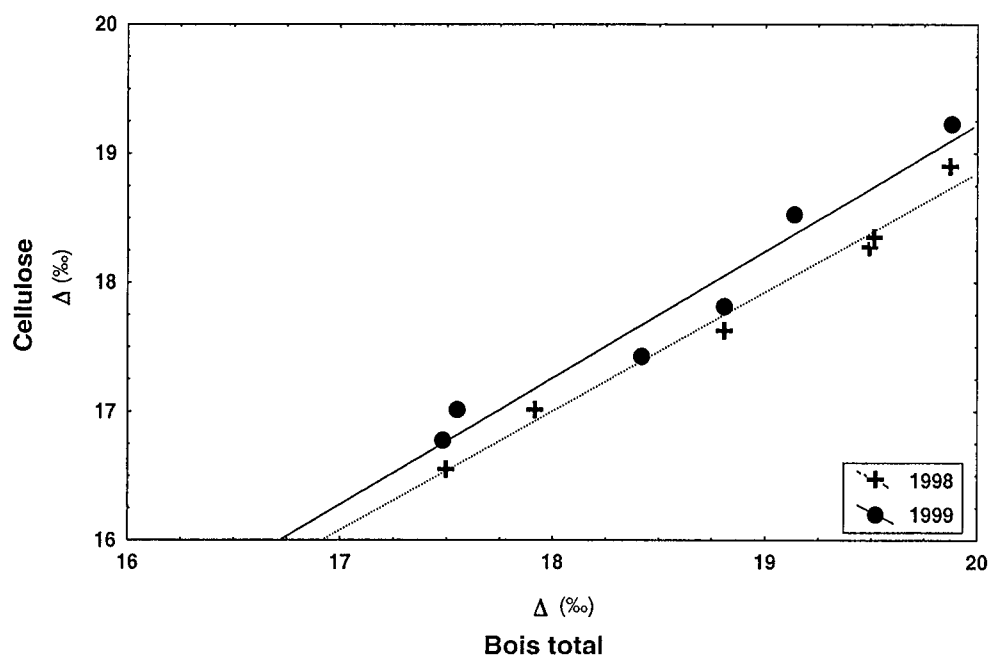


Figure 3. Discrimination isotopique du carbone (Δ , ‰) de la cellulose en fonction de la discrimination isotopique du bois.

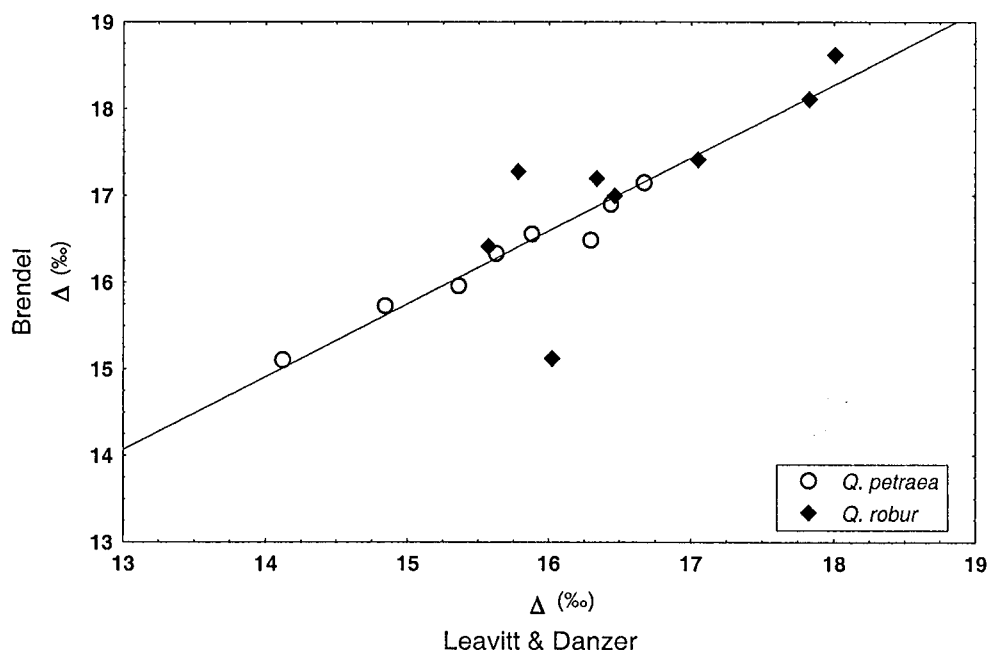


Figure 4. Comparaison de la discrimination isotopique du carbone (Δ , ‰) des extraits celluloseux obtenus selon les méthodes d'extraction décrites par Brendel *et al.* (2000) et Leavitt & Danzer 1993.

L'enrichissement relatif en ^{13}C de la cellulose, par rapport au bois total, était tout à fait conforme aux données de la littérature et stable d'un individu à l'autre. Cependant, il est apparu que cet enrichissement était sensiblement différent entre les deux années (+1.1 ‰ et +0.7 ‰ pour 1998 et 1999 respectivement). Il est fort probable que cette variation de la différence ($\Delta_{\text{bois}} - \Delta_{\text{cellulose}}$) soit due à la variation du contenu en lignine entre les deux années. La concentration en lignine est en effet connue pour varier d'une année à l'autre, notamment en fonction de la température de fin de saison de végétation (Gindl *et al.*, 2000). Cette observation mériterait d'être confirmée sur un plus large échantillon d'années et d'individus. Elle pourrait avoir des répercussions sur la construction des modèles climatiques, s'il s'avère que la différence ($\Delta_{\text{bois}} - \Delta_{\text{cellulose}}$) est effectivement porteuse d'une information fidèle sur la température de fin de saison de végétation. Par ailleurs, ces différences pourraient varier en fonction des espèces. En l'absence de connaissance sur ce point, il semble donc préférable de mesurer Δ dans la cellulose plutôt que dans le bois total, lors de comparaisons interannuelles d'efficacité d'utilisation de l'eau, mais aussi lors de comparaisons interspécifiques.

Les deux méthodes d'extraction ont fourni un extrait cellulosique (=holocellulose) composé de cellulose α et d'hémicelluloses. La composition isotopique de l'holocellulose est cependant considérée comme peu différente de celle de la cellulose α (± 0.4 ‰, Borella *et al.* 1998). Bosc (1993) montra que le fait de ne pas séparer les hémicelluloses de la cellulose n'introduisait pas de biais significatif. A l'inverse, Borella *et al.* (1998) signalèrent que 5% seulement de résidu lignine dans les extraits cellulosiques engendraient une augmentation de Δ de 0.15 ‰, d'où la nécessité d'obtenir des extraits totalement débarrassés de lignine. Les valeurs moyennes issues de la méthode Brendel étaient supérieures de 0.6 ‰ à celles obtenues par la méthode Leavitt. Cette différence, associée à une coloration jaune déclenchée en milieu basique, est très probablement le fait de la présence de résidus de lignine dans les extraits produits par la méthode Brendel. Cette extraction incomplète des lignines, associée à des rendements par ailleurs plus faibles, conduit à préconiser l'emploi de la méthode développée par Leavitt & Danzer (1993) plutôt que celle décrite par Brendel *et al.* (2000), du moins pour les chênes (la différence entre les deux méthodes apparaît plus ténue pour les espèces résineuses testées ; Brendel, communication personnelle).

Références

- Benner R., Fogel M.L., Sprague E.K. and Hodson E., 1987. Depletion of ^{13}C in lignin and its implications for stable carbon isotope studies. *Nature* 329 : 708-710.
- Borella S., Leuenberger M., Saurer M. and Siegwolf R., 1998. Reducing uncertainties in $\delta^{13}\text{C}$ analysis of tree rings : polling, milling and cellulose extraction. *Journal of Geophysical Research* 103 (16) : 19519-19526.
- Bosc C., 1993. Mise en évidence de stress hydriques par le dosage du $\delta^{13}\text{C}$ dans la cellulose des cernes d'un arbre tropical : *Virola michelii*. Mémoire de DEA, Université Paris VI, 30 p.
- Brendel O., Iannetta P. P. M. and Stewart D., 2000. A rapid and simple method to isolate pure alpha-cellulose. *Phytochemical Analysis* 11 : 7-10.

Brugnoli E. and Farquhar G.D., 2000. Photosynthetic fractionation of carbon isotopes. In Leegood R.C., Sharkey T.D. & von Caemmerer S. (Eds.), *Advances in Photosynthesis*, volume 9, *Photosynthesis: Physiology and Metabolism*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, 399-434.

De Niro M.J. and Epstein S., 1977. Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis. *Science* 197 : 261-263.

Gindl W., Grabner M. and Wimmer R., 2000. The influence of temperature on latewood lignin content in treeline Norway spruce compared with maximum density and ring width. *Trees* 14 : 409-414.

Leavitt S.W. and Danzer S.R., 1993. Method for batch processing small wood samples to holocellulose for stable-carbon isotope analysis. *Analytical Chemistry* 65 : 87-89.

Park R. and Epstein S., 1960. Carbon isotope fractionation during photosynthesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 21 : 110-126.

Tans P. and Mook W.G., 1980. Past atmospheric CO₂ levels and the ¹³C/¹²C ratios in tree rings. *Tellus* 32 : 268-283.

Terwilliger V.J., Kitajima K., Le Roux-Swarthout D.J., Mulkey S. and Wright S.J., 2001. Intrinsic water-use efficiency and heterotrophic investment in tropical leaf growth of two Neotropical pioneer tree species as estimated from δ¹³C values. *New Phytologist* 152 : 267-281.

Wilson A.T. and Grinsted M.J., 1977. ¹³C/¹²C in cellulose and lignin as palaeothermometers. *Nature* 265 : 133-135.

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique - BP 11
54601 VILLERS-LES-NANCY Cédex

Monsieur PONTON Stéphane

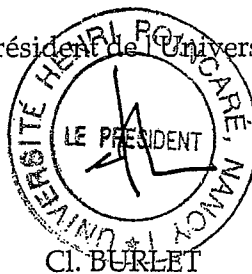
DOCTORAT de l'UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1

en BIOLOGIE FORESTIERE

VU, APPROUVÉ ET PERMIS D'IMPRIMER

Nancy, le 6 mai 2002 n° 674

Le Président de l'Université



☎☎☎☎☎☎☎☎

Analyse de l'efficience d'utilisation de l'eau des chênes pédonculé (*Quercus robur* L.) et sessile (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.). Relation avec les dépérissements des chênaies.

Résumé : Les espèces sympatriques *Quercus robur* et *Q. petraea* occupent des niches écologiques distinctes et présentent des différences de sensibilité à la sécheresse. L'efficience intrinsèque d'utilisation de l'eau (WUE_{int}) est étudiée sur la base de mesures instantanées d'échanges gazeux foliaires d'une part, et de mesures de composition isotopique du carbone ($\delta^{13}C$) dans les tissus végétaux d'autre part. L'analyse rétrospective de $\delta^{13}C$ dans la cellulose du bois d'arbres adultes des deux espèces croissant en peuplements mélangés a montré une différence interspécifique stable au cours du temps. Conformément aux observations faites sur arbres adultes, les mesures d'échanges gazeux effectuées sur des semis âgés de deux ans croissant en conditions contrôlées ont mis en évidence une WUE_{int} supérieure chez *Q. petraea*. Cette différence est essentiellement due aux variations interspécifiques de conductance stomatique. Sur arbres adultes, une relation étroite, identique entre les deux espèces, a été observée entre $\delta^{13}C$ et surface conductrice de sève du bois initial dans le tronc. La nature de ce lien est discutée. L'hypothèse de l'existence d'une base génétique à la différence interspécifique de WUE_{int} est avancée. Ces résultats apportent de nouveaux éléments pour la compréhension de l'écologie des deux espèces. La complexité de la relation entre WUE_{int} et résistance à la sécheresse est analysée.

Mots clés : efficience d'utilisation de l'eau ; discrimination isotopique du carbone ; échanges gazeux foliaires ; écologie ; dendrochronologie ; comparaison interspécifique ; sécheresse ; dépérissement ; chênes

Analysis of water-use efficiency between pedunculate (*Quercus robur* L.) and sessile (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) oaks. Relationship with oak decline.

Summary: The two sympatric European oak species *Quercus robur* and *Q. petraea* display distinct ecological requirements and drought sensitivity. Intrinsic water-use efficiency (WUE_{int}) was studied on the basis of both measurements of instantaneous gas exchange and carbon isotopic composition ($\delta^{13}C$) of plant tissues. Retrospective analysis of $\delta^{13}C$ in wood cellulose of adult trees from the two species growing in mixed stands shown a time-stable interspecific difference. Gas exchange measurements performed on 2-year old seedlings growing in common garden confirmed the higher WUE_{int} of *Q. petraea* than *Q. robur*, mainly due to stomatal conductance variations between the two species. A strong relationship between $\delta^{13}C$ and sap conducting surface area in trunk was found and discussed. A genetic basis to interspecific differences in WUE_{int} was suggested. The results provided new insights in the understanding of the ecology of these species. However, no clear relationships were observed between tree-ring growth or $\delta^{13}C$ and sensitivity to decline. The relationship between WUE_{int} and drought resistance was discussed.

Key-words: water-use efficiency; carbon isotopic discrimination; gas exchange; ecology; dendrochronology; interspecific variability; drought; decline; oak