



HAL
open science

Effets combinés de l'augmentation de la concentration atmosphérique en CO₂ et du niveau de fertilisation azotée sur la gestion du carbone et de l'azote chez le chêne pédonculé (*Quercus robur*) et le hêtre (*Fagus sylvatica*)

Séraphine Vizoso

► To cite this version:

Séraphine Vizoso. Effets combinés de l'augmentation de la concentration atmosphérique en CO₂ et du niveau de fertilisation azotée sur la gestion du carbone et de l'azote chez le chêne pédonculé (*Quercus robur*) et le hêtre (*Fagus sylvatica*). *Biologie végétale*. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 2004. Français. NNT : 2004NAN10180 . tel-01754435

HAL Id: tel-01754435

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01754435v1>

Submitted on 30 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



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>

INRA Nancy
Centre de Recherches Forestières
UMR INRA-UHP Ecologie et Ecophysiologie
Forestières
54280 CHAMPENOUX

Université Henri Poincaré, Nancy I
Faculté des Sciences
Domaine Scientifique Victor Grignard
BP 239
54506 VANDOEUVRE-LES-NANCY cedex

Thèse de Doctorat de l'Université Henri Poincaré, Nancy I

Spécialité : Biologie Végétale et Forestière
Ecole Doctorale : Ressources Procédés Produits Environnement (RP2E)
UFR Sciences et Techniques Biologiques

**EFFETS COMBINES DE L'AUGMENTATION DE LA CONCENTRATION
ATMOSPHERIQUE EN CO₂ ET DU NIVEAU DE FERTILISATION AZOTEE SUR LA
GESTION DU CARBONE ET DE L'AZOTE CHEZ LE CHENE PEDONCULE (*QUERCUS
ROBUR*) ET LE HETRE (*FAGUS SYLVATICA*)**

Présentée par

Séraphine VIZOSO

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

Soutenue publiquement le 9 Novembre 2004 devant la commission d'examen :

Jury : MM. P. DIZENGREMEL
C. DAMESIN
L. PAGES
P. MAILLARD
G. NEPVEU
J. M. GUEHL

Pr., Université Nancy I
MC, Université Paris-Sud
DR, INRA Avignon
CR, INRA Nancy
DR, INRA Nancy
DR, INRA Nancy

Président
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Directeur de Thèse

Remerciements

L'aventure se termine et c'est avec beaucoup de plaisir que je remercie toutes les personnes qui ont contribué de diverses manières à l'aboutissement de ce travail :

Je voudrais remercier en premier lieu les divers membres du jury qui ont accepté de juger ce travail : Pierre DIZENGREMEL, pour avoir accepté de présider ce jury, et m'avoir encouragée à maintes reprises, Claire DAMESIN et Loïc PAGES pour avoir accepté de juger ce travail et pour leurs remarques constructives, Gérard NEPVEU pour son impressionnante minutie dans la traque implacable de mes imprécisions mais également pour son chaleureux accueil au sein de l'équipe Qualité des Bois. Un merci tout particulier à Jean-Marc GUEHL, pour m'avoir permis de réaliser ce travail ainsi que pour sa confiance, et son soutien tout au long de ces années et particulièrement dans les moments difficiles de la fin !! Comment exprimer la profondeur de ma gratitude à Pascale MAILLARD pour toute l'aide et le soutien qu'elle m'a apportés ? Je te dirai simplement « merci Pascale » pour ton investissement, ton optimisme absolument incurable et toute la gentillesse que tu m'as toujours témoignée.

Je remercie Gilbert AUSSENAC pour m'avoir accueillie au sein de l'Unité d'Ecophysiologie Forestière de Nancy. Je tiens à témoigner toute ma gratitude et ma sympathie à l'ensemble de cette unité : chercheurs, techniciens, secrétaires et stagiaires qui par leur compétences, disponibilité et gentillesse ont rendu ces années de thèse agréables et enrichissantes. En particulier, j'exprime toute ma gratitude à Claude BRECHET pour m'avoir initiée à la spectrométrie de masse isotopique et m'avoir confiée cet appareil diabolique regorgeant de pièges en tous genres avec une confiance si aveugle ! (A moins qu'il n'y ait une webcam cachée quelque part ?). Je te remercie également Claude pour tout ces moments agréables et enrichissants que j'ai pu passer en ta compagnie ! J'adresse mille mercis (au moins) à pierre MONTPIED qui avec patience et méthode a ouvert la porte de l'univers ésotérique des statistiques à mon esprit rebelle !! Je tiens à remercier Jacqueline MARCHAND pour les tests en tout genre qu'elle m'a aidée à réaliser avec beaucoup d'efficacité et toujours le sourire ! Un grand merci à Jean-Marie GIORIA pour ses conseils techniques, son aide, sa sympathie et également à Bernard CLERC et Jean-Frédéric MULLER pour leur participation à la phase expérimentale de ce travail. Je n'oublie pas Patrick GROSS et son important travail de régulation des paramètres climatiques des serres ainsi que sa disponibilité pour me désengluer de mes soucis informatiques ! Merci également à Sharon WEIN et Nathalie NINGRE pour leur contribution lors des analyses biochimiques. Je remercie très chaleureusement Rosine GROSS pour sa gentillesse quotidienne et pour les tracasseries en tous genres dont elle m'a aidée à voir le bout. Un merci tout particulier à Nathalie BREDÀ pour l'intérêt qu'elle a porté à mon travail et pour toutes les discussions enrichissantes qui m'ont fait apercevoir la lumière du fond de ma grotte !!

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Richard JOFFRE pour s'être intéressé à mon travail et pour sa collaboration aux analyses de spectroscopie de réflexion dans le proche infra-rouge.

Je remercie vivement Simone GARROS pour m'avoir aidée lors des analyses de densité du bois avec tant de patience et de gentillesse, ainsi que la joyeuse équipe de « la scierie » qui m'a assistée dans mes débuts peu prometteurs de menuisier.

Je garde un très bon souvenir de l'année passée à l'Université dans l'équipe Ecophysiologie Cellulaire et Moléculaire dirigée par Pierre DIZENGREMEL, qui a constitué une étape très enrichissante dans mon parcours, et je remercie tous les membres de cette équipe pour leur chaleureux accueil et leur amabilité quotidienne. En particulier, je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Dominique GERANT pour ses encouragements, sa gentillesse et aussi pour sa contribution aux analyses de protéines et d'acides aminés sans laquelle j'aurais peut-être fini par avaler le bleu de coomassie ou la ninhydrine par désespoir !

Et enfin, gardés bien au chaud dans mes pensées ...

Ces années n'auraient pas la même saveur si je les avais traversées sans Fabienne FROUX, Damien LEMOINE, Natacha GUERARD, Marianne PEIFFER, Cécile BARBAROUX, Marie-Béatrice BOGEAT-TRIBOULOT et Tété BARIGAH. Je les remercie pour leur amitié, pour tout ce qu'ils m'ont permis de comprendre, leur soutien dans les moments difficiles, et pour toutes les parties de rigolade !

Ce travail n'aurait pu aboutir sans le soutien, la patience, et l'affection de Frédéric MASSON qui, en me faisant partager sa passion pour la montagne, ainsi que tous ses nombreux centres d'intérêt, m'a rappelé quotidiennement que la vie ne s'arrête pas au drame affectant l'échantillon x et quelques-uns de cousins proches. Je te remercie du fond du cœur !

Un abrazo muy fuerte para mis padres que siempre me han ayudado y apoyado para que pudiera lograr todo lo que yo quisiera y eso simplemente con la confianza que me han hecho.

RESUME

Ce travail concerne l'analyse de l'impact de l'augmentation de la [CO₂] atmosphérique sur la production de biomasse des forêts.

Nos résultats confirment l'effet stimulant, généralement observé pour de nombreuses espèces, de l'augmentation de la [CO₂] sur la croissance de *Quercus robur*, sans modification nette de la répartition du C et N dans le plant, et ils soulignent l'importance de la disponibilité en N dans le contrôle de cette réponse. Cette stimulation de la croissance s'accompagne d'une augmentation de la productivité de l'azote (le rapport biomasse/quantité de N) à l'échelle du plant entier.

Nous avons pris en compte les effets interactifs entre l'augmentation de la [CO₂] et le niveau de fertilisation N, sur la gestion et le métabolisme du C et N. Nous avons étudié la dynamique de constitution des réserves en automne, leur dynamique hivernale, puis la phase de croissance initiale printanière. L'augmentation de la [CO₂] ne stimule pas le stockage de composés de réserve dans les organes pérennes, et est même responsable d'une diminution de la concentration en réserves N lorsqu'elle est associée à des conditions non limitantes en N. Le stockage de réserves C et N, en termes de concentrations et de quantités, est déterminé principalement par le niveau de fertilisation N. Seulement par un effet indirect via la biomasse accumulée, l'augmentation de la [CO₂] peut impliquer une augmentation du stock de réserves C ou N. Par ailleurs, durant la phase de repos hivernal, il existe une relation décroissante entre les concentrations en réserves C et N stockées dans l'ensemble des parties pérennes, et cette relation est influencée par l'augmentation de la [CO₂] (augmentation de la valeur absolue de la pente).

Au printemps, la croissance des nouveaux organes n'est pas stimulée dans les conditions de [CO₂] élevées, contrairement à ce qui était observé en fin de saison de végétation sur l'ensemble des organes pérennes. Ce résultat est lié à la forte implication des composés de réserve lors de l'édification des nouveaux organes dont le niveau de stockage n'est que peu influencé par l'augmentation de la [CO₂]. De plus, c'est la quantité de réserves N, bien plus que la quantité de réserves C, stockées dans les plants, qui détermine l'importance de la croissance des nouveaux organes, car la constitution des nouveaux organes génère un coût plus important en composés N qu'en composés C. L'indépendance vis-à-vis des réserves semble plus précoce pour le C que pour le N. D'autre part, les effets de l'augmentation de la [CO₂] sur la composition chimique et biochimique des nouveaux organes diffèrent nettement de ceux observés pour les organes pérennes.

Par ailleurs, notre travail montre l'intérêt des études plurispécifiques et des suivis sur le long terme, pour des projections réalistes sur le fonctionnement des forêts dans le futur, dans le cadre de la poursuite de l'augmentation de la [CO₂]. En effet, chez *Quercus robur*, l'effet stimulant de l'augmentation de la [CO₂] sur la croissance observée au terme d'une année de culture, disparaît au terme de 3 années de culture, alors que la progression inverse est observée pour *Fagus sylvatica*. De plus, la densité du bois produit est augmentée pour *Quercus robur* mais n'est pas modifiée pour *Fagus sylvatica*, en réponse une [CO₂] élevée. Ainsi, l'augmentation de la [CO₂] a un impact potentiel sur le fonctionnement hydrique et les propriétés du bois produit, mais ces effets semblent dépendants de l'espèce.

SOMMAIRE

INTRODUCTION

SYNTHESE

EFFETS DE LA [CO₂] ELEVEE ET DU NIVEAU DE FERTILISATION AZOTEE SUR L'ACQUISITION ET LA REPARTITION DU C ET DU N DANS LES PLANTES 5

1. Le carbone 5
2. L'azote 8
3. Interactions entre métabolisme carboné et azoté 11
4. Modifications des métabolismes glucidique et azoté 13

STOCKAGE ET REMOBILISATION DU C ET DU N DANS LES ARBRES 17

1. Définition de la notion de 'réserves' 17
2. Nature biochimique des réserves C et N 17
3. Rôle des réserves dans la physiologie des arbres 20
4. Localisation des réserves aux échelles organique, cellulaire et subcellulaire 22
5. Variations de la concentration en réserves au cours de l'année 24
6. Utilisation des réserves pour la croissance printanière 29

OBJECTIFS PRECIS DE L'ETUDE 32

MATERIEL ET METHODES

GENERALITES SUR LES ESPECES ETUDIEES 33

PARTIE I : EFFETS INTERACTIFS DE LA [CO₂] ET DE LA FERTILISATION N SUR LA GESTION DU C ET DU N CHEZ DE JEUNES PLANTS DE *QUERCUS ROBUR* 34

1. Origine des plants et conditions de croissance 34
2. Prélèvement des plants et suivi phénologique 35
3. Marquages et calculs isotopiques 36
4. Analyses élémentaires et isotopiques 40
5. Estimation de la concentration en composés biochimiques par spectroscopie de réflexion dans le proche infra-rouge 41
6. Composition isotopique des réserves glucidiques et azotées 48
7. Analyses statistiques 50

PARTIE II : ETUDE COMPARATIVE DES EFFETS DE LA [CO₂] SUR LA CROISSANCE ET LE BOIS DE JEUNES PLANTS DE *QUERCUS ROBUR* ET DE *FAGUS SYLVATICA* **51**

1. Origine des plants et conditions de croissance	51
2. Suivi de la croissance des plants	51
3. Prélèvement des plants	52
4. Mesure de la microdensité du bois	52
5. Composition chimique du bois	55
6. Analyses statistiques	55

RESULTATS

PARTIE I : EFFETS INTERACTIFS DE LA [CO₂] ET DE LA FERTILISATION N SUR LA GESTION DU C ET DU N CHEZ DE JEUNES PLANTS DE *QUERCUS ROBUR* **56**

1. Croissance et bilans de C et de N	56
1.1. Bilans à l'entrée de l'hiver (janvier)	56
1.2. Evolutions des quantités de C, N, C/N, teneurs en N entre janvier et avril	59
2. Stockage et remobilisation des réserves C et N dans les plants	61
2.1. Bilan à l'entrée de l'hiver (janvier)	61
2.2. Evolutions des réserves C et N entre janvier à avril	65
3. Formation des nouveaux organes au printemps	68
3.1. Croissance et morphologie des nouveaux organes	68
3.2. Répartition du C et du N dans les nouveaux organes	69
3.3. Renouvellement du C et du N dans les nouveaux organes	70
3.4. Relations entre le C et le N stockés dans le plant et le C et le N contenus dans les nouveaux organes	72
3.5. Composition biochimique des nouveaux organes	72

PARTIE II : ETUDE COMPARATIVE DES EFFETS DE LA [CO₂] SUR LA CROISSANCE ET LE BOIS DE JEUNES PLANTS DE *QUERCUS ROBUR* ET DE *FAGUS SYLVATICA* **74**

1. Croissance et densité du bois	74
1.1. Croissance primaire et morphologie des plants	74
1.2. Croissance secondaire	75
1.3. Cinétique de la croissance en diamètre pendant la 3 ^{ème} année	77
1.4. Densité des cernes de croissance annuels	78
2. Composition chimique du bois	79
2.1. Composition élémentaire	79
2.2. Composition en composés structuraux	79

DISCUSSION

PARTIE I : EFFETS INTERACTIFS DE LA [CO₂] ET DE LA FERTILISATION N SUR LA GESTION DU C ET DU N CHEZ DE JEUNES PLANTS DE <i>QUERCUS ROBUR</i>	80
1. Utilisation du C et du N de l'année	80
1.1. Croissance et répartition du C et du N entre les organes	80
1.2. Acquisition et utilisation du N de l'année	82
1.3. Caractéristiques du stockage du C et du N	85
1.4. Bilan de l'utilisation du C et du N de l'année	91
2. Remobilisation des réserves et constitution des nouveaux organes	92
2.1. Utilisation des réserves durant l'hiver	92
2.2. Importance des réserves C et N relativement aux éléments nouvellement acquis par les plants lors de la croissance des nouveaux organes	94
2.3. Facteurs déterminant la croissance des nouveaux organes	97
2.4. Composition chimique des nouveaux organes	99
PARTIE II : ETUDE COMPARATIVE DES EFFETS DE LA [CO₂] SUR LA CROISSANCE ET LE BOIS DE JEUNES PLANTS DE <i>QUERCUS ROBUR</i> ET DE <i>FAGUS SYLVATICA</i>	101
1. Croissance primaire et morphologie	101
2. Croissance secondaire, densité et composition chimique du bois	102

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La constatation de l'augmentation de la concentration en CO₂ ([CO₂]) atmosphérique sur l'ensemble de la planète au cours des 200 dernières années, fait l'objet d'un large consensus au sein de la communauté scientifique mondiale. Alors qu'elle était stabilisée autour d'une valeur de 280 µmol/mol d'air depuis 10 000 ans (Mortier 1995), à partir des années 1800, la [CO₂] n'a cessé d'augmenter jusqu'à atteindre aujourd'hui une valeur aux alentours de 360 µmol/mol et pourrait atteindre 700 µmol/mol d'ici la fin du siècle (Bacastow *et al.* 1985 ; Keeling *et al.* 1989 ; Ward & Strain 1999).

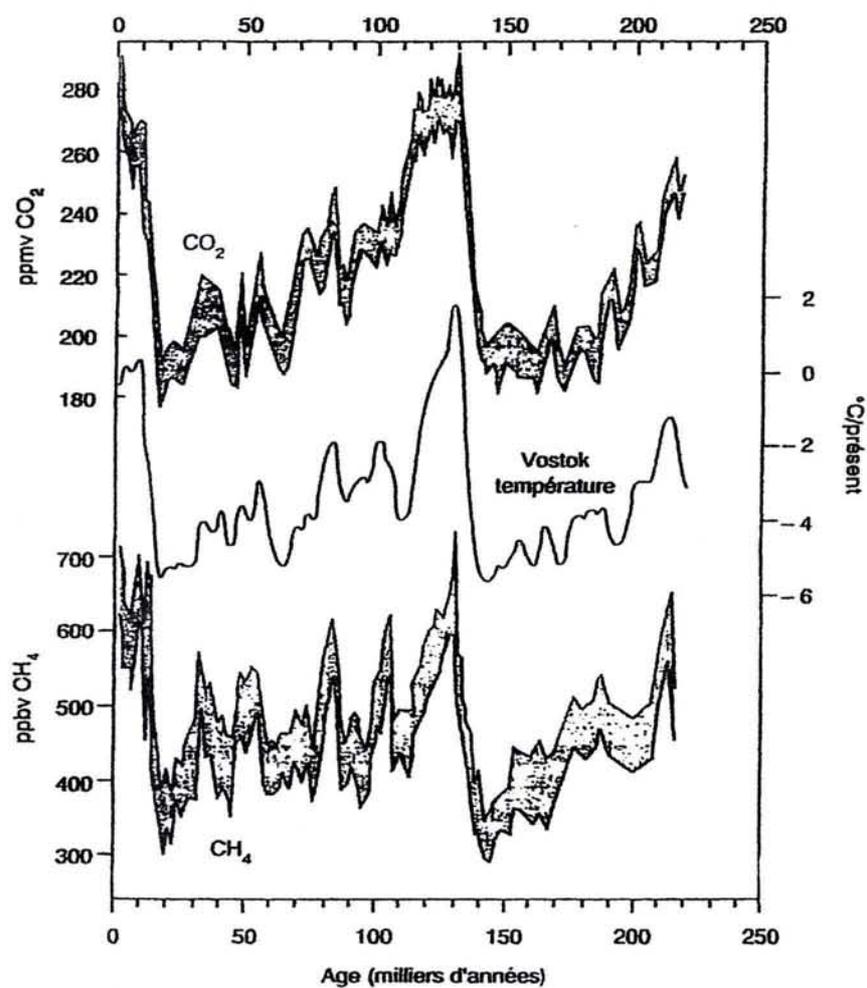
Ces constatations s'appuient sur des mesures directes et indirectes. Les mesures directes de la [CO₂] n'ont débuté qu'en 1958, sur l'observatoire du mont Mauna Loa (Iles Hawaii), puis par la suite, plusieurs autres sites de mesures ont été mis en place à travers le monde. Afin de remonter plus loin dans le temps, des mesures indirectes ont été menées via l'analyse de carottes de glace polaire ou de sédiments des fonds marins contenant piégées des bulles d'air d'atmosphère ancienne, grâce auxquelles il a été possible de connaître la composition atmosphérique des derniers 220 000 ans (**figure 1**). Les données montrent de fortes et fréquentes variations de la [CO₂] au cours des derniers 220 000 ans, dont la causalité d'ordre astronomique a pu être établie (Mortier 1995). Mais, en ce qui concerne l'évolution récente de la [CO₂], qui se caractérise par une vitesse spectaculaire et par un niveau atteint jamais égalé depuis plusieurs centaines de milliers d'années (EPICA 2004), la cause exprimée précédemment est écartée et l'origine liée aux activités humaines clairement établie (Woodwell 1978 ; Pearman 1980).

Les premiers signes de cette récente augmentation sont concomitants aux premiers déboisements réalisés par l'homme, puis, à l'intensification de la déforestation se sont additionnées les activités industrielles, l'utilisation de combustibles fossiles qui se traduisent par une augmentation exponentielle de la [CO₂] depuis une cinquantaine d'années, ainsi que par l'accumulation dans l'atmosphère d'autres gaz radiatifs responsables d'une augmentation de l'effet de serre planétaire et d'un réchauffement climatique (Académie des Sciences 1990).

D'après les modèles climatiques, l'amplification de l'effet de serre pourrait se traduire par une augmentation de la température à la surface du globe de 2 à 4°C avant la fin de ce siècle (Watson *et al.* 1990 ; Kimball *et al.* 1993) qui s'accompagnerait d'un bouleversement climatique à l'échelle mondiale. Ces modifications seront très probablement réparties inégalement à la surface du globe, avec un réchauffement plus accentué aux pôles et à l'intérieur des continents qu'à l'équateur (Bolin 1997), et une répartition de la pluviométrie également différente, avec des déficits hydriques plus marqués en zone tempérée, et de plus fortes pluies aux hautes latitudes (La santé des forêts 1993 cité dans Mortier 1995). Inondations et sécheresses seront plus fréquentes (Bolin 1997).

Ces changements climatiques ainsi que la rapidité avec laquelle ils s'opéreraient, pourraient avoir des conséquences sur les systèmes écologiques terrestres et aquatiques, les systèmes socio-économiques tels que l'agriculture, l'exploitation forestière, les ressources en eau, ainsi

Figure 1 : Variations du taux de CO₂ (de CH₄ et de la température) au cours des 220 000 dernières années (Site de Vostok, Antarctique) (D'après l'Académie des Sciences, 1994)



que la santé humaine (Petit 1997). L'ubiquité de ces conséquences a participé à la prise de conscience générale de la nécessité d'une gestion durable du développement économique.

Dans ce contexte général, les arbres et les forêts tiennent une place particulière du fait, tout d'abord, de l'importance de leur rôle dans le cycle du carbone (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Roberntz & Linder 1999). En effet, les espèces arborées, majoritairement associées sous forme de forêts, constituent 80% de la biomasse terrestre (Académie des Sciences 1990) et fixent, via la photosynthèse, un bilan net annuel de 1,5 Gt de C, soit 20% des émissions humaines de CO₂ (Minster 1994 cité dans Mortier 1995). Un effort de reboisement couplé à un ralentissement de la déforestation pourrait donc sensiblement ralentir la hausse de la [CO₂].

D'autre part, les arbres, du fait de leur longévité, seront donc soumis à ces changements climatiques prévus tout au long de leur existence, mettant ainsi à l'épreuve leurs capacités d'acclimatation. Cependant, bien que cette stratégie de longévité, qui caractérise les ligneux, ait nécessité durant l'évolution de fortes capacités d'acclimatation et d'adaptation aux conditions changeantes du milieu (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Saxe *et al.* 1998), les évolutions climatiques prévues pourraient augmenter les risques d'inadaptation environnementale et de dépérissement (Choisnel 1990 ; Chemillier 1997). Or, le délai de rentabilité et la longue durée de vie des espèces forestières nécessitent une anticipation importante des évolutions climatiques et de leurs conséquences biologiques de manière à orienter la sylviculture (Bréda *et al.* 2000 ; Lebourgeois *et al.* 2001).

Sans même tenir compte des effets du CO₂ via les changements climatiques, de nombreux résultats acquis ont montré que l'augmentation de la [CO₂], à elle seule, avait un impact sur les plantes (Kimball 1983 et Gifford 1988 cités dans Conroy 1992). En effet, la concentration actuelle en CO₂ dans l'atmosphère est un facteur limitant la photosynthèse des espèces à métabolisme carboné de type C3 (Von Caemmerer & Farquhar 1981 ; Atkinson 2000) dont font partie les arbres (Conroy 1992). L'augmentation du taux de carboxylation ainsi que la diminution du taux d'oxygénation de la Rubisco, observées chez les plantes en C3, concourent toutes deux à augmenter le taux de photosynthèse nette et la production de sucres sous [CO₂] élevée (Stitt 1991 ; Bowes 1996 ; Drake *et al.* 1997). La question qui se pose alors est celle du devenir de ce C « supplémentaire » (Amthor 1995).

De nombreux résultats indiquent que cette disponibilité accrue en C permet aux arbres de stimuler, d'une façon générale, leur production de biomasse (Eamus & Jarvis 1989 ; Atkinson 2000), dans des proportions variables en fonction de l'espèce et des conditions de croissance. Ceulemans & Mousseau (1994) rapportent, pour un doublement de la [CO₂], une stimulation de la croissance de l'ordre de 0 à + 290 %, selon l'espèce, qui est d'autant plus importante que les conditions trophiques sont meilleures (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Curtis & Wang 1998). Dans la plupart des cas, cette stimulation de la croissance sous [CO₂] élevée s'accompagne d'une modification de répartition de la biomasse entre les organes, généralement en faveur de la partie souterraine (Rogers *et al.*, 1992 dans Ceulemans & Mousseau 1994 ; Saxe *et al.*, 1998).

Cet exemple souligne l'importance, souvent mentionnée dans la littérature, des facteurs nutritionnels dans la réponse des arbres aux [CO₂] élevées (Amthor 1995 ; Rastetter *et al.* 1997 ; Roberntz & Linder 1999 ; Tognetti & Johnson 1999 a). Sur le long terme, notamment,

la réponse des arbres à l'augmentation de la [CO₂] est conditionnée par la disponibilité en minéraux du sol (Stitt & Krapp 1999 ; Constable *et al.* 2001), et en particulier par ceux qui sont présents en quantités limitantes (Bazzaz 1990, Melillo *et al.* 1990 et Schimel 1990 cités dans Drake *et al.* 1997). C'est le cas de l'azote, qui en milieu tempéré, est le principal facteur limitant la croissance des arbres en forêt (Dickson 1989 ; Tamm 1991 ; Conroy 1992 ; Tognetti & Johnson 1999 b ; Cole 1981 cité dans Dyckmans & Flessa 2002). Ainsi, en conditions sub-optimales de nutrition azotée, les effets de l'augmentation de la [CO₂] sont de moindre ampleur (Norby *et al.* 1986, Conroy *et al.* 1992, Petterson *et al.* 1993 et Gebauer *et al.* 1996 cités dans Geiger *et al.* 1999 ; Stitt & Krapp, 1999) et peuvent même disparaître à plus ou moins longue échéance, consécutivement à un déséquilibre dans les relations source/puits de C (Stitt 1991 ; Long & Drake 1992) à l'origine du phénomène d'acclimatation à l'augmentation de la [CO₂]. Il semble, en effet, que la croissance d'un individu n'est plus stimulée par l'augmentation de la [CO₂] lorsque celui-ci n'est plus capable d'augmenter, soit le nombre de puits de C, soit la capacité de stockage du C des puits existants.

Une connaissance plus approfondie du rôle de l'azote dans le contrôle de la réponse des plantes à l'augmentation de la [CO₂] est aujourd'hui nécessaire (Cotrufo *et al.* 1998 ; Stitt & Krapp 1999). Les métabolismes carboné et azoté sont en étroite interaction chez les plantes (Huppe & Turpin 1994 ; Foyer *et al.* 1994 cités dans Fonseca *et al.* 1997 ; Foyer *et al.* 2001 ; Coruzzi & Bush 2001) : la participation de molécules azotées (comme les pigments photosynthétiques, la Rubisco et les enzymes du cycle de Calvin) est nécessaire à l'assimilation du C et, de son côté, l'assimilation de N nécessite des squelettes carbonés, de l'énergie (ATP), du pouvoir réducteur (NADH, NADPH) qui sont fournis par le métabolisme C par le biais de la photosynthèse et la respiration (Ferrario *et al.* 2001). Si le taux d'assimilation d'un des 2 composés est modifié, un ajustement a lieu dans l'autre (Martins-Loução & Cruz 1999). L'assimilation du C et de N doivent donc être co-régulées afin de maintenir un équilibre (Huppe & Turpin 1994 ; Bloom *et al.* 1993 cités dans Martins-Loução & Cruz 1999 ; Ferrario *et al.* 2001) qui est nécessaire au développement normal d'une plante (Ferrario *et al.* 2001).

Pourtant, une diminution de la concentration en N est une réponse habituellement observée sous des [CO₂] élevées (Conroy 1992 ; Ceulemans & Mousseau 1994 ; Cotrufo *et al.* 1998 ; Curtis & Wang 1998 ; Wong 1979, Hocking & Meler 1985, Coleman *et al.* 1993 et Poorter 1997 cités dans Geiger *et al.* 1999). Cette diminution, couplée à l'augmentation de la concentration en sucres (Stitt 1991 ; Roberntz & Linder 1999), a pour résultat l'augmentation du rapport C/N des plants (Saxe *et al.* 1998 ; Tognetti & Johnson 1999 a). Cependant, en général, les sucres ne sont que partiellement responsables de cette augmentation du C/N (Stitt 1991 ; Conroy 1992 ; Curtis *et al.* 1995 cités dans Saxe *et al.* 1998 ; Stitt & Krapp 1999).

Des conditions de fertilisation azotée sub-optimale ont des effets similaires au CO₂ élevé sur les concentrations en N, en sucres (Den Hertog *et al.* 1998 ; Hofstra *et al.* 1985, Waring *et al.* 1985, Rufty *et al.* 1988, Fichtner & Schulze 1992, Fichtner *et al.* 1993, Paul & Driscoll 1997 et Scheible *et al.* 1997 cités dans Stitt & Krapp 1999) et le C/N, aussi, une combinaison de ces 2 facteurs renforce-t-il les effets individuels de chacun des facteurs (Wong 1979 et 1990, Bowler & Press 1996, Baxter *et al.* 1997, Ferrario-Mery *et al.* 1997 et Fischer *et al.* 1997 cités dans Stitt et Krapp 1999 ; Geiger *et al.* 1999).

Au contraire, une bonne fertilisation azotée a pour conséquence d'augmenter la concentration en azote, en acides aminés (Ferrario *et al.* 2001) et en protéines, mais de diminuer la concentration en sucres et de diminuer le rapport C/N (Tognetti & Johnson 1999 a)

Par conséquent, aussi bien la [CO₂] que le niveau de fertilisation azotée ont une influence à la fois sur le métabolisme C et sur le métabolisme N, dont les effets peuvent être antagonistes ou synergiques. Or, le fonctionnement normal d'une plante nécessite la coopération des 2 métabolismes et d'autant plus dans des périodes où le développement dépend essentiellement des ressources internes stockées par la plante. Ces situations se rencontrent naturellement au cours de la vie d'un arbre, comme par exemple au moment du débourrement, ou de façon accidentelle comme lors d'épisodes de défoliation ou d'attaque de pathogènes. De telles situations peuvent être le révélateur de déséquilibres entre les métabolismes C et N.

Comme le proposent Peñuelas et Estiarte (1998), l'augmentation de la concentration en sucres observée sous [CO₂] élevée pourrait fournir le C nécessaire à une stimulation de la synthèse de composés carbonés structuraux comme la cellulose et la lignine présents dans le bois. Ce processus pourrait intervenir significativement dans la 'séquestration' de C par les écosystèmes forestiers. La majorité des études menées jusqu'à présent se sont cantonnées à montrer que la croissance radiale des arbres est stimulée sous [CO₂] élevée aussi bien chez les feuillus (Nicolussi *et al.* 1995) que chez les conifères (Hättenschwiler *et al.* 1997). Cependant, en dépit de l'intérêt capital qu'elle représente, on peut s'étonner du peu d'études concernant les effets de [CO₂] élevées sur la structure du bois, d'autant plus que dans les rares études menées jusqu'à présent, l'augmentation de la [CO₂] a généralement provoqué des changements quantitatifs et qualitatifs dans la structure du xylème (Conroy *et al.* 1990 a et Atkinson & Taylor 1996 cités dans Atkinson 2000). Or, les caractéristiques anatomiques du xylème d'un arbre définissent ses capacités de transport de l'eau et déterminent également ses capacités à résister à des stress hydriques en évitant la cavitation des vaisseaux ou des trachéides. Outre la résistance au stress hydrique, la modification des caractéristiques du xylème peut également conduire à une modification des qualités technologiques du bois, affectant ainsi sa commercialisation. Ainsi, des changements dans la structure du bois sont susceptible d'avoir des impacts tant au niveau physiologique qu'économique.

Ainsi, sous une [CO₂] élevée, on assiste à des modification de la structure des plants, ainsi que de leur métabolisme dont tout l'enjeu consiste à comprendre s'ils auront un impact bénéfique ou non pour le développement et la survie des espèces forestières, et à terme pour leur exploitation.

Au cours de ce travail de thèse, nous nous sommes attaché à approfondir 2 aspects des effets de l'augmentation de la [CO₂] sur les arbres :

- dans une première partie, nous avons cherché à comprendre quels sont les effets de l'augmentation de la [CO₂] sur l'allocation annuelle du C et N entre croissance et de stockage, et dans quelle mesure la fertilisation azotée peut influencer cette allocation, puis si ces éventuels changements ont des répercussions au moment de la reprise de croissance.

- dans une deuxième partie, nous nous sommes focalisés sur les effets de l'augmentation de la [CO₂] sur la croissance secondaire, et la structure et la composition élémentaire du bois.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

EFFETS DE LA [CO₂] ELEVEE ET DU NIVEAU DE FERTILISATION AZOTEE SUR L'ACQUISITION ET LA REPARTITION DU CARBONE ET DE L'AZOTE DANS LES PLANTES

1. LE CARBONE

1.2. Effets à court terme

La stimulation de la croissance des arbres par l'augmentation de la [CO₂] atmosphérique est un fait aujourd'hui largement établi (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Amthor 1995 ; Saxe *et al.* 1998 ; Curtis & Wang 1998 ; Ward & Strain 1999 ; Atkinson 2000). Ce résultat s'explique par une stimulation de l'activité photosynthétique, liée à une augmentation de la vitesse de carboxylation ainsi qu'à une diminution de la vitesse d'oxygénation de la Rubisco sous [CO₂] élevée (Stitt 1991 ; Conroy & Hocking 1993 ; Bowes 1996 ; Drake *et al.* 1997).

L'importance de cette stimulation est variable selon l'espèce et les conditions de croissance. Dans leur article de synthèse rassemblant des données concernant une soixantaine d'espèces ligneuses, Ceulemans & Mousseau (1994) rapportent, pour un doublement de la [CO₂], une stimulation de la croissance jusqu'à + 290% (pour *Eucalyptus grandis* et *Quercus suber*) et qui est d'autant plus importante que les conditions trophiques sont meilleures (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Curtis & Wang 1998). En moyenne, l'accroissement de biomasse est plus marqué chez les espèces feuillues que chez les espèces sempervirentes (Ceulemans & Mousseau 1994), en raison d'une plus forte stimulation de la photosynthèse qui pourrait peut-être résulter d'une plus forte capacité photosynthétique intrinsèque chez les feuillus (Ceulemans & Mousseau 1994). Cependant, cette différence pourrait ne provenir que d'un biais entre les études lié à des conditions expérimentales différentes, car Curtis & Wang (1998) estiment, à partir d'une analyse couvrant 508 études, que cette distinction entre conifères et feuillus n'a aucune base statistique.

En général, l'augmentation de la [CO₂] conduit également à une stimulation de la croissance radiale des arbres (Nicolussi *et al.* 1995 ; Hättenschwiler *et al.* 1997 ; Telewski *et al.* 1999), et des changements de densité du bois ont également été rapportés (Conroy *et al.* 1990b ; Hättenschwiler *et al.* 1996).

Une amplification de la rythmicité, qui est un phénomène régulé par des processus internes complexes (Payan 1982 cité dans Vivin 1995) dépendants des facteurs génétiques et des conditions environnementales, a été rapportée en réponse à des [CO₂] élevées : sous [CO₂] double, les étages de croissance se forment plus précocement et plus rapidement que sous [CO₂] ambiante, conduisant à la formation d'un plus grand nombre d'étages en fin de saison de végétation (Vivin 1995 ; Picon 1996).

En général la masse et la surface foliaire des plants est augmentée sous fort CO₂ en conséquence de l'accroissement, soit du nombre de feuilles, soit de leur taille (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Vivin 1995 ; Picon 1996 ; Saxe *et al.* 1998 ; Maillard 2001). En outre, la masse par unité de surface foliaire est également augmentée, en raison de l'accroissement de leur contenu en amidon ou/et par la formation d'un plus grand nombre d'assises cellulaires (Eamus & Jarvis 1989).

Le nombre de branches produites augmente chez certaines espèces sous l'influence d'une [CO₂] élevée (Murray & Ceulemans 1996 sur peuplier, Tissue *et al.* 1997 sur pin loblolly, Bucher *et al.* sur chêne, aulne, frêne, cités dans Saxe *et al.* 1998).

La croissance de tous les organes est augmentée, mais dans la plupart des cas, cette stimulation de la croissance sous CO₂ élevé s'accompagne d'une modification de la répartition de la biomasse entre les organes, généralement en faveur de la partie souterraine (Rogers *et al.* 1992 ; Atkinson 2000). Cet effet pourrait constituer une réponse adaptative à la plus forte demande en éléments nutritifs et en eau pour maintenir les forts taux de croissance observés sous fort CO₂ (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Ward & Strain 1999 ; Atkinson 2000). Cependant, grâce à une méthode statistique développée dans leur méta-analyse, Curtis & Wang (1998), concluent à l'absence de changements significatifs dans l'allocation relative de biomasse entre les organes sous l'effet de l'augmentation du CO₂ chez les espèces étudiées.

De nombreux exemples dans la littérature soulignent l'importance des facteurs nutritionnels dans la réponse des arbres au CO₂ élevé (Amthor 1995 ; Rastetter *et al.* 1997 ; Roberntz & Linder 1999 ; Tognetti & Johnson 1999a). Généralement, lorsque les ressources du sol en eau et en minéraux ne sont pas limitantes, la croissance des arbres présente de plus fortes réponses aux [CO₂] élevées (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Curtis & Wang 1998). Sur le long terme, notamment, la réponse des arbres aux [CO₂] élevées est conditionnée par la disponibilité en minéraux du sol (Stitt & Krapp 1999) et, en particulier, par ceux qui sont présents en quantités limitantes (Bazzaz 1990 ; Melillo *et al.* 1990 ; Schimel 1990 cité dans Drake *et al.* 1997). C'est le cas de l'azote qui, en milieu tempéré, est le principal facteur limitant la croissance des arbres en forêt (Dickson 1989 ; Conroy 1992 ; Tognetti & Johnson 1999 b ; Cole 1981 cité dans Dyckmans & Flessa 2002). Ainsi, en conditions sub-optimales de nutrition azotée, les effets de la [CO₂] sont de moindre ampleur (Norby *et al.* 1986 ; Conroy *et al.* 1992 ; Gebauer *et al.* 1996 et Petterson *et al.* 1993 cités dans Geiger *et al.* 1999 ; Stitt & Krapp 1999). Dans certains cas, même, l'accumulation de biomasse n'est pas stimulée par l'augmentation de la [CO₂] en présence d'un traitement limitant en azote (Tognetti & Johnson 1999a sur *Quercus ilex* ; Maillard *et al.* 2001 sur *Quercus robur*). De même, lorsque la nutrition azotée est limitante, ou lorsque le volume du sol limite la croissance des racines (arbres en conteneurs), la surface foliaire n'est pas augmentée par la [CO₂] élevée (Ceulemans & Mousseau 1994). Certains auteurs proposent que des changements d'allocation de la biomasse entre partie souterraine et partie aérienne sous l'effet de l'augmentation de la [CO₂], pourraient ne se manifester qu'en situation de faible disponibilité des minéraux du sol (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Curtis & Wang 1998).

1.2. Effets à long terme : importance des relations source-puits et des facteurs nutritionnels

Du fait de l'importance de la longévité et de la taille des arbres, les études entreprises sur les effets CO₂ élevé ne concernent leur réponse que sur une faible fraction de leur durée de vie et

sur des individus de taille réduite, en général des jeunes plants. Or, le comportement d'un arbre peut varier significativement entre son stade juvénile et son stade mature (Ceulemans & Mousseau 1994), ce qui rend périlleuse toute extrapolation entre les 2 stades. Parmi les expériences les plus longues, dont la durée se situe entre plusieurs mois et quelques années (3 à 5 ans), 2 tendances émergent : soit les effets stimulants de l'augmentation de la [CO₂] sur la croissance sont maintenus, soit ils sont réduits voire annulés au cours du temps.

La poursuite ou non de l'effet stimulant du CO₂ semble liée aux relations source-puits existant au sein de l'arbre (Stitt 1991 ; Long & Drake 1992). D'après Kajji (1992), les flux d'assimilats carbonés au sein de la plante entière peuvent s'interpréter en termes de relations entre régions productrices de nutriments (source) et de régions utilisatrices (puits). Les sources, qui fournissent les assimilats carbonés, sont généralement les feuilles à activité photosynthétique et les organes de stockage, lors de la remobilisation des réserves. Les puits sont les lieux d'utilisation des nutriments, essentiellement les zones en croissance et les organes de stockage lors de la mise en réserve. La régulation du transfert des assimilats des organes sources vers les organes puits dépendrait d'une part, de la capacité d'offre en assimilats des organes sources et d'autre part, de la compétition entre les différents puits. La force d'appel de chaque puits est due à la capacité de l'organe à utiliser rapidement le carbone ou à le stocker dans un compartiment cellulaire afin de maintenir un gradient important de concentration entre les sites de déchargement et les sources (Prioul & Rocher 1985 et Ho 1988 cités dans Kajji 1992).

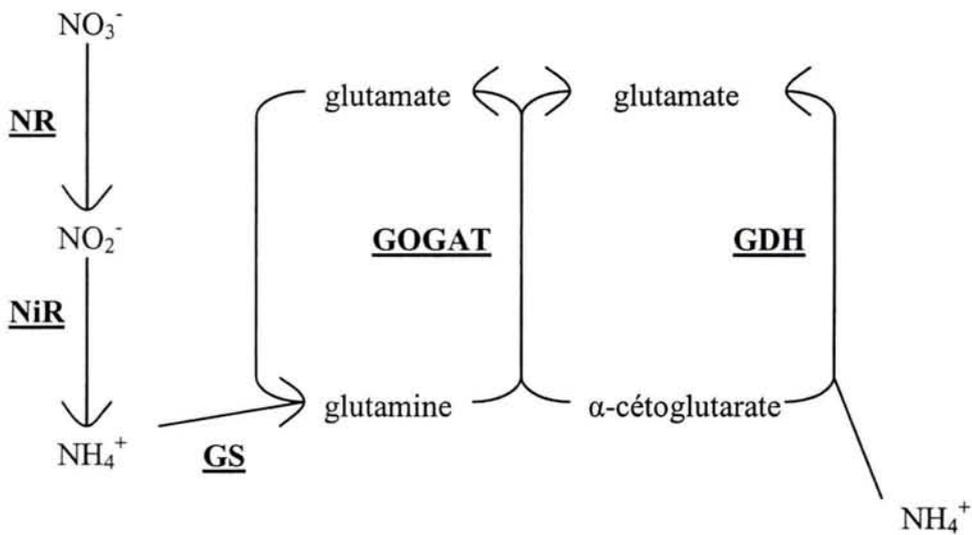
Dans le cadre des effets des [CO₂] élevées, il semble que la croissance d'un individu reste stimulée par l'augmentation de la [CO₂] tant que celui-ci est capable d'augmenter, soit le nombre de puits de C, soit la capacité de stockage du C des puits existants, cette capacité étant déterminée génétiquement (Ceulemans & Mousseau 1994), ainsi que par les facteurs du milieu.

L'induction de nouvelles racines chez *Castanea sativa*, ou l'intensification du renouvellement des radicelles chez d'autres espèces (Ceulemans & Mousseau 1994), l'augmentation du nombre de branches ou de rameaux chez *Quercus suber* et *Fagus sylvatica* (Vaz *et al.* 1994 et Mousseau *et al.* 1994 cités dans Mortier 1995), l'augmentation du nombre et de la taille des feuilles chez *Fagus sylvatica*, *Quercus alba*, *Quercus robur* ou *Populus grandidentata* (Ceulemans & Mousseau 1994, ECOCRAFT/ICAT 1994 et Vivin 1995 cités dans Mortier 1995), l'accroissement des tiges en biomasse, en diamètre et en hauteur (Huttunen *et al.* 1994 cité dans Mortier 1995), mais aussi l'accumulation de glucides stockés dans les tissus (Saxe *et al.* 1998) peuvent contribuer à augmenter l'intensité des puits de C.

Dans d'autres cas, les taux de photosynthèse diminuent au bout d'un certain temps d'exposition aux [CO₂] élevées (régulation vers le bas) (George *et al.* 1994 sur *Quercus robur*, Wilkins & Besford 1994 sur *Prunus avium*, Kalina 1994 sur *Picea abies*, Temperton 1994 sur *Pinus sylvestris*, cités dans Mortier 1995), et la stimulation initiale de la croissance n'est plus maintenue (Gunderson & Wullschleger 1994 cités dans Saxe *et al.* 1998 ; Ward & Strain 1999). Ce phénomène, qualifié « d'acclimatation » à l'augmentation de la [CO₂], comprend une suite de processus physiologiques conduisant à une diminution de la capacité photosynthétique chez les plants cultivés sous des [CO₂] élevées (Stitt 1991), ayant pour origine un rétro-contrôle négatif par les produits de la photosynthèse (Drake *et al.* 1997 ; Saxe *et al.* 1998). L'acclimatation des plants est souvent observée, ou est plus marquée, dans le cas de conditions nutritionnelles pauvres (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Drake *et al.* 1997 ; Ward & Strain 1999) ou lorsque les plants sont cultivés dans des pots trop petits, dans lesquels la croissance des racines est contrainte et la nutrition minérale est limitée (Ceulemans

Figure 2 : Représentation schématique des premières étapes de l'assimilation de l'azote inorganique (NH_4^+ et NO_3^-) dans les racines chez les arbres non mycorrhizés (d'après le schéma modifié de Vivin 1995)

NR : nitrate réductase (NADH)
NiR : nitrite réductase (Ferredoxine)
GS : glutamine synthétase (ATP)
GOGAT : glutamine- α -cétoglutarate aminotransférase ou glutamate syntase (NADH)



& Mousseau 1994 ; Drake *et al.* 1997), ce qui souligne encore une fois l'importance des facteurs nutritionnels dans la réponse aux $[\text{CO}_2]$ élevées.

2. L'AZOTE

2.1. Acquisition, assimilation et transport de l'azote dans la plante

Dans le sol, l'azote est majoritairement présent sous forme organique (humus principalement), et seulement à raison de 1 à 2 % sous forme minérale.

L'azote inorganique, assimilable par les plantes, est présent dans le sol sous 3 formes prépondérantes, le nitrate (NO_3^-), l'ion ammonium (NH_4^+), et l'azote moléculaire (N_2) (Titus & Kang 1982). La fixation symbiotique de N_2 ne concerne qu'un très faible nombre d'espèces arborées (plantes actinorhiziennes) qui appartiennent à des familles primitives telles que *Alnus glutinosa*, *Robinia pseudoacacia*, *Mirica*. Par conséquent, l'acquisition de l'azote par les arbres a lieu essentiellement à partir de NO_3^- et de NH_4^+ dans les écosystèmes forestiers des régions tempérées. Les arbres montrent cependant des différences dans leur capacité à utiliser le NO_3^- et le NH_4^+ (Steward *et al.* 1989). Il semble que les espèces absorbent préférentiellement le NH_4^+ par rapport au NO_3^- ce qui, d'après Carrodus (1967) et France & Reid (1979), pourrait être le fait d'une adaptation aux sols forestiers acides généralement pauvres en NO_3^- .

Il convient de préciser que les arbres forestiers, de façon très courante, ont la capacité d'améliorer leur nutrition minérale par la formation d'un organe symbiotique, appelé mycorhize, qui est issu de l'association de leurs racines avec un champignon filamenteux (Martin & Botton 1993). Les champignons mycorhiziens augmentent la quantité d'azote minéral absorbé par les racines et mettent à la disposition de la plante-hôte des formes d'azote organique (acides aminés, peptides, protéines) en contrepartie de la fourniture de composés carbonés.

Le NH_4^+ peut être absorbé par les racines de façon active grâce à des systèmes adaptés (Lee & Stewart 1978 cités dans Vivin 1995) ou de façon passive du fait d'un gradient électrochimique favorable (Salsac *et al.* 1987 cités dans Vivin 1995). Une fois dans la racine, le NH_4^+ , qui est un ion toxique pour les cellules, est rapidement combiné avec du glutamate par la glutamine synthétase (GS) pour former de la glutamine (**figure 2**). Cette glutamine est elle-même combinée à de l' α -cétoglutarate par la glutamate synthase ou glutamine- α -cétoglutarate aminotransférase (GOGAT) pour former 2 glutamates (**figure 2**). L'assimilation de l'ammonium est essentiellement assurée par l'association GS/GOGAT, mais une seconde voie minoritaire existe dans laquelle NH_4^+ est directement combiné à α -cétoglutarate par la glutamate déshydrogénase (GDH) pour fournir du glutamate (**figure 2**).

Le NO_3^- est absorbé activement par les racines et immédiatement réduit en NH_4^+ par l'action successive de la nitrate réductase (NR) puis de la nitrite réductase (NiR) (**figure 2**). La plupart des espèces ligneuses, dont le chêne et le hêtre, ont une forte activité NR dans les racines, et donc peu de NO_3^- est transporté vers les feuilles (Heller *et al.* 1991 ; Stepien 1992), ce qui n'est pas le cas pour de nombreuses herbacées chez lesquelles la réduction du NO_3^- s'effectue également dans les feuilles vertes à la lumière. Le NH_4^+ formé est ensuite pris en charge dans les réactions décrites précédemment.

D'une façon générale, les autres acides aminés nécessaires au métabolisme sont synthétisés à partir d' α -cétoacides particuliers fournis par le métabolisme carboné (pyruvate pour l'alanine, oxalo-acétate pour l'aspartate ...) par des réactions de transamination dans lesquelles des transaminases sont chargées de transférer le groupement aminé d'un acide aminé, principalement l'acide glutamique, sur l' α -cétoacide. Cependant, un certain nombre d'acides aminés ne suivent pas ce schéma et sont formés, soit par des réactions de conversion à partir de certains acides aminés, soit par une combinaison de réactions de transamination et de conversion.

Les différents acides aminés ainsi obtenus peuvent être utilisés pour la synthèse protéique, soit directement sur place, soit dans les autres organes après avoir été transportés jusqu'à eux. Tous les acides aminés ne sont pas transportés à travers l'arbre. La glutamine est la forme de transport de l'azote la plus abondante chez de nombreuses espèces (Bollard 1957), mais l'aspartate, l'asparagine, le glutamate (Stepien 1992) ainsi que l'arginine (Titus & Kang 1982) sont également souvent particulièrement représentés. La citrulline ou l'acide allantoïque constituent des formes importantes du transport de l'azote chez certains arbres comme respectivement *Alnus glutinosa* et *Acer pseudo-platanus* (Bollard 1957). Différents résultats obtenus sur le pommier ont montré que les acides aminés sont transportés par le xylème (Ozerol & Titus 1968 ; Tromp & Ovaas 1969 ; Shim *et al.* 1973). Cependant le phloème peut également jouer un rôle dans le transport de certains acides aminés, comme indiqué par Shim *et al.* (1973) qui observent, sur le même matériel, un transfert de ^{14}C -urée du xylème vers le phloème. Chez *Populus deltoïdes*, de la ^{14}C -glutamine est transportée par le xylème jusque dans la partie supérieure de la tige où elle est transférée dans le phloème pour être distribuée aux jeunes feuilles (Dickson *et al.* 1985). Ce transfert emprunte probablement la voie du cambium et des rayons ligneux et phloémiens (Titus & Kang 1982).

2.1. Effets de l'augmentation de la $[\text{CO}_2]$ et de la fertilisation N sur la quantité et la concentration en N dans la plante

Dans la quasi-totalité des arbres forestiers étudiés, une diminution de la concentration en azote dans les organes est observée lorsque les plants sont soumis à une élévation de la $[\text{CO}_2]$ (Conroy 1992 ; Ceulemans & Mousseau 1994 ; Cotrufo *et al.* 1998 ; Saxe *et al.* 1998). Ce phénomène qualifié de « dilution de l'azote » est indépendant de la concentration de cet élément dans le sol (Conroy & Hocking 1993 ; Conroy *et al.* 1992 et El Kohen *et al.* 1992 cités dans Ceulemans & Mousseau 1994 ; Cotrufo *et al.* 1998). D'après certaines études, il semblerait que seuls les organes en croissance ne présenteraient pas de baisse significative de leur concentration en N (Rouhier *et al.* 1994 ; Vivin 1995).

Cette diminution de la concentration en N ne s'explique pas par une diminution de l'acquisition de N à l'échelle du plant entier puisque à cette échelle, généralement, l'acquisition de l'azote augmente ou reste inchangée sous une $[\text{CO}_2]$ élevée (Conroy & Hocking 1993 ; Vivin 1995 ; Stitt & Krapp 1999). Cependant, il apparaît que l'effet positif de l'augmentation de la $[\text{CO}_2]$ sur le pool azoté est moindre que celui sur le pool carboné, entraînant ainsi une augmentation du rapport C/N à l'échelle de la plante (Eamus & Jarvis 1989 ; Vivin 1995 ; Stitt & Krapp 1999). Néanmoins, si le calcul du pool azoté à l'échelle de la plante est utile pour estimer la demande de la plante, il ne démontre pas si les changements en réponse à l'augmentation de la $[\text{CO}_2]$ se sont produits dans la demande azotée de la plante ou dans le taux d'acquisition de l'azote par les racines (Conroy & Hocking 1993).

Les faibles concentrations en N dans le feuillage des plants cultivés sous forte [CO₂] peuvent s'expliquer par la forte accumulation de glucides dans ces tissus (Conroy & Hocking 1993 ; Vivin 1995). Cependant, généralement, cette explication n'a qu'une réalité partielle car l'expression de la concentration en N sur une base structurale ne supprime pas l'effet de dilution de l'azote (Stitt 1991 ; Conroy 1992 ; Conroy & Hocking 1993 ; Stitt & Krapp 1999). De plus, souvent les concentrations des autres éléments dans la feuille ne sont pas affectées par l'enrichissement en CO₂, ce qui suggère également qu'il ne s'agit pas d'un simple effet de dilution (Norby *et al.* 1986 ; O'Neill *et al.* 1987 ; Conroy *et al.* 1990 a ; Peñuelas *et al.* 1997). La diminution de la transpiration généralement observée sous [CO₂] élevée pourrait expliquer la diminution de concentration en N comme une conséquence du ralentissement du flux de nitrate vers les racines (Conroy 1992 ; Conroy & Hocking 1993 ; Stitt & Krapp 1999). En effet, le nitrate étant très mobile dans le sol, son absorption par les racines est moins affectée par la morphologie du système souterrain que par les facteurs contrôlant le flux de masse du nitrate vers les racines (Conroy 1992 ; Conroy & Hocking 1993). Toutefois, ce raisonnement ne s'applique pas au NH₄⁺ qui représente la forme d'azote minéral majoritairement absorbée par les arbres en milieu forestier, car, au contraire, cet ion est peu mobile dans le sol (Martins-Loução & Cruz 1999). De plus, ce raisonnement est également infirmé par les travaux de Wong (1979) cités dans Conroy & Hocking (1993). Cet auteur suggère que ce serait plutôt une perturbation dans l'équilibre entre le métabolisme C et N dans les feuilles des plantes en C₃ qui serait responsable de la diminution de la concentration en N. En effet, cet auteur montre que, bien que les taux de transpiration soient diminués dans les mêmes proportions chez le maïs et le coton cultivés sous [CO₂] élevée, une diminution de la concentration en N foliaire n'est observable que chez le coton. Par contre, le taux d'acquisition de l'azote par unité de masse de racine n'est généralement pas modifié par l'augmentation du CO₂ en conditions non limitantes d'alimentation minérale (Israel *et al.* 1990 et Thomas & Strain 1991 cités dans Vivin 1995 ; Vivin 1995). Néanmoins, certaines études ont montré qu'une augmentation aussi bien qu'une diminution de l'acquisition de l'azote par unité de masse de racine était possible sous [CO₂] élevée et que cette réponse dépendrait de la concentration en N dans le sol (Bassirirad *et al.* 1996 et 1997 et Jackson & Reynolds 1996 cités dans Stitt & Krapp 1999).

La stimulation de la croissance malgré la diminution de la concentration en N, observées sous [CO₂] élevée, suggère plutôt que la plante diminue sa demande en azote et optimise l'azote dont elle dispose.

Field & Mooney (1986 cités dans Ceulemans & Mousseau 1994) suggèrent que les plantes maximisent leur efficacité d'utilisation de l'azote en allouant leur azote entre les tissus de façon à maintenir un équilibre entre les processus photosynthétiques et non-photosynthétiques. L'élévation de la [CO₂] augmentant la capacité de fixation du C par la Rubisco (Conroy & Hocking 1993), une partie de l'azote investi dans la Rubisco et les enzymes du cycle de Calvin pourrait être réallouée vers les tissus non photosynthétiques (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Drake *et al.* 1997 ; Cotrufo *et al.* 1998) comme par exemple les racines fines (El Kohen *et al.* 1992, Körner & Arnone 1992 et Norby *et al.* 1992, cités dans Ceulemans & Mousseau 1994). Il a été calculé que 35% de la Rubisco peut être perdue par la feuille avant que la quantité de Rubisco ne devienne limitante pour la photosynthèse sous [CO₂] double (Long & Drake 1992 cités dans Drake *et al.* 1997). Drake *et al.* (1997) ont effectivement mesuré chez 11 espèces, une réduction moyenne de 15% dans la quantité de Rubisco et de 24% dans son activité, responsable de la diminution de la concentration en N dans les feuilles. Ce processus participerait au phénomène d'acclimatation de la photosynthèse aux [CO₂] élevées (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Drake *et al.* 1997). La méta-analyse de Cotrufo *et al.* (1998) corrobore ces hypothèses. A partir de 378 observations

menées sur des espèces ligneuses et non-ligneuses soumises à une augmentation de la $[CO_2]$, ces auteurs constatent une diminution moyenne de la concentration en N dans les tissus plus forte dans les parties aériennes que dans les parties souterraines (-14% contre -9% respectivement), les feuilles constituant l'organe le plus affecté (-19%). D'autre part, outre cette redistribution de l'azote à l'échelle de la plante, une redistribution de l'azote au sein même de la cellule a été suggérée : dans le chloroplaste, une partie de l'azote de la Rubisco est redistribuée aux protéines associées au transport des électrons ou celles associées à la synthèse du saccharose et de l'amidon (Mott 1990 cité dans Conroy & Hocking 1993 ; Sage *et al.* 1989 et Tissue *et al.* 1993 cités dans Ceulemans & Mousseau 1994).

Cotrufo *et al.* (1998) remarquent que le niveau de fertilisation N ne modifie pas significativement la réponse des plantes à l'augmentation de la $[CO_2]$ vis-à-vis de la concentration tissulaire en N. De même, dans leur article de synthèse, Drake *et al.* (1997) constatent une diminution de la concentration de l'azote foliaire de 15 à 20% selon la disponibilité en azote du sol chez diverses espèces végétales soumises à une élévation de la $[CO_2]$. Cependant, chez ces plantes, le taux d'assimilation du CO_2 par unité de masse d'azote présente dans le feuillage, est augmenté quelle que soit la disponibilité en N du sol. Ce rapport est défini comme « l'efficacité d'utilisation de l'azote » (NUE en anglais) et, dans la plupart des cas, il est décrit comme étant augmenté sous $[CO_2]$ élevée (Norby *et al.* 1986 ; O'Neill *et al.* 1987 ; Conroy 1992 ; Drake *et al.* 1997 ; Saxe *et al.* 1998 ; Fangmeier *et al.* 1999). Bien que les 2 notions se recoupent, d'autres auteurs parlent plutôt de meilleure « productivité de l'azote » en faisant référence à la biomasse produite par unité de masse d'azote dans le feuillage (Conroy 1992 ; Vivin *et al.* 1995) ou dans la plante (Stitt & Krapp 1999 ; Harmens *et al.* 2001). Ainsi, il semble que c'est plutôt la demande de la plante qui gouverne les changements de concentration en N observés sous $[CO_2]$ élevée et non la disponibilité en N du sol (Cotrufo *et al.* 1998 ; Fangmeier *et al.* 1999).

Mais, d'après Coleman *et al.* (1993), la dilution de l'azote observée sous forte $[CO_2]$ serait plus liée à un artéfact résultant de la croissance accélérée des plants qu'à une réelle augmentation de l'efficacité d'utilisation de l'azote. Cet auteur souligne que habituellement, dans les études sur les $[CO_2]$ élevées, les plantes sont comparées au même âge et non au même stade ontogénique, et qu'en comparant des plants d'*Abutilon theophrasti* de même taille, aucune diminution de la concentration en N n'est observée. Ce résultat a toutefois été démenti chez d'autres espèces (Roumet *et al.* 1996 ; Harmens *et al.* 2001).

Enfin, certains auteurs précisent que cette diminution de la concentration en N n'est qu'une réponse transitoire aux $[CO_2]$ élevées et qu'elle finit par disparaître progressivement sur le long terme (Peñuelas *et al.* 1997 sur *Citrus aurantium* ; Heath 1997 sur *Quercus robur* et *Fagus sylvatica* cité dans Saxe *et al.* 1998). En effet, sur un grand laps de temps, la diminution de la concentration en N peut être contrebalancée par une augmentation de l'exploration du sol par les racines, des changements dans la microflore et les mycorrhizes, et l'augmentation de l'efficacité d'acquisition de l'azote par les racines (Saxe *et al.* 1998).

3. INTERACTIONS ENTRE METABOLISMES CARBONE ET AZOTE

Au cours des 20 à 50 dernières années, plusieurs séries d'études ont révélé une étroite interaction entre les métabolismes carboné et azoté (Huppe & Turpin 1994 ; Foyer *et al.* 1994 cités dans Fonseca *et al.* 1997 ; Coruzzi & Bush 2001 ; Foyer *et al.* 2001).

D'une part, l'assimilation du C nécessite l'intervention de diverses molécules azotées, comme la Rubisco et les enzymes du cycle de Calvin qui interviennent dans les étapes de la réduction du CO₂ au cours de la phase sombre de la photosynthèse. Mais la phase claire de la photosynthèse implique également diverses protéines, dont les pigments chlorophylliens et autres protéines associées aux thylacoïdes des chloroplastes, qui fournissent l'énergie et le pouvoir réducteur (ATP et NADPH) utilisés lors des étapes de la phase sombre de la photosynthèse.

Non seulement cette fonction d'assimilation du C utilise des molécules azotées, mais elle mobilise une grande part de l'azote de la plante puisqu'une grande fraction du pool azoté de chaque individu est investie dans l'appareil photosynthétique (Martins-Loução & Cruz 1999 ; Foyer *et al.* 2001). En effet, les feuilles constituent le puits principal de l'azote au sein de l'arbre. Elles peuvent contenir de 40% à plus de 50% de l'azote total de l'arbre (Forshey 1963 sur pommier ; Dickson 1989). De plus, dans les feuilles, la répartition de l'azote se caractérise par l'abondance de la Rubisco, qui peut représenter plus de 50% de l'ensemble des protéines foliaires (Kang & Titus 1980 ; Stitt & Krapp 1999). Mais, de façon plus générale, il est estimé qu'autour de 75% de l'azote foliaire est investi dans l'appareil photosynthétique chez les plantes supérieures, principalement dans les photosystèmes et les carboxylases (Ferrario *et al.* 2001). Pour ces raisons, certaines études ont pu relier les taux de photosynthèse à éclairage saturant au contenu en azote des feuilles (Field & Mooney 1986, Evans 1989, Makino & Osmond 1991 et Pons *et al.* 1994 cités dans Martins-Loução & Cruz 1999).

D'autre part, l'absorption et l'assimilation de l'azote nécessitent également des molécules dérivant du métabolisme carboné. L'énergie et le pouvoir réducteur nécessaires à l'absorption et à l'assimilation de l'azote minéral (5 ATP pour l'assimilation de NH₄⁺ et 15 à 16 ATP pour la réduction de NO₃⁻) sont fournis par le métabolisme carboné (Salsac *et al.* 1987 ; Foyer *et al.* 2001). Par ailleurs, l'azote minéral une fois absorbé est incorporé à des squelettes carbonés pour former des acides aminés, premières molécules d'azote organique constituées dans les cellules. Ces squelettes carbonés sont des cétoacides qui sont tous des intermédiaires du métabolisme respiratoire (Huppe & Turpin 1994), dont les principaux sont le α -cétoglutarate, le pyruvate et l'oxaloacétate (Foyer *et al.* 2001). Selon les capacités photosynthétiques et la disponibilité en glucides stockés, ces composés proviennent, soit directement des photosynthétats récemment acquis, soit des réserves glucidiques stockées sous forme de saccharose ou d'amidon (Huppe & Turpin 1994 ; Martins-Loução & Cruz 1999). Au fur et à mesure de leur prélèvement pour la synthèse des acides aminés, la synthèse de ces molécules est régulièrement alimentée par la voie anapleurotique dont l'enzyme-clé est la phosphoénolpyruvate carboxylase (PEPc) (Huppe & Turpin 1994 ; Martins-Loução & Cruz 1999 ; Foyer *et al.* 2001). Ainsi, il existe une relation linéaire entre les taux d'assimilation de l'azote et de fixation du C par la voie anapleurotique (Huppe & Turpin 1994 ; Ferrario *et al.* 2001).

Dans les racines de plants d'orge cultivés exclusivement avec, soit du NH₄⁺, soit du NO₃⁻, 14% du carbone catabolisé est dédié à l'acquisition et l'assimilation de NH₄⁺, et 23% à l'acquisition et l'assimilation de NO₃⁻ (Bloom *et al.* 1992 cité dans Martins-Loução & Cruz 1999). Mais dans certains tissus, plus de 55% du C acquis par la plante est engagé dans l'assimilation et le métabolisme de l'azote (Huppe & Turpin 1994).

A l'échelle de la plante, l'intégration de 2 métabolismes aussi fondamentaux que celui de l'azote et du carbone, implique une importante co-régulation entre l'activité des racines et celle des parties aériennes (Bloom *et al.* 1993). Si l'activité d'un métabolisme est perturbée, un ajustement se produit dans l'autre (Martins-Loução & Cruz 1999 ; Ferrario *et al.* 2001), pour maintenir un équilibre permettant le développement optimal du végétal (Ferrario *et al.*

2001). Ces observations fournissent une base mécaniste par rapport à des approches plus empiriques impliquant l'élaboration de modèles fonctionnels de répartition du C et du N à l'échelle de la plante. Ainsi, le modèle de Davidson (1969), formule-t-il l'hypothèse d'un équilibre fonctionnel entre la photosynthèse et l'assimilation de l'azote. Selon ce modèle, l'augmentation de l'activité photosynthétique sous l'effet d'une [CO₂] élevée serait contrebalancée par une stimulation préférentielle de la biomasse des racines.

De nombreuses études mettent en évidence une coordination dans l'assimilation du C et N de façon à maintenir un rapport C/N relativement stable (Foyer *et al.* 2001) face à des conditions environnementales modifiant la disponibilité en ressources C et N. La disponibilité en énergie et en glucides suit toujours le taux d'assimilation de l'azote (Martins-Loução & Cruz 1999). Ainsi, l'augmentation de la fixation du CO₂ avec l'augmentation de l'éclairement est accompagnée par une augmentation de l'acquisition de l'azote (Gastal & Saugier 1989), et inversement, l'assimilation de l'azote est diminuée sous faible éclairement (Ferrario *et al.* 2001) ou à de faibles concentrations en CO₂ (Ferrario *et al.* 2001 ; Pace *et al.* 1990), ou encore lors de l'épuisement en glucides suite à une exposition prolongée à l'obscurité (Rufty *et al.* 1989). De plus, il a été observé sur les feuilles de maïs que l'augmentation de la concentration en N est responsable d'une diminution de la résistance au transfert du CO₂ qui est associée à une forte stimulation de l'activité anhydrase carbonique (Makino *et al.* 1992 cité dans Martins-Loução & Cruz 1999).

Par ailleurs, l'imbrication des métabolismes C et N implique une régulation de la répartition du C photosynthétique entre la synthèse des sucres et celle des acides aminés. Chez les algues et les plantes supérieures, l'acquisition d'azote favorise le flux de C vers la synthèse d'acides aminés au coût de la production de glucides (Champigny *et al.* 1991 ; Huppe & Turpin 1994 ; Martins-Loução & Cruz 1999). Ainsi, Van Quy *et al.* (1991) observent-ils une relation inverse entre la synthèse de saccharose et l'assimilation de NO₃⁻. De même, la fourniture d'ammonium diminue la quantité de glucides stockés dans le plant (Ferrario *et al.* 2001). Le cycle journalier de l'assimilation de l'azote dans les tissus hétérotrophes et photosynthétiques peut être expliqué en partie par la plus grande disponibilité en glucides pendant la journée par rapport à la nuit (Rufty *et al.* 1989 ; Chapin *et al.* 1990 ; Stitt & Krapp 1999).

Au contraire, lorsqu'il y a une limitation de la nutrition azotée, une accumulation de composés carbonés de stockage est observée (Huppe & Turpin 1994). En particulier, l'ADP-glucose pyrophosphorylase (ADPgp) est activée en conditions de faible nutrition azotée ce qui a pour conséquence d'augmenter la synthèse d'amidon (Scheible *et al.* 1997 a). Des plants de soja cultivés à 3 niveaux de fertilisation N accumulent d'autant moins d'amidon que le niveau de fertilisation est élevé (Robinson & Baysdorfer 1985). De plus, l'excès de C accumulé le premier jour chez des plants de soja privés d'azote équivaut à la quantité de C nécessaire pour soutenir le taux journalier d'assimilation de l'azote chez ces plants (Rufty *et al.* 1988).

4. MODIFICATIONS DES METABOLISMES GLUCIDIQUES ET AZOTES

4.1. Accumulation de glucides

Dans la plupart des cas, le plus grand changement dans la composition chimique des plants cultivés sous une [CO₂] élevée est l'augmentation de la concentration totale en glucides non structuraux (TNC) (Saxe *et al.* 1998). Habituellement, c'est l'amidon qui contribue le plus à

cette augmentation, mais dans certains cas, les sucres solubles peuvent également être affectés (Saxe *et al.* 1998 ; Stitt & Krapp 1999).

Ainsi, par exemple, sous une [CO₂] élevée, la concentration en amidon augmente dans les feuilles de *P. trichocarpa* x *P. deltoides*, de *P. deltoides* x *P. nigra* (Will & Ceulemans 1997), de *Populus tremuloides*, de *Quercus rubra* (Lindroth *et al.* 1993), de coton (Wong 1990), de *Fagus sylvatica* (Heath *et al.* 1997 cité dans Saxe *et al.* 1998), dans les aiguilles de *Pinus taeda* (Will & Teskey 1997), dans le feuillage et les branches de *Quercus ilex* (Tognetti *et al.* 1998). Les variations de concentration rapportées peuvent être très fortes puisque, chez certaines espèces, les concentrations en amidon peuvent être jusqu'à multipliées par 4 (Wong 1990 sur feuilles de coton ; Heath 1997 sur feuilles de *Quercus robur* et *Fagus sylvatica* cité dans Saxe *et al.* 1998). Dans leur article de synthèse, Curtis & Wang (1998) constatent que l'élévation de la [CO₂] augmente la concentration foliaire en amidon dans toutes les conditions de culture, mis à part chez les gymnospermes sous stress nutritionnel. Ces auteurs remarquent également qu'en moyenne cet effet est plus prononcé chez les angiospermes (+68%) que chez les gymnospermes (+24%).

Bien souvent, une augmentation de la concentration en sucres solubles accompagne celle de l'amidon, comme par exemple dans les aiguilles de *Picea abies* (Roberntz & Linder 1999), les feuilles de *Quercus robur* (Heath 1997 cité dans Saxe *et al.* 1998), les parties aériennes de *Plantago major* (Fonseca *et al.* 1997).

Mais, dans certains cas, seule la concentration des sucres solubles augmente sous une [CO₂] élevée, comme par exemple dans les aiguilles de *Pinus ponderosa* (Griffin *et al.* 1996), dans le feuillage et les branches de *Quercus pubescens* (Tognetti *et al.* 1998), dans les racines de *Fraxinus excelsior*, de *Pinus sylvestris* (Crookshanks *et al.* 1998), de *Plantago major* (Fonseca *et al.* 1997). Les augmentations de concentration mesurées peuvent être aussi importantes que celles constatées pour l'amidon (Heath 1997 cité dans Saxe *et al.* 1998).

Une augmentation de la concentration en TNC est également une réponse classique des plantes à une limitation de la nutrition azotée (Stitt & Krapp 1999). Cette augmentation est souvent plus marquée dans les racines que dans les feuilles (Rufty *et al.* 1988).

Elle est due principalement à une augmentation de la concentration en amidon (Waring *et al.* 1985 ; Hofstra *et al.* 1985 ; Rufty *et al.* 1988 ; Hocking & Meyer 1991 ; Fichtner & Schulze 1992 ; Fichtner *et al.* 1993 ; Delgado *et al.* 1994 ; Paul & Driscoll 1997 ; Scheible *et al.* 1997a), alors que la concentration en sucres solubles reste relativement basse et parfois même décroît (Rufty *et al.* 1988 ; Fichtner *et al.* 1993 ; Reddy *et al.* 1996 ; Scheible *et al.* 1997b ; Tognetti & Johnson 1999a).

L'exposition de plants recevant une nutrition azotée limitante à des [CO₂] élevées renforce les effets de la nutrition azotée seule, puisque dans ces conditions, les plants accumulent des concentrations supplémentaires en glucides (Wong 1979 et 1990 ; Bowler & Press 1996 ; Baxter *et al.* 1997 ; Ferrario-Mery *et al.* 1997 ; Fischer *et al.* 1997 ; Geiger *et al.* 1999).

Au contraire, l'augmentation de la fertilisation azotée diminue la concentration en TNC (Cheng & Fuchigami 2002 sur *Malus domestica* Borkh.). Elle diminue la concentration en amidon mais augmente la concentration en sucres solubles (Ali *et al.* 1999 sur *Prunus persica* L. ; Geiger *et al.* 1999 sur *Nicotiana tabacum* L.). Chez le pêcher, cet effet est plus marqué dans les feuilles que dans les autres organes (Ali *et al.* 1999).

Ainsi, la concentration en amidon augmentée sous des [CO₂] élevées est diminuée lorsque ce traitement est combiné à un apport d'azote (Tognetti & Johnson 1999a sur *Quercus ilex* L.), sans que la concentration en sucres solubles soit affectée par aucun des traitements chez cette espèce.

Divers auteurs rapportent que l'augmentation de la [CO₂] sous une faible fertilisation azotée, favorise plus l'accumulation d'amidon par rapport à l'accumulation de sucres solubles, alors

que sous une bonne fertilisation azotée, une $[CO_2]$ élevée favorise plus l'accumulation de sucres solubles par rapport à celle d'amidon (Ferrario-Mery *et al.* 1997 et Geiger *et al.* 1999 sur tabac). Par conséquent, alors que l'augmentation de la $[CO_2]$ conduit à une augmentation globale des glucides dans les plants, le niveau de fertilisation azotée interagit avec la $[CO_2]$ de façon à moduler la réponse du métabolisme glucidique aux $[CO_2]$ élevées (modification du rapport amidon/sucres solubles).

L'explication de la forte accumulation d'amidon généralement observée sous forte $[CO_2]$ peut trouver différentes origines, notamment selon le statut azoté des plants.

L'augmentation de la synthèse d'amidon s'observe habituellement dans des situations menant à une augmentation de la production de sucres (Geiger *et al.* 1999 ; Stitt & Krapp 1999), comme c'est le cas sous une $[CO_2]$ élevée ou sous une bonne fertilisation azotée. Les mécanismes impliqués sont probablement un rétro-contrôle négatif de la synthèse du saccharose (Stitt & Krapp 1999), ou un recyclage du saccharose via l'invertase (Stitt 1991), ou encore une stimulation de l'expression de gènes impliqués dans la synthèse de l'amidon via des signaux du métabolisme des sucres (Müller-Röber *et al.* 1990, Krapp & Stitt 1995 et Nielsen *et al.* 1998, cités dans Stitt & Krapp 1999).

Certains auteurs proposent que ce résultat pourrait découler de l'incapacité de certains plants à produire des puits de C suffisants pour absorber les grandes quantités de photosynthétats produits (Conroy & Hocking 1993). En particulier, lorsque la $[CO_2]$ élevée est associée à une fertilisation azotée limitante, la diminution des taux de croissance observée habituellement dans ces conditions peut favoriser l'orientation des photosynthétats vers la synthèse d'amidon qui est considérée comme une réponse passive à ces traitements (Stitt & Krapp 1999).

Cette hypothèse est contestée par Morin *et al.* (1992 cités dans Conroy & Hocking 1993). En augmentant, soit l'éclaircissement, soit la $[CO_2]$, fournis à des plants de trèfle de façon à ce que les 2 lots de plants aient un taux d'assimilation du CO_2 journalier équivalent, ces auteurs constatent que seuls les plants transférés sous $[CO_2]$ élevée accumulent de l'amidon. Ceci suggère que c'est l'inhibition de la photorespiration plus que la stimulation de la réduction photosynthétique du C qui serait responsable de l'accumulation d'amidon.

Cependant, il apparaît clairement aujourd'hui que d'autres mécanismes peuvent être mis en œuvre pour contrôler l'accumulation d'amidon dans les organes puisque certaines études montrent que la concentration en amidon augmente sous une $[CO_2]$ élevée même lorsque la concentration en sucres ne change pas significativement, ou reste basse (Geiger *et al.* 1999). D'après Scheible *et al.* (1997a), l'expression du gène codant pour la sous-unité régulatrice (*AgpS*) de l'enzyme-clé responsable de la synthèse de l'amidon (AGPase) est réprimée par le nitrate. Aussi, il semblerait que l'accumulation d'amidon observée dans les conditions sub-optimales en azote serait plus la conséquence de signaux dérivant du nitrate que des faibles taux de croissance ou de l'accumulation de sucres (Scheible *et al.* 1997a, c).

Par conséquent, l'accumulation d'amidon sous une $[CO_2]$ élevée peut résulter de l'augmentation du taux de photosynthèse et de formation de sucres, mais également de changements dans le statut azoté des plants (Geiger *et al.* 1999).

Toutefois, bien que l'augmentation de la concentration en TNC, en particulier dans les feuilles, soit une réponse assez générale des espèces ligneuses à l'élévation de la $[CO_2]$, ce n'est pas une réponse universelle et de considérables variations interspécifiques ont été rapportées (Saxe *et al.* 1998).

Par exemple, l'augmentation de la $[CO_2]$ ne conduit à aucun changement significatif de la concentration en amidon dans les feuilles d'*Acer saccharum* (Lindroth *et al.* 1993), *Betula papyrifera* et *Pinus strobus* (Roth & Lindroth 1994). De même, la concentration en sucres

solubles, en amidon et en TNC n'est pas affectée par la [CO₂] élevée ni le niveau de fertilisation azotée dans les racines, la tige et les feuilles chez *Quercus virginiana* Mill. (Tognetti & Johnson 1999b). La concentration en amidon diminue même dans les racines de *Quercus petraea* (Crookshanks *et al.* 1998) et de *Pinus palustris* (Entry *et al.* 1998) soumis à une augmentation de la [CO₂].

4.2. Accumulation de composés azotés

Si la diminution de la concentration en N dans les organes des plantes soumises à des [CO₂] élevées est largement documentée à travers la littérature, l'impact sur les différents composés azotés contenus dans les plants l'est beaucoup moins (Geiger *et al.* 1999 ; Stitt & Krapp 1999).

En général, la concentration en N organique diminue sous une [CO₂] élevée aussi bien chez les espèces ligneuses qu'herbacées (Wong 1979 ; Curtis *et al.* 1989 ; Garbutt *et al.* 1990 ; Coleman *et al.* 1991 ; Hocking & Meyer 1991 sur blé et maïs ; Coleman & Bazzaz 1992 ; Gries *et al.* 1993 sur *Citrus aurantium* ; Pettersson *et al.* 1993 sur *Betula pendula* ; Körner & Miglietta 1994 ; Pettersson & MacDonald 1994 ; Ferrario-Mery *et al.* 1997 sur *Nicotiana plumbaginifolia* ; Poorter *et al.* 1997 ; Schmadel-Hagebölling *et al.* 1998 sur feuilles de *Quercus petraea*). La concentration en protéines décroît habituellement d'environ 10-20% sous une [CO₂] élevée (Jacob *et al.* 1995 ; Nie *et al.* 1995 ; Sicher *et al.* 1995 ; Ferrario-Mery *et al.* 1997 ; Geiger *et al.* 1998). Au cours d'une étude portant sur 27 espèces, Poorter *et al.* (1997) ont montré que la diminution de la concentration foliaire en protéines sous forte [CO₂] est légèrement moins importante que la diminution de l'azote total (-18% contre -21% respectivement). Ce résultat suggère que le partitioning de l'azote peut être modifié sous une [CO₂] élevée, avec une plus grande stabilité du pool protéique par rapport à l'ensemble des autres pools azotés.

Divers auteurs ont montré que l'augmentation du niveau de fertilisation azotée, non seulement améliore le statut azoté des plants en pleine croissance (Bollmark *et al.* 1999 ; Geiger *et al.* 1999), mais que cet effet reste conservé dans les organes pérennes pendant la période de dormance (Taylor 1967 et Stassen *et al.* 1981b sur *Prunus persica* (L.) Batsch. ; Taylor *et al.* 1975 sur poirier ; Sennerby-Forsse & von Fircks 1987 sur *Salix dasyclados* Wimm. ; Wetzell *et al.* 1995 sur *Populus deltoides* Barth. x *Populus nigra* L. ; Bollmark *et al.* 1999 sur *Salix viminalis*). Ce meilleur statut azoté est observé quelle que soit la [CO₂] et se traduit par de plus fortes concentrations en NO₃⁻, NH₄⁺, acides aminés et protéines dans les plants (Geiger *et al.* 1999 sur *Nicotiana tabacum*).

Cependant, l'impact d'une [CO₂] élevée sur le statut azoté des plants dépend du niveau de fertilisation azotée (Geiger *et al.* 1999).

Alors que les concentrations en NO₃⁻ et NH₄⁺ diminuent sous [CO₂] élevée, quel que soit le niveau de fertilisation azotée, les concentrations en acides aminés et en protéines ne diminuent que dans des conditions de faible fertilisation azotée (Geiger *et al.* 1999). Il apparaît en fait que la [CO₂] élevée accentue les effets d'une limitation azotée lorsque les plants sont cultivés dans des conditions de fertilisation azotée faible ou intermédiaire (Geiger *et al.* 1999). Des études récentes montrent que les concentrations en acides aminés et en protéines restent élevées sous forte [CO₂] lorsque les plants sont dans de bonnes conditions de fertilisation azotée (Ferrario-Mery *et al.* 1997 ; Geiger *et al.* 1998 et 1999) et peuvent même

légèrement augmenter dans le cas de jeunes plants en forte croissance (Geiger *et al.* 1998 et 1999).

STOCKAGE ET REMOBILISATION DE C ET DE N DANS LES ARBRES

1. DEFINITION DE LA NOTION DE « RESERVES »

Le C et le N assimilés sont répartis au sein de la plante selon la force de puits de ses différents organes. Une fraction des assimilats n'est pas immédiatement utilisée pour la croissance et les besoins énergétiques qui lui sont associés, mais est stockée sous la forme de composés dits de « réserve ». Selon la définition proposée par Chapin *et al.* (1990), les réserves correspondent à des ressources qui s'accumulent dans les plantes et qui peuvent être remobilisées ultérieurement comme support des biosynthèses nécessaires à la croissance et aux autres diverses fonctions. Ces mêmes auteurs proposent 3 mécanismes distincts conduisant à l'élaboration de réserves :

(1) l'accumulation de ressources quand l'offre excède la demande pour la croissance et la maintenance ;

(2) la formation active et régulée de réserves indépendamment de la disponibilité des ressources ;

(3) le recyclage de composés, dont l'utilisation immédiate contribue à la croissance ou à la défense, mais qui dans certaines conditions, peuvent être réutilisés ultérieurement pour la croissance, via une transformation chimique.

La synthèse de réserves apparaît donc, soit comme un processus passif dépendant uniquement de la disponibilité en ressources, soit comme un processus actif basé sur la force de puits de la fonction de stockage.

2. NATURE BIOCHIMIQUE DES RESERVES C ET N

2. 1. Les Réserves Carbonées

Chez les arbres, les réserves carbonées sont stockées dans les différents organes majoritairement sous une forme glucidique (Tromp 1983 ; Chapin *et al.* 1990) dont les quantités accumulées peuvent être considérables. Les réserves glucidiques peuvent représenter autour de 35% de la matière sèche chez de jeunes plants feuillus (Nelson & Dickson 1981 ; Tromp 1983 ; Dickson 1991). L'amidon est la forme privilégiée de stockage du C dans la plupart des arbres (Nelson & Dickson 1981 ; Stassen *et al.* 1981a ; Tromp 1983). Il s'agit d'un polysaccharide insoluble dans l'eau et qui présente l'avantage d'être une forme métaboliquement inactive contrairement à des glucides de plus petite taille tels que les monosaccharides, disaccharides, oligosaccharides, polyalcools, regroupés sous le terme de

« sucres solubles ». Certains sucres solubles participent au stockage du C, mais dans une moindre mesure par rapport à l'amidon. Dans la plupart des cas, cette fraction soluble est constituée principalement par du saccharose et secondairement par du glucose et du fructose (Kramer & Kozlowski 1979). Néanmoins, chez certaines espèces, des formes solubles peuvent être prédominantes, comme le saccharose chez *Pinus strobus*, le raffinose chez le mûrier et ses polymères chez le marronnier, le stachyose chez le frêne ou certains pins, ou des polyalcools chez le pommier et certains conifères (Bory & Clair-Maczulajtys 1988a).

Certaines espèces accumulent des lipides dans leurs tissus ligneux (triacylglycérols, phospholipides, galactolipides (Bory & Clair-Maczulajtys 1988a), de façon parfois considérable, à tel point que leur concentration peut dépasser celle des glucides non structuraux (Hoch *et al.* 2002). Ces arbres sont qualifiés d'arbres gras (« fat-trees ») par opposition aux arbres accumulant de l'amidon (« starch-trees ») suivant la classification proposée par Sinnott (1918). Toutefois, bien que quelques études sur des espèces méditerranéennes comme *Quercus ilex* (Cherbuy *et al.* 2001) ou *Arbutus unedo* L. (Larcher & Thomaser-Thin 1988) aient montré l'implication des lipides en tant que composés de réserve, ce fait n'est pas largement établi pour un grand nombre d'espèces. D'autre part, même si des lipides s'accumulent chez certains arbres comme les peupliers, les tilleuls, les pins, les épicéas ou les mélèzes, ce pool de lipides ne varie pas significativement au cours de l'année chez ces espèces (Nelson & Dickson 1981 ; Fischer & Höll 1992 ; Hoch *et al.* 2003), ce qui est en contradiction avec la définition des réserves. En fait, cette forme de stockage du C semble dédiée à certaines graines et certains fruits plutôt qu'aux organes végétatifs.

Des composés complexes tels que les alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques ou divers hétérosides, souvent interprétés comme des produits de déchet du métabolisme, peuvent parfois constituer des réserves énergétiques importantes pour l'arbre (Bory & Clair-Maczulajtys 1988a). De même, les hémicelluloses, qui représentent une fraction appréciable des sucres présents dans les organes (Tromp 1983), ont été quelques fois évoqués comme composés de stockage (Dubroca 1983 ; Stassen *et al.* 1981) mais habituellement leur importance dans cette fonction est plutôt controversée (Tromp 1983 ; Zimmermann 1971, White 1973 et Chapin *et al.* 1986 cités dans Chapin *et al.* 1990)

Par conséquent, bien qu'une grande diversité de composants biochimiques puissent contribuer au stock de réserves carbonées chez les arbres, les glucides, et principalement l'amidon, apparaissent comme les composés de réserves carbonés les plus abondants. Les espèces que nous avons choisi d'étudier, le chêne et le hêtre, ne font pas figure d'exception (Hoch *et al.* 2003, Barbaroux 2002).

2. 2. Les Réserves Azotées

L'azote représente moins de 1% de la matière sèche d'un arbre (Dubroca 1983 ; Sauter *et al.* 1989), les feuilles étant l'organe le plus riche en azote (1,5% chez *Salix viminalis*, Bollmark *et al.* 1999). Les réserves azotées sont donc des composés du métabolisme beaucoup moins abondants par rapport aux réserves carbonées.

Bien que des arbres comme le platane, le marronnier, les érables possèdent des réserves azotées représentées par des formes d'azote soluble comme les uréides (Bory & Clair-Maczulajtys 1988a), en général, l'azote est stocké principalement sous forme d'acides aminés

et de protéines chez les plantes pérennes (Dickson 1989) et l'importance relative de ces composés est l'objet de controverses (Tromp 1983).

Les protéines et les acides aminés peuvent servir concomitamment de composés de stockage de l'azote chez les arbres (Durzan 1968, Pomeroy *et al.* 1970, Gezelius *et al.* 1981, Margolis & Waring 1986 et Wetzel & Greenwood 1989 cités dans Wetzel & Greenwood 1991), mais parfois, l'une ou l'autre forme biochimique tend à dominer.

Certains acides aminés peuvent constituer des formes majeures d'immobilisation de l'azote. Les acides aminés les plus fréquemment cités comme ayant une grande importance dans le stockage de l'azote sont l'arginine, l'asparagine, la glutamine et la proline (Dickson 1989). Ainsi l'arginine domine chez les rosacées comme forme de stockage, la proline chez les rutales (Bory & Clair-Maczulajtys 1988a) et dans le genre *Citrus* (Kato 1986). Chez la vigne, la forme principale de stockage de l'azote est également l'arginine puisque celle-ci représente plus de 60% de l'azote soluble total dans les racines et le vieux bois (Kliwer & Cook 1974, Schaller *et al.* 1989 et Kliwer 1991 cités dans Zapata 1998). L'arginine et les amides (glutamine et asparagine) jouent un rôle essentiel dans la mise en réserve et la mobilisation de l'azote chez le pommier et le pêcher (Oland 1954, Taylor & Van den Ende 1969 et 1970 cités dans Stepien 1992 ; Schneider 1958 et Oland 1959 cités dans Zapata 1998).

Mis à part la proline, ces acides aminés ont la particularité d'être des composés très riches en N, ce qui fait d'eux des composés particulièrement efficaces pour le stockage de l'azote. La présence de la proline, dont l'efficacité pour le stockage de l'azote est faible (C/N : 5/1), pourrait traduire une importante fonction métabolique chez certains plants dormants, outre celle du stockage de l'azote (Dickson 1989).

Le rôle des protéines dans le stockage de l'azote chez les arbres est largement évoqué à travers la littérature, en particulier chez des espèces de la taïga à bois durs (Chapin & Kedrowski 1983), chez des espèces fruitières (Tromp 1970, Tromp & Ovaas 1973, O'Kennedy & Titus 1979, Titus & Kang 1982 et Millard & Neilson 1989 cités dans Wetzel & Greenwood 1991), mais beaucoup moins chez les espèces forestières (Wetzel & Greenwood 1991 ; Stepien 1992). Toutes les protéines d'une cellule ne sont pas impliquées dans le stockage. Une partie de l'azote des organes est incorporée à la structure des cellules, majoritairement sous forme protéique, et par là même est qualifié « d'azote structurel » ou « insoluble ». Sauter & Wellenkamp (1998 sur rameaux de saule) estiment que, sur l'ensemble des protéines des cellules vivantes, un peu moins de 30% correspondent à des protéines structurales. Cet azote structurel ne subit pas de changements saisonniers (Terziev *et al.* 1997), de ce fait, seule la fraction des protéines non immobilisées, qualifiées de « solubles » peut jouer un rôle effectif dans le stockage saisonnier de l'azote.

L'étude approfondie de ce pool de protéines solubles et de ses variations saisonnières indique que, pour certaines espèces (dont *Quercus rubra*, *Fagus sylvatica*), aucune protéine particulière ne semble émerger alors que, pour d'autres espèces (dont *Betula papyrifera*, *Robinia pseudoacacia*, *Gleditsia triacanthos*) certaines protéines sont particulièrement accumulées comme forme de stockage de l'azote (Wetzel & Greenwood 1991). Ces protéines spécialisées dans la fonction de stockage de l'azote dans les parties végétatives ont été nommées VSP (Vegetative Storage Proteins) pour Protéines de Stockage Végétatives. En raison de leur forte variabilité interspécifique, il n'existe pas de méthode analytique permettant de mettre en évidence de telles protéines et des critères généraux ont donc dû être définis pour les identifier. D'après O'Kennedy & Titus (1979), une VSP est une protéine prédominante dans les organes dormants et qui disparaît à la reprise de croissance. Les VSP

peuvent représenter une part considérable des protéines puisque, dans le bois de peuplier, les VSP représentent plus de 70% des protéines solubles durant la phase hivernale (Sauter *et al.* 1988), mais ce chiffre peut être beaucoup plus bas (5%, Staswick 1994).

L'identification biochimique de ces protéines a révélé que la plupart des VSP identifiées à l'heure actuelle correspondent à des protéines glycosylées (Dickson 1989 ; Ourry *et al.* 2001). Les chaînes oligosaccharidiques confèreraient à ces protéines une meilleure thermostabilité pendant l'hiver et permettraient d'accroître également la quantité de C stocké (Ourry *et al.* 2001).

Le rôle physiologique précis des VSP n'est pas totalement élucidé. Dans le tronc de pêcher, bien que leur rendement de stockage (rapport des concentrations hivernale/estivale) soit bien plus élevé que pour le reste des composés azotés, les VSP ne fournissent que 5% de l'azote remobilisé au printemps pour la reprise de croissance, la plus grande partie (55%) provenant de la fraction non protéique, probablement constituée d'acides aminés (Gomez & Faurobert 2002). Leur remobilisation est cependant très précoce, ce qui suggère un rôle dans l'initiation de la reprise de croissance (Gomez & Faurobert 2002). De manière assez surprenante, certaines VSP pourraient montrer une fonction catalytique. C'est le cas des VSP du soja qui présentent une homologie de séquence avec la phosphatase acide de la tomate (Staswick 1994). La même remarque peut être faite à propos de la rubisco qui peut être considérée comme une forme de stockage transitoire de l'azote (Millard 1988 ; Dickson 1989 ; Staswick 1994).

La mise en place des VSP n'apparaît pas liée à l'apparition d'une période de dormance et ne caractérise pas les plantes pérennes puisqu'elle se déroule aussi chez les plantes herbacées annuelles comme la chicorée, le pissenlit ou le soja (Cyr & Bewley 1990 et Staswick 1990 cités dans Stepien 1992).

3. ROLE DES RESERVES DANS LA PHYSIOLOGIE DES ARBRES

Le stockage de réserves est une des fonctions majeures des plantes au même titre que l'acquisition, le transport, la croissance, la défense et la reproduction (Chapin *et al.* 1990). L'aspect fondamental de cette fonction physiologique est qu'elle permet le découplage dans le temps entre l'acquisition des ressources et leur utilisation. Elle constitue un mécanisme adaptatif assurant la pérennité des plantes face à un environnement aux conditions aléatoires, en rendant possible le développement d'une stratégie permettant aux plantes d'optimiser la gestion de leurs ressources au cours du temps.

Ainsi, au cours d'une saison de végétation, les arbres peuvent avoir à faire face à divers stress, biotiques ou abiotiques, à l'occasion desquels une partie de leurs stocks de réserves va être consommée. Par exemple, lors d'un stress hydrique, la fermeture stomatique réduit l'acquisition de C et la circulation de la sève qui, en retour, vont affecter l'acquisition minérale, ce qui rend les plantes fortement tributaire de leurs réserves. Lors d'un stress hydrique, il est alors fréquent d'observer une diminution de la concentration en amidon parallèlement à une augmentation de celle des sucres solubles (Chaves 1991) qui vont avoir pour rôle, d'une part, d'augmenter la pression osmotique des cellules pour lutter contre la déshydratation des tissus et, d'autre part, d'assurer la continuation des activités métaboliques. A l'identique, au cours d'une attaque par des pathogènes qui vont affaiblir le végétal et entraver son fonctionnement normal, une partie des réserves peut être mobilisée pour la

synthèse de composés de défense et/ou pour le maintien de la croissance. L'attaque d'un arbre par des défoliateurs le prive de la totalité ou d'une partie de son feuillage. Les réserves stockées dans le restant de l'arbre lui permettent de reformer un feuillage (Vanderklein & Reich 1999 ; Cherbuy *et al.* 2001) voire même, si l'arbre est sain, de survivre à plusieurs cycles de défoliations dans la même saison (Hoch *et al.* 2003).

Si ces divers exemples sont associés à des changements accidentels dans le milieu, les réserves jouent également un rôle primordial au sein du rythme saisonnier chez les arbres. En milieu tempéré pendant l'hiver, les arbres observent un repos végétatif ainsi, pendant une fraction non négligeable de l'année, ils doivent assurer la maintenance de leurs tissus alors que l'assimilation de ressources est très fortement ralentie ou même absente. Les réserves stockées dans leurs tissus leur permettent d'assurer cette fonction (Kramer & Kozlowski 1960). D'autre part, en abaissant le point de congélation des tissus grâce à la synthèse d'agents osmotiques, les réserves leur permettent également de résister aux gelées pendant l'hiver, comme l'ont montré Sakai et Larcher (1987) en mettant en évidence la conversion de l'amidon en sucres solubles induite par le froid. Cette conversion se produit essentiellement dans l'écorce et le bois des parties aériennes (Nelson & Dickson 1981 ; Sauter 1988 ; Gansert & Sprick 1998), mais pas dans les racines (Dubroca 1983 ; Keller & Loescher 1989), probablement parce que celles-ci sont rarement exposées à de très faibles températures (Tromp 1983). Parker (1962 cité dans Kajji 1992) a montré que la résistance au gel de *Robinia* est maximale entre décembre et mars. A cette période, les tissus sont capables de survivre à des températures extrêmement froides : jusqu'à -196°C en janvier pour l'écorce de chêne, d'érable ou de Bouleau (Parker 1962 cité dans Kajji 1992). A l'inverse, dès les mois de mars ou avril, avec l'augmentation des températures, les tissus perdent très rapidement leur capacité à résister au gel et, jusqu'à l'automne, suivant ils ne peuvent plus résister à des températures inférieures à -10°C (Kajji 1992). Or, ces variations saisonnières de résistance au gel sont parallèles aux variations de contenu en amidon (Sakai 1966 cité dans Kajji 1992) et en sucres solubles dans les tissus (Parker 1962 cité dans Kajji 1992). D'autres études ont également corrélé l'augmentation de la concentration en protéines solubles avec l'augmentation de la résistance au froid chez des espèces à bois dur (Siminovitch *et al.* 1968 ; Kang & Titus 1989) aussi bien qu'à bois tendre (Pomeroy *et al.* 1970). Un exemple d'action synergique entre les réserves carbonées et azotées est fourni par Santarius (1979 cité dans Kajji 1992). Cet auteur a montré qu'en période de gel, l'accumulation de saccharose et de raffinose à l'intérieur des chloroplastes de feuilles d'épinard augmentait l'efficacité des protéines « antigel ».

Par ailleurs, le rôle capital joué par les réserves dans la croissance des nouveaux organes au printemps (Stassen *et al.* 1981 b ; Tromp 1983) permet d'expliquer un paradoxe apparent : à l'occasion du débourrement, les arbres présentent une phase de croissance maximale alors qu'à cette même période, l'acquisition des ressources est minimale ou même absente. Les composés de réserves sont utilisés aussi bien pour l'édification des nouvelles structures que pour la fourniture de l'énergie et des composés nécessaires au soutien du métabolisme de croissance. Il s'agit probablement du processus le plus consommateur en réserves qui ait lieu au cours de l'année puisque jusqu'à plus de la moitié du stock de réserves peut y être consacré. Certains travaux ont pu mettre en évidence le rôle des glucides dans la réactivation cambiale à cette période (Wilcox 1962, Hansen 1977 et Oribe *et al.* 2001 cités dans Barbaroux 2002). Par exemple, Hansen & Beck (1990) ont montré que le C stocké dans les tiges de *Pinus sylvestris* est utilisé principalement pour la production des premières cellules du bois de printemps et du phloème correspondant.

Par conséquent, l'évolution de la concentration en réserves au cours du temps est caractérisée par des phases de stockage où la concentration en réserves augmente dans les organes, qui alternent avec des phases de remobilisation où les composés sont utilisés et où donc leur concentration diminue.

4. LOCALISATION DES RESERVES A L'ECHELLE ORGANIQUE, CELLULAIRE ET SUBCELLULAIRE

Certaines plantes non ligneuses ont la capacité de développer des structures spécialisées dans le stockage de réserves, telles que bulbes, rhizomes ou tubercules. De telles structures n'existent pas chez les ligneux. En revanche, chez les arbres, tous les organes ont un rôle potentiel dans le stockage de substances de réserve carbonées et azotées (Tromp 1983 ; Chomba *et al.* 1993 ; Bollmark *et al.* 1999), et ainsi, les réserves sont en général stockées et remobilisées dans l'ensemble du plant (Chapin *et al.* 1990 ; Tagliavini *et al.* 1998).

Cependant, tous les organes n'ont pas la même importance dans la fonction de stockage. Chez les espèces décidues, les feuilles, bien entendu, ne représentent qu'un organe de stockage temporaire, de l'ordre de la journée (Trethewey & Smith 2000 cités dans Barbaroux 2002), et le stockage annuel de réserves a lieu exclusivement dans les tissus lignifiés (Titus & Kang 1982 ; Tromp 1983). Chez les espèces sempervirentes, la situation est bien différente puisque la concentration en sucres peut être plus forte et présenter de plus importantes variations saisonnières dans les aiguilles que dans les tiges ou les racines (Fischer & Höll 1991 et 1992 ; Schaberg *et al.* 2000). Des constatations similaires ont également été faites à propos de l'azote (Mead & Pritchett 1975 et Nambiar & Fife 1991 cités dans Millard 1994 ; Cerasoli 2002)

Les racines sont habituellement décrites comme un organe particulièrement important pour le stockage de réserves glucidiques (Hansen & Grauslund 1973 ; Bollmark *et al.* 1999 ; Lacoïnte 2001 ; Ludovici *et al.* 2002) et azotées (Titus & Kang 1982 ; Policarpo *et al.* 2002), en particulier chez les sujets jeunes. Avec l'âge, le tronc prenant plus d'importance, la dominance des racines pour le stockage de réserves décroît (Lacoïnte 2001 ; Ludovici *et al.* 2002). Cependant, des études à une échelle plus fine ont permis de montrer que l'azote et les protéines sont particulièrement concentrés dans l'écorce du tronc (Titus & Kang 1982 ; Titus 1989). Or, ce tissu est très faiblement représenté au sein du tronc et de l'arbre ce qui peut conduire à une sous-estimation de l'importance du tronc pour le stockage de l'azote. Par conséquent, l'importance pondérale des différents organes est un facteur capital à prendre en compte. C'est ainsi que chez *Salix viminalis*, les variations saisonnières des quantités d'azote observées dans les racines et dans tiges sont similaires, mais les fluctuations saisonnières en termes de concentration sont plus grandes dans les tiges (Bollmark *et al.* 1999).

En fait, la notion « d'accessibilité » des tissus au sein de l'arbre est un paramètre qui permet de mieux comprendre les raisons du stockage et de la remobilisation préférentielle affectant certaines parties de l'arbre. Le stockage et le déstockage des composés de réserve débutent à partir de la zone cambiale, vers l'intérieur et l'extérieur du tronc (Fischer & Höll 1992). Ainsi, dans le tronc de chêne et de hêtre, les réserves glucidiques sont plus concentrées et se déposent plus précocement dans les jeunes cernes que dans les cernes plus âgés dont le remplissage tend à continuer même après la chute des feuilles (Barbaroux 2002).

De même, il semblerait que le transfert des composés de réserves entre 2 points dans l'arbre privilégierait la plus courte distance entre sources et puits (Matsuura *et al.* 2001 ; Cerasoli

2002). En effet, à travers diverses études, il semble que les organes les plus proches des parties en croissance stockent et remobilisent des réserves plus précocement et plus intensément que les organes plus éloignés (Titus & Kang 1982 ; Tagliavini *et al.* 1998 ; Bollmark *et al.* 1999 ; Barbaroux 2002) et, de plus, ils présentent une dynamique saisonnière plus marquée (Bollmark *et al.* 1999 ; Cerasoli 2002 ; Hoch *et al.* 2003).

Un exemple qui illustre bien ce phénomène concerne le comportement des racines au printemps. Les racines, et en particulier les racines fines, sont souvent qualifiées d'organe « égoïste » en raison de l'utilisation locale de leurs réserves pour la production de nouvelles racines (Barbaroux 2002). Toutefois, cet organe peut également contribuer à la croissance des nouveaux organes aériens, mais plus tardivement que les organes pérennes aériens (Matsuura *et al.* 2001).

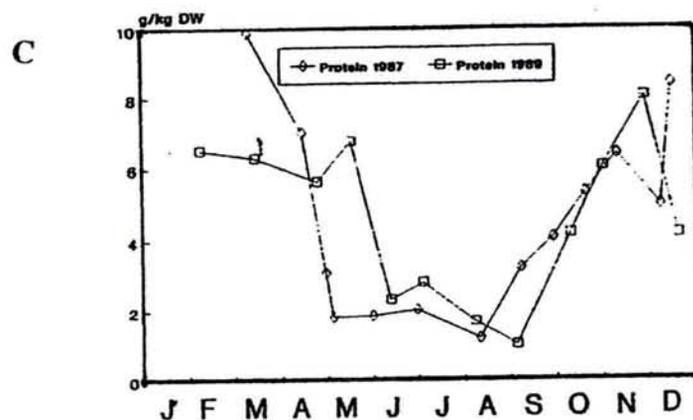
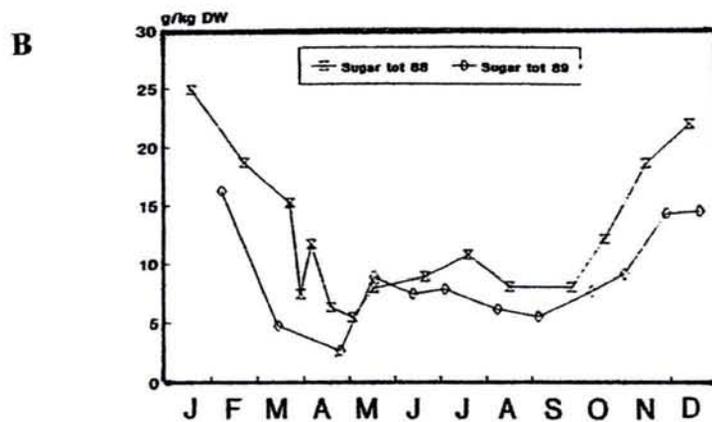
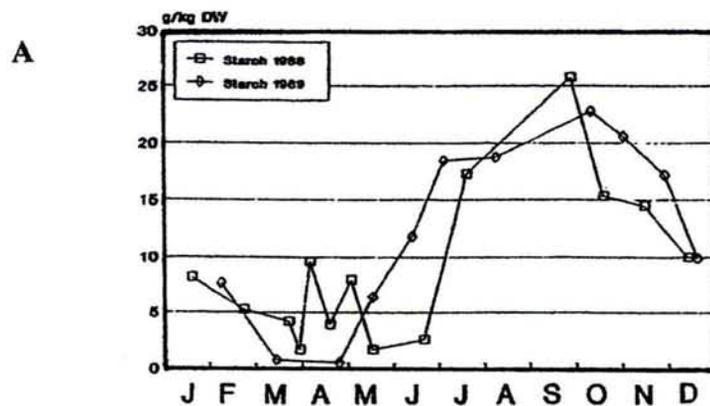
Une autre différence affectant les organes concerne la nature chimique des composés stockés qui peuvent être différentes d'un organe à l'autre. Par exemple, chez *Salix viminalis*, le stockage de l'azote se fait principalement sous forme protéique dans les tiges et sous forme non protéique dans les racines (Bollmark *et al.* 1999). Les mêmes constatations ont été faites sur les arbres fruitiers, dont les racines se démarquent des parties aériennes par leur stockage privilégié sous la forme d'acides aminés (Tromp 1983).

A l'échelle cellulaire, le stockage de réserves est une fonction dévolue aux cellules vivantes non spécialisées ; il est incompatible avec une spécialisation cellulaire car le rôle spécifique de certaines cellules pourrait être entravé par l'accumulation de réserves (Tromp 1983). Aussi, elles sont stockées dans les cellules parenchymateuses, à proximité des tissus vasculaires (Tromp 1983 ; Fischer & Höll 1992 ; Sauter & van Cleve 1994), ce qui en outre, optimise, sans doute, leur distribution à travers la plante. On les trouve donc dans les tissus tels que le cambium, les rayons parenchymateux du xylème et du phloème des racines et des tiges (Wetzel & Greenwood 1991 ; Fischer & Höll 1992 ; Witt & Sauter 1994). Dans un arbre, ces cellules vivantes sont en contact les unes avec les autres, ainsi qu'avec le système de transport, formant de ce fait un réseau continu en 3 dimensions (Fischer & Höll 1992).

L'observation de fortes concentrations de réserves dans les racines pourrait être tout simplement due à la forte proportion de cellules vivantes dans cet organe par rapport au bois (Lacointe 2001). La même remarque peut être évoquée en ce qui concerne la richesse de l'azote ou des protéines dans l'écorce du tronc par rapport au bois (Titus & Kang 1982 ; Gansert & Sprick 1998).

A l'échelle sub-cellulaire, les réserves sont compartimentées dans des plastes ou des vacuoles, ce qui présente un double avantage. La compartimentation, d'une part, protège les substances stockées de la dégradation qu'elles pourraient subir dans le cytoplasme (Chapin *et al.* 1990), et d'autre part, permet de maintenir la force de puits nécessaire à l'accumulation de réserves de façon importante (Tromp 1983). En particulier, les protéines sont stockées dans des vacuoles, nommées corps protéiques ou corpuscules protéiques (Wetzel & Greenwood 1991 ; Stepien 1992 ; Sauter & van Cleve 1994), dont le contenu présente un aspect homogène ou réticulé, probablement en raison de la nature biochimique des protéines présentes (Stepien *et al.* 1991).

Figure 3 : exemple de variations saisonnières des concentrations en réserves glucidiques (amidon (A) et sucres totaux (B)) et azotées (protéines (C)) dans le bois de rameaux chez *Salix caprea* L. (D'après Sauter & Wellenkamp, 1998).



5. VARIATIONS DE LA CONCENTRATION EN RESERVES AU COURS DE L'ANNEE

Malgré la survenue aléatoire au cours de l'année d'événements accidentels impliquant une mobilisation des composés de réserve, à l'échelle annuelle, chez les arbres des régions tempérées, une rythmicité saisonnière se dégage du suivi des concentrations en réserves. Bien que la même évolution globale soit observée pour tous les types de composés de réserve, une observation plus minutieuse révèle des différences remarquables entre les réserves carbonées et azotées (Tromp 1983), qu'il convient donc d'étudier séparément (Figure 3).

5.1. Les Réserves Carbonées

Au cours d'une étude comparative sur 10 espèces d'arbres, aussi bien feuillues que résineuses, Hoch *et al.* (2003) ont observé que, à toutes les dates, les concentrations en amidon dans le tronc sont significativement plus élevées que celles des sucres solubles, mis à part quelques exceptions comme *Larix* et *Pinus* où elles sont équivalentes et que, ainsi, les variations saisonnières des réserves carbonées suivent celles de l'amidon.

Chez les feuillus, les teneurs en amidon suivent un cycle annuel en 4 phases, atteignant à 2 reprises des valeurs maximales, à savoir, à la fin de l'automne et à la fin de l'hiver (Kajji 1992 ; Lacoïnte *et al.* 1994), ces évolutions étant souvent plus marquées dans les parties aériennes que souterraines (Tromp 1983, Kajji 1992). Ces 2 pics sont suivis de 2 périodes de remobilisation intense et de conversion de l'amidon en sucres solubles (Kajji 1992 ; Lacoïnte *et al.* 1994). En général, la concentration en sucres solubles est forte en hiver et faible en été (Stassen *et al.* 1981a ; Fischer & Höll 1992 ; Sauter & Wellenkamp 1998) et, avec l'exception du saccharose, l'évolution saisonnière des sucres solubles est corrélée à celle de la température (Fischer & Höll 1991). De façon grossière, on peut estimer que les concentrations en sucres solubles et en amidon ont une évolution inverse (Lacoïnte *et al.* 1994 ; Schaberg *et al.* 2000).

Les paragraphes suivants présentent ces diverses phases de façon plus détaillée.

- **Hiver**

Chez la plupart des arbres, parallèlement à la chute des températures, l'amidon est dégradé pour atteindre une concentration minimale au cours de l'hiver. Cette diminution peut débuter dès le jaunissement des feuilles et se poursuivre après la sénescence (Sauter & Wellenkamp 1998). La température a un effet direct sur la β -amylase, enzyme responsable de la dégradation de l'amidon, qui est activée après 3 jours passés entre 3 et 5°C (Nielsen *et al.* 1997 cités dans Barbaroux 2002). Cette dégradation de l'amidon permet la synthèse de divers sucres solubles dont la concentration peut augmenter dans des proportions considérables. Par exemple, Sauter et Kloth (1987, cités dans Kajji 1992) ont mesuré chez le peuplier, du mois de novembre au mois de janvier, une augmentation atteignant un facteur 20 pour le saccharose, un facteur 10 pour le raffinose et un facteur 2 pour le stachyose, parallèlement à une diminution de 65% de la quantité d'amidon. Par contre, les concentrations en glucose et fructose restaient stables et celle du maltose diminuait très sévèrement. De telles constatations

ont également été faites chez le chêne et le hêtre : Barbaroux (2002) note pendant l'hiver chez ces espèces qu'une forte diminution des teneurs en amidon, accompagnée d'une légère augmentation des teneurs en sucres solubles, se manifeste dans le tronc et les fines branches alors que ces teneurs restent stables dans les racines.

- **Printemps**

A la fin de l'hiver, juste avant le débourrement, un pic d'amidon est souvent observé chez de nombreuses espèces non caducifoliées. La concentration en amidon peut être plus que triplée par rapport à celle du mois de novembre dans les feuilles de *Quercus suber* L. et, si la concentration en sucres solubles augmente également pendant cette période, elle augmente moins fortement que celle de l'amidon puisque le rapport amidon/TNC est quasiment doublé (Cerasoli 2002). De même, chez *Pinus sylvestris* L., en l'espace d'un mois, la concentration en amidon est multipliée environ par 5 dans les aiguilles et le tronc mais, chez cette espèce, les sucres solubles diminuent légèrement dans le tronc et les aiguilles, à la seule exception du saccharose qui augmente très fortement dans les aiguilles (Fischer & Höll 1991 et 1992).

Ce pic d'amidon dans les organes a également été rapporté pour les espèces décidues, comme le pommier (Hansen & Grauslund 1973), le peuplier (Sauter & van Cleve 1994), le saule (Sauter & Wellenkamp 1998), le hêtre (Gansert & Sprick 1998) ou le chêne (Barbaroux 2002). Cependant, chez un même individu, ce pic d'amidon est plus ou moins distinct selon l'année (Sauter & Wellenkamp 1998) et peut ne se produire que dans certains organes (Barbaroux 2002).

Ce pic d'amidon au printemps peut avoir plusieurs origines. D'une part, les espèces sempervirentes, contrairement aux espèces feuillues, conservent un appareil photosynthétique intact dans leur feuillage pendant l'hiver. Ainsi, avec l'augmentation de la température diurne au printemps, la photosynthèse devient apparente, bien avant le début de la croissance des nouvelles pousses et des racines (Fischer & Höll 1991 et 1992). Dans ces conditions, la faible respiration liée aux faibles températures nocturnes couplée à l'absence de puits de C très actifs (nouvelles aiguilles, croissance radiale, ...), fait que le C acquis s'accumule sous forme de composés glucidiques (Fischer & Höll 1991 et 1992). Fischer & Höll (1991) proposent un autre mécanisme rendant possible l'augmentation de la concentration des glucides en l'absence de photosynthèse. Pendant l'hiver, les centres réactionnels des photosystèmes I sont actifs et permettent la phosphorylation cyclique et la production d'ATP (Tsel'niker & Chetverikov 1988 cités dans Fischer & Höll 1991). Grâce à l'ATP formé, le CO₂ fixé par la PEPcase, ou recyclé à partir de composés riches en C comme les fructanes ou les hémicelluloses, pourrait être transformé en sucres solubles et amidon. Par ailleurs, le pic d'amidon observé avant le débourrement peut également être issu de la reconstitution du stock de réserves amylicées à partir des sucres solubles (Hansen & Grauslund 1973), par un effet de la température sur le cycle synthèse-dégradation de l'amidon. Cette synthèse d'amidon serait induite par une désactivation de la β -amylase pour des températures supérieures à 5°C (Sauter & Ambrosius 1986, Sauter 1988 et Nielsen *et al.* 1997 cités dans Barbaroux 2002) et par une activation des enzymes responsables de sa synthèse.

- **Débourrement**

Lors de la période de débourrement, une importante diminution de la concentration en réserves C est observée dans les organes pérennes chez les arbres, diminution qui permet

d'assurer la forte demande en C nécessaire à la croissance des nouveaux tissus. A cette période, la concentration en amidon atteint à nouveau un minimum.

Ainsi par exemple, durant la croissance des nouveaux rameaux, la concentration en amidon diminue de plus de moitié dans les aiguilles de 1 an chez *Pinus sylvestris* L. (Fischer & Höll 1991). Chez le peuplier (*Populus x canadensis*), Witt & Sauter (1994) ont montré que dans les rameaux de 4 ans, l'amidon est remobilisé dans sa quasi-totalité en l'espace d'une semaine parallèlement au débourrement. Au cours de cette période, les concentrations en glucose, fructose et saccharose présentent un léger pic, puis elles diminuent, ainsi que la concentration en maltose, quelques jours après celle de l'amidon. De même, dans les rameaux de *Salix caprea* L., l'amidon est presque entièrement remobilisé au cours du débourrement et de la croissance des nouvelles feuilles (Sauter & Wellenkamp 1998). Dans cette espèce, la quantité de sucres solubles remobilisés est plus importante que celle de l'amidon.

Cependant, pour arriver à une meilleure compréhension de la gestion des réserves à l'échelle de l'arbre, il est nécessaire d'étudier tous les organes d'un arbre, et non un seul. Ainsi, d'après Barbaroux (2002), chez le chêne, la mobilisation de l'amidon concerne toutes les parties de l'arbre. Elle a lieu dès le début du débourrement (fin avril) et se poursuit pendant 1 mois (début juin), au terme duquel un point minimum de réserves glucidiques est atteint, sans toutefois que l'amidon soit épuisé dans les tissus. En effet, durant cette phase de remobilisation, la concentration en amidon passe d'une valeur maximale située autour de 4% d'amidon dans la matière sèche, à une concentration de 2 à 3%. Quant aux concentrations en glucose, fructose et saccharose, elles varient très peu au cours de cette période. Dans cette même étude, Barbaroux (2002) montre que le hêtre au printemps a un comportement très différent du chêne : dans les fines branches, les concentrations en amidon et en sucres solubles diminuent, elles restent inchangées dans les racines et, dans le tronc, la concentration en amidon augmente et la concentration en sucres solubles diminue.

Cependant, dans le cas d'espèces sempervirentes, la diminution de la concentration en amidon observée dans les organes pérennes peut être moins le résultat de la remobilisation des réserves que de la diminution du flux des photosynthétats qui leur est allouée alors que la force de puits de la nouvelle pousse augmente (Cerasoli 2002).

- **Remplissage des réserves**

Le stockage des réserves intervient tôt dans la saison de végétation. Dès la fin de l'expansion foliaire, les réserves d'amidon commencent à se reconstituer (Gansert & Sprick 1998). Sauter et Wellekamp (1998) ont montré que l'amidon s'accumule dans les rameaux de saule dès que les nouvelles pousses ont fini leur croissance et cela jusqu'à la sénescence foliaire. Cependant, selon les organes et les espèces, elles ne se reconstituent ni au même rythme, ni au même moment, et atteignent leur maximum à des périodes différentes.

Barbaroux (2002) constate que le stockage de réserves glucidiques commence, tout d'abord dans les fines branches, au moment où l'indice foliaire est maximal, aussi bien chez le chêne que chez le hêtre. Le stockage dans le tronc et les racines débute environ 1 mois après chez le chêne. L'augmentation de la concentration en glucides se fait alors au même rythme dans les fines branches et les racines alors que l'augmentation observée dans le tronc est beaucoup plus faible tout au long de la saison. Chez le hêtre, le stockage de réserves glucidiques dans les racines se produit tardivement dans la saison, avec un doublement de la teneur en amidon entre septembre et octobre, et reste très faible dans le tronc tout au long de la saison de végétation. Chez les 2 espèces, le niveau maximal des réserves est atteint 1 mois avant dans les branches que dans le tronc et les racines.

Stassen *et al.* (1981a) trouvent des résultats assez similaires chez le pêcher. A l'échelle de l'arbre entier, le stockage d'amidon commence 9 semaines après le débourrement pour atteindre un maximum pendant la sénescence foliaire. Ces auteurs notent que l'accumulation d'amidon dans les organes se produit parallèlement à la croissance de la nouvelle pousse. Le stockage d'amidon débute tout d'abord dans les jeunes feuilles, 3 semaines après le débourrement, mais peu avant la fin de la croissance de la nouvelle pousse et jusqu'à la sénescence foliaire, ce stock foliaire d'amidon est progressivement consommé. L'accumulation d'amidon ne débute qu'ultérieurement dans les parties pérennes, 6 semaines après le débourrement dans l'écorce et les nouvelles tiges, puis 3 semaines plus tard dans le bois et les racines, il est relativement lent au début et s'intensifie vers la fin de la saison. La capacité de synthèse de l'amidon d'un organe peut être considérable. Dans le bois de peuplier, Sauter & van Cleve (1994) ont mesuré une vitesse maximale journalière de dépôt de l'amidon de 0,24 à 0,42 mg/g matière sèche, mais ils estiment que dans les cellules parenchymateuses, cette vitesse peut-être multipliée par un facteur 10 à 12. Stassen *et al.* (1981a) observent chez le pêcher que le stock maximal d'amidon est atteint au début de la sénescence foliaire pour l'écorce et les nouvelles tiges, à la fin de la sénescence foliaire pour le tronc et 3 semaines après pour les racines. Chez cet arbre, la forte accumulation d'amidon observée pendant la sénescence foliaire dans le tronc et surtout les racines, proviendrait d'une forte remobilisation de l'amidon contenu dans les nouvelles tiges et l'écorce, dont le stock diminue de moitié durant cette période, ainsi que de la participation des photosynthétats en provenance des feuilles.

Il semble, d'après les exemples précédents, que chaque organe suive une dynamique qui lui est propre quant au stockage des réserves glucidiques et même que simultanément, certains organes peuvent stocker des glucides alors que d'autres en déstockent. Il semble toutefois que le stockage de réserves glucidiques suive une logique basipète, en commençant d'abord dans les parties aériennes, puis dans les parties souterraines. Sur un plan horizontal, le stockage et le déstockage des composés de réserve débutent à partir de la zone cambiale, vers l'intérieur et l'extérieur du tronc (Fischer & Höll 1992).

5.2. Les Réserves Azotées

L'évolution des réserves azotées au cours de l'année obéit à un profil plus simple que celui des réserves carbonées et se caractérise par une phase de stockage à l'automne suivie d'une phase de remobilisation importante au printemps pour la croissance de la nouvelle pousse (Titus & Kang 1982) (**figure 3**).

• Printemps

Une très forte remobilisation des composés azotés stockés dans les parties pérennes des arbres est observée au printemps chez de nombreuses espèces décidues ou sempervirentes (Millard 1994). La remobilisation de l'azote est très importante à l'échelle de l'arbre puisque certains auteurs estiment qu'elle peut être totale (Millard 1993 et 1996), au moins dans certains organes comme par exemple les rameaux (Sauter & van Cleve 1994 sur peuplier ; Sauter & Wellenkamp 1998 sur saule).

De nombreux travaux portent sur les protéines, beaucoup moins sur les acides aminés. L'importance relative de ces 2 types de composés lors de la remobilisation printanière n'est

pas complètement élucidée à l'heure actuelle, mais il semble toutefois apparaître que celle-ci pourrait dépendre de l'espèce mais également de l'organe et de la période considérés. Chez le pêcher, l'azote remobilisé au printemps pour la reprise de croissance provient majoritairement (55%) de la fraction non protéique qui est probablement constituée d'acides aminés (Gomez & Faurobert 2002). Chez *Quercus suber*, la diminution du rapport de l'azote protéique sur l'azote total observée durant la phase de croissance la plus intense, indique au contraire une mobilisation préférentielle des protéines à cette période (Cerasoli 2002). De son côté, Tromp (1983) montre que l'azote remobilisé au printemps dans les racines de pommier âgé de 1 an, provient quasi-exclusivement de la fraction non protéique, constituée principalement d'arginine (60 à 70% en fin d'hiver), alors que la fraction protéique n'intervient que très peu. Cependant, suite à l'étude des parties aériennes chez cette même espèce, Tromp (1970 cité dans Titus & Kang 1982) précise que l'azote nécessaire au début du développement foliaire provient de l'hydrolyse des protéines de l'écorce. Par ailleurs, d'après Kang *et al.* (1981 cités dans Titus & Kang 1982), les acides aminés aussi bien que les protéines seraient remobilisés au printemps mais à de moments différents : la forte demande en N dans les tissus en croissance serait comblée dans un premier temps par la mobilisation d'acides aminés présents dans les tissus dormants, puis par la suite, l'hydrolyse des protéines prendrait de plus en plus d'importance dans la fourniture d'azote aux nouveaux tissus.

La remobilisation de l'azote est en général observée depuis le début du débourrement et se poursuit jusqu'à atteindre un minimum à la fin de la croissance de la nouvelle pousse (Sauter & Wellenkamp 1998). Tromp (1970 cité dans Titus & Kang 1982) estime que le début de l'hydrolyse protéique marque la fin de la période de dormance hivernale. La température à laquelle les arbres se trouvent lors de leur reprise de croissance déterminerait le début et la vitesse de l'hydrolyse protéique (O'Kennedy & Titus 1979). Cependant, il a été observé chez certaines espèces comme *Picea sitchensis* que la remobilisation de l'azote peut débuter avant le débourrement (Millard 1994).

- **Automne**

De nombreux travaux font état d'une augmentation de la concentration en N ou en composés azotés dans les parties pérennes des arbres à l'automne (Tromp 1983 ; Sauter & van Cleve 1994 ; Sauter & Wellenkamp 1998 ; Bollmark *et al.* 1999). La quantité d'azote gagnée par les organes pérennes correspond à celle perdue par les feuilles (Bollmark *et al.* 1999) ce qui suggère l'existence d'un recyclage de l'azote foliaire vers les parties pérennes, qui a été largement confirmé, entre autres, par des expériences de marquage au ¹⁵N (Titus 1989 ; Chapin *et al.* 1990 ; Dong *et al.* 2002). Ainsi, les arbres possèdent un système de recyclage permettant de conserver l'azote qui, le cas échéant, serait perdu lors de l'abscission foliaire (Titus & Kang 1982).

Cette remobilisation de l'azote foliaire débute dès le jaunissement des feuilles, c'est-à-dire dès le début de la sénescence foliaire et se poursuit jusqu'à leur chute (Sauter & van Cleve 1994 ; Sauter & Wellenkamp 1998 ; Bollmark *et al.* 1999). Mais, pour certains auteurs, la diminution de l'azote foliaire pourrait débuter dès la fin de la croissance active de la pousse (Thomas 1927, Murneek & Logan 1932 et Taylor 1967 cités dans Titus & Kang 1982 ; Dickson 1989). Chez les espèces sempervirentes, l'azote est remobilisé à partir des feuilles âgées non seulement à l'occasion de leur sénescence (Nambiar & Fife 1987) mais, également durant toute leur vie, contrairement aux espèces décidues (Wendler *et al.* 1995). D'après Bollmark *et al.* (1999), l'accumulation tardive des réserves azotées s'expliquerait par le fait que les

conditions favorables à cette accumulation ne sont réunies que lors de la sénescence foliaire : le déclin de la force de puits pour la croissance des organes et la production d'azote exportable vers les parties pérennes par le catabolisme foliaire.

Au cours de la période de sénescence foliaire, autour de 10% de la biomasse foliaire est perdue soit par respiration, soit par recyclage des composés vers les parties pérennes (Fries 1952 ; Chapin & Kedrowski 1983). Cette perte correspond pour la plus grande part au recyclage des composés azotés (Fries 1952) car le recyclage des composés glucidiques ne compte que pour une faible part dans les réserves glucidiques accumulées dans l'arbre (Chapin *et al.* 1990). Les quantités d'azote recyclées sont très importantes : entre 45 et 80% de l'azote des feuilles est recyclé à l'automne (Chapin & Kedrowski 1983 ; Cote & Dawson 1986 ; Tyrrell & Boerner 1987 ; Pereira *et al.* 1988 ; Millard & Proe 1994). Shim *et al.* (1972) estiment que la remobilisation automnale de l'azote foliaire vers les parties ligneuse de l'arbre permet de sauvegarder jusqu'aux 2/3 de son contenu en azote. La quantité d'azote remobilisée est inversement proportionnelle à la quantité d'azote déjà accumulée dans les tissus pérennes (Millard & Thomson 1989), ce qui suggère qu'elle dépend plus de l'état nutritionnel de l'arbre que de la concentration en azote foliaire.

Les constituant majeurs recyclés sont les acides aminés et les protéines (Titus & Kang 1982). La concentration en protéines dans les feuilles diminue d'environ 50% durant la sénescence (Spencer & Titus 1972 ; Shim *et al.* 1972 ; Kang & Titus 1980) et plus de 90% de cette diminution serait expliquée par la dégradation de la rubisco (Kang & Titus 1980), qui constitue donc une source majeure pour le stockage d'azote dans les organes pérennes. Cependant, la synthèse protéique est maintenue durant la sénescence foliaire et le déclin des protéines observé résulterait de la différence entre l'activité de synthèse et de protéolyse qui, elle, augmente (Spencer & Titus 1972 ; Titus & Kang 1982). Certains résultats indiquent que l'initiation et la progression de la sénescence ne seraient pas liées à une simple baisse de la capacité de synthèse protéique mais impliqueraient plutôt des changements dans la nature et la quantité de protéines synthétisées (Titus & Kang 1982). Les acides aminés, quant à eux, seraient remobilisés dans les étapes précoces de la sénescence foliaire puis, juste avant l'abscission foliaire, une très forte augmentation de la concentration en acides aminés dans les tissus foliaires est observée, en relation avec la forte activité protéolytique de ces tissus (Titus & Kang 1982).

6. UTILISATION DES RESERVES POUR LA CROISSANCE PRINTANIÈRE

6.1. Devenir des Réserves remobilisées au printemps et importance relative des Assimilats Courants par rapport aux Réserves

Diverses études ont montré que les assimilats courants sont utilisés préférentiellement aux réserves lorsque les 2 sources sont accessibles aux plantes (Greenway & Gunn 1966 ; Taylor 1967 ; Tromp 1970 ; White 1973), aussi la remobilisation des réserves au printemps s'explique-t-elle par l'indisponibilité des assimilats courants à cette époque. Puis, dès que les assimilats courants apparaissent, la mobilisation des réserves cesse progressivement. Certains auteurs ont qualifié cette transition de « passage à l'autotrophie » bien que ce terme soit un peu abusif par rapport à sa définition précise.

- **Réserves glucidiques**

Chez les feuillus, du fait de l'absence de feuilles au moment du débourrement, il paraît évident que les besoins en C à cette période ne peuvent être comblés que par les réserves. Bory et Clair-Maczulajtys (1988b) ont montré sur *Ailanthus glandulosa* qu'il existe une corrélation entre l'incapacité d'un bourgeon à s'ouvrir et le maintien de teneurs élevées en amidon dans l'axe qui le porte. A l'inverse, l'acquisition de l'aptitude au débourrement est marquée par une disparition de l'amidon et une augmentation des sucres solubles dans l'axe porteur. Des études au ^{14}C ont montré que seul le développement des 5 à 6 premières feuilles chez le pommier est dépendant des réserves. Par la suite, les pousses deviennent auto-suffisantes grâce à la photosynthèse (Hansen 1971 ; Hansen & Grauslund 1973). Hoch *et al.* (2003) confirment que, pour diverses espèces décidues, les nouvelles pousses deviennent indépendantes de leurs réserves C à un stade très précoce.

Maillard *et al.* (1994) ont étudié de façon détaillée l'acquisition de l'autotrophie par des semis de noyer. Après une phase de développement totalement tributaire des réserves, 7 à 9 jours après l'apparition des premières feuilles, une activité photosynthétique est détectée. Cependant, dans un premier temps, les assimilats courants sont essentiellement respirés et ce n'est que 10 jours après le début de la photosynthèse que les photoassimilats commencent à être exportés hors des feuilles et incorporés dans la biomasse. Dès lors, la contribution des réserves au développement des plantules diminue régulièrement au profit des assimilats courants, jusqu'à l'acquisition de l'autotrophie totale une vingtaine de jours plus tard.

La croissance des nouvelles racines dépend plus fortement (Teng *et al.* 1999a, b ; Matsuura *et al.* 2001), et plus longtemps (Maillard *et al.* 1994) des réserves C que les parties aériennes. Ce résultat est peut-être à mettre en rapport avec le fait que les assimilats courants sont utilisés principalement pour la croissance des nouveaux organes aériens, peu sont alloués aux organes pérennes (Teng *et al.* 1999b).

Contrairement aux espèces décidues, chez les espèces sempervirentes, la remobilisation du C pour le développement de la nouvelle pousse peut avoir une importance mineure du fait de la présence d'un appareil photosynthétique intact dans les aiguilles des années précédentes. Ainsi, chez *Pinus sylvestris*, Hansen & Beck (1990 et 1994) et Hansen *et al.* (1996) ont-ils montré que la fourniture de C pour le débourrement et la croissance de la pousse est assurée exclusivement par les assimilats courants fournis par les aiguilles de 1 an. Le C stocké à l'automne dans le tronc et les racines, quant à lui, est utilisé pour la formation du bois initial et du phloème correspondant dans le tronc et les racines (Hansen & Beck 1990).

L'étude du devenir des composés remobilisés indique que les réserves glucidiques sont faiblement incorporées dans la structure des nouveaux organes, mais plutôt impliquées dans les processus respiratoires (Hansen & Grauslund 1973 ; Louahlia *et al.* 1998 ; Teng *et al.* 1999b). Hansen & Grauslund (1973) estiment chez le pommier que plus de 75% des réserves remobilisées sont utilisées pour la respiration lors de la formation des nouvelles feuilles, fleurs, et tiges, au printemps. Cependant, Lacoïnte *et al.* (1993) suggèrent que ce résultat pourrait en réalité ne refléter qu'une utilisation différente des réserves amyliques selon la date à laquelle elles sont synthétisées. Selon ces auteurs, les réserves formées en automne sont utilisées aux toutes premières phases du débourrement et utilisées essentiellement pour la respiration. Celles formées en été, mobilisées moins massivement, sont utilisées essentiellement comme matériau de construction des nouveaux tissus.

- **Réserves azotées**

Contrairement au C, la présence d'un système racinaire intact permet en théorie l'acquisition d'azote au moment du débourrement. Certains travaux ont montré que l'azote nouvellement assimilé pouvait constituer la source principale d'azote pour la croissance des nouveaux organes au printemps (Grasmanis & Nicholas 1971 ; Tromp & Ovaas 1976 et 1979). Une température hivernale élevée permettant une activité racinaire non négligeable pourrait expliquer de telles observations (Grasmanis & Nicholas 1971 ; Chapin *et al.* 1990).

Cependant, habituellement, le débourrement a lieu à une période où les conditions d'acquisition de l'azote ne sont pas optimales (Titus & Kang 1982 ; Chapin *et al.* 1990 ; Policarpo *et al.* 2002) et alors que la fourniture de squelettes carbonés est impossible du fait de l'absence de photosynthèse (Titus & Kang 1982). De ce fait, en général, l'azote nécessaire à la croissance des nouveaux tissus au printemps provient essentiellement des réserves azotées stockées dans les organes pérennes (Harley *et al.* 1958 ; Tromp 1983 ; Deng *et al.* 1989a ; Glavac & Jochheim 1993 ; Policarpo *et al.* 2002), au moins dans les premières phases de la croissance (Millard 1994 et Millard *et al.* 1998). Ainsi, par exemple, l'azote provenant de l'assimilation courante n'apparaît que 12 jours après le débourrement dans les feuilles de *Betula pendula* Roth. (Millard *et al.* 1998).

Les facteurs responsables de la transition entre la phase d'utilisation des réserves et de l'azote courant ne sont pas élucidés à l'heure actuelle. Néanmoins, Deng *et al.* (1989b sur *Juglans regia* L.) estiment que cette transition résulterait plutôt d'une diminution prononcée de la disponibilité en réserves N que d'une augmentation rapide de l'assimilation de l'azote courant.

Le degré de dépendance des nouveaux organes vis-à-vis de l'azote de réserve semble varier de façon importante d'une espèce à l'autre. L'azote remobilisé représente un tiers de l'azote de la feuille pleinement développée chez *Acer pseudoplatanus* (Millard 1994) alors que, chez *Prunus persica*, selon la variété considérée, 72 à 80% de l'azote de la nouvelle croissance dérive des réserves (Policarpo *et al.* 2002).

6.2. Relations entre le Stock de Réserves et l'importance de la Nouvelle Croissance printanière

- **Réserves glucidiques**

Canham *et al.* (1999) ont pu modifier l'importance du stock de réserves C chez diverses espèces feuillues par le biais de défoliations plus ou moins intenses. Ces auteurs ont ainsi montré l'existence d'une relation entre le niveau de stockage de réserves C présentes à la fin de la saison de croissance, et le taux de survie de ces jeunes plants l'année suivante. De même, Kandiah (1971) a montré que le niveau de réserves présentes dans les racines de plants de théier détermine la croissance des nouveaux organes après une taille.

Cependant, chez diverses espèces pérennes des régions désertiques, aucune relation claire n'a pu être établie entre la quantité de sucres stockés et la capacité de reprise de croissance après abrutissement (Trlica & Cook 1971 cités dans Chapin *et al.* 1990). De même, chez le pommier, l'importance de la nouvelle croissance n'est pas déterminée par le niveau initial de réserves carbonées (Priestley 1963 cité dans Tromp 1983).

Par conséquent, à l'heure actuelle, devant ces résultats contradictoires, l'importance exacte des réserves C dans le déterminisme de la croissance printanière est encore mal appréciée.

- **Réserves azotées**

Tout au contraire, dans le cas de l'azote, de nombreuses études ont montré l'existence d'une forte corrélation entre la quantité d'azote stocké dans les plants et l'importance de la croissance de la nouvelle pousse au printemps suivant (Harley *et al.* 1958 ; Taylor 1967, Taylor & May 1967 et Taylor *et al.* 1975 cités dans Titus & Kang 1982 ; Tagliavini *et al.* 1998 ; Cheng & Fuchigami 2002). D'autre part, la quantité de réserves N détermine également la durée de la période pendant laquelle le plant continue à croître sans N courant (Hill-Cottingham & Bollard 1965 cité dans Titus & Kang 1982).

Par ailleurs, il a été montré que chez le pommier et l'érable, la diminution des réserves N est indépendante de la fourniture courante d'azote (Oland 1959 et Tromp 1970 cités dans Tromp 1983 ; Millard & Neilsen 1989, Millard & Thomson 1989 et Millard & Proe 1991 cités dans Bollmark *et al.* 1999).

Ces résultats pourraient être liés au fait que les réserves N sont remobilisées quasiment en totalité (Millard 1993 et 1996) et ainsi détermineraient le potentiel de croissance de la nouvelle pousse.

Une plus forte fertilisation azotée tend à augmenter la concentration en N dans les pousses printanières. Ainsi, il semble que le niveau de fertilisation N affecte aussi bien l'accumulation et que la remobilisation des réserves N (Bollmark *et al.* 1999).

OBJECTIFS PRECIS DE L'ETUDE

Dans le cadre de ce travail, nous nous proposons d'étudier, dans une première partie, chez le chêne pédonculé, les effets combinés de la [CO₂] et du niveau de fertilisation N sur l'allocation du C et N à l'échelle de l'ensemble du plant. L'originalité de notre démarche réside, d'une part, en la prise en compte de l'effet des traitements aussi bien sur le stockage de réserves C et que de réserves N, alors que la plupart des études ne se concentrent que sur un des 2 types de composés et, d'autre part, en l'étude de l'impact potentiel des traitements sur le long terme en considérant leurs conséquences pour la croissance et le fonctionnement des nouveaux organes formés au printemps

Dans une seconde partie, nous nous intéresserons aux effets de la [CO₂] sur la croissance, la structure et la composition biochimique du bois chez le chêne pédonculé et le hêtre.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL ET METHODES

GENERALITES SUR LES ESPECES ETUDIEES

La forêt en France occupe environ un quart du territoire et est constituée majoritairement d'espèces feuillues, parmi lesquelles dominant tout d'abord les chênes puis le hêtre. Le hêtre (*Fagus sylvatica* L.) occupe 15% de la surface couverte par des feuillus, et avec 27% de la surface couverte par les feuillus, le chêne pédonculé (*Quercus robur* L.) est la principale espèce de chênes cultivés en France (Lanier, 1994).

Ces deux espèces, dont les individus peuvent atteindre 40 m de hauteur, sont gérées en futaie régulière ou irrégulière, pure ou en mélange. Ce sont toutes deux des espèces caducifoliées, de la famille des Fagacées (Lanier, 1994), dont le débourrement a lieu en avril et la période de sénescence foliaire intervient vers la fin d'octobre. Bien qu'il existe une forte variabilité des dates de débourrement entre les 2 espèces au niveau national, en moyenne sur l'ensemble de territoire, le chêne pédonculé débourre 15 jours avant le hêtre (Differt, 2001).

Le chêne pédonculé est une espèce post-pionnière, mésophile à mésohygrophile, craignant les fortes sécheresses estivales, commune partout en plaine, sauf en région méditerranéenne, que l'on trouve jusqu'à 1300 m, de l'étage collinéen à la base de l'étage montagnard (Rameau *et al.*, 1989). Sa longévité potentielle est de 1000 ans. Il est exploité entre 180 et 250 ans pour un diamètre de 60 à 80 cm et produit annuellement 3 à 6 m³/ha (Barbaroux, 2002). Sa croissance végétative aérienne est qualifiée de rythmique, car elle consiste en une alternance de périodes de croissance active, où une unité de croissance (« flushs ») est mise en place, suivies de périodes de repos apparent pendant lesquelles les feuilles terminent leur développement (Lavarenne *et al.*, 1971). Deux à 3 vagues de croissance sont formées en conditions naturelles sur des arbres adultes (Bréda, 1994), alors que des semis en serre peuvent en produire jusqu'à 5 (Scuiller, 1990).

Le chêne pédonculé produit un bois à zone poreuse initiale, à aubier blanc jaunâtre et à duramen de couleur plus ou moins foncée, se travaillant facilement, utilisé dans l'ébénisterie, la menuiserie, les panneaux de fibres et de particules, la construction, la charpente, les merrains ... (Rameau *et al.*, 1989).

Le hêtre est une espèce sciaphile, mésoxérophile à mésophile, craignant l'hydromorphie, mais favorisée par une humidité atmosphérique élevée, commune en plaine dans la moitié nord de la France et en montagne dans la moitié sud, que l'on trouve jusqu'à 1700 m aux étages collinéen et montagnard (Rameau *et al.*, 1989). Sa longévité potentielle va de 150 à 300 ans. Il est exploité entre 80 et 150 ans pour un diamètre de 65-70 cm et produit annuellement 6 à 11 m³/ha (Barbaroux, 2002). En conditions naturelles, la croissance aérienne des jeunes hêtres présente 1 à 2 vagues de croissance, séparées par une période de repos de 1 à 4 semaines (Riedacker 1981).

Le hêtre produit un bois à pores diffus, sans duramen distinct, se travaillant facilement, et trouvant divers débouchés : menuiserie, ébénisterie, pâte à papier, instruments de musique,

Figure 4 : Photographie des jeunes plantules de chêne pédonculé cultivées dans les tunnels sous serre dans notre expérience.



panneaux de fibres et de particules, contre-plaqués ... Il constitue également un excellent bois de chauffage et un charbon très estimé (Rameau *et al.*, 1989).

Notre choix pour cette étude s'est donc tout naturellement porté sur ces 2 espèces, tout autant à cause de leur importance économique et que parce qu'elles offraient, parmi les feuillus, un modèle anatomique différent pour l'étude du bois (bois à zone poreuse et bois à pores diffus).

<p style="text-align: center;">PARTIE I : EFFETS INTERACTIFS DE LA CONCENTRATION EN CO₂ ATMOSPHERIQUE ET EN AZOTE DU SOL SUR LA GESTION DU C ET N CHEZ DES JEUNES PLANTS DE <i>QUERCUS ROBUR</i></p>
--

1. ORIGINE DES PLANTS ET CONDITIONS DE CROISSANCE

Quatre cent glands de chêne pédonculé (*Quercus robur* L.), récoltés en octobre 1995 en forêt de Heuilly sur Saône, NE France, ont été plantés au printemps (mai) sur de la vermiculite dans des pots en plastique de 5 l. Les pots ont été répartis dans 2 tunnels (15 m² de surface au sol, et 2,3 m de hauteur) sous serre et soumis aux conditions naturelles de photopériode (figure 4).

L'atmosphère dans les tunnels est séparée de celle de la serre au moyen d'un film transparent en polypropylène (50 µm d'épaisseur, 50% de rayonnement global transmis environ, PPFD < 1400 µmol m⁻² s⁻¹ (densité de flux de photons actifs pour la photosynthèse) permettant ainsi le contrôle de la concentration en CO₂ atmosphérique à l'intérieur des tunnels. La concentration en CO₂ atmosphérique a été continuellement mesurée par un analyseur de gaz à infrarouge (ADC 225 MK3, RU) et réajustée par un système de régulation automatique (Vivin 1995) autour du niveau ambiant dans un tunnel (A, pour Ambiant, 391 ± 8 µmol/mol d'air) et à un niveau élevé dans le second tunnel (E, pour Elevé, 702 ± 2 µmol/mol d'air) (figure 5).

Dans chaque tunnel, 2 ventilateurs sont responsables d'une sortie d'air, compensée par une entrée d'air de la serre, permettant l'évacuation de l'excès de vapeur d'eau provenant de la transpiration des plants le jour et l'excès de CO₂ provenant de la respiration de l'ensemble sol-plante la nuit. De plus, chaque tunnel est équipé d'un deshumidificateur d'air. La température et l'humidité relative de l'air (environ 70% le jour) des tunnels ont été continuellement mesurées par un psychromètre ventilé (Figure 5). Pendant l'hiver, les tunnels ont été maintenus hors gel.

Les plants ont été arrosés chaque jour à la capacité au champ avec une solution nutritive complète (Le Blévenec 1986 ; Maillard *et al.* 2001 ; composition donnée en **annexe 1**). Dans chaque tunnel, la moitié des plants a été arrosée avec une solution nutritive dont la concentration en N n'est pas limitante pour la croissance (N+ ; 6,1 mmol N/l) et l'autre moitié

Figure 5 : Moyennes mensuelles des paramètres climatiques ([CO₂], température, humidité relative) dans les tunnels sous serre durant toute la durée de l'expérimentation (mai à avril de l'année suivante).

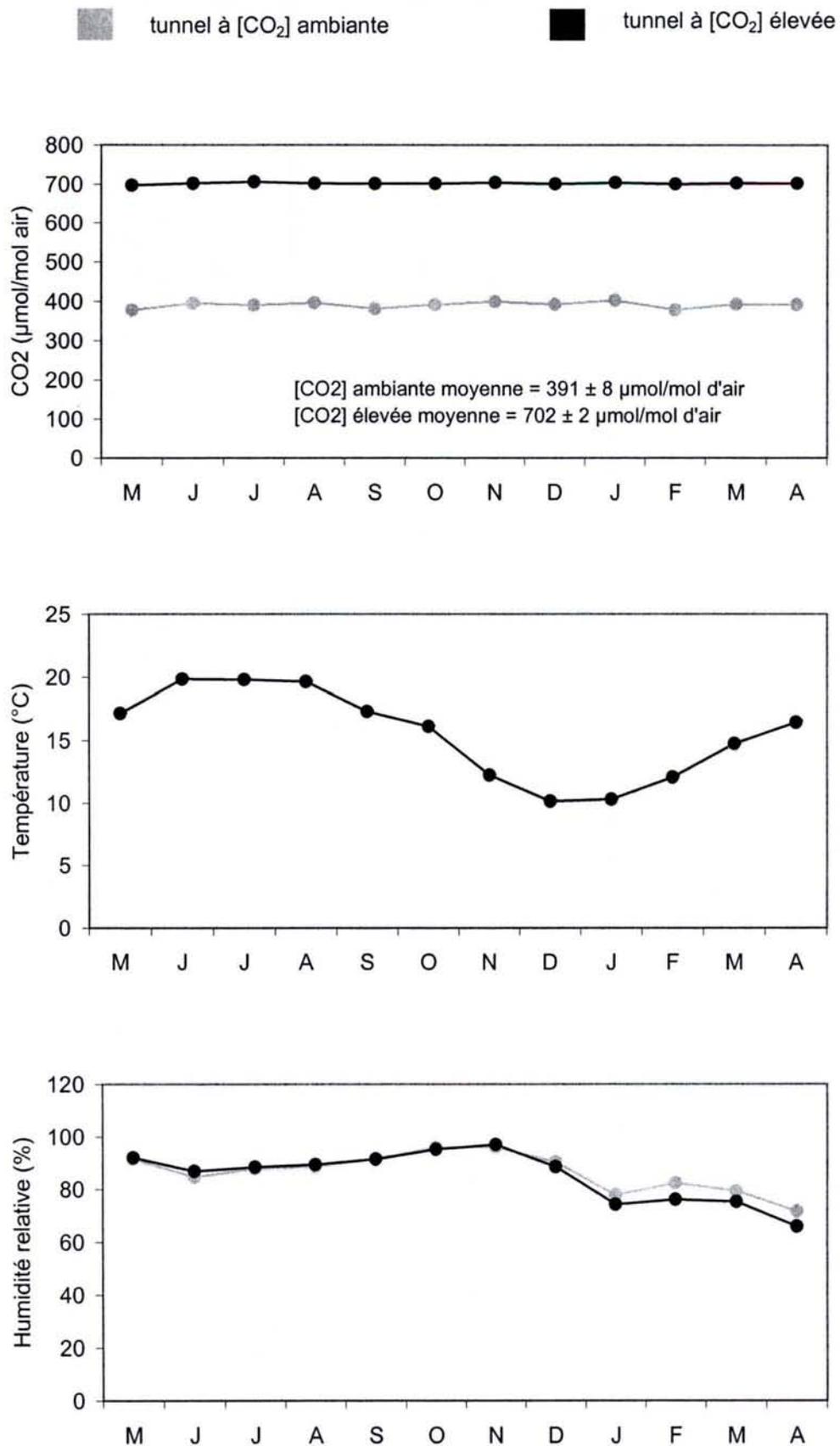
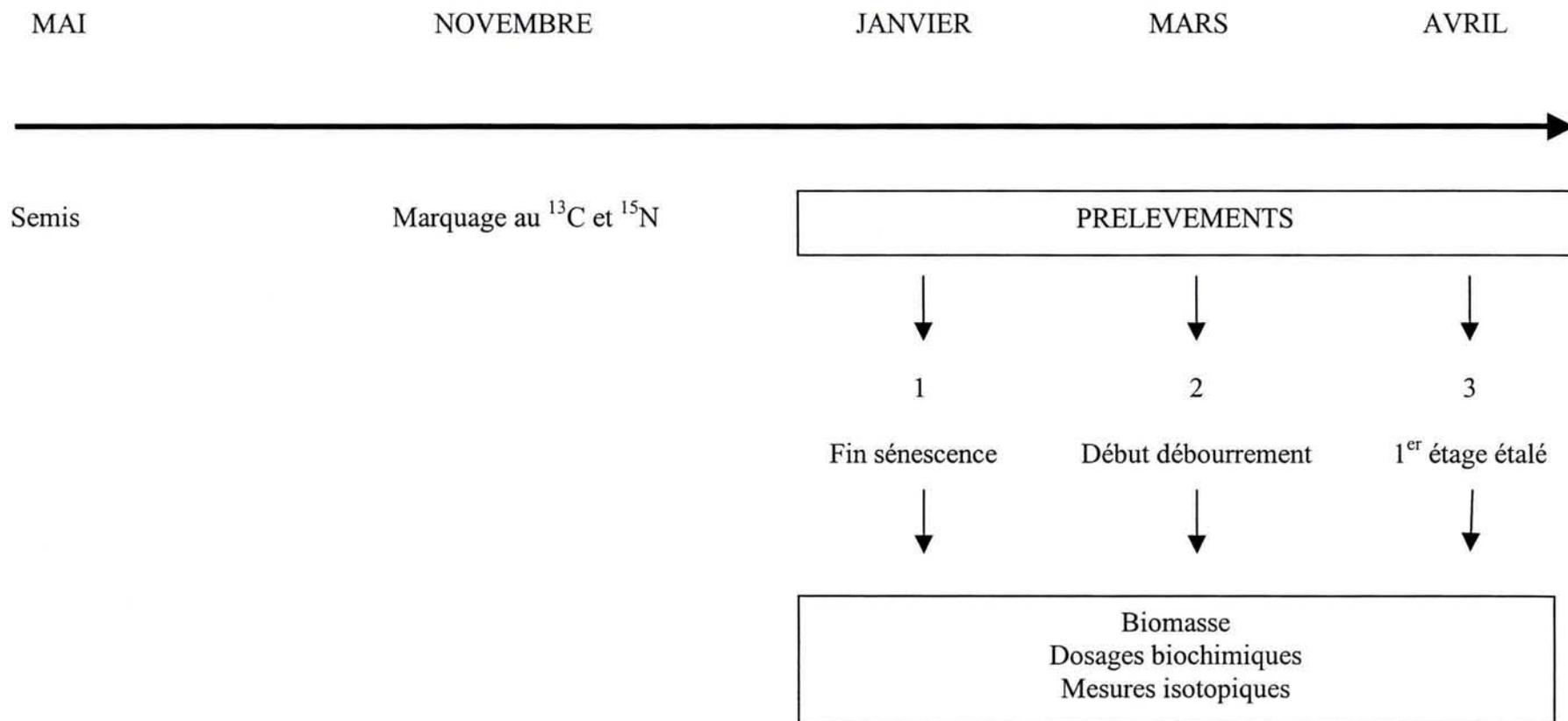


Figure 6 : Schéma du déroulement de l'expérience



avec une solution carencée en N contenant 10 fois moins d'azote que la première (N- ; 0,61 mmol N/l).

La combinaison des 2 concentrations en CO₂ et en azote, fournit 4 traitements différents appliqués aux plants : AN- ([CO₂] ambiante et N-), AN+ ([CO₂] ambiante et N+), EN- ([CO₂] élevée et N-), EN+ ([CO₂] élevée et N+).

Afin de supprimer tout biais dans les conditions de croissance, les plants ont été répartis en 8 blocs de 25 plants dans chaque tunnel (quatre blocs N+ et quatre blocs N- disposés de façon à alterner les conditions) (**figure 4**).

Les plants ont été cultivés dans ces conditions pendant toute leur première année de croissance et jusqu'à l'étalement des feuilles du premier étage de leur deuxième année.

En fin de période de croissance (décembre), les plants ont été rempotés dans des pots en plastique de 7 l sur de la vermiculite.

Durant toute la première saison de végétation, les bourgeons latéraux ont été supprimés, dans le but de simplifier l'architecture des plants (Maillard *et al.* 2001).

2. PRELEVEMENT DES PLANTS ET SUIVI PHENOLOGIQUE

Trois campagnes de prélèvement ont été menées à trois stades physiologiques différents (**figure 6**) :

(1) le premier prélèvement a été effectué pendant la phase de repos hivernal, au début du mois de janvier, quand les plants avaient perdu toutes leurs feuilles. Grâce à la mise en place préalable de filets, la litière de chaque plant a été récoltée ;

(2) le deuxième prélèvement a eu lieu au stade de gonflement des bourgeons hivernaux, c'est-à-dire au moment du début du débourrement, au début du mois de mars ;

(3) le dernier prélèvement a été effectué à la mi-avril, quand les plants avaient étalé le premier étage de croissance de leur deuxième année.

La mise en place de la nouvelle croissance a été suivie du 28 février (jour julien 59) au 8 avril (jour julien 98) en mesurant tous les deux à trois jours, la longueur de la tige principale.

A chacune des 3 dates de prélèvement, les racines fines (diamètre inférieur à 2 mm) ont été séparées des grosses racines (diamètre supérieur à 2 mm) et les unités de croissance sur les tiges ont été comptées. Pour le prélèvement du mois d'avril, les nouvelles tiges formées ont été séparées des nouvelles feuilles qu'elles portent.

Les fragments de plants ainsi obtenus ont été immédiatement congelés dans de l'azote liquide, lyophilisés (FTS systems Inc., Stone Ridge, New York, USA), puis pesés. Un sous-échantillon représentant environ 20% des feuilles a été prélevé sur chaque plant pour mesurer la surface (Delta-T Devices, Cambridge, Royaume Uni) par unité de masse foliaire (specific

leaf area, SLA, $\text{dm}^2 \text{g}^{-1}$). La surface foliaire totale a été évaluée à partir des masses foliaires totales. Les échantillons ont ensuite été broyés avec un broyeur à ruban (Cyclotec 1093 Sample Mill, Tecator, Höganäs, Suède), et avec un broyeur à bille (Mixer Mill, MM200, Retsch, Haan, Allemagne) pour les échantillons de masse $< 1 \text{ g}$.

3. MARQUAGES ET CALCULS ISOTOPIQUES

3.1. Rappels sur la composition isotopique de la matière

La matière qui nous environne est constituée d'éléments qui possèdent un ou plusieurs isotopes, sous forme stable ou radioactive. Des isotopes d'un élément donné correspondent à des atomes dont le noyau contient le même nombre de protons (et l'atome possède donc le même nombre d'électrons) mais un nombre de neutrons différents. Les isotopes légers (noyaux de plus faible masse atomique) sont très largement représentés par rapport aux isotopes lourds ou aux isotopes radioactifs (noyaux de plus forte masse atomique).

Tout organisme vivant, s'édifiant à partir des éléments qu'il trouve dans son milieu, aura donc une composition isotopique reflétant celle de ce milieu.

La composition isotopique d'un organisme, ou d'un de ses échantillons, rend compte de l'abondance relative des isotopes lourds par rapport aux isotopes légers qu'il contient. Cette abondance peut être exprimée de différentes façons. Le C est pris ici comme exemple, mais toutes les équations sont transposables à tous les autres éléments et à leurs isotopes :

(1) La composition isotopique d'un échantillon peut être exprimée par le rapport molaire de l'isotope lourd sur l'isotope léger. On utilise le terme **rapport isotopique (R)** :

$$R = {}^{13}\text{C} / {}^{12}\text{C}$$

(2) La répartition en isotopes d'un élément peut aussi être exprimé par le rapport molaire de l'isotope lourd sur le total de l'élément considéré. On utilise le terme **abondance isotopique (A)** :

$$A {}^{13}\text{C} = {}^{13}\text{C} / ({}^{12}\text{C} + {}^{13}\text{C})$$

(3) L'abondance isotopique est souvent exprimée sous la forme d'un pourcentage (**atom%** ou **A%**) :

$$\begin{aligned} A\% {}^{13}\text{C} &= A {}^{13}\text{C} \times 100 \\ &= {}^{13}\text{C} \times 100 / ({}^{12}\text{C} + {}^{13}\text{C}) \end{aligned}$$

(4) A l'issue d'un marquage isotopique (voir paragraphe 3.2), les plants marqués se caractérisent par un enrichissement (ou un appauvrissement) relatif en isotope lourd par rapport aux plants témoins, que l'on peut exprimer sous forme d'un pourcentage d'atomes lourds en excès (ou défaut) dans l'ensemble du plant ou dans les différents compartiments qui le composent. Pour un enrichissement en ${}^{13}\text{C}$ par exemple :

$$A\% \text{ }^{13}\text{C excès} = A\% \text{ }^{13}\text{C m} - A\% \text{ }^{13}\text{C t}$$

A% ¹³C m : abondance isotopique en ¹³C du plant ou du compartiment marqué

A% ¹³C t : abondance isotopique en ¹³C du plant ou du compartiment témoin

(5) Pour tenir compte de l'hétérogénéité de taille des différents compartiments, il est également possible d'exprimer la relation précédente par la quantité d'élément lourd incorporée en excès (ou en défaut) par rapport au témoin :

$$\text{Quantité }^{13}\text{C excès} = A\% \text{ }^{13}\text{C excès} \times \text{BM} \times [\text{C}]$$

BM : biomasse de l'échantillon

[C] : concentration en C de l'échantillon

Le calcul des excès isotopiques permet de savoir si l'élément marqué a été absorbé, en quelle quantité, et de suivre sa répartition dans les différents compartiments de la plante.

3.2. Principe d'un marquage et hypothèses de travail

Un marquage consiste à modifier la composition isotopique naturelle de la plante grâce à une source d'assimilats de composition isotopique différente de la composition naturelle.

En biologie végétale, les marquages les plus couramment appliqués sont les marquages au ¹³C, ou ¹⁴C, ¹⁵N et ¹⁸O. Nous nous focaliserons dans la suite sur le ¹³C et le ¹⁵N puisque ce sont les isotopes que nous avons utilisés au cours de ce travail.

Les marquages au ¹³C sont réalisés en plaçant les plants dans une enceinte, qui englobe tout, ou seulement une partie du plant, et dont l'atmosphère est enrichie ou appauvrie en ¹³CO₂ par rapport à la concentration naturelle. Lorsque la source de CO₂ est infinie, du fait de leurs propriétés physiques différentes, le ¹³CO₂ a une diffusion plus lente que le ¹²CO₂ à travers les stomates, le mésophylle et lors de la carboxylation primaire (Farquhar *et al.* 1982). Ce phénomène est appelé **fractionnement isotopique** ou **discrimination isotopique**. En système fermé tel celui que nous avons utilisé, ce phénomène de discrimination isotopique s'annule car la quasi intégralité du C est assimilée par la plante (Berry et Throughton 1974).

Les marquages au ¹⁵N sont réalisés en fournissant aux plants une solution nutritive contenant du ¹⁵NO₃⁻ ou du ¹⁵NH₄⁺, ou plus généralement un mélange des 2, à une concentration différente de la concentration naturelle. On admet généralement qu'il n'y a pas de discrimination isotopique lors de l'absorption du ¹⁵N (Mariotti *et al.* 1982).

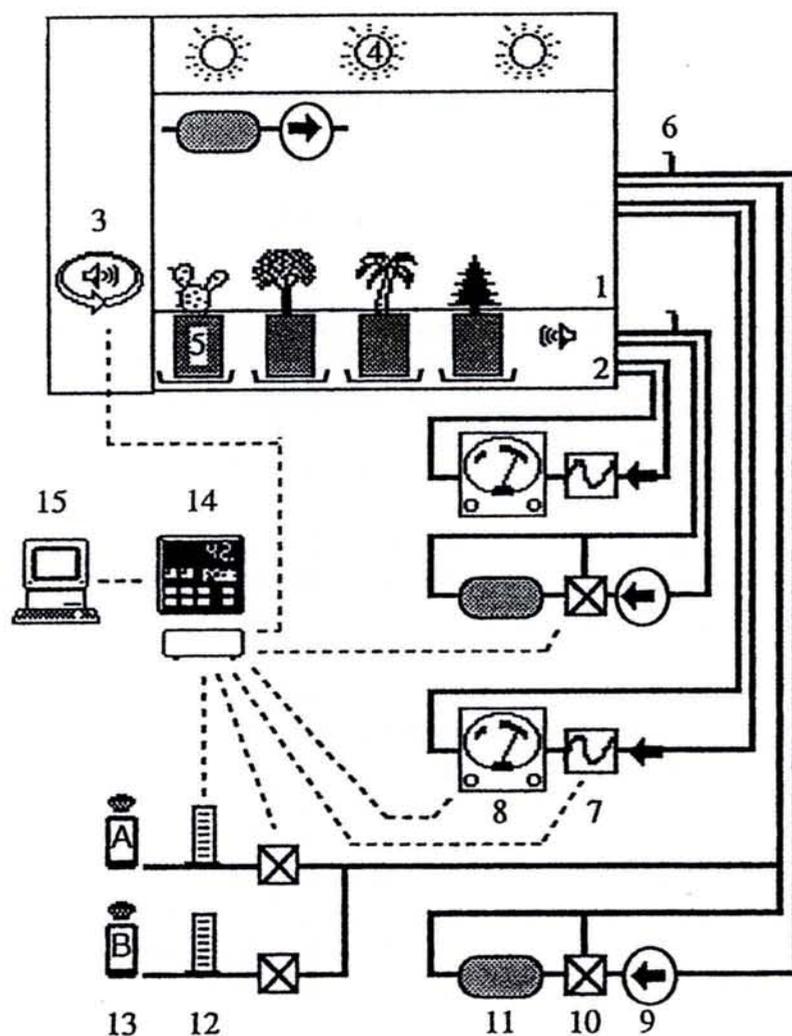
L'absence de discrimination isotopique lors d'un marquage a une conséquence fondamentale : la composition isotopique des assimilats acquis pendant le marquage est similaire à celle de l'atmosphère ou de la solution de marquage.

Ainsi, après le marquage, la composition isotopique de la plante marquée se situe entre celle de la plante avant marquage et celle de la source de marquage, avec :

$$A\% \text{ m} = Y \times (A\% \text{ source}) + X \times (A\% \text{ t}) \quad (\text{équation 6})$$

A% m = A% de la plante marquée

Figure 7 : Représentation schématique du dispositif de marquage au $^{13}\text{CO}_2$. (1) compartiment aérien, (2) compartiment souterrain, (3) climatisation du phytotron, (4) lampes au sodium, (5) plants, (6) valve de sortie, (7) piège à eau, (8) analyseur de CO_2 à infra-rouge, (9) pompe, (10) électrovanne 3 voies, (11) piège à CO_2 , (12) débit-mètre massique, (13) bouteille de CO_2 , (14) centrale d'acquisition et système de régulation de la concentration en CO_2 , (15) ordinateur (D'après Vivin, 1995).



$A\%_t = A\%$ de la plante avant marquage (ou de la plante témoin)

$A\%_{\text{source}} = A\%$ de la source de marquage

Il s'agit de **l'équation de dilution isotopique**

X et Y représentent les coefficients de la dilution isotopique. X représente la fraction de la biomasse qui a une composition isotopique reflétant les conditions avant marquage (éléments préexistants, 'anciens') et Y correspond à la fraction de la biomasse dont la composition isotopique est modifiée lors du marquage (éléments 'nouveaux'). Ainsi,

$$X + Y = 1 \quad (\text{équation 7})$$

L'équation de dilution isotopique est formulée ici pour la plante entière, mais elle peut également s'appliquer à tout échantillon de la plante, comme par exemple les organes, ou des composés biochimiques.

Toutefois, les 2 conditions suivantes doivent être remplies pour pouvoir appliquer cette équation :

(1) la source de marquage doit être de composition stable tout au long du marquage, sinon, il est impossible de l'évaluer avec précision

(2) le temps de marquage doit être suffisamment long pour permettre l'atteinte d'un état d'équilibre dans les pools biochimiques

3.3. Réalisation du double marquage des réserves au ^{13}C et ^{15}N

Quatorze plants de chêne issus des traitements AN-, AN+, EN-, et 12 plants issus du traitement EN+, choisis au hasard, ont été marqués au ^{13}C et au ^{15}N au mois de novembre. Nous faisons l'hypothèse que, à cette période tardive de l'année, la majorité des assimilats est utilisée pour la synthèse de réserves.

Le marquage au ^{13}C a été réalisé dans une chambre phytotronique (VTPH 5/1000, Vötsch Industrietechnik GmbH, Reiskirchen-Lindenstruth, Allemagne) complétée par un système automatisé de marquage (Vivin *et al.* 1995) (**figure 7**).

Avant de procéder au marquage proprement dit, les plants sont installés dans la chambre de marquage, pendant une douzaine d'heures à l'obscurité, afin de les acclimater aux conditions climatiques de la chambre. Le marquage concerne uniquement la partie aérienne des plants qui est séparée hermétiquement de la partie souterraine afin d'éviter la dilution isotopique de l'atmosphère de marquage par le CO_2 provenant de la respiration du compartiment souterrain. L'air de la chambre est pompé et le CO_2 qu'il contient est piégé, jusqu'à atteindre une concentration en CO_2 stable, correspondant au point de compensation pour les échanges de CO_2 . L'injection de CO_2 enrichi en ^{13}C est ensuite activée et sa concentration est régulée de façon à ce que les plants se trouvent dans leurs conditions de croissance (350 ou 700 ppm de CO_2). L'abondance isotopique du $^{13}\text{CO}_2$ injecté est imposée à 4,4% par le réglage du rapport des flux entre une bouteille de $^{13}\text{CO}_2$ dilué dans de l'azote ($\text{N}_2/^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$: 99/0,9933/0,0067 : v/v/v) et une bouteille de CO_2 industriel ($^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$: 1,08/98,92 : v/v).

Dès que la concentration de CO₂ est stabilisée autour de la valeur choisie, la lumière est allumée et le marquage commence. La lumière est fournie par 3 lampes à sodium (Philips SONT) fournissant une densité de flux de photons photosynthétiquement actifs de 350 μmol m⁻² s⁻¹. A la fin de la période de marquage, l'injection de CO₂ est arrêtée et les plants sont sortis de la chambre lorsqu'ils ont atteint le point de compensation dans le but de s'assurer que tout le CO₂ injecté est absorbé et d'éviter ainsi les effets de discrimination isotopique du carbone par les plants.

Durant le marquage, la température de la chambre est maintenue à 20±1 °C, et l'humidité relative à 97%.

La chambre de marquage ayant une capacité maximale de huit plants, le marquage de chaque plant a été effectué en trois périodes de 24 heures chacune, soit 72 heures au total, réparties sur 1 mois.

Lors du premier marquage au ¹³C, chaque plant a également reçu 20 ml d'une solution à 10mM de ¹⁵NH₄¹⁵NO₃ (Eurisotop, Gif-sur-Yvette, France) à 19,8% d'abondance isotopique en ¹⁵N. Les plants N+ ont reçu une dose supplémentaire de NH₄NO₃ non marqué de façon à recevoir autant d'azote que durant leur croissance. Par conséquent, l'abondance isotopique en ¹⁵N dans la solution de marquage est de 2% pour les plants N+ et de 19,8% pour les plants N-. Le marquage au ¹⁵N s'est déroulé sur la même période que le marquage au ¹³C.

Pour arrêter le marquage au ¹⁵N, les plants ont été sortis de leurs pots, les racines débarrassées de leur substrat, et abondamment lavées. Les plants ont ensuite été rempotés dans des pots de 7 litres. Les plants témoins, n'ayant pas subi de marquage, ont été rempotés dans les mêmes conditions.

Les plants ont ensuite été replacés dans les tunnels sous serres dans leurs conditions de croissance habituelles pour une période de chasse de 1 mois (prélèvement de janvier), 3 mois (prélèvement de mars), et 4 mois (prélèvement d'avril).

3.4. Calculs de renouvellement du C et N dans les organes

A l'échelle du plant, ou d'un organe, ou d'un composé biochimique, l'équation de dilution isotopique (paragraphe 3.2) permet de quantifier la dilution progressive du stock de C ou N préexistants par un stock de C ou N nouvellement incorporé (Deléens *et al.*, 1994). Ainsi, en pratique, l'équation de dilution isotopique peut être utilisée pour quantifier le renouvellement des stocks de C ou N, et pour établir les mouvements de ces éléments entre organes (Deléens, 1983).

La résolution des équations 6 et 7, donne :

$$\begin{aligned} A\% m &= Y \times (A\% \text{ source}) + (1 - Y) \times A\% t \\ &= Y \times (A\% \text{ source} - A\% t) + A\% t \end{aligned}$$

$$Y = (A\% m - A\% t) / (A\% \text{ source} - A\% t)$$

Calculer Y revient à calculer le facteur de dilution des éléments anciens par les nouveaux. Par conséquent, Y permet d'estimer la **force de puits** d'un compartiment au sein d'une plante. Y est également appelé **taux de renouvellement** ou **allocation relative spécifique (RSA)** dans le compartiment étudié.

A partir du calcul de RSA, en tenant compte de la taille du compartiment et de la concentration de l'élément considéré, il est également possible d'estimer la distribution relative des assimilats entre les différents compartiments de la plante. On calcule pour cela le **coefficient de répartition** ou **partitioning (P%)**.

$$P\% = (RS_{Ac} \times BM_c \times [C_c]) \times 100 / (RS_{Ap} \times BM_p \times [C_p]) \quad (\text{équation 8})$$

c : compartiment

p : plante

BM = biomasse de l'échantillon

[C] = concentration en C

La résolution de l'équation de dilution isotopique nécessite de bien définir la source de marquage qui peut être de nature très différente selon le cas. Il peut s'agir d'une source de marquage externe à la plante, comme l'atmosphère ou la solution de marquage, mais également d'une source interne, comme par exemple, l'ensemble du plant, un de ses organes, ou un de ses composés biochimiques.

Nous avons été confrontés à 2 cas distincts au cours de notre étude :

(1) de façon générale, les nouveaux organes formés au printemps sont constitués d'un mélange de composés dérivant des réserves C et N acquises avant l'hiver (éléments 'anciens', marqués) et d'assimilats C et N nouvellement acquis au printemps (éléments 'nouveaux', non marqués). Pour déterminer la proportion relative de ces 2 composés dans les nouveaux organes, nous avons considéré pour nos calculs que les réserves C et N des organes pérennes constituaient la source d'éléments marqués dans les nouveaux organes ;

(2) nous avons également voulu déterminer la fraction d'éléments nouvellement acquis au printemps et incorporés dans les structures pérennes. Dans ce cas, le plant entier prélevé à la sortie de l'hiver (mars) est considéré comme source d'éléments marqués pour l'ensemble du plant au printemps (avril). Puis, en retranchant les quantités de C et N nouvellement acquis par les nouveaux organes aux quantités de C et N nouvellement acquis par les plants, nous obtenons les quantités de C et N nouveaux dans l'ensemble des organes pérennes.

4. ANALYSES ELEMENTAIRES ET ISOTOPIQUES

La séparation et la détection des isotopes stables repose sur leurs différences de propriétés physiques, comme les différences de masse (spectrométrie de masse), les différences de résonance des noyaux (résonance magnétique nucléaire) ou les propriétés d'émission optique particulière (émission atomique).

En spectrométrie de masse, la quantité d'échantillon à analyser varie en général de 0,5 à 5 mg selon les caractéristiques des spectromètres de masse, du degré de précision voulu, et de la richesse en isotopes de l'échantillon.

Nos analyses ont été effectuées sur 1 mg de matière végétale lyophilisée, préalablement séchée pendant 24 heures à 50°C. La poudre est déposée dans une capsule en étain qui est

introduite dans le spectromètre de masse (Delta S, Finnigan MAT, Bremen, Allemagne), couplé en amont à un analyseur élémentaire (NA 1500 NCS, Carlo Erba, Milan, Italie). L'échantillon est transformé en CO₂ et N₂ par une combustion totale. Ces gaz entrent ensuite dans une chambre d'ionisation où le CO₂ est ionisé en isotopomères de masses 44, 45 et 46 selon les combinaisons des isotopes du C (12 et 13) et ceux de l'oxygène (16, 17, 18) et le N₂ ionisé en isotopomères de masses 28 et 29 selon les combinaisons des isotopes de N (14 et 15). Les ions sont accélérés dans un champ électrique et séparés dans un champ magnétique dans lequel ils décrivent des trajectoires différentes selon leur masse et ils sont finalement recueillis dans des collecteurs de Faraday distincts. Les valeurs des rapports isotopiques obtenus sont comparés automatiquement et en permanence à une valeur de ce rapport admise comme étalon international (standards secondaires calibrés par rapport au PDB).

5. ESTIMATION DE LA CONCENTRATION EN COMPOSES BIOCHIMIQUES PAR SPECTROSCOPIE DE REFLEXION DANS LE PROCHE INFRA-ROUGE

Nous avons dosé les composés biochimiques de réserve chez le chêne pédonculé par spectroscopie de réflexion dans le proche infra-rouge (SPIR en français, NIRS en anglais) : sucres solubles (glucose, fructose et saccharose), amidon, acides aminés et protéines solubles. Ces analyses ont été réalisées au CEFE de Montpellier selon la méthode décrite par Joffre *et al.* (1992), Damesin *et al.* (1997) et Gillon *et al.* (1999).

5.1. Principe et réalisation d'analyses par spectroscopie de réflexion dans le proche-infrarouge

La spectroscopie de réflexion dans le proche-infrarouge est basée sur le principe que les liaisons entre les atomes C, H, O, N, S fournissent des vibrations spécifiques dans le proche infra-rouge. Ainsi, lorsqu'une lumière incidente éclaire un échantillon de matière organique, ces vibrations sont responsables d'une absorption spécifique de l'échantillon, lié à sa composition biochimique.

Pour réaliser les analyses, les échantillons broyés sont placés dans des cellules en quartz qui sont introduites dans un spectrophotomètre de réflexion dans le proche infra-rouge (NIRSystems 6500, Foss NIRSystems, Raamsdonksveer, Pays Bas). Chaque échantillon est balayé par une lumière monochromatique incidente de 400 à 2500 nm, et 2 mesures de lumière réfléchie sont enregistrées tous les 2 nm. Un spectre de 1050 points est obtenu pour chaque échantillon, et la quantité de lumière réfléchie (R) est transformée en quantité de lumière absorbée (A) grâce à la relation :

$$A = \log (1/R)$$

Trois populations de spectres bien distincts ont été obtenues avec nos échantillons : l'une correspond aux feuilles, une autre aux racines fines et grosses et la dernière aux tiges et rameaux. Ces 3 catégories d'organes ont donc dû être traitées séparément dans les étapes suivantes.

La seconde étape de l'analyse, réalisée à l'aide du logiciel ISI software (Shenk & Westerhaus 1991), consiste à établir la correspondance entre les spectres bruts obtenus et les concentrations biochimiques recherchées.

Pour chacune des 3 catégories d'organes, une cinquantaine d'échantillons (dits « échantillons de calibration ») ont été choisis de façon à recouvrir le maximum de variabilité spectrale et réaliser le dosage des composés biochimiques qui nous intéressent (procédure SELECT de ISI software (Shenk & Westerhaus 1991).

La comparaison des spectres de ces échantillons avec les valeurs biochimiques obtenues en laboratoire, en tous les points des spectres, fait apparaître des zones de plus ou moins fortes corrélations. Une équation de calibration, reliant la valeur biochimique à la valeur spectrale, est alors calculée, puis appliquée à tous les autres échantillons, puis un nouveau modèle de prédiction des valeurs biochimiques est calculé en intégrant tous les échantillons, y compris ceux de la calibration.

Un tel modèle de prédiction ne peut être élaboré que si les échantillons choisis pour la calibration présentent une variabilité suffisante. La précision du modèle obtenu est essentiellement sous dépendance de la précision avec laquelle les valeurs biochimiques sont connues. Toutefois, l'étape de broyage de l'échantillon constitue un aspect important de qualité des résultats. Si la granulométrie de la poudre obtenue est trop fine, la lumière ne pourra pas pénétrer dans l'échantillon et l'analyse sera impossible, et si elle n'est pas assez fine, un problème d'hétérogénéité peut se poser. D'autre part, le broyage avec des appareils tels que les broyeurs à billes, provoquant un échauffement de l'échantillon, sont à proscrire, car ils génèrent une complexation des molécules perturbant l'analyse.

La taille des cellules étant assez importante, 1 g de poudre est en général nécessaire pour mener une analyse. Tous les échantillons de masse inférieure ont donc été dosés par voie chimique.

5.2. Extraction et dosage des sucres solubles et de l'amidon

Le matériel à analyser se présente sous la forme d'une poudre issue de matériel végétal lyophilisé et finement broyé, préalablement séché pendant 24 heures à 50°C.

De cette matière sèche sont extraits tous les composés solubles dans l'éthanol et l'eau. Ainsi, les sucres solubles se trouvent mélangés à d'autres métabolites polaires comme les acides organiques, les acides aminés ou les pigments hydrosolubles. Puis, un dosage enzymatique permet de doser spécifiquement les sucres choisis. L'amidon est extrait à partir du culot résiduel puis dosé suivant le même principe que les sucres solubles.

Dans les milieux réactionnels, les enzymes et co-facteurs nécessaires aux réactions enzymatiques sont en concentrations telles qu'ils ne soient jamais limitants pour la réaction, de façon à ce que toutes les réactions s'effectuent jusqu'à l'épuisement du substrat.

Le détail de la préparation des tampons et solutions est donné en annexe (**annexe 2**).

Quel que soit le spectrophotomètre, la relation mathématique qui lie la DO à la concentration du produit mesuré n'est linéaire que pour des concentrations relativement faibles.

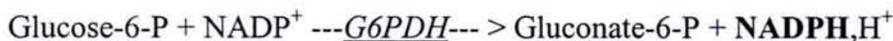
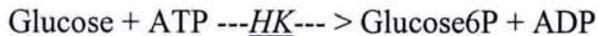
Une expérience parallèle nous a permis d'estimer que cette relation était linéaire jusqu'à une DO de 1,2. Tout échantillon dont la DO est supérieure à cette valeur a donc été dilué.

- **Principe de dosage des sucres solubles et de l'amidon**

La méthode utilisée reprend celle de Boehringer (1988).

Dans cette méthode, les glucides qui nous intéressent ne sont pas dosés directement. Ils sont d'abord totalement transformés en unités glucose, puis ce sont ces unités glucose qui seront dosées, de manière indirecte.

Le principe de la mesure est basé sur l'existence d'une relation stoechiométrique entre la quantité de glucose contenu dans l'extrait et la quantité de NADPH formé lors d'une réaction enzymatique faisant intervenir l'hexokinase (HK) et la glucose-6-phosphate deshydrogénase (G6PDH) :

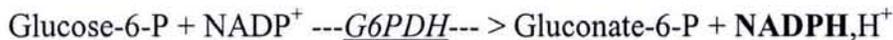


La quantité de NADPH formé est calculée à partir de la mesure de la densité optique de la solution, à la longueur d'onde d'absorption maximale du NADPH, qui est située à 340 nm.

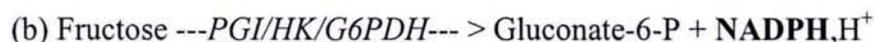
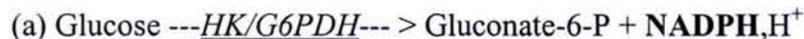
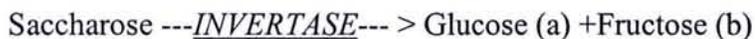
Mais, l'existence d'autres pics d'absorption du NADPH à des longueurs d'onde de 334 et 365 nm rend également possible la mesure à ces longueurs d'onde.

Au cours de ce travail, nous nous sommes intéressés à 3 sucres solubles : le glucose, le fructose et le saccharose.

La transformation du fructose en glucose se fait grâce à la phosphoglucoisomérase (PGI), mais les enzymes HK et G6PDH sont également nécessaires pour effectuer la chaîne de réactions conduisant à la formation de NADPH :



L'hydrolyse du saccharose, en unités glucose et fructose, est réalisée par l'invertase ou β -fructofuranosidase puis, l'action conjointe de la PGI, HK et G6PDH conduit à la formation de 2 molécules de NADPH par molécule de saccharose :



L'amidon est hydrolysé en unités glucose par la α -amylglucosidase qui rompt les liaisons 1-4 et 1-6 de l'amylose et de l'amylopectine composant l'amidon, puis le glucose est dosé comme précédemment.

- **Extraction des sucres solubles**

Une aliquote de 5 à 10 mg de matière sèche de chaque échantillon est pesée au 10^{ème} de mg. La matière sèche est ensuite mise en contact avec 1 ml d'éthanol à 80 % (éthanol/eau, 8/2, v/v). Après homogénéisation de la suspension, les échantillons sont incubés pendant 30 min à

80°C, puis centrifugés pendant 10 min à 12620 g (201 M, Sigma, Osterode am Harz, Allemagne).

Le surnageant contenant les composés cellulaires solubles, dont les sucres solubles, est prélevé et transféré dans un autre tube.

L'extraction est renouvelée une fois dans les mêmes conditions et les 2 surnageants sont finalement réunis.

Les extraits sont ensuite évaporés dans un évaporateur rotatif sous vide (Maxi-Dry Plus, Heto, Allerød, Danemark) à 30°C, jusqu'à l'évaporation totale du liquide.

Les culots résiduels et les extraits secs contenant les sucres solubles sont stockés à -20°C dans l'attente de l'extraction de l'amidon et du dosage des sucres solubles.

- **Dosage des sucres solubles**

Les extraits secs contenant les sucres solubles sont solubilisés dans 1 ml de NaOH 0,02 M et placés immédiatement dans la glace car, en milieu aqueux, les sucres peuvent subir des transformations du fait de la présence d'enzymes cellulaires dans les extraits.

La solubilisation des extraits étant assez lente à basse température, les tubes sont laissés approximativement pendant 15 min dans la glace avant d'être homogénéisés.

Les réactions enzymatiques se déroulent à température ambiante, directement dans une microcuve (PPMA, plastigrand) à partir de laquelle se fera la lecture au spectrophotomètre.

Une prise d'essai de 50 µl d'échantillon est placée dans une microcuve contenant 20 µl d'invertase (à 5 mg/ml). Après 30 min passées à température ambiante, 780 µl de tampon réactionnel à pH 7,6 contenant de l'ATP, du NADP et de la triéthanolamine sont ajoutés et la DO à 340 nm (DO1) est mesurée au spectrophotomètre UV-visible (DU 640 B, Beckman Coulter, USA).

Puis, 10 µl de PGI (à 1 mg/ml) et 10 µl de HK/G6PDH (à 450 et 200 U/ml respectivement) sont ajoutées dans la cuve. Après 15 min, la DO à 340 nm (DO2) est mesurée au spectrophotomètre UV-visible (DU 640 B, Beckman Coulter, USA).

Si l'échantillon a une DO située en dehors de la gamme de linéarité, le dosage est recommencé à partir d'une dilution de cet échantillon. Cette dilution est réalisée avec une quantité de NaOH 0,02 M telle qu'un volume de 50 µl de l'échantillon dilué ait une DO située dans la gamme de linéarité.

L'absorption du milieu réactionnel seul (tampon et enzymes), qui est retranchée à chaque mesure de DO, est mesurée en réalisant une cuve, appelée cuve « blanc », dans les mêmes conditions que celles contenant les échantillons mais en remplaçant les 50 µl d'échantillon par 50 µl de NaOH 0,02 M.

- **Extraction et hydrolyse de l'amidon**

Le culot résiduel obtenu après l'extraction des composés solubles contient, parmi les débris cellulaires, les composés insolubles tels l'amidon.

Les restes d'éthanol que contiennent les culots sont évaporés dans un évaporateur rotatif sous vide (Maxi-Dry Plus, Heto, Allerød, Danemark) à 30°C puis les tubes sont pesés (pesée P1).

L'extraction de l'amidon contenu dans les débris cellulaires est réalisée en rajoutant 1 ml de NaOH 0,02 M dans les tubes et en les plaçant, bouchés, pendant 1 heure à 90°C. La soude favorise le gonflement et l'hydratation de l'amidon permettant ainsi l'optimisation de l'action ultérieure de l'amyloglucosidase.

Pour optimiser l'extraction, il est nécessaire d'homogénéiser les tubes au moins 2 fois pendant ce laps de temps.

Un volume de 0,1 ml d'amyloglucosidase (à 150 U/ml) est ajouté dans les tubes préalablement refroidis, au minimum jusqu'à 50°C, afin de ne pas dénaturer l'enzyme. L'hydrolyse enzymatique de l'amidon en unités glucose se déroule en plaçant les tubes, pendant 30 min, à la température d'action optimale de l'enzyme qui est de 50°C. Après refroidissement, les tubes sont pesés (pesée P2).

Les tubes sont centrifugés pendant 10 min à 12620 g (201 M, Sigma, Osterode am Harz, Allemagne), puis les surnageants prélevés et placés dans la glace dans l'attente du dosage.

Bien que les tubes soient bouchés, il est difficile d'exclure l'hypothèse que de légères évaporations se produisent à cause des températures élevées utilisées tout au long du protocole. Toutefois, il est possible d'estimer avec une bonne précision le volume total de l'extrait d'amidon hydrolysé, en faisant la différence entre la pesée P1 et P2, la densité de la solution étant voisine de 1.

• Dosage de l'amidon

Les réactions enzymatiques se déroulent à température ambiante, directement dans une microcuve (PPMA, plastigrand) à partir de laquelle se fera la lecture au spectrophotomètre.

Une prise d'essai de 50 µl d'échantillon est placée dans une microcuve contenant 800 µl de tampon réactionnel à pH 7,6 comprenant de l'ATP, du NADP et de la triéthanolamine. La DO à 340 nm (DO1) de cette solution est mesurée au spectrophotomètre UV-visible (DU 640 B, Beckman Coulter, USA).

Puis, 10 µl de HK/G6PDH (à 450 et 200 U/ml respectivement) sont ajoutés dans la cuve. Après 15 min, la DO à 340 nm (DO2) est mesurée au spectrophotomètre UV-visible (DU 640 B, Beckman Coulter, USA).

Si l'échantillon a une DO située en dehors de la gamme de linéarité, le dosage est recommencé à partir d'une dilution de cet échantillon. Cette dilution est réalisée avec une quantité de NaOH 0,02 M telle qu'un volume de 50 µl de l'échantillon dilué ait une DO située dans la gamme de linéarité.

L'absorption du milieu réactionnel seul (tampon et enzymes), qui est retranchée à chaque mesure de DO, est mesurée en réalisant une cuve, appelée cuve « blanc », dans les mêmes conditions que celles contenant les échantillons, mais en remplaçant les 50 µl d'échantillon par 50 µl de NaOH 0,02 M.

• Calculs des concentrations en sucres solubles et amidon

Du fait que nous ayons choisi de faire agir les enzymes de manière concomitante et, par conséquent, de ne pas faire la différence entre le glucose présent dans l'échantillon, le glucose issu de la transformation du fructose et celui issu du saccharose, les concentrations en sucres solubles sont estimées sous la forme de concentrations équivalentes en glucose libéré ou « équivalents glucose ».

Les concentrations sont calculées en se basant sur l'équation établie par Beer Lambert qui traduit l'existence d'une relation entre la concentration en produit d'une solution et sa densité optique mesurée à la longueur d'onde d'absorption spécifique du produit :

$$DO = E \times L \times C$$

DO : densité optique de la solution

E : coefficient d'extinction molaire du produit mesuré

L : longueur du trajet optique

C : concentration de la solution en produit

Pour une concentration en g d'équivalents glucose pour 100g de matière sèche, ou en g d'amidon pour 100g de matière sèche, cette relation devient :

$$C \text{ (g/100g)} = \frac{V_{tot} \times V_{ext} \times PM}{E \times L \times V_{ech} \times P \times 10} \times (DO_2 - DO_1)$$

C (g/100g) : concentration en équivalents glucose ou en amidon

V_{tot} (ml) : volume réactionnel total (0,87 ml pour les sucres solubles et 0,86 pour l'amidon)

V_{ext} (ml) : volume de l'extrait total de l'échantillon (1 ml pour les sucres solubles et P2-P1, en g, pour l'amidon)

PM (g/mole) : poids moléculaire du glucose (180,16 g/mole) ou de l'amidon (162,16 g/mole)

E (l/mmol×cm) : coefficient d'absorption du NADPH (6,3 l/mmol×cm)

L (cm) : longueur du trajet optique (1 cm)

V_{ech} (ml) : volume d'échantillon dosé (0,05 ml)

P (mg) : poids sec de l'échantillon

DO₁ : DO de la solution avant réaction enzymatique

DO₂ : DO de la solution après réaction enzymatique

5.3. Extraction et dosage des acides aminés totaux

- **Extraction des acides aminés totaux**

Le matériel végétal à analyser se présente sous la forme d'une poudre issue de matériel lyophilisé et finement broyé, préalablement séché pendant 24 heures à 50°C.

Une aliquote de 10 mg de matière sèche de chaque échantillon est pesée au 10^{ème} de mg.

Les acides aminés contenus dans la matière sèche sont ensuite extraits dans 650 µl de méthanol à 70% (méthanol/eau, 7/3, v/v) pendant 10 min. Les échantillons sont ensuite centrifugés à 12620 g (201 M, Sigma, Osterode am Harz, Allemagne) pendant 5 min, puis le surnageant est prélevé et placé dans un autre tube. L'extraction est répétée 2 fois, et les 3 surnageants sont rassemblés et homogénéisés.

- **Dosage des acides aminés totaux**

Le principe du dosage est basé sur la réaction des acides aminés en milieu acide avec la ninhydrine. Chaque acide aminé subit une décarboxylation oxydative au cours de laquelle une molécule d'ammoniaque est libérée et une molécule de ninhydrine est réduite en hydrindantine. Une molécule d'ammoniaque se condense ensuite avec une molécule de ninhydrine et une molécule d'hydrindantine pour former une molécule de couleur violette, le pourpre de Ruhemann.

La méthode de dosage des acides aminés totaux utilisée est adaptée de celle proposée par Yemm et Cocking (1955).

Les acides aminés totaux sont dosés sur 100 µl d'extrait hydroalcoolique auxquels sont ajoutés 275 µl de tampon citrate de sodium 0,8 M à pH 5,25 (**annexe 3**) puis 300 µl de ninhydrine. La solution de ninhydrine est préparée extemporanément, en 2 étapes. La ninhydrine (725 mg)

est dissoute dans 75 ml d'éther monométhyle de l'éthylène glycol. Puis 2,5 ml d'acide ascorbique à 10 mg/ml dans l'eau sont ajoutés aux 75 ml de ninhydrine.

La réaction se déroule au bain-marie bouillant pendant 20 min. Immédiatement après, les tubes sont refroidis dans de la glace. La solution de coloration violette est diluée par l'ajout de 750 µl d'éthanol à 60% (éthanol/eau, 6/4, v/v). L'absorbance est lue à 570 nm au spectrophotomètre UV-visible (DU 640 B, Beckman Coulter, USA).

Pour chaque échantillon extrait, une répétition du dosage est effectuée.

L'absorption du milieu réactionnel seul, qui est retranchée à chaque mesure de DO, est mesurée en réalisant une cuve « blanc », dans les mêmes conditions que celles contenant les échantillons, mais en remplaçant les 100 µl d'échantillon par 100 µl de méthanol 70%.

- **Calcul de la concentration en acides aminés totaux**

La concentration en acides aminés totaux est exprimée en équivalents leucine.

Elle est calculée grâce à une gamme étalon de leucine composée de solutions à 0, 50, 100, 200, 300, 400 et 500 nmol leucine/ml. Deux répétitions de 100 µl de chacune des solutions de leucine sont prélevées pour le dosage suivant le même protocole que celui utilisé pour les échantillons.

L'équation de la droite donnant la relation entre l'absorbance à 570 nm et la concentration de leucine dans la solution étalon (en nmol/ml) est la suivante ($R^2 = 0,9996$) :

$$C \text{ (nmol/ml)} = \frac{DO_{570nm} + 0,004}{0,0012}$$

A partir de la concentration molaire d'acides aminés, nous avons également calculé la masse d'azote correspondante en estimant qu'un acide aminé contient en moyenne 1,3 atomes d'azote (Gadal, 1970)

5.4. Extraction et dosages des protéines solubles totales

Le matériel végétal à analyser se présente sous la forme d'une poudre issue de matériel lyophilisé et finement broyé, préalablement séché pendant 24 heures à 50°C.

Le détail de la préparation des tampons et solutions est donné en annexe (**annexe 3**).

- **Extraction des protéines solubles**

Une aliquote de 30 mg de matière sèche est extraite dans 4 ml de tampon sodium/phosphate contenant du PEG/PVP/DTT en concentrations différentes selon l'organe (voir **annexe 3**). Afin de limiter au maximum la dégradation et la modification des protéines, l'extraction se déroule à froid, en plaçant les tubes dans la glace au fur et à mesure de leur mise en contact avec le tampon. Après homogénéisation des tubes, l'extraction se déroule pendant 30 min dans un bain à ultrasons (Branson, Branson Ultrasonics Corporation, Danbury, USA) rempli d'eau glacée. Les tubes sont ensuite centrifugés à 3000 g à 4°C pendant 20 min (MR22i, Jouan, St Herblain, France) et les surnageants sont prélevés et mesurés à l'aide d'une éprouvette graduée et maintenus au froid dans l'attente du dosage.

- **Dosage des protéines solubles**

Les protéines solubles ont été dosées selon la technique de Bradford (1976).

Cette méthode repose sur le fait que le pic d'absorption maximal du bleu de coomassie se déplace de 465 nm à 595 nm lorsqu'il se lie aux résidus basiques des protéines en milieu acide.

Selon sa concentration, de 25 à 200 µl de l'extrait à doser sont déposés dans une microcuve dont le volume est complété à 800 µl avec de l'eau ultrapure. Deux cent µl de réactif commercial (Bio-Rad Protein Assay) sont ajoutés immédiatement. La réaction se réalise pendant 5 min à température ambiante et reste stable pendant 1 heure. La DO à 595 nm est lue dans ce laps de temps.

Une répétition du dosage est réalisée pour chaque échantillon.

L'absorption du milieu réactionnel seul, qui est retranchée à chaque mesure de DO, est mesurée en réalisant une cuve « blanc », en suivant la même procédure que pour les échantillons, mais en remplaçant le volume d'échantillon par le même volume de tampon d'extraction.

- **Calcul de la concentration en protéines solubles**

La concentration en protéines solubles est déterminée à partir d'une gamme étalon d'albumine de sérum bovine (BSA) préparée dans les mêmes conditions que les échantillons.

L'équation de la droite donnant la relation entre l'absorbance à 595 nm et la concentration de BSA dans la prise d'essai de 800 µl est la suivante :

$$C (\mu\text{g}/800\mu\text{l}) = \frac{DO_{595\text{nm}}}{0,05041}$$

Pour calculer la masse d'azote contenu dans les protéines solubles, nous avons estimé que les protéines contiennent 17% d'azote en masse (Gadal, 1970)

6. COMPOSITION ISOTOPIQUE DES RESERVES GLUCIDIQUES ET AZOTEES

Pour déterminer la proportion des réserves glucidiques et azotées impliquées dans la formation de la nouvelle croissance au printemps (c'est-à-dire le RSA), il est nécessaire de connaître la composition isotopique de la source de marquage de ces nouveaux organes, autrement dit, la composition isotopique de ces réserves.

Les réserves ont été purifiées à partir des compartiments pérennes de stockage. Pour connaître la composition isotopique des réserves, nous avons purifié l'amidon et les acides aminés dans les grosses racines et les tiges des échantillons prélevés au début du débourrement (mars).

6.1. Extraction de l'amidon

La purification de l'amidon a été réalisée selon la méthode décrite par Duranceau *et al.* (1999).

Selon la richesse en amidon des organes, 60 mg (grosses racines) ou 200 mg (tiges) de matière sèche lyophilisée, broyée, et séchée pendant 24 heures à 50°C sont mis en contact avec 1 ml d'eau ultrapure dans un bac rempli de glace pendant 20 min. Une fois le contenu cellulaire hydrosoluble dissout, les échantillons sont centrifugés à 5°C pendant 10 min à 3000 g. Le surnageant est jeté et le culot est extrait avec 1 ml d'éthanol à 80% (éthanol/eau : 8/2 : v/v) pendant 10 min à 80°C. Les tubes sont centrifugés pendant 10 min à 3000 g (MR 22i, Jouan, St Herblain, France) et le surnageant jeté. Des lavages supplémentaires à l'éthanol sont répétés, dans les mêmes conditions, sur le culot jusqu'à ce que le surnageant et le culot résultants soient les plus clairs possible (de 3 à 5 lavages sont nécessaires en général). A ce stade, les culots peuvent être stockés à -20°C.

L'amidon contenu dans les débris cellulaires est solubilisé dans 1 ml d'HCL 6 M, pendant 1 heure à température ambiante. Les tubes sont centrifugés pendant 15 min à 3000 g (MR 22i, Jouan, St Herblain, France) et le surnageant est recueilli dans un nouveau tube. Le culot subit une deuxième extraction dans les mêmes conditions. Les 2 surnageants sont ensuite réunis et 8 ml de méthanol pur sont rajoutés dans les tubes. La floculation de l'amidon est provoquée en plaçant les tubes à 5°C pendant une nuit. Le floculat blanchâtre est alors centrifugé à 5°C pendant 10 min à 10000 g, le surnageant est jeté et le culot d'amidon est séché dans un évaporateur rotatif sous vide (Maxi-Dry Plus, Heto, Allerød, Danemark) à 30°C pendant 1 nuit.

6.2. Extraction des acides aminés

Une purification partielle des acides aminés a été opérée en se basant sur le protocole d'extraction et dosage des acides aminés cité plus haut.

Deux cent mg de matière sèche lyophilisée, broyée, et séchée pendant 24 heures à 50°C sont mis en contact avec 4 ml de méthanol 70% (méthanol/eau : 7/3 : v/v) pendant 10 min à température ambiante. Les tubes sont centrifugés à 10000 g pendant 5 min (MR 22i, Jouan, St Herblain, France). L'extraction est répétée 2 fois et les 12 ml de surnageant rassemblés puis mis à sécher dans un évaporateur rotatif sous vide (Maxi-Dry Plus, Heto, Allerød, Danemark) à 30°C pendant 1 nuit.

6.3. Analyse isotopique de l'amidon et des acides aminés extraits

La composition isotopique des culots d'amidon et d'acides aminés a été analysée par spectrométrie de masse.

L'amidon, contenant 40% de C, une quantité de 1 mg d'amidon purifié a été suffisante pour l'analyse. Les acides aminés, contenant en moyenne 14,75% de N, une quantité de 1 à 4 mg, selon le degré de pureté de l'échantillon, s'est révélée nécessaire pour l'analyse.

7. ANALYSES STATISTIQUES

7.1. Cas Général

Une analyse de variance (ANOVA) à 2 facteurs (procédure GLM, SAS statistical software package, 1989 ; SAS Institute Inc., Cary, NC) suivie du test de Tukey, a été menée sur l'ensemble des données afin d'étudier les effets de l'augmentation de la concentration en CO₂ et en fertilisation N sur les différentes variables mesurées.

7.2. Calcul des intervalles de confiance pour les RSA

Pour estimer l'intervalle de confiance sur un rapport de 2 variables aléatoires, tel :

$$\text{RSA} = (x - \text{cte}) / (y - \text{cte}) = X / Y$$

A partir de la moyenne de X, de la moyenne de Y et de la dispersion de chacune (erreur standard, écart-type), on calcule l'espérance de X et l'espérance de Y (2 fonctions de Gauss).

Puis, 1 point de la gaussienne de X et un point de la gaussienne de Y sont choisis au hasard (1 couple de point sur un tirage aléatoire) et le rapport $X/Y = \text{RSA}$ est calculé pour ce couple de points. Dix mille tirages aléatoires de couples de points sont réalisés, et donc 10000 valeurs de RSA sont obtenues.

A partir de la valeur de RSA moyen et de sa dispersion, l'espérance de RSA (gaussienne) est à nouveau calculée puis l'intervalle de confiance à 95% du RSA est ainsi déduit.

Figure 8 : Moyennes mensuelles des paramètres climatiques ([CO₂], température, humidité relative) dans les serres durant toute la durée de l'expérimentation (3 années).

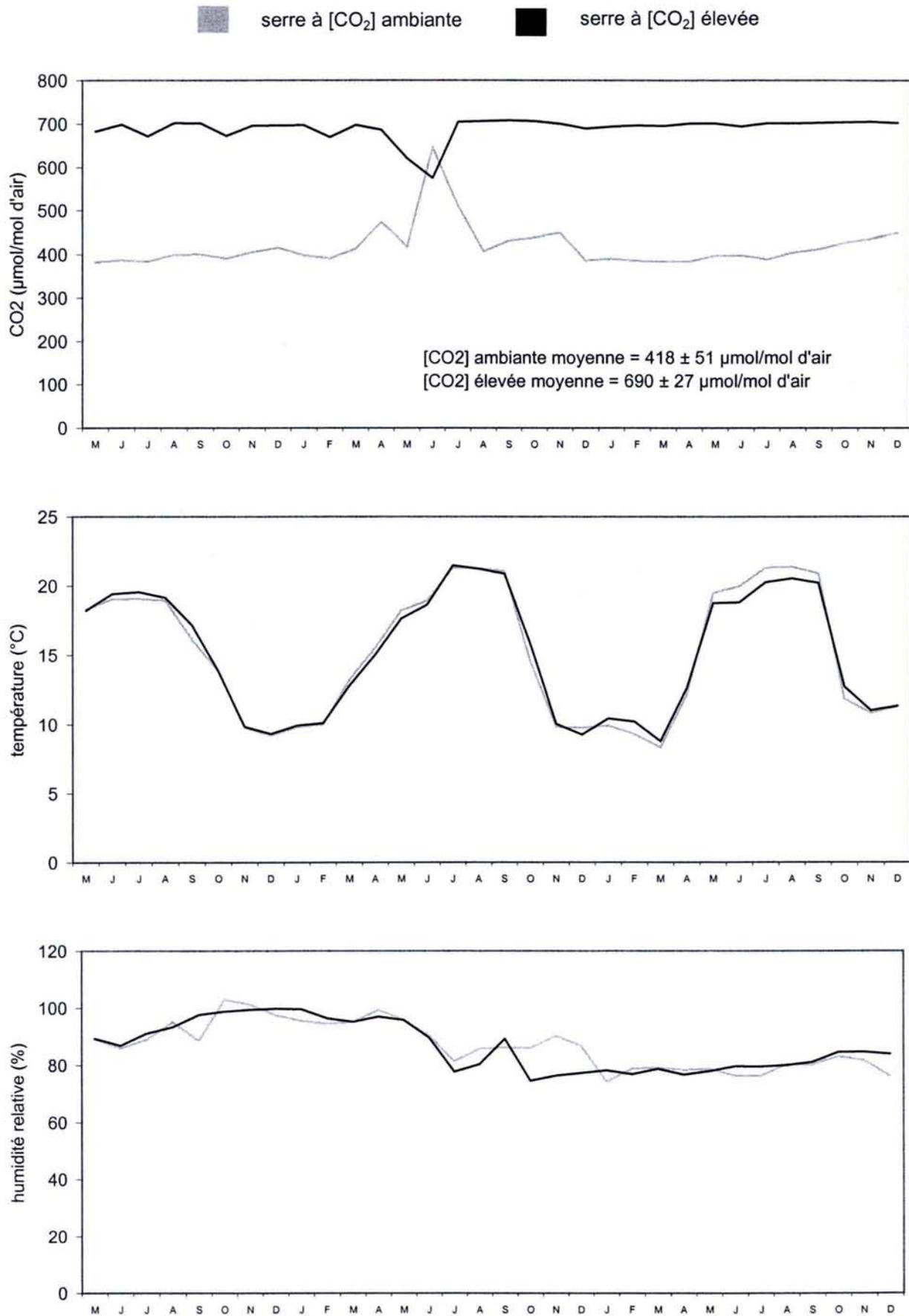
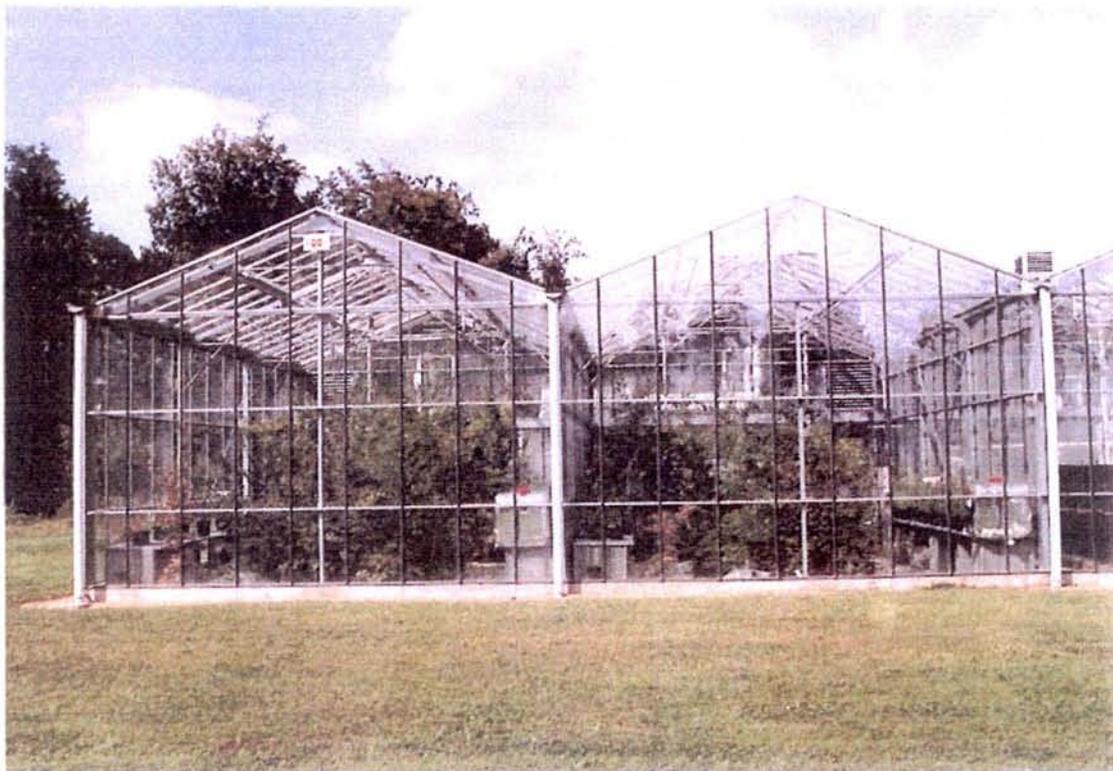


Figure 9 : Photographie des serres à CO₂ utilisées au cours de l'expérience ([CO₂] élevée à droite et ambiante à gauche).



PARTIE II : ETUDE COMPARATIVE DES EFFETS DE LA CONCENTRATION EN CO₂ ATMOSPHERIQUE SUR LA CROISSANCE ET LE BOIS DE JEUNES PLANTS DE *QUERCUS ROBUR* ET *FAGUS SYLVATICA*

1. ORIGINE DES PLANTS ET CONDITIONS DE CROISSANCE

Deux cent glands de chêne pédonculé (*Quercus robur* L.), et 200 faines de hêtre (*Fagus sylvatica* L.) ont été semés au printemps (avril), sur un mélange sable/tourbe (1/1 v/v), dans des pots en plastique de 5 l.

Les pots ont été placés dans 2 tunnels sous serre contenant chacun la moitié des individus des 2 espèces. Ces tunnels sont les mêmes que ceux utilisés pour l'expérience décrite dans la partie précédente et la régulation des paramètres climatiques a été contrôlée de la même façon (figure 8).

Pendant toute la durée de l'expérience, durant leur période de croissance, les plants ont été fertilisés tous les 3 mois avec un engrais en granulés à diffusion lente, complet en macroéléments et microéléments, le Nutricote NPK (13/13/13) T100. Tous les plants ont été arrosés à la capacité au champ de façon à éviter tout stress hydrique.

Les plants ont été répartis dans chaque tunnel en 4 blocs de 50 plants, chaque bloc étant constitué par une seule espèce, et les blocs et les plants ont régulièrement été intervertis.

Au début de leur seconde année de végétation, l'ensemble des plants a été transféré dans des serres de plus grande taille (9 x 6.40 m²) (figure 9) où ils sont restés jusqu'à la fin de leur troisième saison de végétation. Du fait de la plus grande taille des chênes par rapport aux hêtres, les plants ont été disposés en 2 blocs dans chaque serre, orientés de façon à ce que les chênes ne fassent pas d'ombre aux hêtres. Les plants de chaque bloc ont été régulièrement changés de place pour éviter les effets « bloc » tout au long de l'expérience.

Avant la reprise de croissance printanière des deuxième et troisième saisons de végétation, les plants ont été repotés avec un mélange sable/tourbe (1/1 v/v), dans des pots en plastique de 10 l et 20 l respectivement.

2. SUIVI DE LA CROISSANCE DES PLANTS

Durant les 3 années de culture, la croissance en hauteur a été mesurée régulièrement (tableau 1): au bout de 3 mois de croissance (juillet), en début et fin de 2^{ème} année (février et septembre) et en fin de 3^{ème} année (octobre et janvier).

Le diamètre à la base de la tige a également été mesuré en début de 2^{ème} année (février), et en fin de 2^{ème} année (septembre) (tableau 1). Pendant la 3^{ème} année, le diamètre a été mesuré toutes les semaines. Deux mesures par arbre ont été prises au milieu du premier étage formé

Tableau 1 : Tableau synoptique résumant les diverses mesures effectuées au cours de l'expérimentation

Année de croissance	Période de mesure	Type de mesure
1	juillet août	- Hauteur totale - Biomasse
2	février février septembre septembre	- Hauteur totale - Diamètre à la base - Hauteur totale - Diamètre à la base
3	de mars à octobre (mesure hebdomadaire) octobre octobre	- Diamètre à la base - Hauteur totale - Biomasse
4	janvier janvier janvier janvier	- Hauteur totale - Biomasse - Microdensité du bois de 3 ans - Composition chimique du bois de 3 ans (C, N, minéraux, cellulose, hémicellulose, lignine)

lors de la première année de croissance, toujours au même endroit, grâce à la présence de 2 points faits à la peinture (**tableau 1**).

3. PRELEVEMENT DES PLANTS

A la fin de la 3^{ème} année de croissance (octobre et janvier), les plants ont été prélevés (**tableau 1**), la partie aérienne séparée de la partie souterraine, soigneusement débarrassée de son substrat à l'eau et divisée en racines fines (diamètre inférieur à 2 mm) et grosses racines (diamètre supérieur à 2 mm). La partie aérienne a été découpée suivant ses 3 années de croissance et chaque étage formé individualisé. Les rameaux portés par chaque année de croissance ont été comptés, puis regroupés, et les feuilles comptées et séparées des rameaux. Les rameaux de l'année ont été séparés des rameaux formés antérieurement.

Un sous-échantillon représentant environ 20% des feuilles a été prélevé sur chaque plant pour mesurer la surface (Delta-T Devices, Cambridge, UK) par unité de masse foliaire (specific leaf area, SLA, $\text{dm}^2 \text{g}^{-1}$). La surface foliaire totale a été évaluée à partir des masses foliaires totales.

Pour le prélèvement du mois de janvier, la litière totale a été récoltée à l'aide de filets mis en place au préalable.

Après le prélèvement d'une section de tige pour les analyses de microdensité, l'ensemble des échantillons a été ensuite séché à l'étuve à 60°C, puis broyés à l'aide d'un broyeur à ruban (Cyclotec 1093 Sample Mill, Tecator, Höganäs, Suède),.

4. MESURE DE LA MICRODENSITE DU BOIS

4.1. Principe

Les mesures de microdensitométrie ont été réalisées selon la technique de Polge & Nicholls (1972).

Cette technique consiste en la réalisation de radiographies de sections transversales de tiges de bois, puis en l'étude des images obtenues à l'aide d'un logiciel spécialisé qui permet d'établir, en tous les points de l'image, la correspondance entre les niveaux de gris obtenus et la densité de bois.

Ces mesures ont été réalisées au sein de l'équipe Qualité des Bois de l'INRA de Champenoux (ERQB, UMR LERFOB)

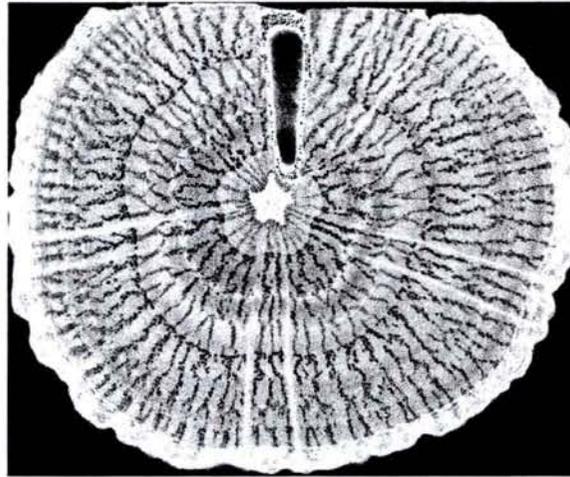
4.2. Prélèvement et préparation des échantillons

Parmi les chênes (*Quercus robur*) et les hêtres (*Fagus sylvatica*) de 3 ans élevés sous $[\text{CO}_2]$ ambiante ou $[\text{CO}_2]$ élevée, une vingtaine de plants de chaque espèce et de chaque traitement a été choisie au hasard (prélèvement du mois de janvier) (**tableau 1**).

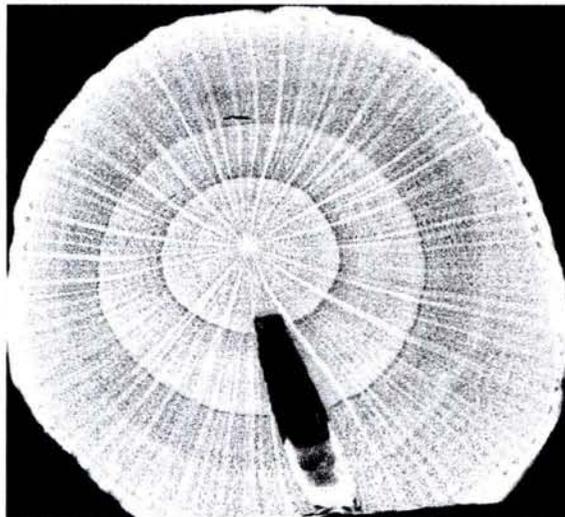
Sur chaque individu, un fragment de la tige principale d'une longueur d'au moins 2 cm a été découpé dans la portion de tige formée la première année de croissance, donc présentant 3

Figure 10 : Exemples d'images obtenues par radiographie aux rayons X d'une section transversale de tige de chêne (*Quercus robur*) et de hêtre (*Fagus sylvatica*).

Quercus robur



Fagus sylvatica



cernes annuels de croissance. La densité du bois étant différente au niveau des nœuds et des entre-nœuds, les échantillons ont tous été prélevés au centre de l'entre-nœud du deuxième étage de croissance, de façon à éviter tout biais dans l'échantillonnage.

Une fente longitudinale jusqu'à la moelle a été pratiquée dans chaque fragment de tige afin de créer une zone de faible résistance qui permettra l'écartement des 2 parties lors du séchage de l'échantillon sans qu'il se fende ailleurs.

Les échantillons ont été placés en chambre froide (+ 4°C), pendant 1 mois, pour qu'ils sèchent lentement. Une section longitudinale plane a été réalisée sur chaque fragment afin de les coller solidement et individuellement sur des supports en bois au niveau de cette section.

Une coupe transversale, d'une épaisseur de 2 mm, pour chaque échantillon a été réalisée à l'aide de scies fraises jumelées avec une broche de 2,8 mm d'épaisseur et ayant une vitesse de 800 tours/min.

Les rondelles obtenues sont pesées et leur diamètre est mesuré.

Elles ont été ensuite placées sous presse pour éviter toute déformation, pendant 1 semaine, dans une atmosphère à 10% d'humidité.

4.3. Réalisation des radiographies

Les rondelles sont placées sur un film photographique (type « M »). Un étalon de niveaux de gris est placé au centre du film (cale de référence en kémetal de densité connue, proche du coefficient d'absorption du bois).

Le film, avec les rondelles et la cale, est ensuite transféré dans l'appareil radiographique.

Une radiographie aux rayons X de l'ensemble est réalisée pendant 4 heures, avec la source de rayons X placée à 2,5 m des échantillons (7,5 kV, 12 mA).

4.4. Révélation des radiographies

Dans un bac à agitation douce, les radiographies sont plongées successivement dans un liquide « révélateur » pendant 20 min, dans un « bain d'arrêt » pendant 5 min, puis dans un bain contenant le « fixateur » pendant 15 min.

Entre chaque bain, les radiographies sont abondamment rincées à l'eau du robinet, puis un dernier rinçage à l'eau déionisée est effectué.

Pour éviter toute trace d'eau sur la radiographie, celle-ci est passée brièvement dans un dernier bain contenant un « liquide mouillant ».

4.5. Analyse de la densité du bois

Pour pouvoir être exploitée par des logiciels informatiques, l'image radiographique doit, tout d'abord, être numérisée à l'aide d'un scanner (**figure 10**)

Avant toute analyse, les niveaux de gris de l'ensemble de l'image obtenue doivent être corrigés, car le faisceau de rayons X n'est pas homogène sur toute la surface de la

radiographie. Sans correction de l'image, il n'y a pas de relation linéaire entre le niveau de gris en un point quelconque et la densité en ce point.

Cette phase, dite « d'homogénéisation » est réalisée grâce au logiciel « CRAD » (Mothe *et al.* 1998).

Ce logiciel homogénéise l'image en effectuant un quadrillage virtuel très fin de l'image. Les cadres les plus foncés correspondent aux zones de densité nulle, c'est-à-dire au fond de l'image.

Dans un premier temps, ce logiciel effectue un quadrillage virtuel très fin de l'image.

L'image se décompose alors en 2 catégories d'éléments : des éléments clairs qui correspondent à des zones où la densité est non nulle et des éléments sombres qui correspondent à des zones où la densité est nulle, donc au fond de la radiographie. Un facteur de correction propre à chaque cadre est appliqué de manière à ce que le niveau du gris des cadres composant le fond soit le même. Le fond est ainsi homogénéisé.

Puis, dans un deuxième temps, une correction des zones où se trouvent les échantillons est effectuée grâce aux facteurs de correction des cadres adjacents du fond précédemment calculés.

Les échantillons sont ensuite identifiés, leur poids, leur diamètre et leur épaisseur sont également intégrés au fichier.

La cale est également identifiée. Elle possède 3 zones de niveaux de gris différents qui ont également été corrigés et dont la densité est connue et préalablement intégrée aux données du logiciel.

Ainsi, le coefficient de régression de la relation liant un niveau de gris à la densité est déterminé.

Les données résultant de ce fichier sont ensuite traitées par un programme nommé « CERD » (Mothe *et al.* 1998) développé à l'ERQB de Nancy, permettant de calculer des données structurelles cerne par cerne. Ce travail ne s'effectue pas sur l'ensemble de l'échantillon mais seulement sur une partie suffisamment grande pour être représentative.

Les cernes sont délimités manuellement avec le pointeur de la souris, la première limite est créée au milieu de la moelle. L'âge de chaque cerne, compté depuis la moelle, est indiqué.

Le logiciel subdivise chaque cerne en 20 parties équivalentes, les « vingtiles », puis il calcule les données en effectuant 10 mesures par cerne en des points différents. Les densités moyenne, minimale et maximale de chaque vingtile sont mesurées. La transition entre le bois initial et le bois final est repérée par le brusque changement de la densité des vingtiles. Puis, le regroupement des données concernant les vingtiles permet de connaître les densités moyenne, minimale et maximale du cerne, du bois initial et du bois final, ainsi que la largeur du cerne et celles du bois initial et du bois final.

Les valeurs obtenues nécessitent des corrections :

(1) correction des microdensités mesurées par rapport aux valeurs des densités de contrôle :

La cale est un matériau industriel qui ne présente pas une structure intime aussi hétérogène que le bois. Les valeurs des microdensités calculées par rapport aux densités de contrôle de la cale sont donc légèrement biaisées et il convient de les corriger par un facteur de correction (CCD) dépendant du rapport de la densité de contrôle sur la densité moyenne de l'échantillon (k) selon l'équation :

$$\text{CCD} = (1-k) \times 10000$$

(2) correction des largeurs de cernes :

Sur des rondelles de bois, mais aussi parfois sur des barrettes, du fait de la courbe formée par les cernes, la largeur des cernes mesurée est surestimée d'une valeur proportionnelle à l'angle que forme la limite du cerne avec la tangente à cette limite.

(3) correction de la position de la transition entre bois initial et final chez le chêne :

Sur une représentation d'un profil de densité d'un cerne, la transition entre bois initial et bois final se situe au milieu (50%) de la pente reliant le minimum moyen de densité au maximum moyen de densité, pour la plupart des espèces. Chez le chêne, il a été montré que cette transition se situe aux alentours des 4/5^{ème} (80%) de la pente (Mothe *et al.* 1998).

5. COMPOSITION CHIMIQUE DU BOIS

Sur la partie de tige formée la 1^{ère} année de croissance, un échantillon est coupé dans le 2^{ème} étage formé chez le chêne et dans un entre-nœud situé au milieu de la tige chez le hêtre (prélèvement du mois de janvier) (**tableau 1**). Après avoir été séchées à l'étuve à 60°C, ces sections de tiges sont prédécoupées et broyées avec un broyeur à ruban (Cyclotec 1093 Sample Mill, Tecator, Höganäs, Suède).

Un mg de poudre est analysée par un analyseur élémentaire (NA 1500 NCS, Carlo Erba, Milan, Italy) pour déterminer le pourcentage en carbone et en azote de l'échantillon.

La poudre obtenue après broyage est également analysée par spectroscopie de réflexion dans le proche infra-rouge (NIRSystems 6500, Foss NIRSystems, Raamsdonksveer, Pays Bas). La concentration en cellulose, hémicellulose, lignine et cendres (éléments minéraux) dans le bois, a ainsi été estimée et le modèle de prédiction a été élaboré à partir de données établies sur du chêne vert (*Quercus ilex*) (Joffre, communication personnelle).

6. ANALYSES STATISTIQUES

Une analyse de variance (ANOVA) à 2 facteurs (procédure GLM, SAS statistical software package, 1989 ; SAS Institute Inc., Cary, NC) suivie du test de Tukey a été menée sur l'ensemble des données afin d'étudier les effets de l'augmentation de la [CO₂] et les effets « espèce » sur les différentes variables mesurées.

RESULTATS

Tableau 2 : Bilan de la croissance de *Quercus robur* en fin de saison de végétation : hauteur totale des plants (Ht), nombre d'étages formés (étages), biomasse de la partie souterraine (R), biomasse de la partie aérienne sans la litière (S) et rapport R/S. Les plants ont été cultivés sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée non limitante (N+) ou limitante (N-) pendant une saison de végétation. Une même lettre suivant une série de valeurs indique que celles-ci ne sont pas significativement différentes à un seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001)

	AN-	AN+	EN-	EN+	CO ₂	N	CO ₂ *N
Ht (cm)	36,05 a	91,43 b	39,98 a	128,28 c	***	***	***
Etages	2,83 a	3,53 b	2,97 a	3,54 b	ns	***	ns
R (g)	12,41 a	31,87 b	14,11 a	49,42 c	***	***	**
S (g)	3,33 a	26,61 b	5,06 a	44,85 c	***	***	***
R/S	3,87 c	1,31 a	2,91 b	1,12 a	***	***	*

PARTIE I : EFFETS INTERACTIFS DE LA [CO₂] ET DE LA FERTILISATION N SOL SUR LA GESTION DU C ET N CHEZ DES JEUNES PLANTS DE *QUERCUS ROBUR*

Au cours de cette étude, nous nous sommes intéressé aux effets de l'augmentation de la concentration en CO₂ et à leur modulation par le niveau de fertilisation azotée. De ce fait, bien que la fertilisation N ait en général un impact fort sur les paramètres étudiés, ses effets directs sur les différentes variables ne seront généralement pas mentionnés, sauf s'ils présentent un intérêt particulier.

Les résultats de ce travail sont présentés en 3 parties :

- dans une première partie, nous traitons du bilan de l'acquisition et de l'allocation du C et du N acquis au terme d'une saison de végétation, et du C et N acquis en fin de saison (marquages ¹³C et ¹⁵N). Nous suivons l'évolution de ces éléments depuis l'entrée en phase hivernale (janvier) jusqu'à la mise en place du premier étage de croissance l'année suivante (avril) ;
- dans une seconde partie, nous nous intéressons au stockage de composés de réserves C et N dans les différents organes à l'entrée de l'hiver et à leur évolution jusqu'à la formation du premier étage de croissance l'année suivante ;
- dans une troisième partie, nous étudions la mise en place des nouveaux organes au printemps, en cherchant à établir les facteurs déterminants pour cette croissance.

1. CROISSANCE ET BILANS DE C ET N

1.1. Bilans à l'entrée de l'hiver (janvier)

1.1.1. Hauteur totale de la tige et nombre d'étages des plants

L'augmentation de la concentration en CO₂ n'a aucun effet sur la croissance en hauteur des plants sous fertilisation N limitante (N-), cependant qu'une stimulation de la croissance en hauteur des plants de 40% est notée sous fertilisation N non limitante (N+) (**tableau 2**).

Le nombre d'étages formés par la tige principale n'est pas affecté par la [CO₂] (**tableau 2**).

Figure 11 : Rapport des biomasses des parties souterraines (R) et aériennes (S) (R/S) en fonction de la biomasse totale du plant (a) au cours de la phase hivernale chez des jeunes plants de *Quercus robur* cultivés pendant une saison de végétation sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/l. Chaque point correspond à un individu (N = 70). Les valeurs moyennes pour chaque traitement sont indiquées en (b).

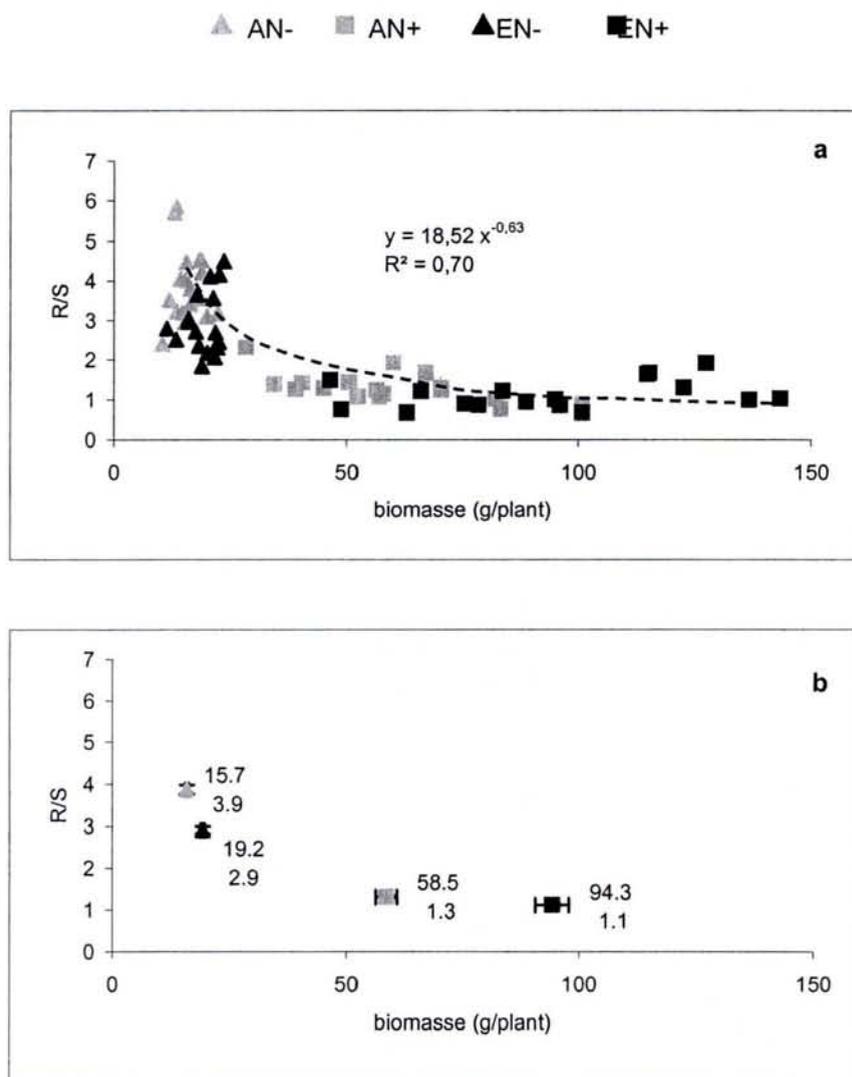


Figure 12 : Relation entre la quantité de C et la biomasse des différents organes (racines fines et grosses, tiges, nouvelles tiges et nouvelles feuilles) de jeunes plants de *Quercus robur* cultivés depuis le semis sous [CO₂] ambiante ou élevée en association avec une fertilisation azotée optimale ou sub-optimale. Les données correspondent à 3 dates différentes de prélèvement des plants (janvier, mars, avril). Chaque point correspond à un organe, un traitement et une date de prélèvement donnés pour un individu (N = 525).

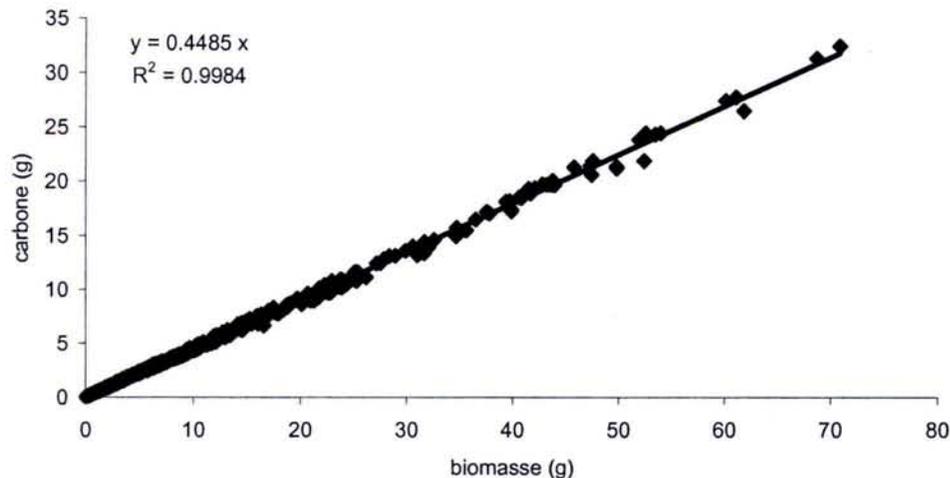


Tableau 3 : Equations et R² de la relation entre la quantité de C (QC) et la biomasse (MS) des différents organes de jeunes plants de *Quercus robur*. Les pourcentages de C (%C) mesurés sur ces différents organes sont également indiqués. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous CO₂ ambiant ou CO₂ élevé en association avec une fertilisation azotée optimale ou sub-optimale, et prélevés à la fin de la saison (janvier), et au début de la saison suivante (mars et avril). Ne présentant pas de différences significatives, les traitements et dates de prélèvements ne sont pas distingués.

Organe	Equation de régression	R ²	%C
Parties pérennes	QC = 0,4481 × MS	0,9996	44,90
<i>Racines fines</i>	QC = 0,4594 × MS	0,9989	46,71
<i>Grosses racines</i>	QC = 0,4312 × MS	0,9989	43,35
<i>Tiges</i>	QC = 0,4564 × MS	0,9998	45,86
Nouveaux organes	QC = 0,4640 × MS	0,9998	46,36
<i>Nouvelles feuilles</i>	QC = 0,4698 × MS	0,9999	46,67
<i>Nouvelles tiges</i>	QC = 0,4413 × MS	0,9990	44,92
Plant	QC = 0,4495 × MS	0,9995	44,97

1.1.2. Répartition de la biomasse

L'augmentation de la [CO₂] a pour effet de diminuer le rapport R/S, mais uniquement dans les conditions N- (**tableau 2**).

Au niveau individuel et pour l'ensemble des traitements, le rapport R/S est lié à la biomasse totale du plant (M_{plant}) par une relation curvilinéaire décroissante (**figure 11**).

$$R/S = 18,52 \times M_{\text{plant}}^{(-0,63)} \quad (R^2 = 0,70)$$

Du fait de la ségrégation des points N+ et N- sur l'axe des x, on ne peut conclure quant à la nature des effets des traitements sur R/S (effet plastique ou simplement ontogénique). Cependant à l'intérieur de chacun des traitements N, les nuages de points paraissent confondus pour [CO₂]₃₅₀ et [CO₂]₇₀₀, traduisant l'absence d'un effet spécifique de [CO₂] sur R/S.

1.1.3. Relations entre biomasse et quantité de C

Pour chacun des organes considérés, il existe une relation linéaire liant la quantité de C de l'organe à sa biomasse (**tableau 3**). Quel que soit l'organe, la relation observée est très forte (R^2 compris entre 0,9989 et 0,9999) et est indépendante de la date de prélèvement des plants et des traitements. La pente de cette relation correspond à la concentration en C des organes et varie très peu d'un organe à l'autre. Cette constatation a permis d'établir une relation générale liant la quantité de C d'un organe ou du plant entier à sa biomasse (**figure 12**).

En conséquence, dans la suite nous ne donnerons pas les valeurs de biomasse accumulée mais uniquement les valeurs de C accumulé.

1.1.4. Quantités et répartition de C et N

Après une saison de végétation, l'augmentation de la [CO₂] n'a d'effet sur l'accumulation de carbone d'aucun organe pour le traitement N- (**figure 13, tableau 4**). Pour le traitement N+, l'augmentation de la [CO₂] a pour conséquence une plus forte accumulation de C dans tous les organes (+84% au niveau du plant). La tige est l'organe le plus fortement stimulé par l'augmentation de la [CO₂] (+104%).

Quel que soit le niveau de fertilisation azotée, l'augmentation de la [CO₂] n'a aucun effet sur la quantité de N accumulé en fin de saison de végétation dans les racines fines et les grosses racines (**figure 13, tableau 4**). Par contre, l'effet d'une augmentation de la [CO₂] sur l'accumulation de N dans les tiges est conditionné par le niveau de fertilisation azotée. Pour N+, l'accumulation de N dans les tiges est stimulée (+ 51%) ce qui a pour résultat une plus forte accumulation de N à l'échelle du plant entier (+27%), alors que pour N-, aucun effet de la [CO₂] n'est visible ni sur la tige, ni sur le plant.

A l'échelle du plant entier, la [CO₂] n'a aucune influence sur la répartition relative du C et de N entre les organes, à l'exception près des tiges (**figure 14, tableau 5**). L'augmentation de la [CO₂] se traduit par une légère augmentation de la répartition de N (+9%), mais pas de C, dans cet organe et uniquement dans les conditions N+.

Figure 13 : Quantités de carbone (a) et d'azote (b) (en g) accumulées au cours du temps dans les différents organes (racines fines : Rf, grosses racines : Rg, tiges : Tg, ensemble des nouveaux organes : NO) de jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/l, pendant une saison de végétation, puis prélevés au début de la phase hivernale (janvier, J), au début du débourrement (mars, M) et à l'étalement du premier étage foliaire en 2ème année (avril, A). Chaque valeur correspond à la moyenne de 8 à 14 plants.

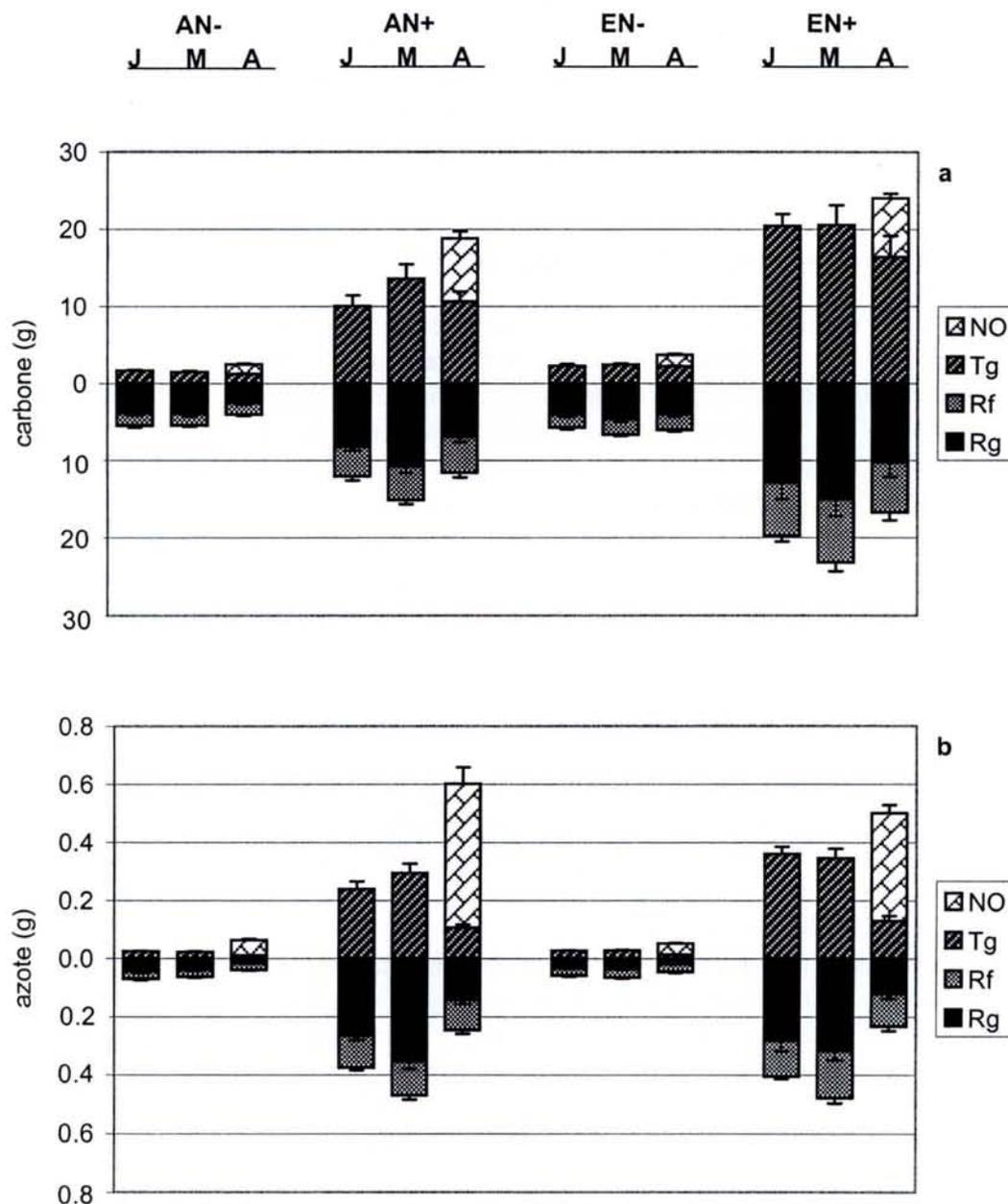


Tableau 4 : Valeurs moyennes des traitements et résultats des analyses statistiques des données de la figure 13. Pour une date et un organe donnés, une lettre identique suivant les valeurs moyennes des traitements indique que ces valeurs ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5%. L'effet temps pour un organe et un traitement donnés est mentionné entre parenthèses (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001).

Date	AN-	AN+	EN-	EN+	CO2	N	CO ₂ *N
Quantités de C (g)							
<i>Racines fines</i>							
J	1.63 a (a)	3.94 b (a)	1.68 a (a)	6.86 c (a)	**	***	**
M	1.55 a (a)	4.44 b (a)	2.08 a (a)	8.14 c (a)	**	***	*
A	1.55 a (a)	4.72 b (a)	2.03 a (a)	6.51 b (a)	ns	***	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	3.91 a (b)	8.22 b (ab)	4.08 ab (a)	12.95 c (a)	*	***	ns
M	3.92 a (b)	10.79 b (b)	4.60 a (a)	15.07 b (a)	*	***	ns
A	2.54 a (a)	6.92 b (a)	4.04 ab (a)	10.28 c (a)	**	***	ns
<i>Tige</i>							
J	1.65 a (b)	10.04 b (a)	2.25 a (a)	20.45 c (a)	***	***	***
M	1.46 a (ab)	13.58 b (a)	2.41 a (a)	20.53 b (a)	*	***	ns
A	1.16 a (a)	10.59 b (a)	2.15 a (a)	16.38 b (a)	*	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	7.19 a (b)	21.88 b (a)	8.02 a (a)	40.26 c (a)	***	***	***
M	6.92 a (b)	28.81 b (a)	9.09 a (a)	43.75 b (a)	**	***	*
A	5.25 a (a)	22.24 b (a)	8.22 a (a)	33.17 c (a)	**	***	ns
<i>Plant</i>							
J	7.19 a (a)	21.88 b (a)	8.02 a (a)	40.26 c (a)	***	***	***
M	6.92 a (a)	28.81 b (a)	9.09 a (a)	43.75 c (a)	**	***	*
A	6.56 a (a)	30.42 b (a)	9.77 a (a)	39.36 b (a)	*	***	ns
Quantités de N (g)							
<i>Racines fines</i>							
J	0.03 a (a)	0.11 b (a)	0.03 a (a)	0.12 b (ab)	ns	***	ns
M	0.02 a (a)	0.12 b (a)	0.03 a (a)	0.16 c (b)	*	***	ns
A	0.02 a (a)	0.10 b (a)	0.03 a (a)	0.11 b (a)	ns	***	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	0.05 a (b)	0.27 b (b)	0.03 a (b)	0.28 b (b)	ns	***	ns
M	0.04 a (b)	0.35 b (c)	0.04 a (b)	0.32 b (b)	ns	***	ns
A	0.02 a (a)	0.14 b (a)	0.02 a (a)	0.12 b (a)	ns	***	ns
<i>Tige</i>							
J	0.02 a (b)	0.24 b (b)	0.03 a (b)	0.36 c (b)	**	***	**
M	0.02 a (b)	0.29 b (b)	0.03 a (b)	0.34 b (b)	ns	***	ns
A	0.01 a (a)	0.10 b (a)	0.01 a (a)	0.13 b (a)	ns	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	0.10 a (b)	0.60 b (b)	0.09 a (b)	0.77 c (b)	*	***	**
M	0.09 a (b)	0.76 b (b)	0.09 a (b)	0.83 b (b)	ns	***	ns
A	0.05 a (a)	0.35 b (a)	0.06 a (a)	0.36 b (a)	ns	***	ns
<i>Plant</i>							
J	0.10 a (a)	0.60 b (a)	0.09 a (a)	0.77 c (a)	*	***	**
M	0.09 a (a)	0.76 b (a)	0.09 a (a)	0.83 b (a)	ns	***	ns
A	0.10 a (a)	0.85 b (a)	0.10 a (a)	0.73 b (a)	ns	***	ns

Figure 14 : Proportions de C (a) et de N (b) du plant (mg/100 mg plant) présentes au cours du temps dans les différents organes (racines fines : Rf, grosses racines : Rg, tiges : Tg, ensemble des nouveaux organes : NO) de jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/l, pendant une saison de végétation, analysés au début de la phase hivernale (janvier, J), au début du débourrement (mars, M) et à l'étalement du premier étage foliaire en 2ème année (avril, A). Chaque valeur correspond à la moyenne de 8 à 14 plants.

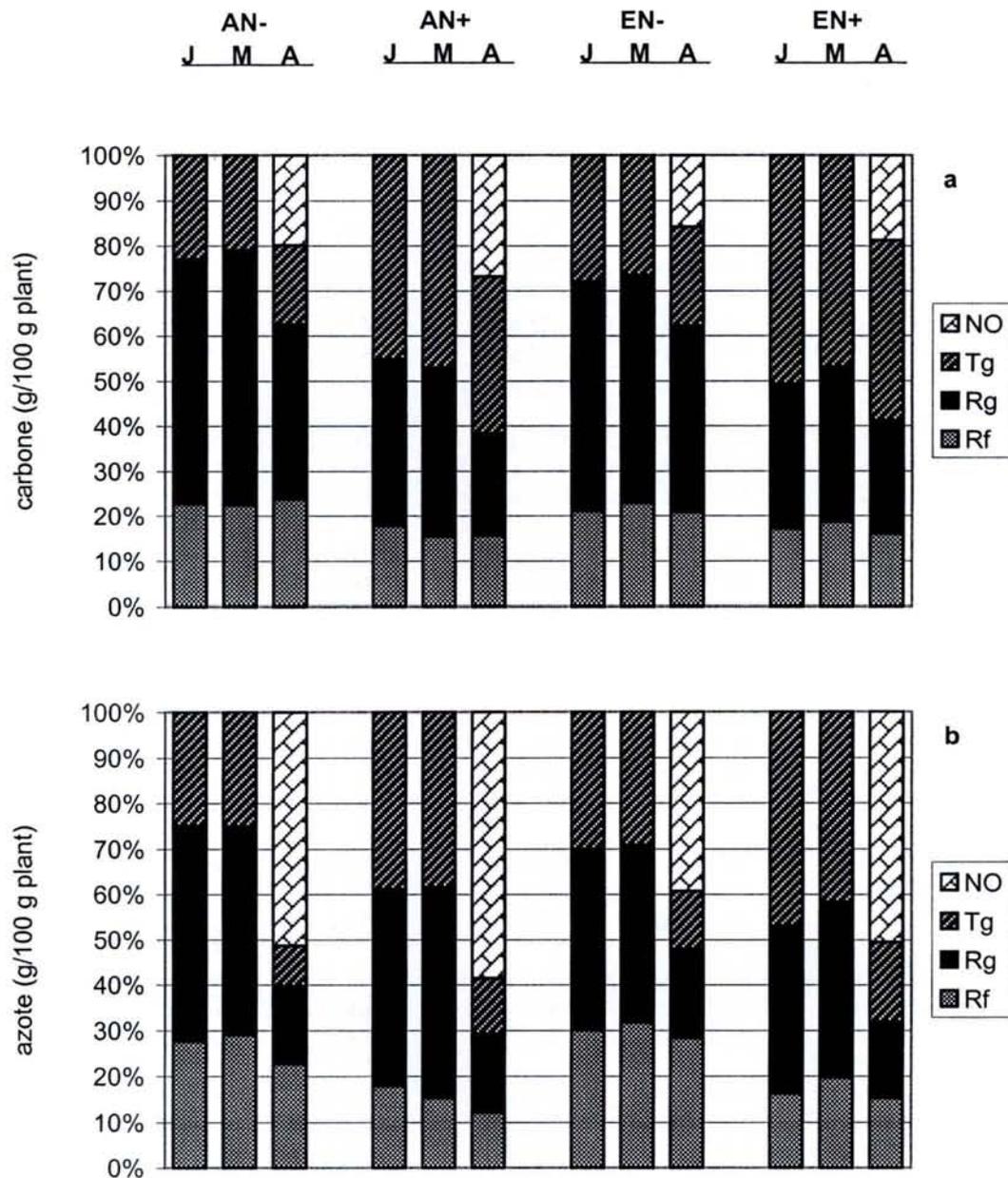


Tableau 5 : Valeurs moyennes des traitements et résultats de analyses statistiques des données de la figure 14. Pour une date et un organe donnés, une lettre identique suivant les valeurs moyennes des traitements indique que ces valeurs ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%. L'effet temps pour un organe et un traitement donnés est mentionné entre parenthèses (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001).

Date	AN-	AN+	EN-	EN+	CO2	N	CO ₂ *N
Répartition du C (%)							
<i>Racines fines</i>							
J	22.2 a (a)	17.5 a (a)	20.9 a (a)	16.9 a (a)	ns	**	ns
M	22.9 b (a)	15.4 a (a)	23.2 b (a)	18.4 ab (a)	ns	***	ns
A	23.8 b (a)	15.0 a (a)	20.8 b (a)	14.9 a (a)	ns	***	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	54.5 b (b)	37.8 a (b)	51.4 b (b)	31.3 a (a)	*	***	ns
M	56.3 b (b)	38.6 a (b)	49.9 b (b)	34.3 a (a)	ns	***	ns
A	38.1 b (a)	23.4 a (a)	41.2 b (a)	24.9 a (a)	ns	***	ns
<i>Tige</i>							
J	23.3 a (b)	44.7 b (b)	27.7 a (b)	51.8 b (b)	**	***	ns
M	20.8 a (ab)	45.9 b (b)	26.9 a (b)	47.3 b (ab)	ns	***	ns
A	17.6 a (a)	34.6 b (a)	22.0 a (a)	37.0 b (a)	ns	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	100.0	100.0	100.0	100.0	-	-	-
M	100.0	100.0	100.0	100.0	-	-	-
A	79.5 ab	73.0 a	84.0 b	76.8 ab	ns	**	ns
Répartition de N (%)							
<i>Racines fines</i>							
J	27.7 b (a)	17.6 a (b)	29.5 b (a)	16.3 a (ab)	ns	***	ns
M	29.1 b (a)	15.1 a (ab)	31.9 b (a)	19.8 a (b)	*	***	ns
A	22.9 b (a)	12.2 a (a)	28.2 c (a)	14.3 a (a)	**	***	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	46.9 b (b)	43.6 ab (b)	40.3 ab (b)	36.1 a (b)	*	ns	ns
M	46.1 a (b)	46.9 a (b)	38.8 a (b)	38.6 a (b)	**	ns	ns
A	17.3 a (a)	18.0 a (a)	19.9 a (a)	16.5 a (a)	ns	ns	ns
<i>Tige</i>							
J	25.5 a (b)	38.9 b (b)	30.2 a (b)	47.6 c (b)	**	***	ns
M	24.9 a (b)	38.0 b (b)	29.3 a (b)	41.7 b (b)	*	***	ns
A	9.0 a (a)	12.7 b (a)	12.8 bc (a)	16.7 c (a)	***	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	100.0	100.0	100.0	100.0	-	-	-
M	100.0	100.0	100.0	100.0	-	-	-
A	49.2 a	42.9 a	60.9 b	47.5 a	**	***	ns

Figure 15 : Quantités de ^{13}C (a) et de ^{15}N (b) en excès (en mg) présentes au cours du temps dans les différents organes (racines fines : Rf, grosses racines : Rg, tiges : Tg, ensemble des nouveaux organes : NO) de jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés sous une $[\text{CO}_2]$ ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/l, pendant une saison de végétation, puis marqués à l'automne. Ils ont ensuite été analysés au début de la phase hivernale (janvier, J), au début du débourrement (mars, M) et à l'étalement du premier étage foliaire en 2ème année (avril, A). Chaque valeur correspond à la moyenne de 3 à 5 plants.

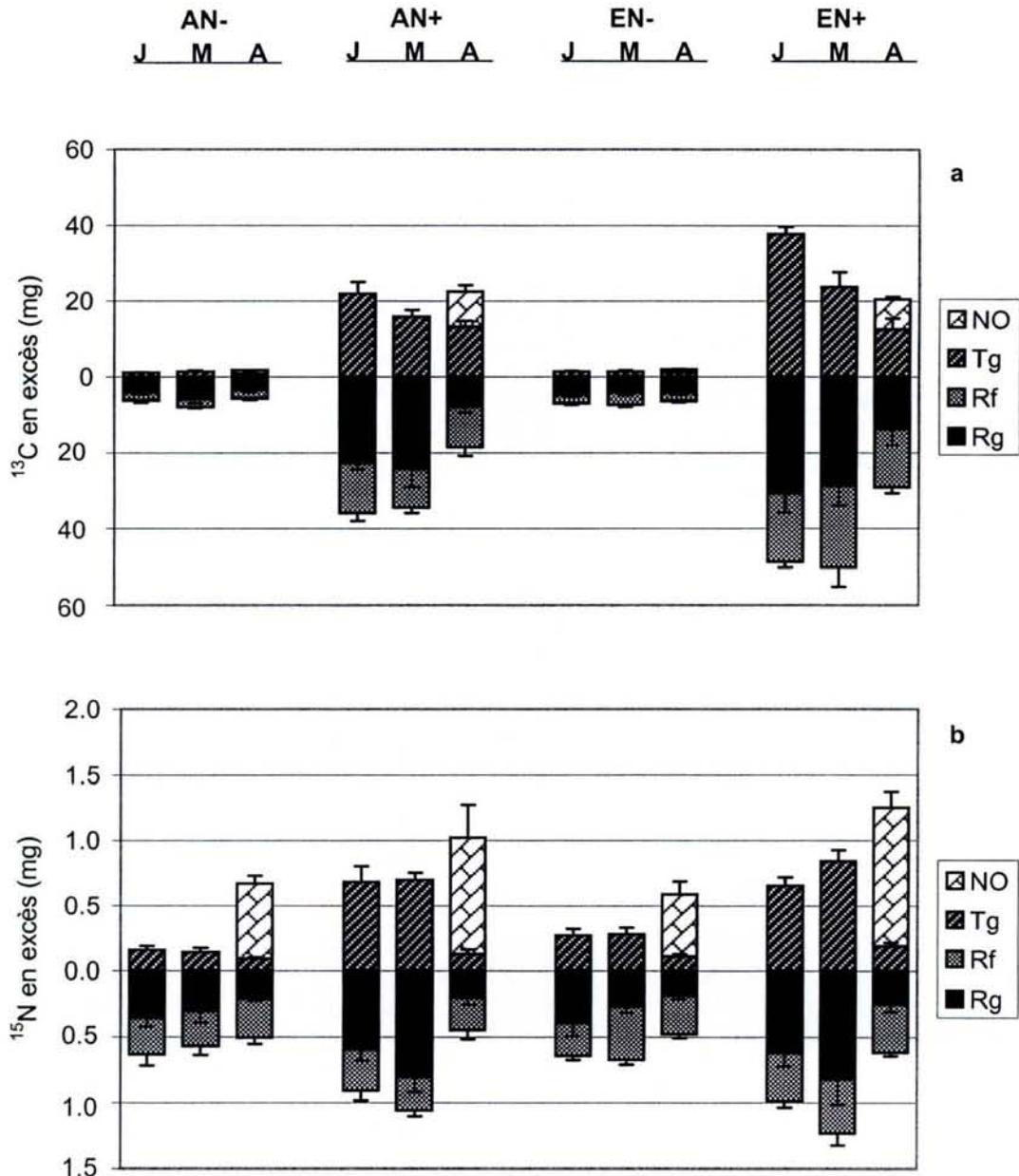


Tableau 6 : Valeurs moyennes des traitements et résultats des analyses statistiques des données de la figure 15. Pour une date et un organe donnés, une lettre identique suivant les valeurs moyennes des traitements indique que ces valeurs ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5%. L'effet temps pour un organe et un traitement donnés est mentionné entre parenthèses (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001).

Date	AN-	AN+	EN-	EN+	CO2	N	CO ₂ *N
Quantités de ¹³C en excès (mg)							
<i>Racines fines</i>							
J	2.02 a (a)	13.10 b (a)	2.07 a (a)	18.06 b (a)	ns	***	ns
M	2.16 a (a)	10.22 a (a)	3.15 a (a)	21.57 b (a)	*	***	*
A	2.16 a (a)	10.73 b (a)	2.08 a (a)	15.56 b (a)	ns	***	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	4.23 a (a)	22.92 b (b)	4.86 a (a)	30.89 b (a)	ns	***	ns
M	5.85 a (a)	24.33 b (b)	4.19 a (a)	28.84 b (a)	ns	***	ns
A	3.51 a (a)	7.85 ab (a)	4.27 a (a)	13.80 b (a)	ns	**	ns
<i>Tige</i>							
J	1.07 a (a)	21.96 b (b)	1.31 a (a)	37.73 c (b)	***	***	**
M	1.30 a (a)	15.89 b (ab)	1.30 a (a)	23.83 c (a)	*	***	*
A	0.79 a (a)	13.13 b (a)	1.04 a (a)	12.47 b (a)	ns	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	7.33 a (a)	57.90 b (b)	8.27 a (a)	86.50 c (b)	**	***	**
M	9.33 a (a)	50.36 b (b)	8.62 a (a)	74.05 c (b)	*	***	*
A	6.47 a (a)	31.63 b (a)	7.41 a (a)	41.66 c (a)	*	***	ns
<i>Plant</i>							
J	7.33 a (a)	57.90 b (a)	8.27 a (a)	86.50 c (b)	**	***	**
M	9.33 a (a)	50.36 b (a)	8.62 a (a)	74.05 c (ab)	*	***	*
A	7.37 a (a)	42.58 b (a)	8.22 a (a)	50.06 b (a)	ns	***	ns
Quantités de ¹⁵N en excès (mg)							
<i>Racines fines</i>							
J	0.28 a (a)	0.31 a (a)	0.25 a (a)	0.37 a (a)	ns	ns	ns
M	0.26 a (a)	0.25 a (a)	0.41 a (b)	0.41 a (a)	ns	ns	ns
A	0.30 a (a)	0.25 a (a)	0.30 a (ab)	0.37 a (a)	ns	ns	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	0.36 a (a)	0.60 a (b)	0.39 a (a)	0.62 a (ab)	ns	ns	ns
M	0.31 a (a)	0.81 b (b)	0.27 a (a)	0.82 b (b)	ns	***	ns
A	0.21 a (a)	0.20 a (a)	0.18 a (a)	0.25 a (a)	ns	ns	ns
<i>Tige</i>							
J	0.16 a (a)	0.68 b (b)	0.27 a (ab)	0.65 b (b)	ns	***	ns
M	0.14 a (a)	0.70 b (b)	0.28 a (b)	0.84 b (b)	*	***	ns
A	0.09 a (a)	0.13 a (a)	0.11 a (a)	0.19 a (a)	ns	ns	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	0.79 a (a)	1.59 bc (b)	0.92 ab (ab)	1.64 c (b)	ns	***	ns
M	0.71 a (a)	1.76 b (b)	0.95 a (b)	2.07 b (b)	ns	***	ns
A	0.60 a (a)	0.57 a (a)	0.58 a (a)	0.81 a (a)	ns	ns	ns
<i>Plant</i>							
J	0.79 a (a)	1.59 bc (a)	0.92 ab (a)	1.64 c (a)	ns	***	ns
M	0.71 a (a)	1.76 b (a)	0.95 a (a)	2.07 b (a)	ns	***	ns
A	1.18 a (a)	1.42 a (a)	1.03 a (a)	1.88 a (a)	ns	ns	ns

Figure 16 : Proportions de ^{13}C (a) et de ^{15}N (b) en excès du plant (mg/100 mg plant) présentes au cours du temps dans les différents organes (racines fines : Rf, grosses racines : Rg, tiges : Tg, ensemble des nouveaux organes : NO) de jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés sous une $[\text{CO}_2]$ ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/l, pendant une saison de végétation, puis marqués à l'automne. Ils ont ensuite été analysés au début de la phase hivernale (janvier, J), au début du débourrement (mars, M) et à l'étalement du premier étage foliaire en 2ème année (avril, A). Chaque valeur correspond à la moyenne de 3 à 5 plants.

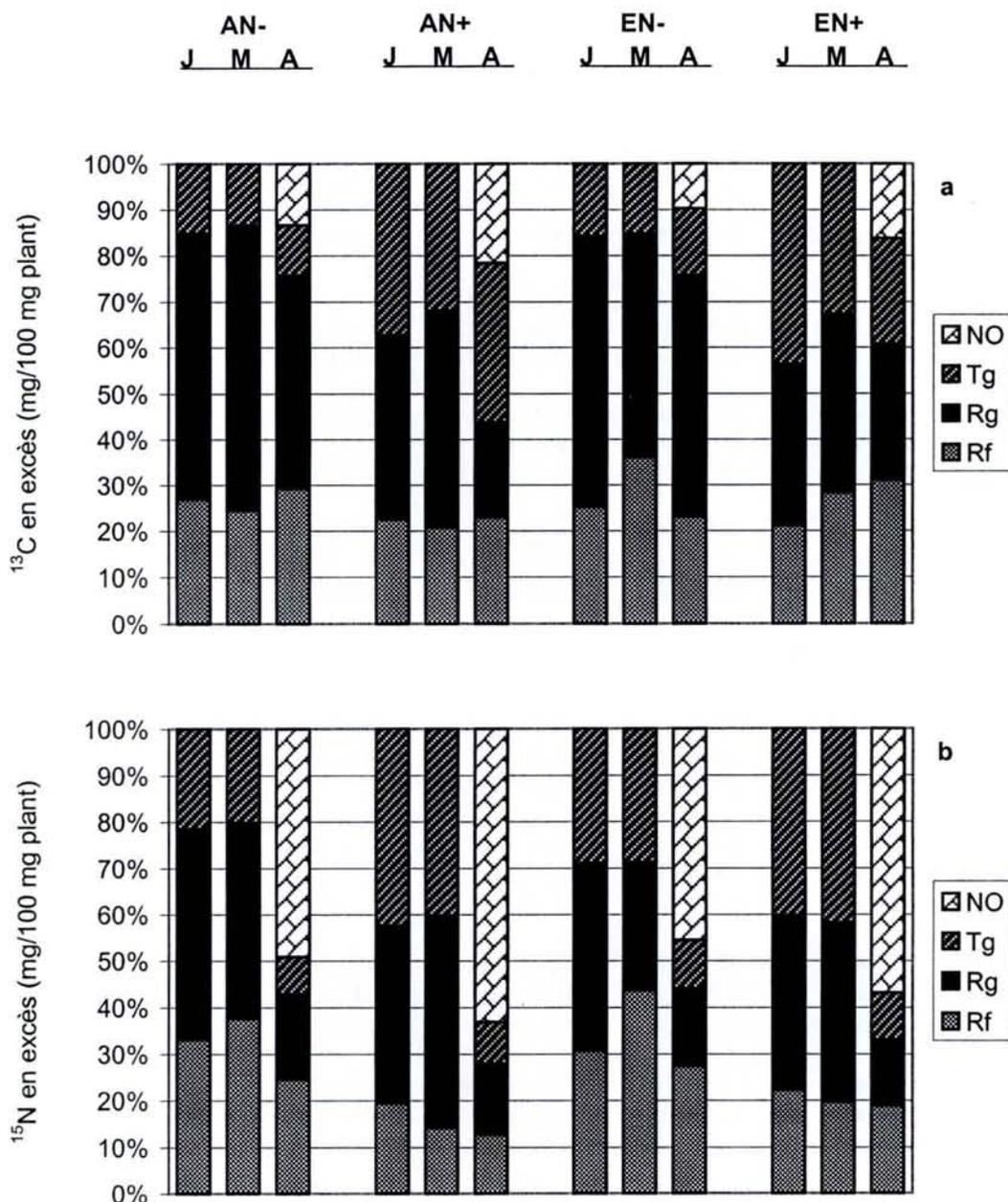


Tableau 7 : Valeurs moyennes des traitements et résultats de l'analyse statistique des données de la figure 16. Pour une date et un organe donnés, une lettre identique suivant les valeurs moyennes des traitements indique que ces valeurs ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5%. L'effet temps pour un organe et un traitement donnés est mentionné entre parenthèses (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001).

Date	AN-	AN+	EN-	EN+	CO2	N	CO ₂ *N
Répartition du ¹³C en excès (%)							
<i>Racines fines</i>							
J	26.8 a (a)	22.5 a (a)	25.1 a (a)	21.2 a (a)	ns	ns	ns
M	24.4 a (a)	20.8 a (a)	36.0 b (b)	28.3 ab (a)	**	ns	ns
A	29.1 a (a)	23.0 a (a)	23.0 a (a)	31.0 a (a)	ns	ns	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	57.8 b (b)	40.1 a (ab)	58.9 b (a)	35.2 a (a)	ns	***	ns
M	62.0 a (b)	47.3 a (b)	48.5 a (a)	39.1 a (a)	ns	ns	ns
A	46.5 bc (a)	20.6 a (a)	52.5 c (a)	29.7 ab (a)	ns	***	ns
<i>Tige</i>							
J	15.3 a (a)	37.5 b (a)	15.8 a (a)	43.8 b (a)	ns	***	ns
M	13.5 a (a)	32.1 b (a)	15.3 a (a)	32.9 b (a)	ns	***	ns
A	10.9 a (a)	34.7 b (a)	14.5 ab (a)	23.2 ab (a)	ns	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	100.0	100.0	100.0	100.0	-	-	-
M	100.0	100.0	100.0	100.0	-	-	-
A	86.5 b	78.3 a	90.2 b	83.7 ab	*	**	ns
Répartition du ¹⁵N en excès (mg)							
<i>Racines fines</i>							
J	33.1 a (a)	19.4 a (a)	30.6 a (a)	22.2 a (a)	ns	ns	ns
M	37.6 b (a)	14.2 a (a)	43.6 b (a)	19.7 a (a)	ns	***	ns
A	24.5 b (a)	12.7 a (a)	27.3 b (a)	18.8 ab (a)	ns	***	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	45.3 a (b)	38.1 a (b)	40.4 a (b)	37.5 a (b)	ns	ns	ns
M	42.1 b (b)	45.5 b (b)	27.5 a (ab)	38.5 ab (b)	***	*	ns
A	18.3 a (a)	15.0 a (a)	16.6 a (a)	14.1 a (a)	ns	ns	ns
<i>Tige</i>							
J	21.6 a (b)	42.5 b (b)	29.0 ab (b)	40.3 b (b)	ns	***	ns
M	20.3 a (b)	40.3 b (b)	28.9 ab (b)	41.9 b (b)	ns	***	ns
A	8.0 a (a)	9.1 a (a)	10.4 a (a)	10.1 a (a)	ns	ns	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	100.0	100.0	100.0	100.0	-	-	-
M	100.0	100.0	100.0	100.0	-	-	-
A	50.8 b	36.9 a	54.4 b	43.1 ab	ns	**	ns

Tableau 8 : Evolution au cours du temps des teneurs en azote et du rapport C/N dans les différents organes de jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/l, pendant une saison de végétation, puis prélevés au début de la phase hivernale (janvier), au début du débourrement (mars) et à l'étalement du premier étage foliaire en 2^{ème} année (avril). Chaque valeur correspond à la moyenne de 8 à 14 plants. Pour une date et un organe donnés, une lettre identique suivant les valeurs moyennes des traitements indique que ces valeurs ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5%. L'effet temps pour un organe et un traitement donnés est mentionné entre parenthèses (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001).

Date	AN-	AN+	EN-	EN+	CO ₂	N	CO ₂ *N
Teneurs en N (g N / 100g MS)							
<i>Racines fines</i>							
J	0,78 a (a)	1,31 b (a)	0,74 a (a)	0,86 a (a)	***	***	***
M	0,77 a (a)	1,20 b (a)	0,69 a (a)	0,99 b (a)	*	***	ns
A	0,75 a (a)	1,11 b (a)	0,66 a (a)	0,86 a (a)	**	***	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	0,50 a (b)	1,40 c (b)	0,38 a (b)	0,98 b (b)	***	***	*
M	0,45 a (b)	1,41 c (b)	0,36 a (b)	0,99 b (b)	***	***	**
A	0,32 ab (a)	0,99 c (a)	0,21 a (a)	0,60 b (a)	**	***	ns
<i>Tige</i>							
J	0,68 ab (b)	1,12 c (b)	0,56 a (b)	0,82 b (b)	***	***	ns
M	0,71 b (b)	1,02 c (b)	0,53 a (b)	0,80 b (b)	***	***	ns
A	0,38 b (a)	0,48 c (a)	0,27 a (a)	0,39 b (a)	***	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	0,60 a (b)	1,27 c (b)	0,50 a (b)	0,88 b (b)	***	***	**
M	0,57 a (b)	1,19 c (b)	0,47 a (b)	0,90 b (b)	***	***	*
A	0,45 ab (a)	0,78 c (a)	0,33 a (a)	0,54 b (a)	***	***	ns
<i>Plant</i>							
J	0,60 a (a)	1,27 c (a)	0,50 a (a)	0,88 b (a)	***	***	**
M	0,57 a (a)	1,19 c (a)	0,47 a (a)	0,90 b (a)	***	***	*
A	0,75 b (b)	1,32 c (a)	0,46 a (a)	0,93 b (a)	***	***	ns
Rapport C/N							
<i>Racines fines</i>							
J	61 bc (a)	36 a (a)	65 c (a)	54 b (a)	***	***	**
M	63 c (a)	38 a (ab)	70 c (a)	49 b (a)	**	***	ns
A	66 bc (a)	44 a (b)	73 c (a)	56 b (a)	***	***	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	90 b (a)	31 a (a)	122 c (a)	45 a (a)	**	***	ns
M	100 b (a)	31 a (a)	128 b (a)	46 a (a)	**	***	ns
A	146 c (b)	51 a (b)	209 d (b)	84 b (b)	***	***	ns
<i>Tige</i>							
J	70 b (a)	41 a (a)	86 c (a)	57 b (a)	***	***	ns
M	67 b (a)	45 a (a)	88 c (a)	59 b (a)	***	***	ns
A	122 b (b)	99 a (b)	172 c (b)	121 ab (b)	***	***	*
<i>Parties pérennes</i>							
J	76 c (a)	36 a (a)	93 d (a)	52 b (a)	***	***	ns
M	80 c (a)	37 a (a)	97 d (a)	52 b (a)	***	***	ns
A	103 b (b)	63 a (b)	138 c (b)	88 b (b)	***	***	ns
<i>Plant</i>							
J	76 c (ab)	36 a (a)	93 d (a)	52 b (a)	***	***	ns
M	80 c (b)	37 a (a)	97 d (a)	52 b (a)	***	***	ns
A	63 b (a)	36 a (a)	100 c (a)	53 b (a)	***	***	**

La répartition du C et N dans le plant est essentiellement sous la dépendance du niveau de fertilisation N. Pour le traitement N-, le C du plant est alloué majoritairement aux grosses racines (53%), les tiges contiennent autour de 25% du C. Pour le traitement N+, la tige prend plus d'importance (48%) par rapport aux grosses racines (35%). Pour l'ensemble des traitements, en moyenne 19% du C du plant est investi dans les racines fines. Pour le traitement N-, une part équivalente de N du plant est investi dans les racines fines et les tiges (30%). Pour le traitement N+, en moyenne 17% de N est investi dans les racines fines et 43% dans les tiges. Pour l'ensemble des traitements, en moyenne 42% de N du plant est investi dans les grosses racines.

1.1.5. Quantités et répartition de ^{13}C et ^{15}N en excès

En janvier, le ^{13}C et le ^{15}N en excès acquis par les plants sont distribués à tous les organes (**figure 15, tableau 6**).

La fraction du ^{13}C allouée aux racines fines est comprise entre 21 et 27% sans différence significative entre traitements (**figure 16, tableau 7**). Pour les plants N-, autour de 60% du ^{13}C est alloué aux grosses racines, contre 35 à 40% pour les plants N+. Les tiges contiennent environ 15% du ^{13}C en excès dans les plants N-, contre 38 à 44% pour les plants N+.

En janvier, la fraction du ^{15}N en excès allouée aux racines fines est comprise entre 19 et 33%, celle allouée aux grosses racines est comprise entre 38 et 45% (**figure 16, tableau 7**). Ces valeurs ne sont pas significativement différentes entre traitements. Les tiges contiennent de 22 à 29% du ^{15}N en excès pour les plants N- et 40 à 43% pour les plants N+.

1.1.6. Rapport C/N et teneurs en N

En janvier, l'augmentation de la $[\text{CO}_2]$ a pour conséquence de diminuer de 31% la teneur en N des plants, mais uniquement pour N+ (**tableau 8**). Cette diminution à l'échelle du plant est la conséquence de la diminution de la teneur en N d'un même ordre de grandeur pour tous les organes.

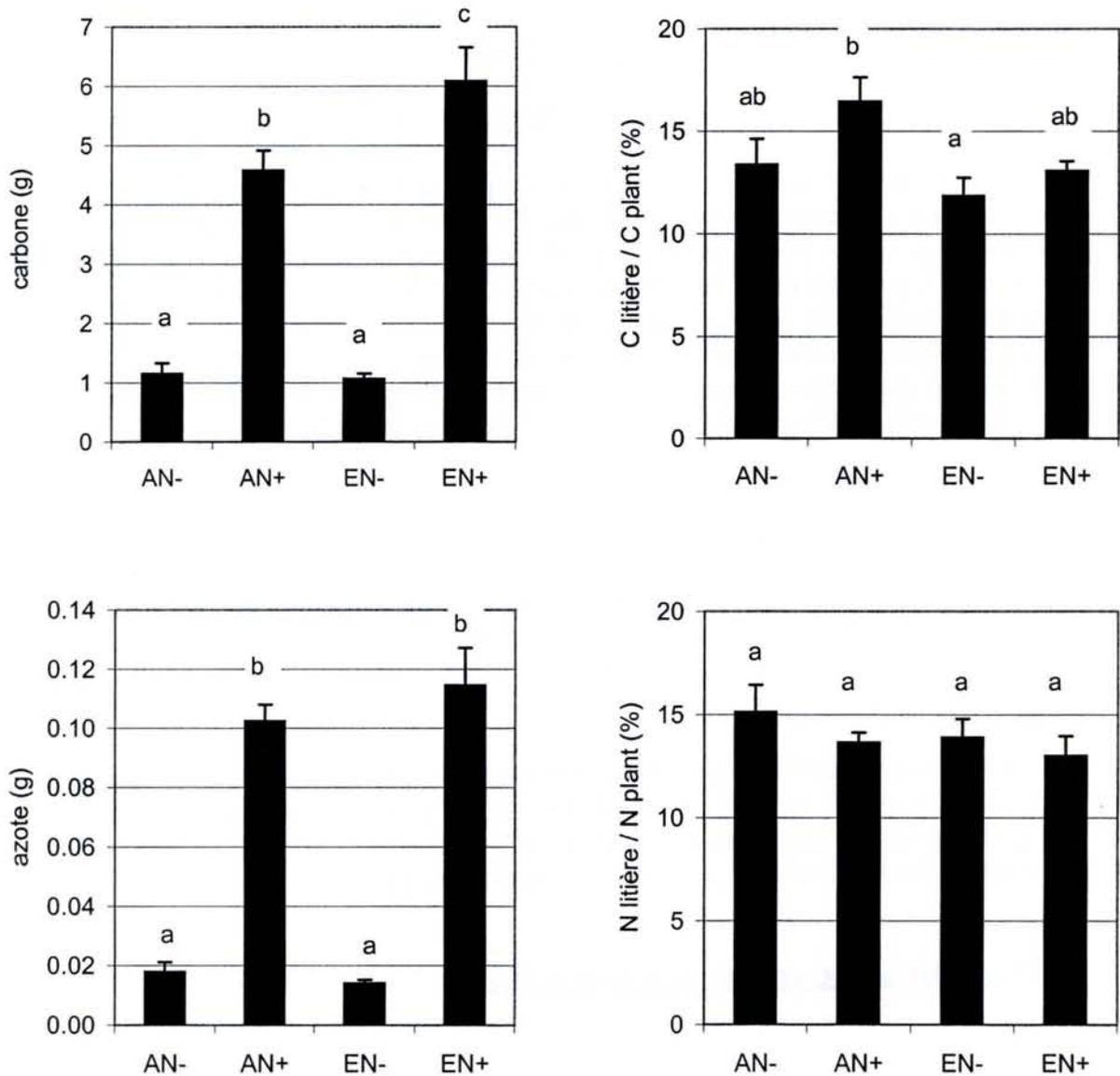
Quel que soit le niveau de fertilisation N, l'augmentation de la $[\text{CO}_2]$ induit une augmentation du rapport C/N des plants de 35% en moyenne (**tableau 8**). Le rapport C/N des tiges augmente quel que soit le niveau de fertilisation azotée. Par contre, ce rapport n'augmente dans les grosses racines que sous N-, et dans les racines fines, que sous N+.

1.1.7. Quantités de C et N perdues dans la litière

Bien que la quantité de C acquise pendant la saison de végétation soit très différente d'un traitement à l'autre, la fraction de ce C qui est perdue dans la litière est du même ordre de grandeur, qui est en moyenne de 14%, pour tous les traitements (**figure 17**).

La quantité de N contenue dans la litière n'est pas affectée par l'augmentation de la $[\text{CO}_2]$ (**figure 17**). Comme pour le C, quelle que soit la quantité de N contenue dans la litière, celle-ci représente une fraction constante (en moyenne 14%) de l'azote total acquis par le plant pendant la saison de végétation.

Figure 17 : Quantités de carbone et d'azote présentes dans la litière de jeunes plants de *Quercus robur* cultivés depuis le semis et jusqu'à la chute des feuilles sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit 6,1 (N+) mmol d'azote/l. Ces résultats sont également présentés sous la forme de la fraction du carbone et de l'azote du plant contenues dans la litière (en %). Chaque valeur correspond à la moyenne de 6 à 8 individus. Dans chaque graphique, une même lettre au dessus de 2 valeurs indique que celles-ci ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey).



1.2. Evolutions des quantités de C, N, du rapport C/N et des teneurs en N entre Janvier et Avril

1.2.1. Quantités de C et N

La quantité de C contenue dans les racines fines et les tiges ne varie pas significativement au cours du temps pour tous les traitements, mis à part une légère diminution pour les tiges du traitement AN- (**figure 13, tableau 4**). Dans les grosses racines, la quantité de C reste constante au cours du temps pour les plants cultivés sous [CO₂] élevée, mais diminue légèrement (-35%) au printemps pour les plants cultivés sous [CO₂] ambiante. Dans les parties pérennes, la quantité de C ne varie pas significativement au cours du temps, mis à part une légère diminution observée pour le traitement AN-. Cependant, à l'échelle du plant entier, aucune évolution significative n'est observée au cours du temps, pour aucun des traitements. Après l'étalement du premier étage foliaire au printemps, les parties pérennes contiennent entre 73 et 84% du C total du plant selon le traitement, sans différences significatives entre traitements (**figure 14, tableau 5**)

Dans tous les organes, la quantité d'azote ne varie pas significativement durant la période hivernale, mis à part une légère augmentation dans les grosses racines du traitement AN+ (**figure 13, tableau 4**). Au printemps, la quantité de N contenue dans les grosses racines et dans les tiges diminue fortement pour tous les traitements. L'importance de la diminution des quantités de N dans ces organes n'est pas influencée par l'augmentation de la [CO₂], alors que l'augmentation du niveau de fertilisation azotée est responsable d'une plus forte diminution des quantités de N dans ces 2 organes (0,02 g pour chacun des 2 organes dans les plants N- et 0,2 g dans les plants N+). Toutefois, bien que les variations de quantités de N soient très différentes d'un traitement azoté à l'autre, autour de 58% de l'azote hivernal disparaît au printemps dans les tiges et les grosses racines quel que soit le traitement considéré (**figure 14, tableau 5**). La quantité de N contenue dans les racines fines ne diminue au printemps que pour les plants du traitement EN+ (**figure 13, tableau 4**). Dans les parties pérennes, une diminution de la quantité de N de 37 à 56 % selon le traitement, est observée au printemps, sans que ces différences soient significatives. Cependant, à l'échelle du plant entier, la quantité de N ne varie pas significativement au cours du temps pour tous les traitements. Après l'étalement du premier étage foliaire au printemps, les parties pérennes contiennent entre 43 et 49% de N total du plant selon le traitement, sauf pour les plants EN- dont les parties pérennes contiennent 61% de N du plant (**figure 14, tableau 5**)

1.2.2. Quantités de ¹³C et ¹⁵N en excès

La quantité de ¹³C en excès dans les racines fines ne varie significativement au cours du temps pour aucun traitement (**figure 15, tableau 6**). Dans les grosses racines, la quantité de ¹³C en excès ne diminue significativement au printemps que pour le traitement AN+. Dans les tiges, la quantité de ¹³C en excès ne varie pas significativement dans les conditions N- mais diminue dans les conditions N+. Cette diminution a principalement lieu durant la phase hivernale. La quantité de ¹³C en excès ne varie pas significativement au cours du temps dans les parties pérennes et le plant entier dans les conditions N-. Dans les conditions N+, elle diminue dans les parties pérennes (-40% en moyenne) au printemps, mais reste constante à l'échelle du plant pour le traitement AN+, alors qu'elle diminue régulièrement au cours du temps pour EN+ (-42%).

Après l'étalement du premier étage foliaire au printemps, les parties pérennes conservent une forte proportion de ^{13}C en excès du plant dans tous les traitements (78 à 90%) (**figure 16, tableau 7**). L'augmentation de la $[\text{CO}_2]$ n'influence pas cette donnée, contrairement à l'augmentation du niveau de fertilisation N qui se traduit par une diminution de la proportion de ^{13}C en excès dans les parties pérennes (de 86 à 78%), mais uniquement sous CO_2 ambiant.

La quantité de ^{15}N en excès dans les racines fines ne varie pas significativement au cours du temps, mis à part dans le traitement EN- où elle augmente pendant la phase hivernale (**figure 15, tableau 6**). Cependant, cette augmentation semble plutôt liée à une hétérogénéité dans les quantités de marqueur incorporé dans les différents lots de plants car le marquage étant arrêté avant l'entrée dans la phase hivernale, l'augmentation du marqueur dans un organe pendant l'hiver n'est possible que s'il provient d'un autre organe, ce qui n'est pas observé dans ce traitement. Dans les grosses racines, la quantité de ^{15}N en excès ne varie pas significativement au cours du temps dans les conditions N-, mais diminue au printemps dans les conditions N+ (-72% en moyenne). La quantité de ^{15}N en excès dans les tiges diminue au printemps sauf dans le traitement AN-. Elle diminue plus fortement dans le cas du traitement N+ (-79% en moyenne) que EN- (-60%). Dans les parties pérennes, la quantité de ^{15}N diminue au printemps sauf dans le traitement AN-. Elle diminue plus fortement dans le cas du traitement N+ (-64% en moyenne) que N- (-39%). A l'échelle du plant entier, la quantité de ^{15}N en excès ne varie pas significativement au cours du temps pour tous les traitements.

Après l'étalement du premier étage foliaire au printemps, les parties pérennes conservent entre 37 et 54% du ^{15}N en excès du plant (**figure 16, tableau 7**). L'augmentation de la $[\text{CO}_2]$ n'influence pas cette donnée, contrairement à l'augmentation du niveau de fertilisation N qui se traduit par une diminution de la proportion de ^{15}N en excès dans les parties pérennes (de 51 à 37%), mais uniquement sous CO_2 ambiant.

1.2.3. Teneurs en N et rapport C/N

Quel que soit le traitement, la concentration en N dans les racines fines ne varie pas significativement au cours du temps (**tableau 8**). Dans les grosses racines, les tiges et l'ensemble des parties pérennes, la concentration en N diminue au printemps pour tous les traitements. A l'échelle du plant entier, la concentration en N ne varie pas significativement au cours du temps, mis à part dans le traitement AN- où elle augmente (+32%).

Le rapport C/N des racines fines ne varie pas significativement au cours du temps, mis à part dans le traitement AN+ où il augmente légèrement au cours du temps (**tableau 8**). Dans les grosses racines, les tiges, et l'ensemble des parties pérennes, le rapport C/N augmente significativement au printemps. Il augmente quasiment 2 fois plus pour les traitements N+ que pour les traitements N-, sans que la $[\text{CO}_2]$ n'ait d'influence sur ces variations. A l'échelle du plant, le rapport C/N ne varie pas significativement au cours du temps, mis à part dans le traitement AN- où il diminue (-21%)

1.2.4. Renouvellement du C et N dans les parties pérennes et le plant

- **Renouvellement du C**

Au printemps, du C nouvellement assimilé (C nouveau) est intégré dans le plant pour l'ensemble des traitements (**figure 18**). La proportion de C nouveau est plus élevée pour le

Figure 18 : Quantités et proportions de carbone ancien (noir) et de carbone nouveau (gris) contenues au printemps (avril) dans l'ensemble du plant et les parties pérennes chez des jeunes plants de *Quercus robur* dans leur 2ème année de croissance. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous une [CO₂ ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/l et marqués à l'automne au ¹³C et ¹⁵N. Chaque valeur correspond à la moyenne de 3 à 5 individus. Pour chacune des données, une lettre identique à côté des valeurs moyennes des traitements indique que ces valeurs ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001). L'intervalle de confiance à 95% figure sous la forme d'un trait blanc.

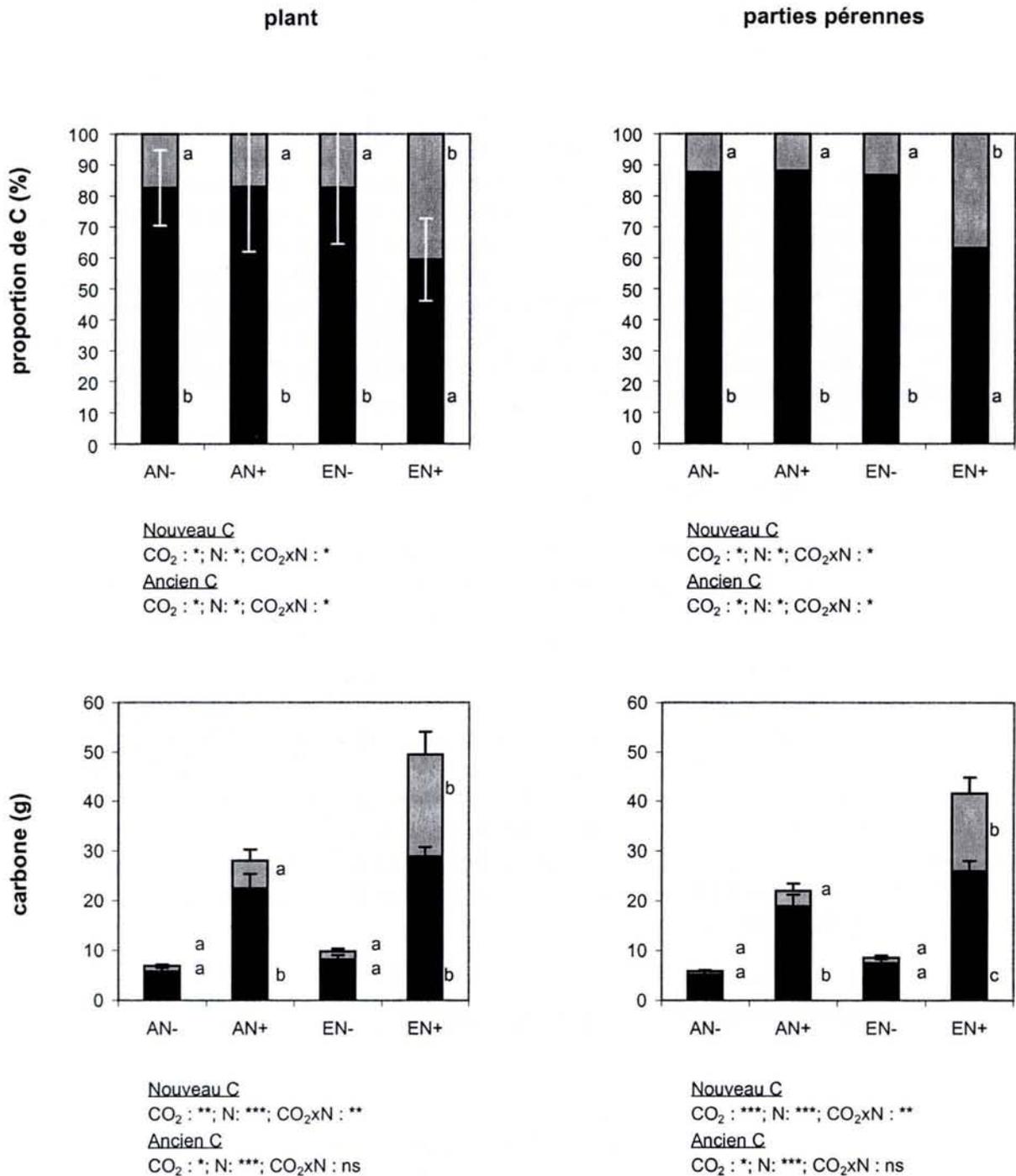


Tableau 9 : Fractions de N ancien et N nouveau contenues au printemps dans l'ensemble du plant chez de jeunes plants de *Quercus robur* dans leur 2^{ème} année de croissance. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/l et marqués à l'automne au ¹³C et au ¹⁵N. Chaque valeur correspond à la moyenne de 3 à 5 individus. L'intervalle de confiance à 95% pour chaque moyenne est indiqué en italique sous la valeur correspondante.

	AN-	AN+	EN-	EN+
Fraction de N ancien	1,52 <i>[1,07-2,40]</i>	0,77 <i>[0,46-1,11]</i>	1,07 <i>[0,78-1,46]</i>	0,91 <i>[0,57-1,44]</i>
Fraction de N nouveau	-0,52	0,23	-0,07	0,09

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
 BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
 Rue du Jardin Botanique
 54600 VILLERS-LES-NANCY

traitement EN+ (41%) que pour les autres traitements (16%). Le calcul de l'intervalle de confiance à 95% indique que pour le traitement EN+ au minimum 26% et au maximum 52% de C est renouvelé dans le plant. Pour les autres traitements, entre 0% et au maximum 34% du C est renouvelé dans le plant.

Des résultats similaires sont obtenus pour l'ensemble des parties pérennes (**figure 18**) : les plants du traitement EN+ contiennent des proportions de C nouveau significativement plus importantes (37%) que ceux des autres traitements, qui ne diffèrent pas entre eux (12 à 13%).

En termes quantitatifs, bien que la taille des plants comparés soit différente, les quantités de C nouveau acquises par les parties pérennes et l'ensemble du plant ne diffèrent pas significativement entre les traitements (de 0,7 à 3,1g pour les parties pérennes et de 1,2 à 5,6g pour le plant) à l'exception du traitement EN+ pour lequel une quantité de C nouveau significativement plus importante est observée (15,6g pour les parties pérennes et 20,6g pour le plant).

- **Renouvellement de l'azote**

Le calcul de la proportion de N qui est renouvelée dans le plant nous a conduit à l'obtention de valeurs incohérentes (supérieures à 1) pour les plants N- (**tableau 9**). Dans le cas des plants EN-, la valeur obtenue est à peine supérieure à 1 (1,07) et peut s'expliquer par la variabilité entre les plants, et peut être considérée comme égale à 1. Par contre, dans le cas des plants AN-, la valeur obtenue est largement supérieure à 1. Ce résultat pourrait être expliqué par le fait que les plants prélevés au mois d'avril ont incorporé plus de ^{15}N que les plants prélevés aux autres dates (**voir figure 15**), ce qui rend le résultat de ce traitement inexploitable.

Néanmoins, il ressort de l'ensemble des résultats que l'incorporation de N nouveau dans l'ensemble du plant est relativement faible dans tous les traitements (de 0 à 23% de l'azote total). L'augmentation de la $[\text{CO}_2]$ ne semble pas modifier les fractions respectives de N nouveau et N ancien incorporées dans l'ensemble du plant. Par contre, l'augmentation du niveau de fertilisation N semble augmenter la fraction de N nouveau incorporée dans le plant dans les 2 conditions de CO_2 : dans les plants N-, aucun N nouveau n'est incorporé dans l'ensemble du plant, alors que dans les plants N+ de 9 à 23% de N nouveau est incorporé dans l'ensemble du plant au printemps.

Du fait de l'imprécision sur les valeurs de proportions de N ancien et N nouveau dans les nouveaux organes, la fraction de N ancien et N nouveau dans les parties pérennes n'a pas pu être calculée (**voir « matériel et méthodes »**)

2. STOCKAGE ET REMOBILISATION DES RESERVES C ET N DANS LES PLANTS

2.1. Bilan à l'entrée de l'hiver (janvier)

2.1.1. Réserves glucidiques

Figure 19 : Teneurs en sucres solubles (points), en amidon (noir) et en TNC (total), des différents organes pérennes de *Quercus robur* à 3 stades différents du cycle végétatif. Depuis le semis, les plants ont été cultivés sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/l, pendant une saison de végétation, puis analysés au début de la phase hivernale (janvier, J), au début du débourrement (mars, M) et à la fin de l'étalement du premier étage foliaire en 2ème année (avril, A). Chaque valeur correspond à la moyenne de 8 à 14 plants.

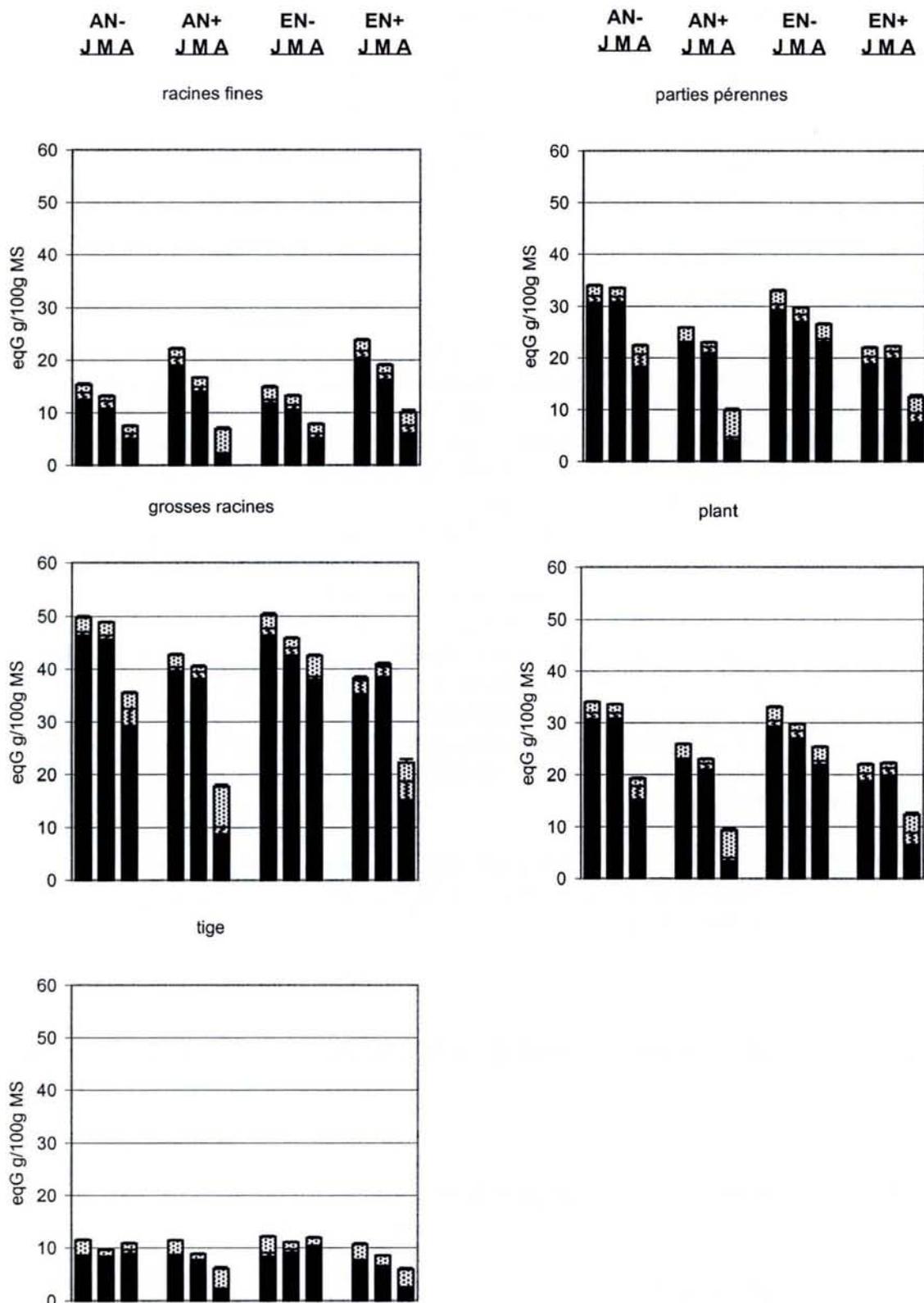


Tableau 10 : Valeurs moyennes des traitements et résultats de l'analyse statistique des données de la figure 19. Pour une date et un organe donnés, une lettre identique suivant les valeurs moyennes des traitements indique que ces valeurs ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%. L'effet temps pour un organe et un traitement donnés est mentionné entre parenthèses (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001).

date	AN-	AN+	EN-	EN+	CO2	N	CO ₂ *N
TNC (équivalents glucose g/100g MS)							
<i>Racines fines</i>							
J	15.30 a (b)	22.09 b (c)	14.80 a (b)	23.72 b (b)	ns	***	ns
M	13.08 a (b)	16.64 ab (b)	13.12 a (b)	18.99 b (b)	ns	***	ns
A	7.45 a (a)	6.85 a (a)	7.74 a (a)	10.00 a (a)	ns	ns	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	49.78 b (b)	42.65 a (b)	50.14 b (b)	38.22 a (b)	ns	***	ns
M	48.85 b (b)	40.42 a (b)	45.76 ab (ab)	40.85 a (b)	ns	***	ns
A	35.41 b (a)	17.72 a (a)	42.46 b (a)	22.21 a (a)	*	***	ns
<i>Tiges</i>							
J	11.43 a (a)	11.34 a (c)	12.09 a (a)	10.60 a (c)	ns	ns	ns
M	9.58 ab (a)	8.80 a (b)	10.99 b (a)	8.48 a (b)	ns	**	ns
A	10.80 b (a)	6.02 a (a)	11.84 b (a)	5.88 a (a)	ns	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	33.94 b (b)	25.84 a (b)	32.94 b (b)	21.92 a (b)	*	***	ns
M	33.49 b (b)	22.95 a (b)	29.65 b (ab)	22.20 a (b)	ns	***	ns
A	22.33 b (a)	9.83 a (a)	26.50 b (a)	12.39 a (a)	*	***	ns
<i>Plant</i>							
J	33.94 b (b)	25.84 a (b)	32.94 b (b)	21.92 a (b)	*	***	ns
M	33.49 b (b)	22.95 a (b)	29.65 b (ab)	22.20 a (b)	ns	***	ns
A	19.17 bc (a)	9.30 a (a)	25.28 c (a)	12.29 ab (a)	*	***	ns
Amidon (équivalents glucose g/100g MS)							
<i>Racines fines</i>							
J	12.42 a (b)	18.92 b (c)	11.68 a (b)	20.36 b (b)	ns	***	ns
M	10.75 a (b)	13.96 ab (b)	10.48 a (b)	16.19 b (b)	ns	***	ns
A	4.97 ab (a)	1.94 a (a)	5.10 ab (a)	6.00 b (a)	*	ns	*
<i>Grosses racines</i>							
J	46.29 b (b)	39.59 a (b)	46.32 b (b)	35.19 a (b)	ns	***	ns
M	45.55 b (b)	38.11 a (b)	42.53 ab (b)	38.41 a (b)	ns	***	ns
A	29.19 b (a)	8.70 a (a)	37.92 b (a)	15.13 a (a)	**	***	ns
<i>Tiges</i>							
J	8.10 a (a)	8.21 a (b)	8.22 a (a)	7.31 a (b)	ns	ns	ns
M	7.87 ab (a)	7.31 ab (b)	9.07 b (a)	6.20 a (b)	ns	**	*
A	8.86 b (a)	1.96 a (a)	9.87 b (a)	2.09 a (a)	ns	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	30.65 b (b)	22.61 a (b)	29.23 b (b)	18.73 a (b)	*	***	ns
M	30.72 b (b)	20.91 a (b)	26.92 b (b)	19.76 a (b)	ns	***	ns
A	18.22 b (a)	4.00 a (a)	23.05 b (a)	7.46 a (a)	**	***	ns
<i>Plant</i>							
J	30.65 b (b)	22.61 a (b)	29.23 b (b)	18.73 a (b)	*	***	ns
M	30.72 b (b)	20.91 a (b)	26.92 b (b)	19.76 a (b)	ns	***	ns
A	15.14 b (a)	3.33 a (a)	21.80 b (a)	6.47 a (a)	*	***	ns
Sucres solubles (équivalents glucose g/100g MS)							
<i>Racines fines</i>							
J	2.88 a (a)	3.17 a (a)	3.13 a (a)	3.36 a (ab)	ns	ns	ns
M	2.33 a (a)	2.68 a (a)	2.64 a (a)	2.80 a (a)	ns	ns	ns
A	2.48 a (a)	4.91 b (b)	2.64 a (a)	4.00 b (b)	ns	***	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	3.48 a (a)	3.07 a (a)	3.82 a (ab)	3.03 a (a)	ns	ns	ns
M	3.29 a (a)	2.31 a (a)	3.23 a (a)	2.44 a (a)	ns	**	ns
A	6.22 b (b)	9.01 c (b)	4.54 a (b)	7.08 b (b)	***	***	ns
<i>Tiges</i>							
J	3.33 ab (b)	3.14 a (b)	3.87 b (b)	3.29 ab (b)	ns	*	ns
M	1.71 ab (a)	1.48 a (a)	1.93 bc (a)	2.28 c (a)	***	ns	*
A	1.93 a (a)	4.06 b (b)	1.97 a (a)	3.79 b (b)	ns	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	3.30 a (b)	3.22 a (b)	3.71 a (b)	3.19 a (a)	ns	ns	ns
M	2.77 b (a)	2.03 a (a)	2.72 b (a)	2.44 ab (a)	ns	***	ns
A	4.11 ab (c)	5.84 c (c)	3.45 a (b)	4.94 bc (b)	*	***	ns
<i>Plant</i>							
J	3.30 a (b)	3.22 a (b)	3.71 a (b)	3.19 a (a)	ns	ns	ns
M	2.77 b (a)	2.03 a (a)	2.72 b (a)	2.44 ab (a)	ns	***	ns
A	4.03 a (c)	5.97 b (c)	3.48 a (b)	5.82 b (b)	ns	***	ns

Figure 20 : Quantités de sucres solubles (points), d'amidon (noir) et de TNC (total) dans les différents organes pérennes de *Quercus robur* à 3 stades différents du cycle végétatif. Depuis le semis, les plants ont été cultivés sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/l, pendant une saison de végétation, puis analysés au début de la phase hivernale (janvier, J), au début du débournement (mars, M) et à la fin de l'étalement du premier étage foliaire en 2ème année (avril, A). Chaque valeur correspond à la moyenne de 8 à 14 plants.

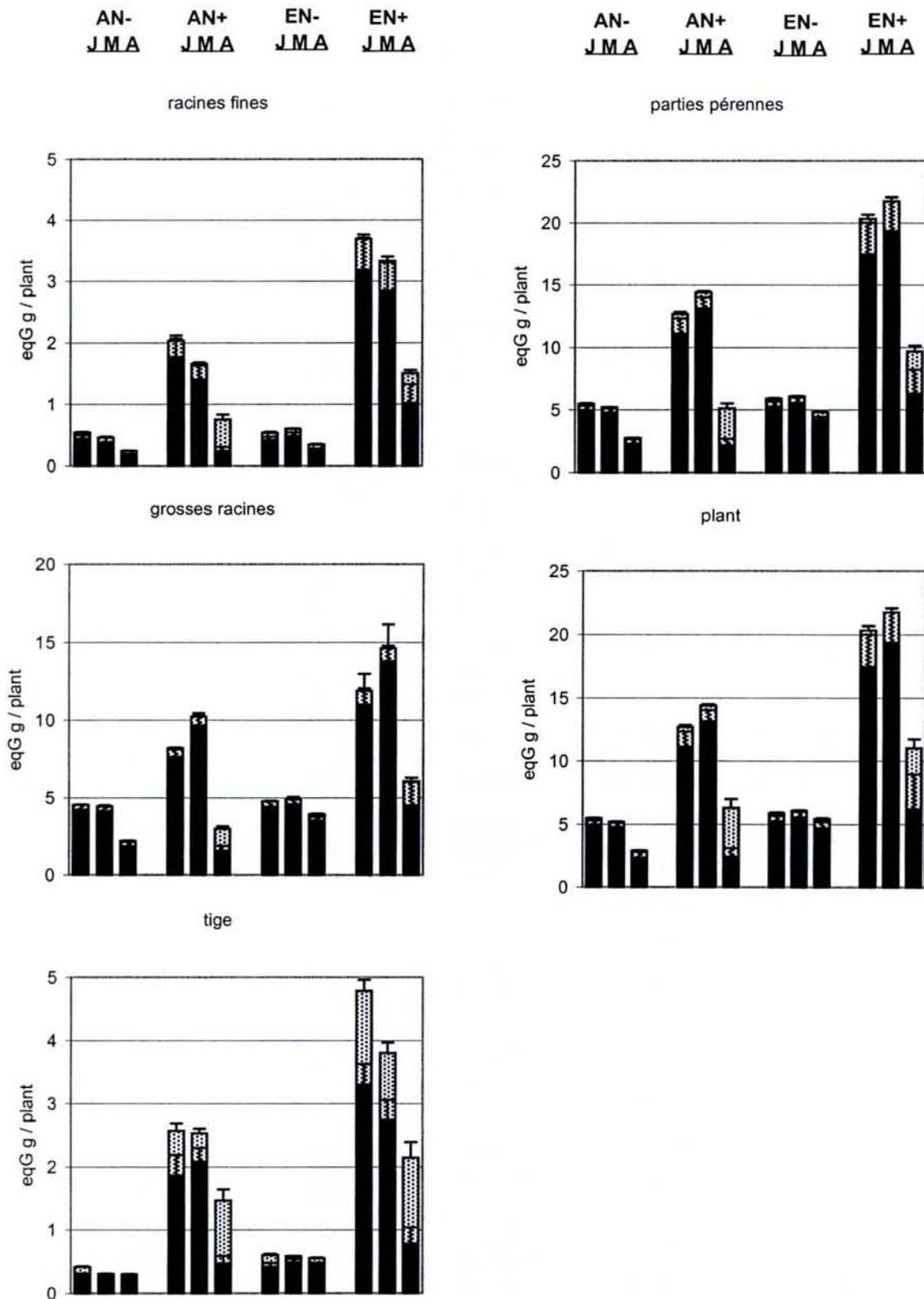
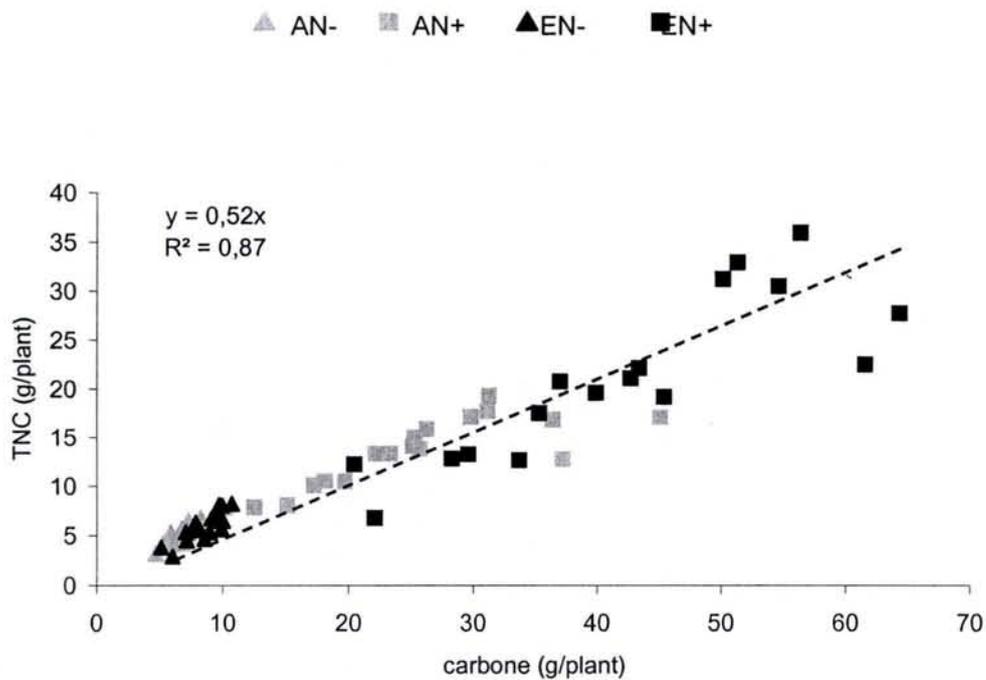


Tableau 11 : Valeurs moyennes des traitements et résultats de l'analyse statistique des données de la figure 20. Pour une date et un organe donnés, une lettre identique suivant les valeurs moyennes des traitements indique que ces valeurs ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%. L'effet temps pour un organe et un traitement donnés est mentionné entre parenthèses (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001).

date	AN-	AN+	EN-	EN+	CO2	N	CO ₂ *N
TNC (équivalents glucose g/plant)							
<i>Racines fines</i>							
J	0.53 a (b)	2.04 b (b)	0.53 a (ab)	3.69 c (b)	*	***	*
M	0.46 a (ab)	1.66 b (b)	0.59 ab (b)	3.33 c (b)	**	***	*
A	0.24 a (a)	0.75 a (a)	0.34 a (a)	1.50 b (a)	*	***	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	4.52 a (b)	8.18 ab (b)	4.76 a (a)	11.87 b (ab)	ns	***	ns
M	4.42 a (b)	10.20 b (b)	4.90 a (a)	14.60 b (b)	ns	***	ns
A	2.18 a (a)	2.98 a (a)	3.93 ab (a)	6.03 b (a)	**	ns	ns
<i>Tiges</i>							
J	0.41 a (a)	2.57 b (b)	0.60 a (a)	4.79 c (b)	***	***	**
M	0.30 a (a)	2.53 b (b)	0.58 a (a)	3.80 c (b)	**	***	ns
A	0.29 a (a)	1.47 b (a)	0.55 a (a)	2.15 b (a)	ns	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	5.47 a (b)	12.68 b (b)	5.89 a (a)	20.34 c (b)	*	***	*
M	5.18 a (b)	14.39 b (b)	6.08 a (a)	21.73 c (b)	*	***	*
A	2.72 a (a)	5.09 a (a)	4.82 a (a)	9.68 b (a)	**	**	ns
<i>Plant</i>							
J	5.47 a (b)	12.68 b (b)	5.89 a (a)	20.34 c (b)	*	***	*
M	5.18 a (b)	14.39 b (b)	6.08 a (a)	21.73 c (b)	*	***	*
A	2.86 a (a)	6.31 ab (a)	5.41 ab (a)	11.02 b (a)	ns	*	ns
Amidon (équivalents glucose g/plant)							
<i>Racines fines</i>							
J	0.43 a (b)	1.76 b (b)	0.41 a (ab)	3.18 c (b)	*	***	*
M	0.37 a (b)	1.40 b (b)	0.48 ab (b)	2.84 c (b)	**	***	*
A	0.16 a (a)	0.23 a (a)	0.23 a (a)	1.01 b (a)	**	**	*
<i>Grosses racines</i>							
J	4.21 a (b)	7.60 ab (b)	4.40 a (a)	10.97 b (ab)	ns	***	ns
M	4.12 a (b)	9.63 b (b)	4.57 a (a)	13.77 b (b)	ns	***	ns
A	1.83 ab (a)	1.54 a (a)	3.51 ab (a)	4.48 b (a)	**	ns	ns
<i>Tiges</i>							
J	0.29 a (a)	1.86 b (b)	0.41 a (a)	3.30 c (b)	**	***	**
M	0.25 a (a)	2.08 b (b)	0.48 a (a)	2.73 b (b)	*	***	ns
A	0.24 a (a)	0.46 a (a)	0.46 a (a)	0.77 a (a)	ns	ns	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	4.93 a (b)	11.10 b (b)	5.22 a (a)	17.45 c (b)	*	***	*
M	4.75 a (b)	13.11 b (b)	5.53 a (a)	19.34 c (b)	*	***	ns
A	2.25 a (a)	2.14 a (a)	4.19 ab (a)	6.27 b (a)	**	ns	ns
<i>Plant</i>							
J	4.93 a (b)	11.10 b (b)	5.22 a (a)	17.45 c (b)	*	***	*
M	4.75 a (b)	13.11 b (b)	5.53 a (a)	19.34 c (b)	*	***	ns
A	2.30 a (a)	2.38 a (a)	4.66 a (a)	6.18 a (a)	ns	ns	ns
Sucres solubles (équivalents glucose g/plant)							
<i>Racines fines</i>							
J	0.10 a (a)	0.27 b (a)	0.11 ab (a)	0.51 c (a)	**	***	*
M	0.08 a (a)	0.26 b (a)	0.12 ab (a)	0.49 c (a)	**	***	*
A	0.08 a (a)	0.52 b (b)	0.11 a (a)	0.49 b (a)	ns	***	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	0.31 a (a)	0.57 ab (a)	0.36 a (a)	0.90 b (a)	ns	***	ns
M	0.30 a (a)	0.57 ab (a)	0.33 a (a)	0.83 b (a)	ns	***	ns
A	0.35 a (a)	1.44 b (b)	0.42 a (a)	1.54 b (a)	ns	***	ns
<i>Tiges</i>							
J	0.12 a (b)	0.71 b (ab)	0.19 a (b)	1.49 c (a)	***	***	**
M	0.05 a (a)	0.45 b (a)	0.10 a (a)	1.07 c (a)	***	***	**
A	0.05 a (a)	1.01 b (b)	0.09 a (a)	1.37 b (a)	ns	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	0.54 a (a)	1.58 b (a)	0.66 a (a)	2.89 c (a)	***	***	**
M	0.43 a (a)	1.28 b (a)	0.55 a (a)	2.39 c (a)	***	***	**
A	0.47 a (a)	2.95 b (b)	0.63 a (a)	3.41 b (a)	ns	***	ns
<i>Plant</i>							
J	0.54 a (a)	1.58 b (a)	0.66 a (a)	2.89 c (a)	***	***	**
M	0.43 a (a)	1.28 b (a)	0.55 a (a)	2.39 c (a)	***	***	**
A	0.56 a (a)	3.93 b (b)	0.74 a (a)	4.84 b (b)	ns	***	ns

Figure 21 : Relation entre la quantité de réserves carbonées (TNC, g/plant) et la quantité de carbone (g/plant) contenues dans l'ensemble du plant pendant la phase hivernale (janvier à mars), chez des jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés pendant une saison de végétation sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/litre. Chaque point représente un individu (N = 70).



- **Concentrations en réserves glucidiques**

D'une façon générale, dans tous les organes, pendant la phase de repos végétatif, l'amidon est très largement représenté par rapport aux sucres solubles (**figure 19, tableau 10**). De plus, si la concentration en sucres solubles varie très peu d'un organe à l'autre (entre 2,9 à 3,9 g/100g de matière sèche), la concentration en amidon varie, elle, de manière importante entre les organes (de 7,3 à 46,3 g/100g de matière sèche). Ainsi, les différences de concentration en TNC observées entre les différents organes et traitements sont essentiellement liées aux variations de concentration en amidon.

Par ailleurs, la répartition relative des TNC entre les différents organes ne diffère pas entre traitements : les grosses racines constituent, de loin, les organes les plus riches en TNC, alors que les racines fines ont une concentration très légèrement supérieure aux tiges qui sont les organes les moins concentrés en TNC.

Les concentrations en amidon, sucres solubles, et TNC ne sont pas affectées par le niveau de fertilisation azotée dans le cas des tiges. L'augmentation du niveau de fertilisation azotée se traduit par une augmentation des concentrations en amidon et en TNC dans les racines fines et par une diminution de ces concentrations dans les grosses racines. La concentration en sucres solubles n'est pas affectée par le niveau de fertilisation N. Finalement, à l'échelle du plant, l'augmentation du niveau de fertilisation azotée a pour conséquence une diminution de la concentration en amidon et en TNC, sans affecter la concentration en sucres solubles.

L'augmentation de la $[CO_2]$ ne modifie pas significativement les concentrations en TNC, amidon et sucres solubles dans les différents organes étudiés.

- **Quantités de réserves glucidiques**

L'augmentation du niveau de fertilisation azotée implique une augmentation de la quantité de sucres solubles, amidon et TNC, dans les racines fines, la tige et le plant (**figure 20, tableau 11**). Dans les grosses racines, une augmentation de la quantité de sucres solubles, amidon et TNC, n'est observée que pour le traitement EN+.

L'augmentation de la $[CO_2]$ implique une augmentation de la quantité de sucres solubles, amidon et TNC dans les racines fines, la tige et le plant, mais seulement si elle est associée à une fertilisation azotée non limitante. Par contre, les quantités de sucres solubles, amidon, TNC stockées dans les grosses racines ne sont pas affectées par l'augmentation de la $[CO_2]$.

Quel que soit le traitement appliqué, les TNC se trouvent majoritairement localisés dans les grosses racines : plus de 80% des TNC se trouvent dans les grosses racines des plants N-. La part des grosses racines dans le stockage des TNC à l'échelle du plant diminue avec l'augmentation du niveau de fertilisation azotée, atteignant des valeurs proches de 60%.

- **Relation entre les quantités de TNC et de C dans les plants**

Il existe une relation linéaire passant par l'origine unique pour l'ensemble des traitements expérimentaux, qui lie les quantités de TNC et de C stockées dans les plants durant la période

Figure 22 : Teneurs en acides aminés (points) (en mg d'équivalents leucine/g de matière sèche) et en protéines solubles (noir) (en mg/g de matière sèche) des différents organes de *Quercus robur* à 3 stades différents du cycle végétatif. Depuis le semis, les plants ont été cultivés sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/l, pendant une saison de végétation, puis analysés au début de la phase hivernale (janvier, J), au début du débourrement (mars, M) et à l'étalement du premier étage foliaire en 2ème année (avril, A). Chaque valeur correspond à la moyenne de 8 à 14 plants.

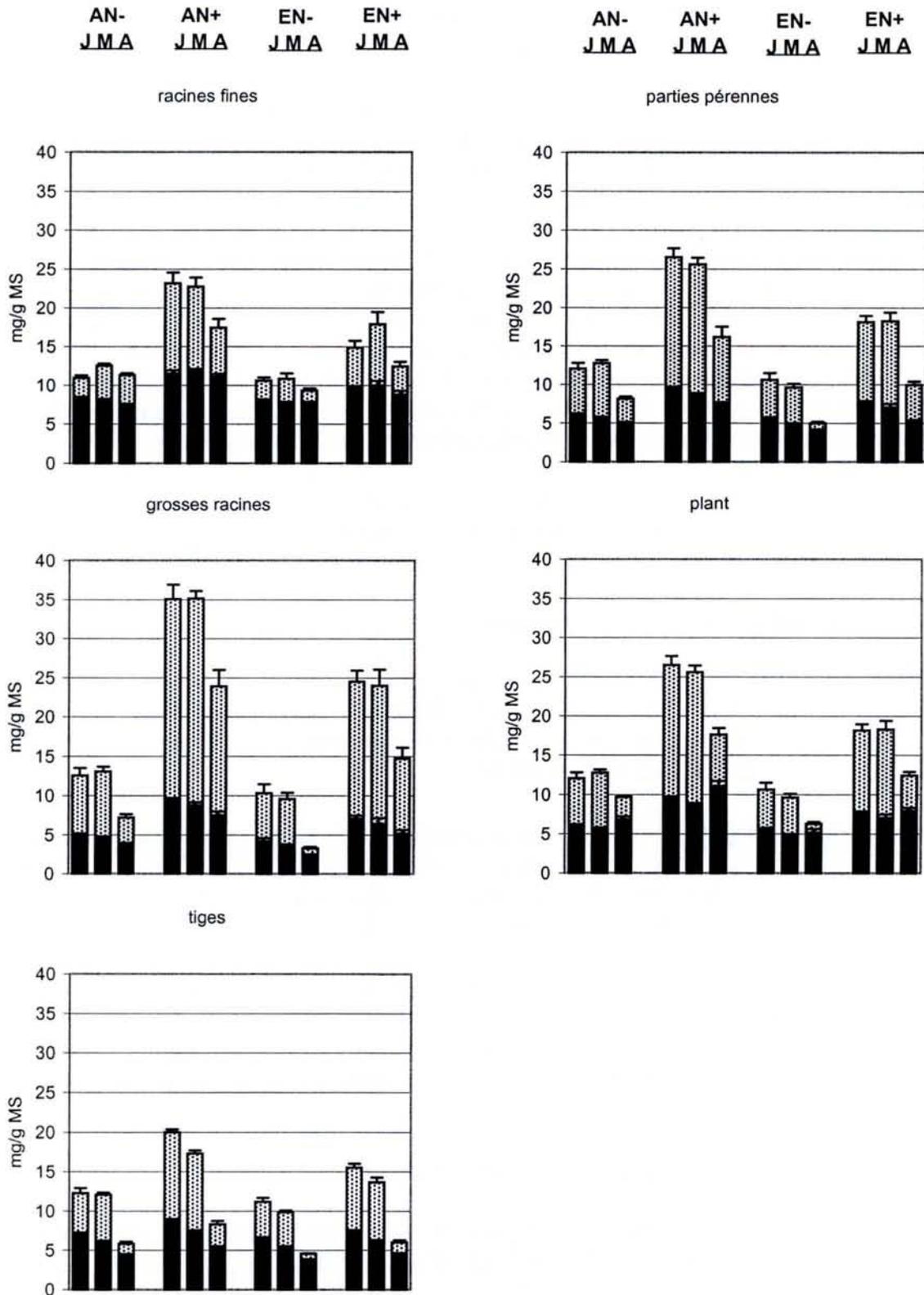


Tableau 12 : Valeurs moyennes des traitements et résultats de l'analyse statistique des données de la figure 22. Pour une date et un organe donnés, une lettre identique suivant les valeurs moyennes des traitements indique que ces valeurs ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%. L'effet temps pour un organe et un traitement donnés est mentionné entre parenthèses (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001).

date	AN-	AN+	EN-	EN+	CO2	N	CO ₂ *N
TSN (mg/g MS)							
<i>Racines fines</i>							
J	10.92 a (a)	23.20 c (b)	10.61 a (a)	14.86 b (ab)	***	***	**
M	12.53 a (a)	22.73 b (b)	10.82 a (a)	17.90 b (b)	*	***	ns
A	11.29 a (a)	17.42 b (a)	9.31 a (a)	12.46 a (a)	**	***	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	12.57 a (b)	35.06 c (b)	10.29 a (b)	24.50 b (b)	**	***	*
M	13.06 a (b)	35.11 c (b)	9.58 a (b)	24.02 b (b)	***	***	*
A	7.22 ab (a)	23.92 c (a)	3.25 a (a)	14.72 b (a)	**	***	ns
<i>Tiges</i>							
J	12.28 a (b)	20.00 c (c)	11.15 a (b)	15.53 b (b)	***	***	*
M	12.07 ab (b)	17.28 c (b)	9.87 a (b)	13.66 b (b)	***	***	ns
A	5.83 ab (a)	8.33 c (a)	4.53 a (a)	6.03 b (a)	***	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	12.03 a (b)	26.51 c (b)	10.62 a (b)	18.12 b (b)	***	***	**
M	12.76 a (b)	25.60 c (b)	9.63 a (b)	18.27 b (b)	***	***	*
A	8.13 ab (a)	16.17 c (a)	4.99 a (a)	9.99 b (a)	***	***	ns
<i>Plant</i>							
J	12.03 a (ab)	26.51 c (b)	10.62 a (b)	18.12 b (b)	***	***	**
M	12.76 a (b)	25.60 c (b)	9.63 a (ab)	18.27 b (b)	***	***	*
A	9.41 ab (a)	17.59 c (a)	6.31 a (a)	12.41 b (a)	***	***	ns
Protéines solubles (mg/g MS)							
<i>Racines fines</i>							
J	8.12 a (a)	11.49 c (a)	7.91 a (a)	9.66 b (a)	**	***	*
M	8.07 a (a)	11.79 c (a)	7.65 a (a)	9.97 b (a)	**	***	ns
A	7.32 a (a)	11.08 b (a)	7.62 a (a)	8.79 a (a)	*	***	**
<i>Grosses racines</i>							
J	4.90 a (b)	9.35 c (b)	4.16 a (b)	7.03 b (a)	***	***	*
M	4.57 a (b)	8.72 c (ab)	3.57 a (b)	6.38 b (a)	***	***	ns
A	3.78 ab (a)	7.45 c (a)	2.36 a (a)	5.15 b (a)	***	***	ns
<i>Tiges</i>							
J	6.91 a (b)	8.86 b (c)	6.39 a (c)	7.28 a (c)	**	***	ns
M	6.02 a (b)	7.30 b (b)	5.31 a (b)	5.94 a (b)	***	**	ns
A	4.33 a (a)	5.34 b (a)	3.70 a (a)	4.33 a (a)	***	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	5.98 a (b)	9.51 c (b)	5.50 a (b)	7.52 b (b)	***	***	*
M	5.61 a (ab)	8.59 c (b)	4.86 a (b)	6.99 b (b)	***	***	ns
A	4.92 ab (a)	7.39 c (a)	3.93 a (a)	5.29 b (a)	***	***	ns
<i>Plant</i>							
J	5.98 a (ab)	9.51 c (a)	5.50 a (a)	7.52 b (a)	***	***	*
M	5.61 a (a)	8.59 c (a)	4.86 a (a)	6.99 b (a)	***	***	ns
A	6.78 ab (b)	11.04 c (b)	5.15 a (a)	7.92 b (a)	***	***	ns
Acides aminés (mg équivalents leucine/g MS)							
<i>Racines fines</i>							
J	2.81 a (a)	11.71 b (b)	2.70 a (a)	5.20 a (ab)	***	***	***
M	4.46 ab (b)	10.94 c (b)	3.18 a (a)	7.93 bc (b)	*	***	ns
A	3.98 ab (b)	6.35 b (a)	1.69 a (a)	3.68 ab (a)	**	**	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	7.67 a (b)	25.71 c (b)	6.13 a (b)	17.47 b (b)	**	***	*
M	8.50 a (b)	26.40 c (b)	6.00 a (b)	17.63 b (b)	***	***	**
A	3.44 ab (a)	16.46 c (a)	0.89 a (a)	9.58 b (a)	**	***	ns
<i>Tiges</i>							
J	5.37 a (b)	11.13 c (b)	4.76 a (b)	8.25 b (b)	**	***	*
M	6.05 b (b)	9.98 d (b)	4.56 a (b)	7.72 c (b)	***	***	ns
A	1.49 a (a)	2.99 b (a)	0.83 a (a)	1.70 a (a)	**	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	6.05 a (b)	17.01 c (b)	5.12 a (b)	10.60 b (b)	***	***	**
M	7.15 a (b)	17.01 c (b)	4.77 a (b)	11.28 b (b)	***	***	*
A	3.22 a (a)	8.78 b (a)	1.05 a (a)	4.70 b (a)	**	***	ns
<i>Plant</i>							
J	6.05 a (b)	17.01 c (b)	5.12 a (b)	10.60 b (b)	***	***	**
M	7.15 a (b)	17.01 c (b)	4.77 a (b)	11.28 b (b)	***	***	*
A	2.89 ab (a)	6.56 c (a)	1.16 a (a)	4.49 bc (a)	**	***	ns

Figure 23 : Quantités d'acides aminés (points) (en mg d'équivalents leucine/plant) et de protéines solubles (noir) (en mg/plant) dans les différents organes de *Quercus robur* à 3 stades différents du cycle végétatif. Depuis le semis, les plants ont été cultivés sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/l, pendant une saison de végétation, puis analysés au début de la phase hivernale (janvier, J), au début du débourrement (mars, M) et à l'étalement du premier étage foliaire en 2^{ème} année (avril, A). Chaque valeur correspond à la moyenne de 8 à 14 plants.

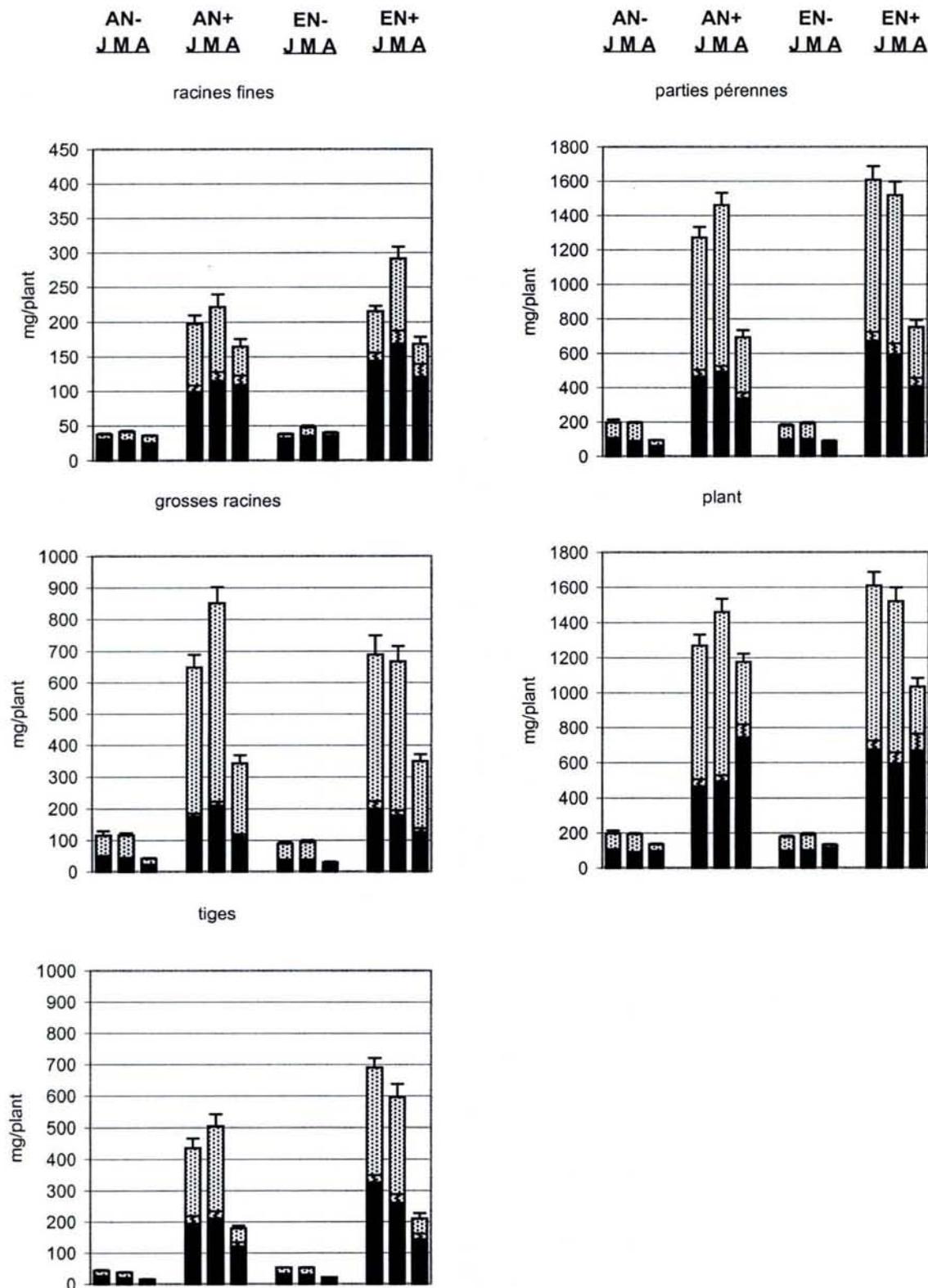


Tableau 13 : Valeurs moyennes des traitements et résultats de l'analyse statistique des données de la figure 23. Pour une date et un organe donnés, une lettre identique suivant les valeurs moyennes des traitements indique que ces valeurs ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%. L'effet temps pour un organe et un traitement donnés est mentionné entre parenthèses (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001).

date	AN-	AN+	EN-	EN+	CO2	N	CO ₂ *N
TSN (mg/plant)							
<i>Racines fines</i>							
J	37.37 a (a)	197.29 b (a)	37.46 a (a)	215.21 b (ab)	ns	***	ns
M	41.18 a (a)	221.95 b (a)	47.12 a (a)	291.60 b (b)	ns	***	ns
A	35.69 a (a)	164.24 b (a)	39.46 a (a)	168.03 b (a)	ns	***	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	114.80 a (b)	648.70 b (b)	88.71 a (b)	688.30 b (b)	ns	***	ns
M	115.78 a (b)	850.03 c (c)	92.99 a (b)	667.15 b (b)	*	***	ns
A	40.68 a (a)	342.02 b (a)	28.81 a (a)	348.58 b (a)	ns	***	ns
<i>Tiges</i>							
J	43.36 a (b)	435.23 b (b)	52.19 a (b)	689.37 c (b)	**	***	**
M	37.09 a (b)	502.86 b (b)	51.43 a (b)	596.22 b (b)	ns	***	ns
A	15.24 a (a)	179.42 b (a)	21.15 a (a)	209.92 b (a)	ns	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	196.58 a (b)	1270.02 b (b)	176.42 a (b)	1608.92 c (b)	ns	***	*
M	194.05 a (b)	1460.24 b (b)	189.57 a (b)	1518.72 b (b)	ns	***	ns
A	92.16 a (a)	692.66 b (a)	87.36 a (a)	752.40 b (a)	ns	***	ns
<i>Plant</i>							
J	196.58 a (a)	1270.02 b (a)	176.42 a (ab)	1608.92 c (b)	ns	***	*
M	194.05 a (a)	1460.24 b (a)	189.57 a (b)	1518.72 b (ab)	ns	***	ns
A	139.41 a (a)	1175.79 b (a)	131.05 a (a)	1034.54 b (a)	ns	***	ns
Protéines solubles (mg/plant)							
<i>Racines fines</i>							
J	27.63 a (a)	98.33 b (a)	28.10 a (a)	143.58 c (a)	**	***	*
M	26.48 a (a)	114.73 b (a)	33.40 a (a)	168.06 c (a)	*	***	*
A	23.34 a (a)	108.76 b (a)	32.39 a (a)	120.09 b (a)	ns	***	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	44.22 a (b)	173.76 b (b)	36.34 a (b)	198.99 b (b)	ns	***	ns
M	40.71 a (b)	209.07 b (b)	35.20 a (b)	177.64 b (ab)	ns	***	ns
A	21.23 a (a)	109.01 b (a)	20.83 a (a)	123.95 b (a)	ns	***	ns
<i>Tiges</i>							
J	24.54 a (c)	193.54 b (ab)	30.37 a (b)	324.21 c (b)	***	***	**
M	18.46 a (b)	210.32 b (b)	27.78 a (b)	259.27 b (b)	ns	***	ns
A	11.54 a (a)	119.46 b (a)	17.31 a (a)	141.80 b (a)	ns	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	97.43 a (b)	461.96 b (ab)	93.36 a (b)	671.73 c (b)	**	***	**
M	85.65 a (b)	490.74 b (b)	96.27 a (b)	591.56 b (ab)	ns	***	ns
A	56.26 a (a)	335.20 b (a)	68.86 a (a)	404.92 b (a)	ns	***	ns
<i>Plant</i>							
J	97.43 a (a)	461.96 b (a)	93.36 a (a)	671.73 c (a)	**	***	**
M	85.65 a (a)	490.74 b (a)	96.27 a (a)	591.56 b (a)	ns	***	ns
A	91.53 a (a)	742.41 b (b)	107.36 a (a)	665.97 b (a)	ns	***	ns
Acides aminés (mg/plant)							
<i>Racines fines</i>							
J	9.74 a (a)	98.96 b (ab)	9.36 a (a)	71.64 b (a)	ns	***	ns
M	14.70 a (a)	107.22 b (b)	13.72 a (a)	123.54 b (b)	ns	***	ns
A	12.35 a (a)	55.47 b (a)	7.06 a (a)	47.94 b (a)	ns	***	ns
<i>Grosses racines</i>							
J	70.57 a (b)	474.94 b (b)	52.37 a (b)	489.30 b (b)	ns	***	ns
M	75.07 a (b)	640.96 c (c)	57.79 a (b)	489.52 b (b)	*	***	*
A	19.45 a (a)	233.01 b (a)	7.99 a (a)	224.64 b (a)	ns	***	ns
<i>Tiges</i>							
J	18.82 a (b)	241.69 b (b)	21.82 a (b)	365.17 c (b)	**	***	**
M	18.63 a (b)	292.53 b (b)	23.66 a (b)	336.95 b (b)	ns	***	ns
A	3.69 a (a)	59.95 b (a)	3.83 a (a)	68.13 b (a)	ns	***	ns
<i>Parties pérennes</i>							
J	99.15 a (b)	808.06 b (b)	83.06 a (b)	937.19 b (b)	ns	***	ns
M	108.40 a (b)	969.50 b (b)	93.30 a (b)	927.16 b (b)	ns	***	ns
A	35.90 a (a)	357.46 b (a)	18.50 a (a)	347.48 b (a)	ns	***	ns
<i>Plant</i>							
J	99.15 a (b)	808.06 b (b)	83.06 a (b)	937.19 b (b)	ns	***	ns
M	108.40 a (b)	969.50 b (b)	93.30 a (b)	927.16 b (b)	ns	***	ns
A	43.20 a (a)	433.37 b (a)	23.69 a (a)	368.58 b (a)	ns	***	ns

hivernale ($R^2 = 0,87$) (**figure 21**). Cette relation indique que le stock total de TNC augmente avec la taille du plant, indépendamment des traitements appliqués.

2.1.2. Réserves azotées

- **Concentrations en réserves azotées**

L'augmentation du niveau de fertilisation azotée provoque une augmentation de la concentration en TSN à l'échelle du plant, et dans tous ses organes, particulièrement dans les grosses racines (**figure 22, tableau 12**). Cette augmentation de la concentration en TSN est liée à l'augmentation de la concentration en acides aminés et en protéines solubles. Cependant, l'augmentation de la concentration en protéines solubles dans les tiges et en acides aminés dans les racines fines, est significative uniquement sous CO_2 ambiant. Pour les plants N-, caractérisés par les plus faibles concentrations en réserves azotées, les concentrations en TSN sont du même ordre de grandeur pour les différents organes (11 à 13 mg/g MS).

L'augmentation de la $[CO_2]$ affecte également les concentrations en réserves azotées dans tous les organes, mais seulement sous fertilisation azotée non limitante. L'augmentation de la $[CO_2]$ implique une diminution de la concentration en TSN du même ordre de grandeur dans tous les organes (-32% à l'échelle du plant) en diminuant les concentrations en protéines solubles et en acides aminés.

D'une façon générale, les variations de concentration en TSN sont principalement liées à des variations de concentration en acides aminés et, dans une moindre mesure, à des variations de concentration en protéines solubles.

- **Quantités de réserves azotées**

L'augmentation du niveau de fertilisation azotée implique une augmentation de la quantité de TSN pour l'ensemble des organes. Cette augmentation est liée à l'augmentation de la quantité d'acides aminés et de protéines solubles (**figure 23, tableau 13**).

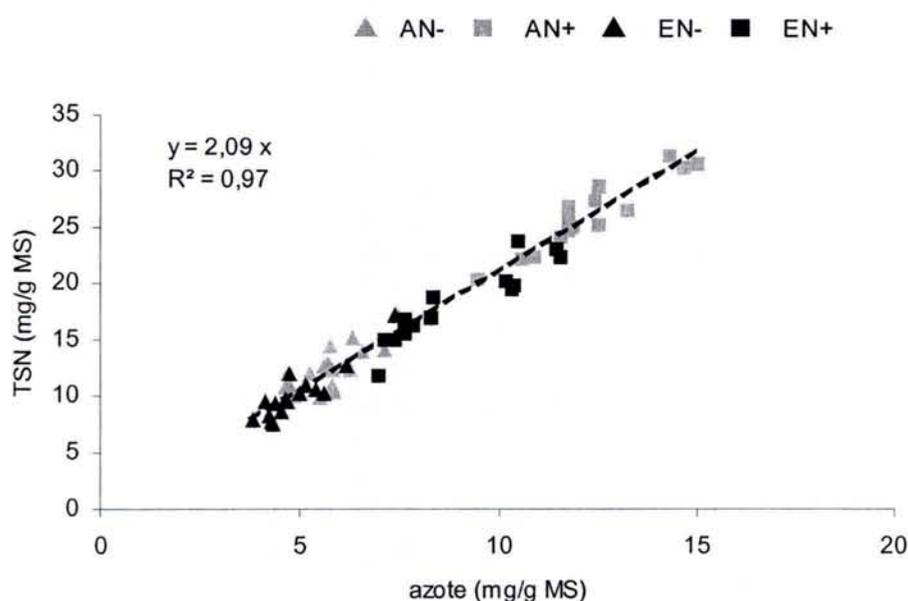
Dans les conditions N+, l'augmentation de la $[CO_2]$ se traduit par une augmentation de la quantité de TSN à l'échelle des plants (+27%). L'augmentation de TSN à l'échelle du plant est liée à l'augmentation de la quantité de protéines solubles et d'acides aminés stockés dans les tiges, ainsi qu'à l'augmentation des protéines solubles stockés dans les racines fines. L'augmentation de la quantité de protéines solubles dans les racines fines n'est pas accompagnée par une augmentation de la quantité d'acides aminés, ni de TSN dans ce compartiment. Les grosses racines constituent le seul compartiment dont la quantité en acides aminés, protéines solubles et TSN n'est pas affectée par la $[CO_2]$. Par ailleurs, il s'agit aussi du compartiment contenant le plus de TSN quel que soit le traitement appliqué.

A l'échelle du plant, chez les individus N-, les TSN se trouvent majoritairement localisés dans les grosses racines (respectivement 58% et 50% des TSN du plant sous $[CO_2]$ ambiante et $[CO_2]$ élevée). L'augmentation du niveau de fertilisation azotée se traduit par une augmentation de la part des TSN du plant allouée à la tige. Cet effet est amplifié sous $[CO_2]$ élevée.

Tableau 14 : Fraction de l'azote total (en %) sous forme d'acides aminés, de protéines solubles, et TSN (total) dans les différents organes de *Quercus robur* au début de la phase hivernale (janvier). Depuis le semis les plants ont été cultivés pendant une saison de végétation sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée à 0,61 (N-) ou 6,1 (N+) mmol de N/l. Chaque valeur correspond à la moyenne de 7 à 8 plants. Pour une date et un organe donnés, une lettre identique suivant les valeurs moyennes des traitements indique que ces valeurs ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001).

	AN-	AN+	EN-	EN+	CO ₂	N	CO ₂ *N
N soluble total (TSN) (%)							
<i>Racines fines</i>	23 a	27 bc	23 ab	27 c	ns	***	ns
<i>Grosses racines</i>	38 a	36 a	38 a	37 a	ns	ns	ns
<i>Tiges</i>	28 ab	27 a	31 b	29 ab	**	ns	ns
<i>Plant</i>	31 a	31 a	31 a	31 a	ns	ns	ns
Protéines solubles (%)							
<i>Racines fines</i>	18 ab	15 a	18 b	19 b	**	ns	*
<i>Grosses racines</i>	17 b	11 a	18 b	13 a	ns	***	ns
<i>Tiges</i>	17 bc	14 a	20 c	15 ab	**	***	ns
<i>Plant</i>	17 b	13 a	18 b	15 a	*	***	ns
Acides aminés (%)							
<i>Racines fines</i>	5 a	12 c	5 a	8 b	*	***	*
<i>Grosses racines</i>	21 ab	24 b	20 a	25 b	ns	***	ns
<i>Tiges</i>	10 a	13 bc	11 ab	13 c	ns	***	ns
<i>Plant</i>	14 ab	18 c	13 a	16 bc	ns	***	ns

Figure 24 : Relation entre la teneur en réserves azotées (TSN) et la teneur en azote contenues dans l'ensemble du plant pendant la phase hivernale (janvier à mars) chez de jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés pendant une saison de végétation sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée à 0,61 (N-) ou 6,1 (N+) mmol de N/litre. Chaque point représente un individu (N = 62).



- **Fraction de l'azote total des organes investi dans les réserves azotées**

Afin d'apprécier la fraction de l'azote total de chacun des organes qui est investi dans les acides aminés, les protéines solubles et donc dans l'ensemble des TSN, nous avons converti les concentrations d'acides aminés et de protéines solubles en pourcentage d'azote par rapport à l'azote total contenu dans l'organe. A partir de la concentration molaire en acides aminés, nous avons calculé la masse d'azote correspondante en estimant qu'un acide aminé contient en moyenne 1,3 atomes d'azote (Gadal, 1970). Pour calculer la masse d'azote contenu dans les protéines solubles, nous avons estimé que les protéines contiennent 17% d'azote en masse (Gadal, 1970).

Il ressort de ces résultats (**tableau 14**) que, dans tous les organes étudiés, l'azote contenu dans l'ensemble des acides aminés et des protéines solubles représente une part minoritaire de l'azote total des organes.

Dans les grosses racines et les tiges, une fraction d'environ 40% et 30%, respectivement, de l'azote total est allouée aux TSN, quel que soit le traitement appliqué aux plants. Dans les racines fines, quelle que soit la concentration en CO_2 , 23% de l'azote total est alloué aux TSN dans les plants N- et 27% pour les plants N+. Ainsi, l'augmentation du niveau de fertilisation N implique une légère augmentation de la part de l'azote allouée aux TSN dans les racines fines. Cependant, à l'échelle du plant, 31% de l'azote est alloué aux TSN, quel que soit le traitement appliqué aux plants.

Par conséquent, la répartition de l'azote entre TSN et le reste de l'azote (non dosé) à l'échelle du plant entier n'est modifiée par aucun des traitements appliqués aux plants (**figure 24**) et, ainsi, la concentration en TSN est directement proportionnelle à la concentration en N ($[TNN] = 2,09 [N]$, $R^2 = 0,97$; pour les quantités de TSN et N, $QTSN = 2,08 QN$, $R^2 = 0,99$; résultats non montrés).

Cependant, cette stabilité de la proportion de l'azote alloué aux TSN n'exclut pas des phénomènes compensatoires dans la répartition relative de l'azote entre acides aminés et protéines solubles. Ainsi, dans les grosses racines, dans les tiges ainsi que dans le plant, l'augmentation du niveau de fertilisation N est responsable d'une augmentation de la part de l'azote alloué aux acides aminés mais diminue la part allouée aux protéines solubles. Dans les racines fines, l'augmentation du niveau de fertilisation N est responsable d'une augmentation de la part de l'azote alloué aux acides aminés mais ne modifie pas celle allouée aux protéines solubles.

L'augmentation de la $[CO_2]$ ne modifie pas la part de l'azote alloué aux protéines solubles et aux acides aminés dans les grosses racines, les tiges et le plant. Dans les racines fines des plants EN+, la part de l'azote allouée aux acides aminés est diminuée et celle allouée aux protéines solubles est augmentée.

2.1.3. Relations entre les réserves glucidiques et azotées

- **En concentrations**

Si l'on met en relation les concentrations en TNC et en TSN des plants issus de l'ensemble des traitements, en phase hivernale, une relation de tendance décroissante se dégage (**figure 25**). Cependant, l'analyse de covariance entre ces 2 données montre que les pentes obtenues à l'intérieur de chaque traitement ne sont pas significatives.

Figure 25 : Relation entre la teneur en réserves carbonées (TNC, g équivalent glucose/100 g matière sèche) et la teneur en réserves azotées (TSN, mg/g matière sèche) contenues dans l'ensemble du plant pendant la phase hivernale (janvier à mars), chez des jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés pendant une saison de végétation sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/litre. Chaque point représente un individu en (a) (N= 62) et la moyenne du traitement en (b) (± erreur standard).

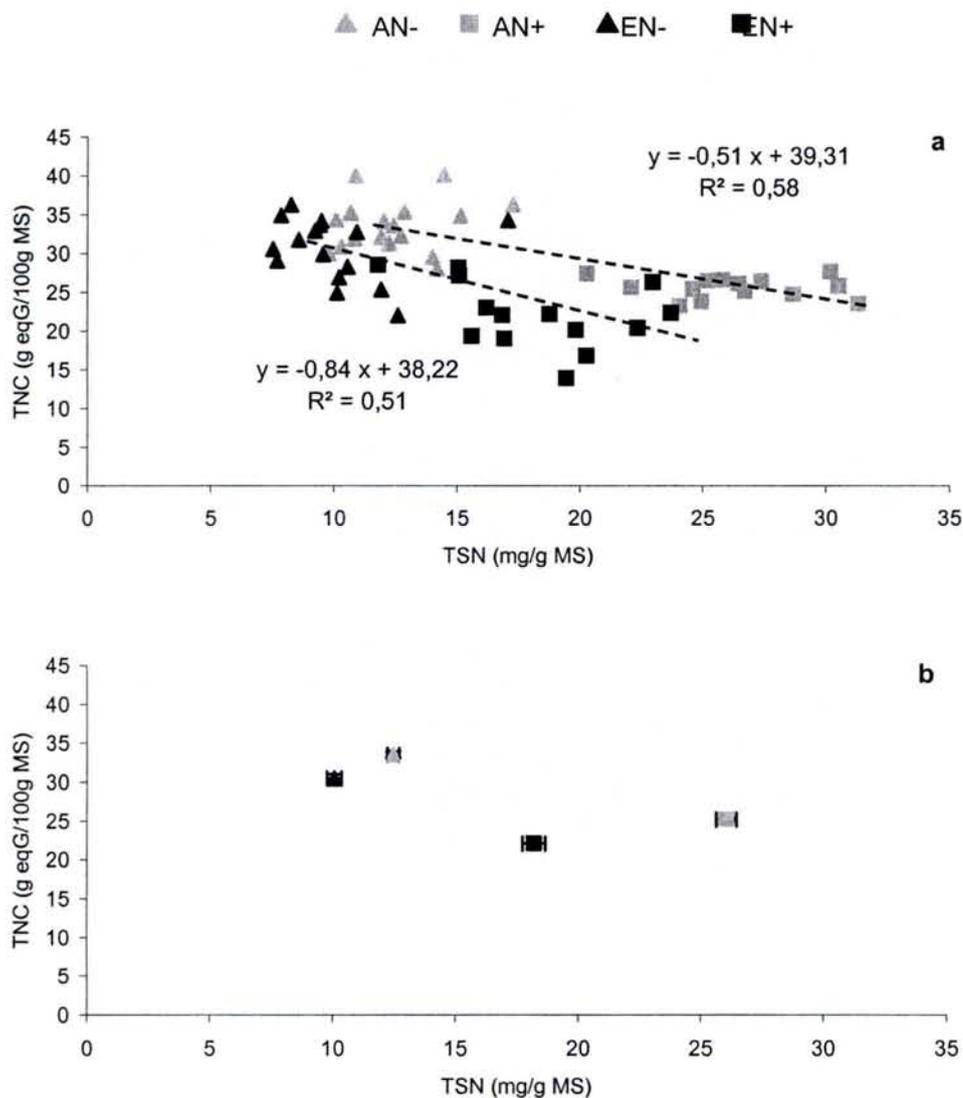
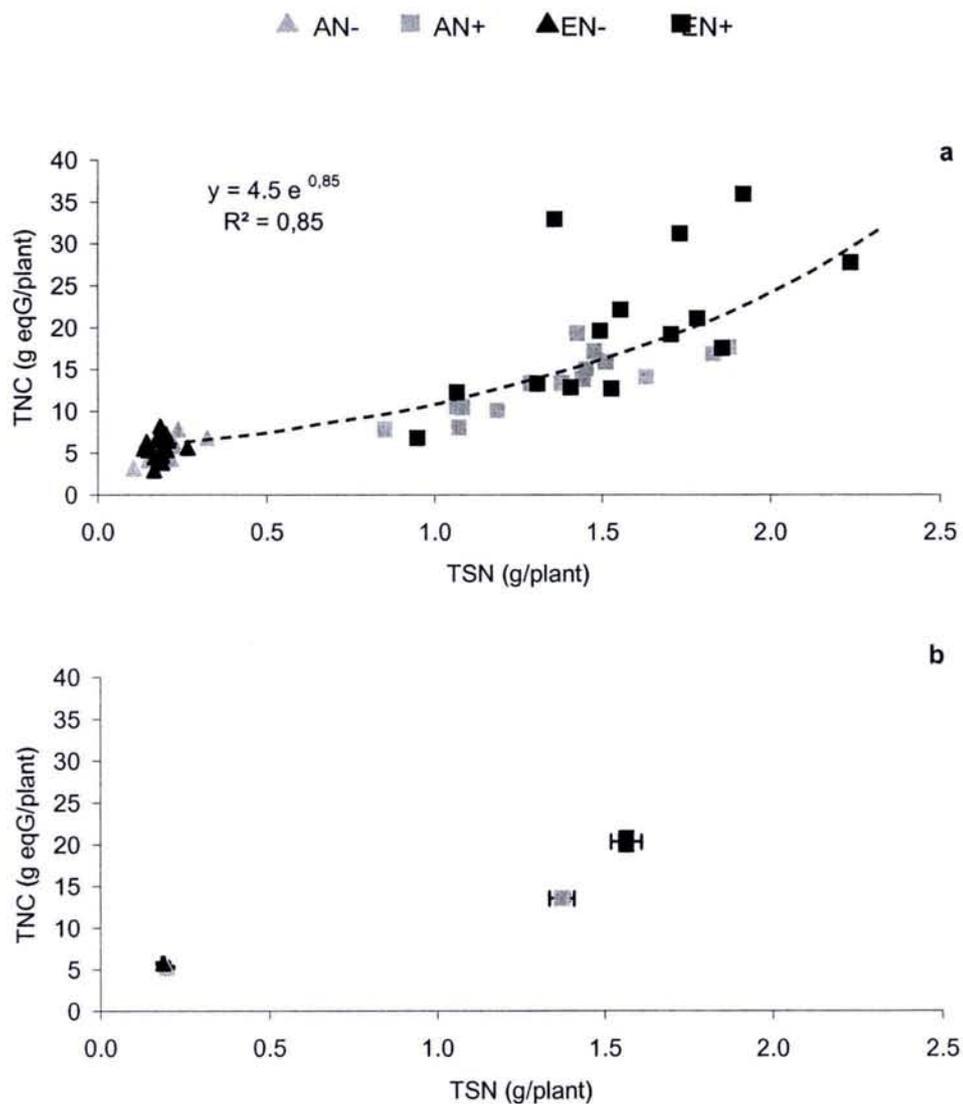


Figure 26 : Relation entre la quantité de réserves carbonées (TNC, g équivalent glucose/100 g matière sèche) et la quantité de réserves azotées (TSN, mg/g matière sèche) contenues dans l'ensemble du plant pendant la phase hivernale (janvier à mars), chez des jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés pendant une saison de végétation sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/litre. Chaque point représente un individu en (a) (N = 62) et la moyenne du traitement en (b) (± erreur standard).



Toutefois, un effet global de la $[CO_2]$ ($P < 0,0011$) et du niveau de fertilisation N ($P < 0,0001$) est mis en évidence pour la concentration en TNC sur l'ensemble des données. Ces effets ne sont pas interactifs ($P < 0,9520$). Ces résultats montrent que l'augmentation de la $[CO_2]$ ou du niveau de fertilisation N sont responsables toutes deux d'une diminution significative de la concentration en TNC dans les plants.

Par ailleurs, un effet global de la concentration en CO_2 ($P < 0,0001$) et du niveau de fertilisation N ($P < 0,0001$) est également mis en évidence pour la concentration en TSN sur l'ensemble des données. Ces effets, par contre, sont interactifs ($P < 0,0003$). Ces résultats montrent que l'augmentation du niveau de fertilisation se traduit par une augmentation de la concentration en TSN dans les plants, alors que l'augmentation de la $[CO_2]$ se traduit au contraire par une diminution de la concentration en TSN dans les plants, diminution qui est plus marquée dans les conditions N+ que dans les conditions N-.

L'ensemble de ces résultats traduit le fait qu'il existe une relation de pente négative liant les concentrations en TNC et TSN pour chacune des concentrations en CO_2 . La relation observée pour les plants cultivés sous $[CO_2]$ élevée est « décalée vers le bas » et de pente plus forte que celle observée pour les plants cultivés sous $[CO_2]$ ambiante.

- **En quantités**

Il existe également une relation liant les quantités de TNC et de TSN. Contrairement à ce qui est observé pour la relation liant les concentrations, cette relation est de type exponentielle (**figure 26**). Les traitements, fertilisation azotée ou concentration en CO_2 , appliqués aux plants, ont un impact sur les quantités de TNC et TSN stockés dans les plants mais, globalement, on observe une relation unique entre ces deux variables.

2.2. Evolutions des Réserves C et N entre Janvier et Avril

2.2.1. Réserves glucidiques

- **Concentrations en réserves glucidiques**

Durant la phase hivernale (janvier à mars), la concentration en TNC, amidon et sucres solubles ne varie pas significativement dans les racines fines à l'exception du traitement AN+ où une légère diminution de la concentration en amidon et en TNC est observée (**figure 19**, **tableau 10**). Dans les grosses racines, aucune évolution significative des concentrations en TNC, amidon et sucres solubles ne se produit pour aucun des traitements durant cette même période. Dans les tiges, une diminution de la concentration en sucres solubles est notée durant la phase hivernale pour tous les traitements, sans que la concentration en amidon change significativement. Pour cet organe, il en résulte une diminution significative de la concentration en TNC, mais uniquement dans les conditions N+. A l'échelle du plant entier, la concentration en TNC et en amidon ne varie pas significativement durant la phase hivernale, pour tous les traitements, malgré une légère diminution de la concentration en sucres solubles pour tous les traitements mis à part EN+.

Au printemps (mars à avril) dans les racines fines, la concentration en TNC et en amidon diminue pour tous les traitements, alors que la concentration en sucres solubles augmente dans les conditions N⁺ et ne varie pas significativement dans les conditions N⁻. Dans les grosses racines à cette période, la concentration en TNC et amidon diminue fortement et la concentration en sucres solubles augmente, pour tous les traitements. Dans les tiges au printemps, la concentration en TNC et en amidon ne varie pas significativement dans les conditions N⁻, mais diminue dans les conditions N⁺, tandis que la concentration en sucres solubles augmente sauf pour le traitement EN⁻. Finalement, dans l'ensemble des parties pérennes et dans le plant, la concentration en TNC et en amidon diminue, alors que la concentration en sucres solubles augmente au printemps dans tous les traitements.

Pour tous les traitements, les plus grandes variations de concentration en TNC au printemps sont observées dans le système souterrain et principalement dans les grosses racines. Pour tous les organes pérennes, les variations de concentration en TNC sont plus importantes dans les conditions N⁺ que dans les conditions N⁻. Le CO₂ élevé, par contre, ne modifie pas l'importance des variations de concentrations dans les organes.

- **Quantités de réserves glucidiques**

Les quantités d'amidon et de TNC contenues dans les différents organes restent constantes pendant la phase hivernale pour tous les traitements (**figure 20, tableau 11**). Il en est de même pour la quantité de sucres solubles, sauf pour les tiges des plants N⁻ pour lesquelles la quantité de sucres solubles diminue légèrement.

Au printemps, dans chacun des organes pérennes, la quantité de sucres solubles ne varie pas significativement pour tous les traitements mis à part pour AN⁺ où elle augmente quasiment du double. Au cours de cette période, les quantités d'amidon et de TNC diminuent dans les racines fines pour tous les traitements, dans les grosses racines sauf pour le traitement EN⁻ où elles ne varient pas significativement, et elles diminuent également dans les tiges N⁺, mais restent constantes dans les tiges N⁻. Finalement dans l'ensemble des parties pérennes, les quantités d'amidon et de TNC diminuent pour tous les traitements sauf pour EN⁻ où elles ne varient pas significativement. Selon le traitement, 71 à 91% de la diminution de la quantité de TNC dans les parties pérennes sont dus à la diminution des TNC dans les grosses racines.

L'évolution des quantités de TNC, amidon et sucres solubles dans l'ensemble du plant au printemps suit celles observées dans les parties pérennes, mis à part pour le traitement EN⁺ où une légère augmentation de la concentration en sucres solubles est observée dans le plant mais pas dans les parties pérennes.

Au vu de nos résultats, il apparaît que les variations de quantités de TNC suivent les variations de quantités d'amidon dans tous les organes et tous les traitements. Par ailleurs, les variations de quantités d'amidon et de TNC observées sont d'une ampleur nettement plus grande dans les différents organes des plants N⁺ par rapport aux plants N⁻, alors que l'augmentation de la [CO₂] n'a pas d'effet sur l'ampleur de ces variations.

2.2.2. Réserves azotées

- **Concentrations en réserves azotées**

Durant la phase hivernale, la concentration en TSN, protéines solubles et acides aminés ne varie pas significativement dans les racines fines pour tous les traitements, à l'exception du traitement AN- où une augmentation de la concentration en acides aminés est observée (**figure 22, tableau 12**). Pour les grosses racines, aucune évolution significative des concentrations en TSN, protéines solubles et acides aminés n'est observée durant cette période pour aucun des traitements. Dans les tiges, pour tous les traitements, la concentration en acides aminés n'évolue pas significativement durant la phase hivernale, alors que la concentration en protéines solubles diminue sauf pour le traitement AN- où la diminution n'est pas assez marquée pour être significative. Cependant, dans cet organe, la concentration en TSN n'évolue pas significativement sauf dans le cas du traitement AN+ où une légère diminution est notée.

Les variations de concentrations observées dans ces différents organes pérennes sont suffisamment faibles pour que les concentrations en acides aminés, protéines solubles et TSN n'évoluent pas significativement dans le plant pendant la phase hivernale.

Au printemps, dans les racines fines, la concentration en protéines solubles ne varie pas significativement, alors que les concentrations en acides aminés et TSN diminuent dans les conditions N+, mais restent constantes dans les conditions N-. Dans les grosses racines, la concentration en TSN et acides aminés diminuent fortement au printemps. Dans cet organe, la concentration en protéines solubles diminue également mais uniquement dans les conditions N-. Une diminution des concentrations en acides aminés, en protéines solubles et en TSN est également notée dans les tiges pour tous les traitements. Dans l'ensemble des parties pérennes, une diminution de la concentration en acides aminés, protéines solubles et TSN est observée au printemps pour tous les traitements. A l'échelle du plant entier, les concentrations en acides aminés et TSN diminuent, alors que la concentration en protéines solubles ne varie pas significativement dans les plants soumis à une augmentation de la [CO₂] et augmente légèrement dans les plants soumis à une concentration en [CO₂] ambiante.

D'une façon générale, quel que soit le traitement considéré, dans tous les organes pérennes, les diminutions de concentration en acides aminés observées au printemps sont beaucoup plus fortes que les diminutions de concentration en protéines solubles et, par conséquent, les diminutions de concentration en TSN dans les organes sont principalement liées à des diminutions de concentration en acides aminés. Pour chacun des traitements considérés, la diminution de concentration en TSN est moins importante dans les racines fines que dans les grosses racines et les tiges, pour lesquelles les diminutions observées sont du même ordre de grandeur. Les diminutions de concentrations en TSN dans les organes pérennes sont un peu plus importantes dans les conditions N+ que dans les conditions N-, quelle que soit la concentration en CO₂ associée. Cependant, les concentrations en TSN diminuent à peu près de moitié dans l'ensemble des parties pérennes, dans tous les traitements.

- **Quantités de réserves azotées**

Dans les racines fines, les quantités d'acides aminés, de protéines solubles et de TSN restent constantes pendant la phase hivernale, sauf dans le traitement EN+ où la quantité d'acides aminés augmente (**figure 23, tableau 13**). Dans les grosses racines, les quantités d'acides aminés, de protéines solubles et de TSN ne varient pas durant la phase hivernale, mis à part dans le traitement AN+ dans lequel la quantité d'acides aminés augmente, provoquant

Tableau 15 : Evolution au cours du temps de la croissance en longueur (cm) de la nouvelle pousse principale formée au printemps par jeunes plants de par *Quercus robur* dans leur 2^{ème} saison de végétation. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée à soit 0,61 (N-) soit 6,1 (N+) mmol N/l. Chaque valeur correspond à la moyenne de 9 à 15 individus. Pour une date donnée, une lettre identique suivant les valeurs moyennes des traitements indique que ces valeurs ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001).

Jours juliens	AN-	AN+	EN-	EN+	CO ₂	N	CO ₂ *N
59	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	ns	ns	ns
64	0.6 b	0.0 a	0.0 a	0.0 a	**	**	**
66	1.7 b	0.8 a	0.1 a	0.3 a	***	ns	*
69	2.8 c	1.8 bc	0.3 a	0.7 ab	***	ns	ns
71	3.2 c	2.3 bc	0.6 a	1.2 ab	***	ns	ns
73	9.8 a	8.5 a	4.8 a	3.3 a	ns	ns	ns
76	11.0 a	12.1 a	6.5 a	6.0 a	ns	ns	ns
80	11.7 a	15.5 a	8.5 a	9.5 a	ns	ns	ns
83	11.9 a	17.5 a	9.6 a	11.6 a	ns	ns	ns
87	12.0 ab	20.4 b	9.6 a	13.4 ab	ns	*	ns
91	11.9 a	21.9 b	9.9 a	14.6 ab	ns	*	ns
98	11.9 a	23.4 b	10.0 a	14.9 ab	ns	**	ns

également l'augmentation de la quantité de TSN. Dans les tiges, les quantités d'acides aminés, de protéines solubles, de TSN restent constantes durant la phase hivernale, sauf pour le traitement AN- où une très légère diminution de la quantité de protéines solubles est visible. Cependant, à l'échelle du plant, aucune variation de quantité d'acides aminés, de protéines solubles et de TSN n'est observable pendant la phase hivernale.

Au printemps, dans les racines fines, la quantité de protéines solubles reste constante pour tous les traitements et la quantité d'acides aminés reste constante dans les conditions N-, mais diminue environ de moitié dans les conditions N+. La quantité de TSN dans cet organe reste constante sauf pour le traitement EN+ où elle diminue. Pendant la même période, dans les grosses racines, les tiges et dans l'ensemble des parties pérennes, la quantité de protéines solubles, d'acides aminés et de TSN diminue fortement. La diminution des quantités de TSN est 2 à 3 fois plus importante dans les grosses racines par rapport aux tiges dans les conditions N-, alors que dans les conditions N+ la diminution des quantités de TSN est similaire pour les 2 organes. L'importance de la diminution de la quantité de TSN au printemps dans l'ensemble des parties pérennes n'est pas influencée par la [CO₂] mais dépend du niveau de fertilisation azotée : dans les conditions N-, de 101,9 à 102,2 mg de TSN sont perdus dans l'ensemble des parties pérennes contre 766,3 à 767,6 mg dans les conditions N+. Bien que ces valeurs soient très différentes, elles représentent une part identique (50 à 54%) de la quantité de TSN présents dans les parties pérennes durant la phase hivernale. Dans l'ensemble des parties pérennes, la diminution des quantités d'acides aminés explique de 71 à 80 % de la diminution des quantités de TSN selon le traitement.

A l'échelle du plant entier, seule la quantité d'acides aminés diminue dans tous les traitements. Les quantités de protéines solubles et de TSN restent constantes, mis à part dans le traitement AN+ où la quantité de protéines solubles augmente et dans le traitement EN- où la quantité de TSN diminue.

3. FORMATION DES NOUVEAUX ORGANES AU PRINTEMPS

3.1. Croissance et Morphologie des nouveaux organes

3.1.1. Mise en place du 1^{er} étage de croissance

Les plants cultivés dans les conditions AN- sont les premiers à démarrer leur croissance principale (bourgeon terminal) au printemps (**tableau 15**). Celle-ci débute entre le jour julien 59 et le jour julien 64, alors qu'elle ne débute qu'entre le jour julien 64 et le jour julien 66 pour les autres traitements.

Durant les premières étapes de la croissance des nouveaux organes, la [CO₂] élevée est responsable d'un léger retard dans la croissance de la tige principale des plants cultivés dans les conditions N-, mais pas dans les conditions N+.

Après le jour julien 71, la vitesse de croissance de la tige principale s'intensifie dans tous les traitements et, dès le jour julien 73, aucune différence significative n'est observable entre les traitements.

Tableau 16 : Caractéristiques morphologiques des nouvelles tiges (longueur totale, nombre) et des nouvelles feuilles (surface, surface foliaire spécifique (SLA), nombre) formées au printemps (avril) par de jeunes plants de *Quercus robur* dans leur 2^{ème} saison de végétation. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée à soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/l. Chaque valeur correspond à la moyenne de 9 à 15 individus. Pour un organe donné, une lettre identique suivant les valeurs moyennes des traitements indique que ces valeurs ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001).

	AN-	AN+	EN-	EN+	CO ₂	N	CO ₂ *N
Nouvelles tiges							
Longueur totale (cm)	58,4 a	282,4 b	57,1 a	299,1 b	ns	***	ns
Nombre	6,6 a	22,7 b	9,1 a	33,8 c	**	***	ns
Nouvelles feuilles							
Surface foliaire (dm ²)	6,63 a	39,90 b	6,21 a	34,87 b	ns	***	ns
SLA (dm ² /g)	2,81 b	2,68 b	2,09 a	2,47 ab	***	ns	*
Nombre	28,5 a	213,1 b	51,2 a	365,9 c	**	***	*

Dans les dernières étapes de l'installation du premier étage de croissance, aucun effet de la [CO₂] élevée n'est observé sur la longueur de la tige principale développée par les plants. Cependant, à partir du jour julien 91, parmi les plants cultivés sous [CO₂] ambiante, les plants issus de la condition N+ présentent une tige d'une longueur significativement plus élevée de ceux issus de la condition N-.

3.1.2. Bilan de croissance à la fin de l'étalement du premier étage foliaire

L'augmentation de la [CO₂] n'a pas d'effet sur la longueur totale développée par l'ensemble des tiges, ni sur la surface foliaire des nouveaux organes formés au printemps (**tableau 16**). Par contre, l'augmentation de la [CO₂] a pour conséquence une augmentation du nombre de tiges (+49%) et de feuilles (+72%), mais uniquement dans les conditions N+. La surface spécifique des feuilles (SLA, Specific Leaf Area), est diminuée (-26%) mais uniquement dans les conditions N-.

L'augmentation du niveau de fertilisation N a pour résultat de stimuler la croissance des nouveaux organes (longueur totale des tiges, surface foliaire, nombre de tiges et de feuilles), mais n'affecte pas le SLA.

3.2. Répartition du C et N dans les nouveaux organes

3.2.1. Quantités de C et N

L'augmentation de la [CO₂] n'influence l'accumulation de C et de N, ni dans les nouvelles tiges, ni dans les nouvelles feuilles, quel que soit le niveau de fertilisation azotée (**figure 27**). L'augmentation du niveau de fertilisation N a pour conséquence une importante augmentation de la quantité de C et de N accumulée dans les nouvelles tiges et les nouvelles feuilles, quelle que soit la [CO₂] associée.

Selon le traitement, l'ensemble des nouveaux organes formés au printemps représente de 16 à 27% du C total contenu par le plant et les traitements appliqués n'ont pas d'effets significatifs sur ces valeurs (**figure 14, tableau 5**). Les nouveaux organes représentent une part plus importante du N total du plant, allant de 51 à 57%, sauf pour le traitement EN- pour qui cette valeur est significativement plus faible (39%).

3.2.2. Quantités de ¹³C et ¹⁵N en excès

L'augmentation de la [CO₂] n'a pas d'effet sur les quantités de ¹³C et de ¹⁵N en excès qui sont investies dans les nouvelles tiges et les nouvelles feuilles (**figure 28**). De même, l'augmentation du niveau de fertilisation N n'engendre pas de modification significative des quantités de ¹⁵N en excès investies dans les nouveaux organes, à l'exception d'une légère augmentation de la quantité de ¹⁵N en excès dans les nouvelles tiges sous [CO₂] ambiante. Par contre, l'augmentation du niveau de fertilisation N a pour conséquence une importante augmentation des quantités de ¹³C en excès contenues dans les nouvelles tiges et les nouvelles feuilles (+900% en moyenne pour l'ensemble des nouveaux organes).

Figure 27 : Quantités de C et N (en g) accumulées dans les nouveaux organes formant le 1er étage de croissance en 2ème saison de végétation par de jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation N soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol de N/l. Chaque valeur correspond à la moyenne de 8 à 14 plants. Pour chacun des organes, une lettre identique au dessus des moyennes des traitements indique que ces moyennes ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,0001).

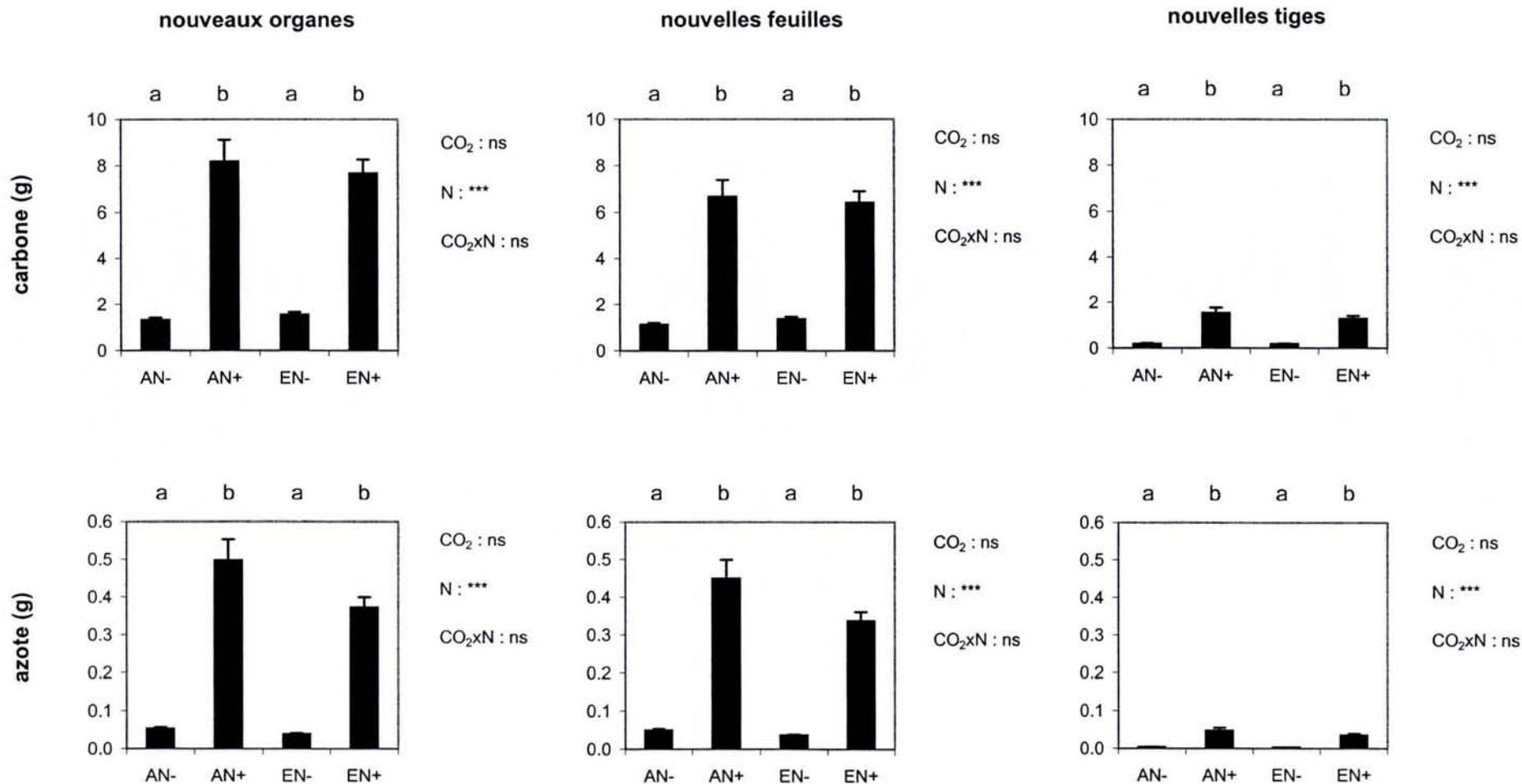


Figure 28 : Quantités de ^{13}C et ^{15}N (en mg) accumulées dans les nouveaux organes formant le 1er étage de croissance en 2ème saison de végétation par de jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous une $[\text{CO}_2]$ ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation N soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol de N/l. Chaque valeur correspond à la moyenne de 3 à 5 plants. Pour chacun des organes, une lettre identique au dessus des moyennes des traitements indique que ces moyennes ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$; (***) $p < 0,0001$).

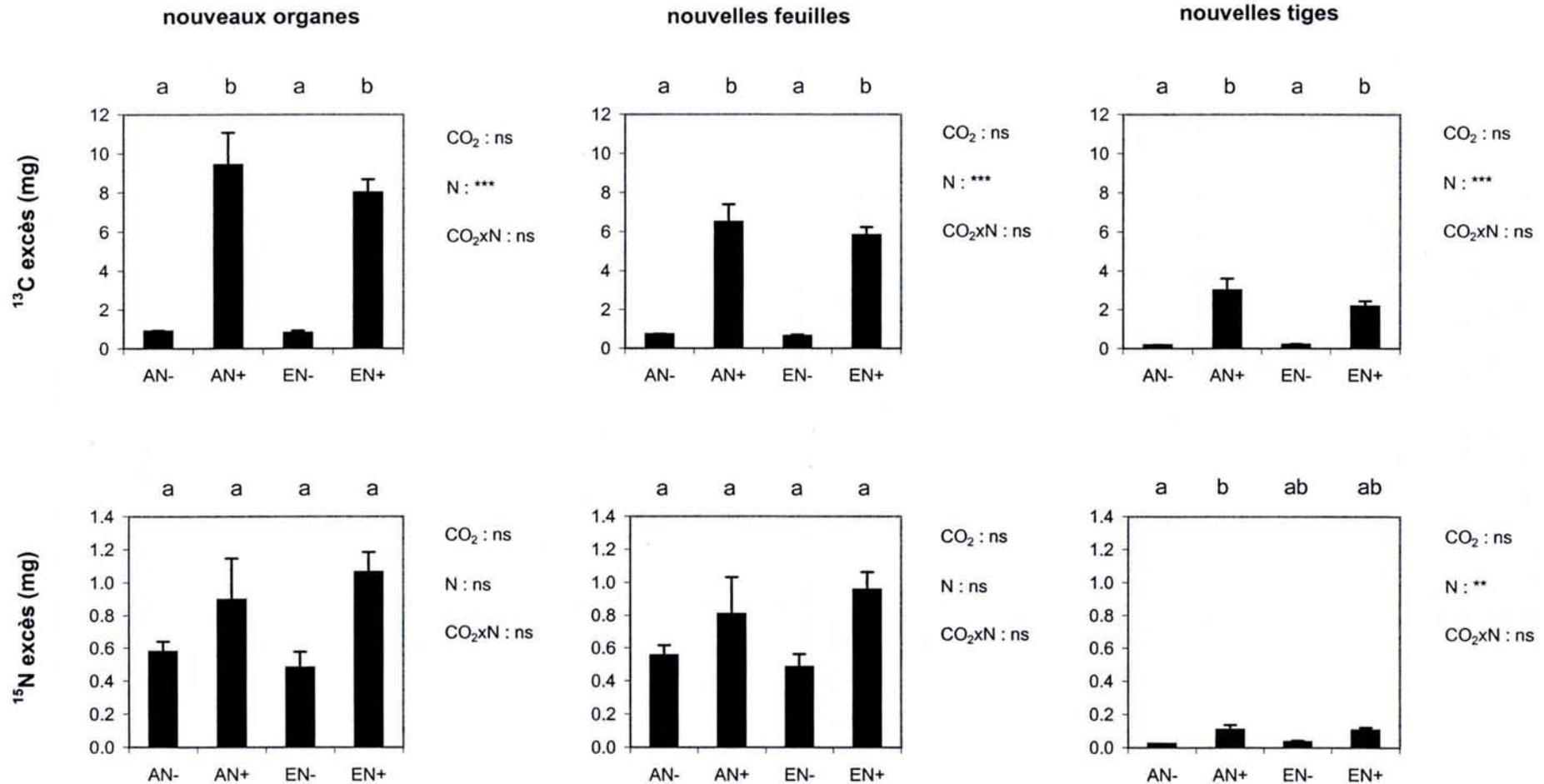


Tableau 17 : Teneurs en N et rapport C/N des nouveaux organes formant le 1^{er} étage de croissance en 2^{ème} saison de végétation de jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation N soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol de N/l. Chaque valeur correspond à la moyenne de 8 à 14 plants. Pour chacun des organes, une lettre identique suivant les valeurs moyennes des traitements indique que ces moyennes ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,0001).

	AN-	AN+	EN-	EN+	CO ₂	N	CO ₂ *N
Teneurs en N (g/100g MS)							
<i>Nouvelles tiges</i>	0,86 b	1,41 c	0,63 a	1,21 c	**	***	ns
<i>Nouvelles feuilles</i>	2,08 b	3,17 d	1,24 a	2,49 c	***	***	ns
<i>Nouveaux organes</i>	1,91 b	2,83 d	1,17 a	2,27 c	***	***	ns
Rapport C/N							
<i>Nouvelles tiges</i>	54 b	33 a	73 c	39 a	***	***	*
<i>Nouvelles feuilles</i>	23 c	15 a	37 d	19 b	***	***	***
<i>Nouveaux organes</i>	25 c	16 a	40 d	21 b	***	***	***

Tableau 18 : Abondance isotopique en ¹³C et ¹⁵N (en %) des sources de marquage des nouveaux organes constituant le 1^{er} étage de croissance de 2^{ème} année de jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation N soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol de N/l, et marqués à l'automne au ¹³C et ¹⁵N. La source de marquage des nouveaux organes correspond aux composés de réserve principaux contenus par les grosses racines et les tiges au début du débourrement (mars) : amidon pour le ¹³C et fraction N soluble pour le ¹⁵N. Les résultats obtenus correspondent à la moyenne d'analyses réalisées sur 4 à 5 individus.

	AN-	AN+	EN-	EN+
A% ¹³ C amidon	1,24	1,35	1,20	1,34
A% ¹⁵ N fraction N soluble	1,23	0,68	1,59	0,71

L'ensemble des nouveaux organes contient une faible fraction du ^{13}C en excès du plant (de 10 à 22%), mais une fraction importante du ^{15}N en excès du plant (de 46 à 63%) (**figure 16, tableau 7**). L'augmentation de la $[\text{CO}_2]$ n'a pas d'effet sur la proportion de ^{13}C et de ^{15}N en excès du plant investie dans l'ensemble des nouveaux organes. Par contre, une augmentation du niveau de fertilisation N augmente la fraction de ^{13}C en excès (+61%) et de ^{15}N en excès (+28%) du plant qui sont investies dans l'ensemble des nouveaux organes mais uniquement sous $[\text{CO}_2]$ ambiante. Sous $[\text{CO}_2]$ élevée elles ne sont pas modifiées significativement.

3.2.3. Teneurs en N et rapport C/N

L'augmentation du niveau de fertilisation N se traduit par une augmentation de la teneur en N et une diminution du C/N des nouvelles tiges et des nouvelles feuilles (**tableau 17**).

Au contraire, l'augmentation de la $[\text{CO}_2]$ a pour résultat de diminuer la teneur en N des nouvelles feuilles et des nouvelles tiges, mais uniquement dans les conditions N- pour cet organe. Il en résulte, toutefois, une diminution significative de la teneur en N dans l'ensemble des nouveaux organes (-30% en moyenne), quel que soit le niveau de fertilisation N. Le C/N des nouvelles feuilles et des nouvelles tiges augmente sous l'effet de l'augmentation de la $[\text{CO}_2]$. Cet effet est plus marqué dans les conditions N- (+60% sur l'ensembles de nouveaux organes) que N+ (+31% sur l'ensemble des nouveaux organes), et dans les feuilles (+27 à 61%) que dans les tiges (+18 à 35%).

3.3. Renouvellement du C et N dans les nouveaux organes

En théorie, les nouveaux organes formés au printemps sont constitués d'un mélange d'éléments dérivant des réserves, que l'on qualifie d'éléments « anciens », et d'éléments nouvellement acquis par les plants, que l'on qualifie de « nouveaux ». Les calculs de renouvellement du C et N dans les nouveaux organes permettent d'établir la proportion relative d'éléments anciens et nouveaux dans ces organes (**voir « matériel et méthodes »**). Dans notre étude nous avons choisi de marquer le C et N anciens. Par conséquent, il a été nécessaire de purifier les composés représentant au mieux le C et N remobilisés au printemps afin de connaître l'abondance isotopique en ^{13}C et ^{15}N de la source de marquage des nouveaux organes pour pouvoir réaliser les calculs de renouvellement du C et N.

3.3.1. Abondance isotopique en ^{13}C et ^{15}N des sources de marquage des nouveaux organes

La source de marquage en ^{13}C et ^{15}N des nouveaux organes correspond aux composés de réserves principaux contenus dans l'ensemble formé par les grosses racines et les tiges prélevées au début du débourrement (mars) et que nous avons extrait. Il s'agit, comme nous l'avons déjà dit, de l'amidon pour le ^{13}C et des acides aminés pour le ^{15}N .

Contrairement à l'amidon et pour des raisons techniques, les acides aminés n'ont été purifiés que partiellement, c'est pourquoi nous qualifions cette fraction de « fraction N soluble ». Le **tableau 18** présente les valeurs d'abondance en ^{13}C et ^{15}N que nous avons obtenus et utilisées pour le calcul du renouvellement du C et N dans les nouveaux organes.

Figure 29 : Proportions et quantités de carbone ancien (noir) et de carbone nouveau (gris) contenues dans les nouveaux organes formés au printemps (avril) par de jeunes plants de *Quercus robur* dans leur 2ème année de croissance. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/l et marqués à l'automne au ¹³C et ¹⁵N. Chaque valeur correspond à la moyenne de 3 à 5 individus. Pour chacun des organes, une lettre identique au dessus des moyennes des traitements indique que ces moyennes ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001). L'intervalle de confiance à 95% figure sous la forme d'un trait blanc.

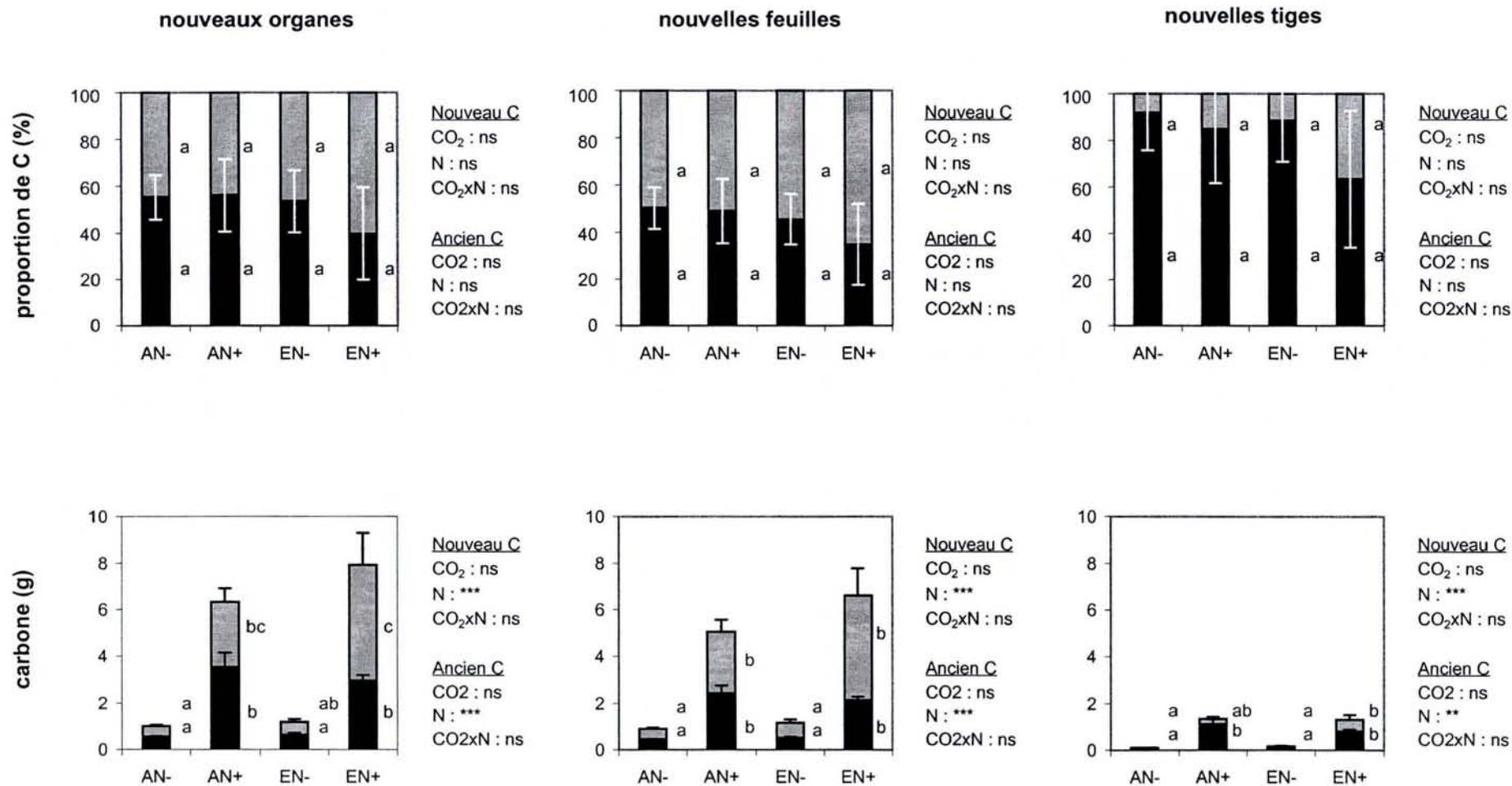


Tableau 19 : Fractions de N ancien et N nouveau contenues dans les nouveaux organes formés au printemps (avril) par de jeunes plants de *Quercus robur* dans leur 2^{ème} année de croissance. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/l et marqués à l'automne au ¹³C et au ¹⁵N. Chaque valeur correspond à la moyenne de 3 à 5 individus. L'intervalle de confiance à 95% pour chaque moyenne est indiqué en italique sous la valeur correspondante.

	AN-	AN+	EN-	EN+
Fraction d'azote ancien				
<i>Nouvelles tiges</i>	1,34 <i>[1,01-1,91]</i>	0,75 <i>[0,46-1,08]</i>	1,18 <i>[0,78-1,75]</i>	0,77 <i>[0,47-1,28]</i>
<i>Nouvelles feuilles</i>	1,60 <i>[1,19-2,30]</i>	0,72 <i>[0,42-1,07]</i>	1,28 <i>[0,90-1,83]</i>	0,81 <i>[0,51-1,33]</i>
<i>Nouveaux organes</i>	1,59 <i>[1,17-2,32]</i>	0,72 <i>[0,42-1,07]</i>	1,30 <i>[0,86-1,92]</i>	0,81 <i>[0,50-1,33]</i>
Fraction d'azote nouveau				
<i>Nouvelles tiges</i>	-0,34	0,25	-0,18	0,23
<i>Nouvelles feuilles</i>	-0,60	0,28	-0,28	0,19
<i>Nouveaux organes</i>	-0,59	0,28	-0,30	0,19

3.3.1. Renouvellement du Carbone

Ni la [CO₂], ni le niveau de fertilisation azotée ne modifient les proportions relatives de C ancien et de C nouveau dans les nouveaux organes formés au printemps (**figure 29**). Les nouvelles tiges, contenant de 8 à 37% de C nouveau en moyenne, sont donc constituées d'une majorité de C ancien. Le calcul de l'intervalle de confiance à 95% nous indique que les nouvelles tiges peuvent être constituées au minimum de 34% et jusqu'à 100% de C ancien. Contrairement aux nouvelles tiges, les nouvelles feuilles sont constituées de proportions similaires de C nouveau et ancien (de 50 à 65% de C nouveau en moyenne). Le calcul de l'intervalle de confiance à 95% nous indique qu'elles sont constituées au minimum de 17% et au maximum de 63% de C ancien. Les nouvelles feuilles contiennent donc dans tous les traitements une proportion non négligeable de C nouveau (37% au minimum). Du fait de l'importance pondérale des nouvelles feuilles au sein des nouveaux organes, ces derniers présentent le même type de réponses aux traitements que les nouvelles feuilles (44 à 60% de C nouveau en moyenne).

L'augmentation de la [CO₂] ne modifie pas les quantités de C ancien, ni de C nouveau incorporées dans les nouvelles tiges, les nouvelles feuilles, et donc dans l'ensemble des nouveaux organes, quel que soit le niveau de fertilisation N associée. Par contre, l'augmentation du niveau de fertilisation N se traduit par une augmentation de la quantité de C ancien dans les nouvelles tiges, quelle que soit la [CO₂] associée, mais n'augmente les quantités de C nouveau que sous [CO₂] élevée. Dans les nouvelles feuilles ainsi que dans l'ensemble des nouveaux organes, l'augmentation du niveau de fertilisation N a pour résultat d'augmenter les quantités de C ancien et de C nouveau quelle que soit la [CO₂] associée.

3.3.2. Renouvellement de l'Azote

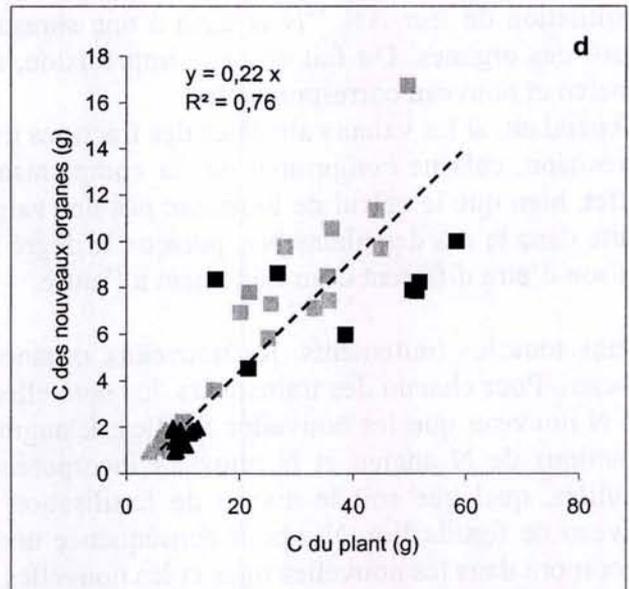
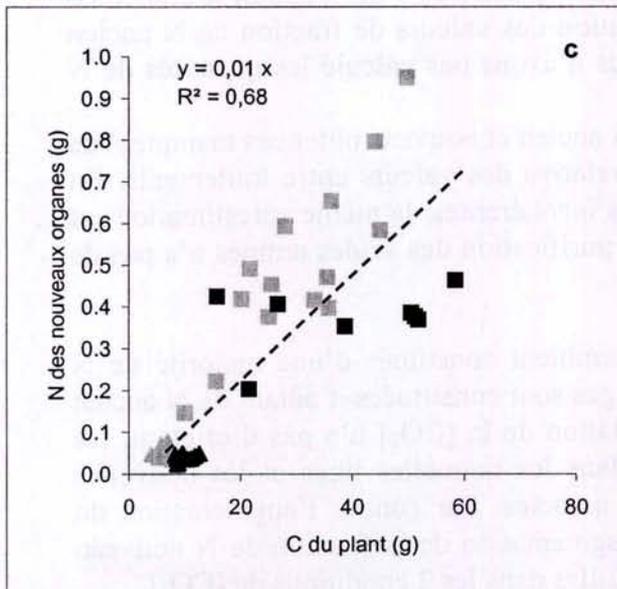
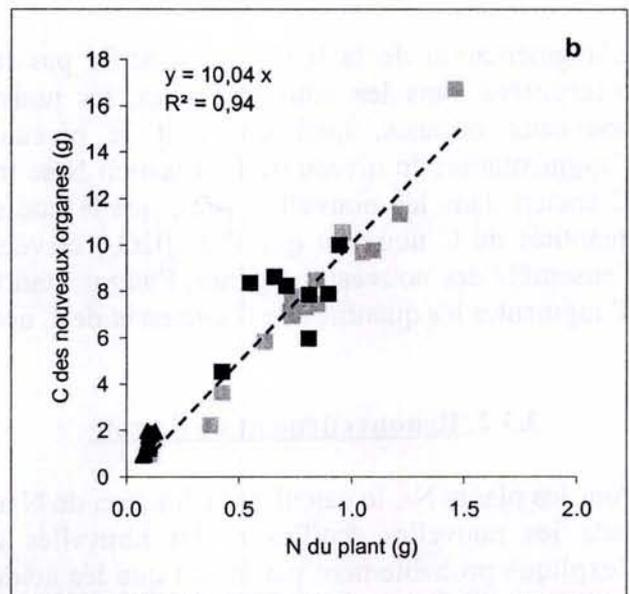
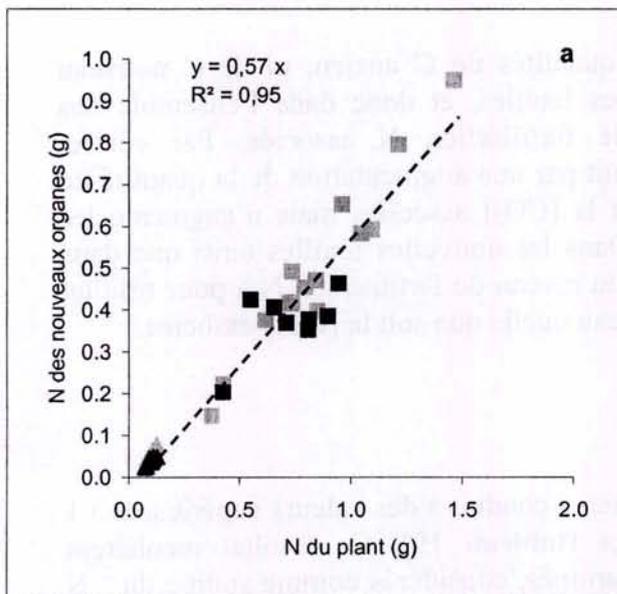
Pour les plants N-, le calcul de la fraction de N ancien a conduit à des valeurs supérieures à 1 dans les nouvelles feuilles et les nouvelles tiges (**tableau 19**). Ce résultat incohérent s'explique probablement par le fait que les acides aminés, considérés comme source de ¹⁵N pour les nouveaux organes, n'étaient pas suffisamment purifiés, ce qui conduit à une sous-estimation de leur A% ¹⁵N et ainsi à une surestimation des valeurs de fraction de N ancien dans ces organes. Du fait de cette imprécision, nous n'avons pas calculé les quantités de N ancien et nouveau correspondantes.

Cependant, si les valeurs absolues des fractions de N ancien et nouveau obtenues manquent de précision, cela ne compromet pas la comparaison relative des valeurs entre traitements. En effet, bien que le calcul ne fournisse pas des valeurs incohérentes, la même surestimation est faite dans le cas des plants N+, puisque le degré de purification des acides aminés n'a pas de raison d'être différent d'un traitement à l'autre.

Dans tous les traitements, les nouveaux organes semblent constitués d'une majorité de N ancien. Pour chacun des traitements, les nouvelles tiges sont constituées d'autant de N ancien et N nouveau que les nouvelles feuilles. L'augmentation de la [CO₂] n'a pas d'effet sur les fractions de N ancien et N nouveau incorporées dans les nouvelles tiges et les nouvelles feuilles, quel que soit le niveau de fertilisation N associée. Par contre, l'augmentation du niveau de fertilisation N a pour conséquence une augmentation de la fraction de N nouveau incorporé dans les nouvelles tiges et les nouvelles feuilles dans les 2 conditions de [CO₂].

Figure 30 : Relations entre la quantité d'azote contenue dans le plant et les quantités d'azote (a) et de carbone (b) contenues dans l'ensemble des nouveaux organes, ainsi que relations entre la quantité de carbone contenue dans plant et les quantités d'azote (c) et de carbone (d) contenues dans l'ensemble des nouveaux organes chez des jeunes plants de *Quercus robur* cultivés pendant une saison de végétation sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol d'azote/litre. Les mesures correspondent à des plants prélevés au printemps, lorsque les nouveaux organes ont totalement étalé leur 1er étage foliaire. Chaque point représente un individu (N = 45).

▲ AN- ■ AN+ ▲ EN- ■ EN+



3.4. Relations entre le C et le N stockés dans le plant et le C et le N contenus dans les nouveaux organes

3.4.1. Relations avec le carbone stocké dans le plant

Il existe une relation linéaire entre la quantité de C contenue dans l'ensemble du plant au printemps (avril) et d'une part, la quantité de N, et d'autre part, la quantité de C, qui sont contenues dans l'ensemble des nouveaux organes formés. Ces 2 relations sont fortes ($R^2 = 0,68$ et $0,76$ respectivement) et aucun des traitements appliqués ne les modifie (**figure 30 c, d**).

3.4.2. Relations avec l'azote stocké dans le plant

Il existe également une relation linéaire entre la quantité de N contenue dans l'ensemble du plant au printemps (avril) et d'une part, la quantité de N, et d'autre part, la quantité de C, qui sont contenues dans l'ensemble des nouveaux organes formés. Ces 2 relations sont très fortes ($R^2 = 0,95$ et $0,94$ respectivement) et aucun des traitements appliqués ne les modifie (**figure 30 a, b**).

3.5. Composition biochimique des nouveaux organes

3.5.1. Glucides

- **Concentrations**

Dans les nouveaux organes mis en place au printemps, aussi bien dans les tiges que dans les feuilles, l'augmentation de la $[CO_2]$ n'a pas d'impact sur la concentration en sucres solubles (**figure 31**). Par contre, l'augmentation de la $[CO_2]$ se traduit par une augmentation de la concentration en amidon et en TNC dans les nouvelles tiges et les nouvelles feuilles mais uniquement dans les conditions N-, ces concentrations n'étant pas significativement affectées dans les conditions N+. Cet effet est plus marqué pour les feuilles que pour les tiges (+168% contre +74% respectivement).

L'augmentation du niveau de fertilisation a pour conséquence une augmentation de la concentration en sucres solubles et une diminution de la concentration en amidon dans les nouvelles tiges et les nouvelles feuilles. Cependant, sous $[CO_2]$ ambiante, l'augmentation de la concentration en sucres solubles est compensée par la diminution de la concentration en amidon, et la concentration en TNC n'est donc pas affectée par le niveau de fertilisation N dans ces organes. Sous $[CO_2]$ élevée, c'est également le cas dans les tiges, mais dans les feuilles ainsi que dans l'ensemble des nouveaux organes, la diminution de la concentration en amidon est plus importante que l'augmentation de la concentration en sucres solubles et, par conséquent, la concentration en TNC diminue sous l'effet de l'augmentation du niveau de fertilisation N.

Figure 31 : Teneurs en amidon (noir), en sucres solubles (points) et en TNC (total) contenues dans les nouveaux organes formant le 1er étage de croissance en 2ème saison de végétation par de jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation N soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol de N/l. Chaque valeur correspond à la moyenne de 4 à 10 plants. Pour chacun des organes, une lettre identique suivant les moyennes des traitements indique que ces moyennes ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,0001).

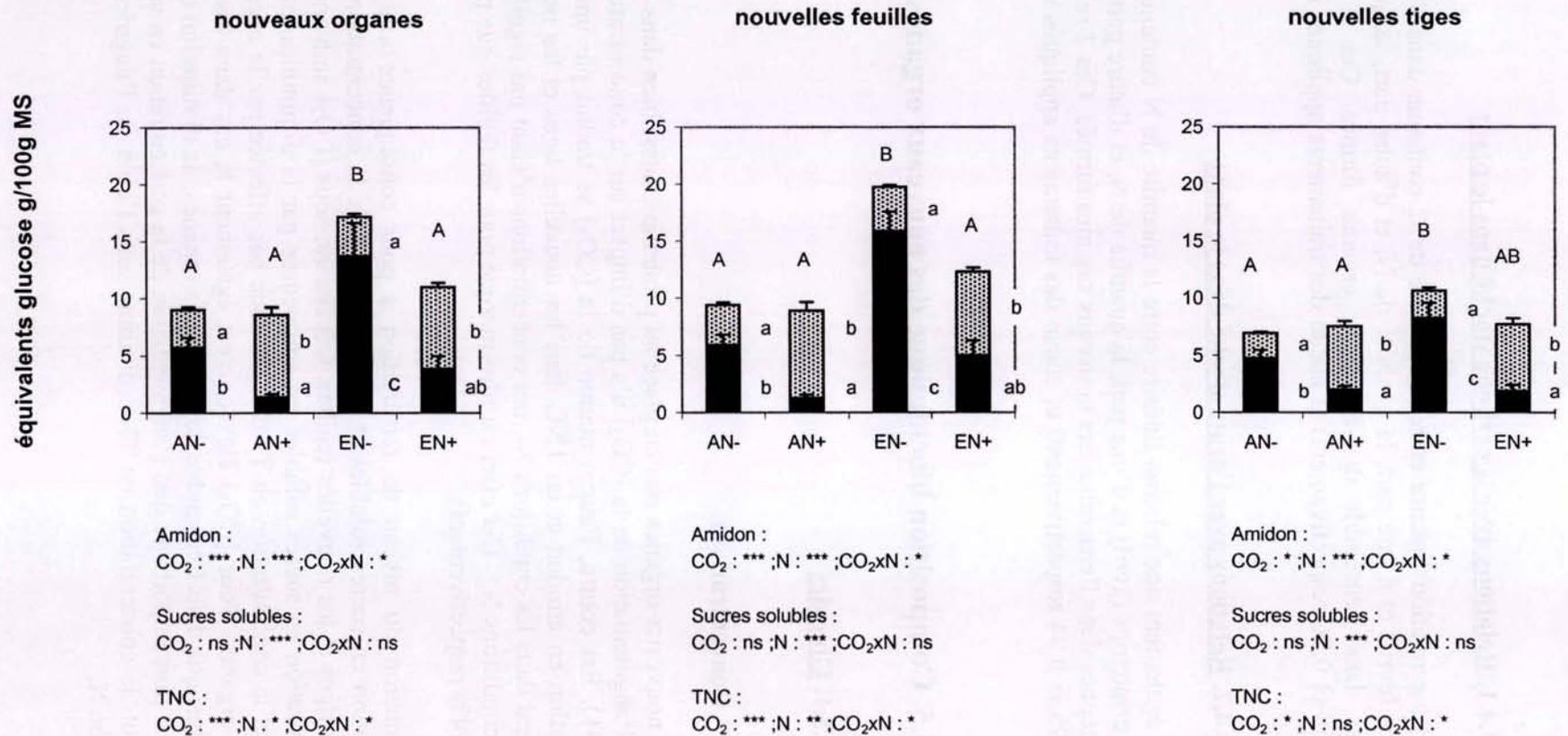


Figure 32 : Quantités d'amidon (noir), de sucres solubles (points) et de TNC (total) contenues dans les nouveaux organes formant le 1er étage de croissance en 2ème saison de végétation par de jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation N soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol de N/l. Chaque valeur correspond à la moyenne de 4 à 10 plants. Pour chacun des organes, une lettre identique suivant les moyennes des traitements indique que ces moyennes ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,0001).

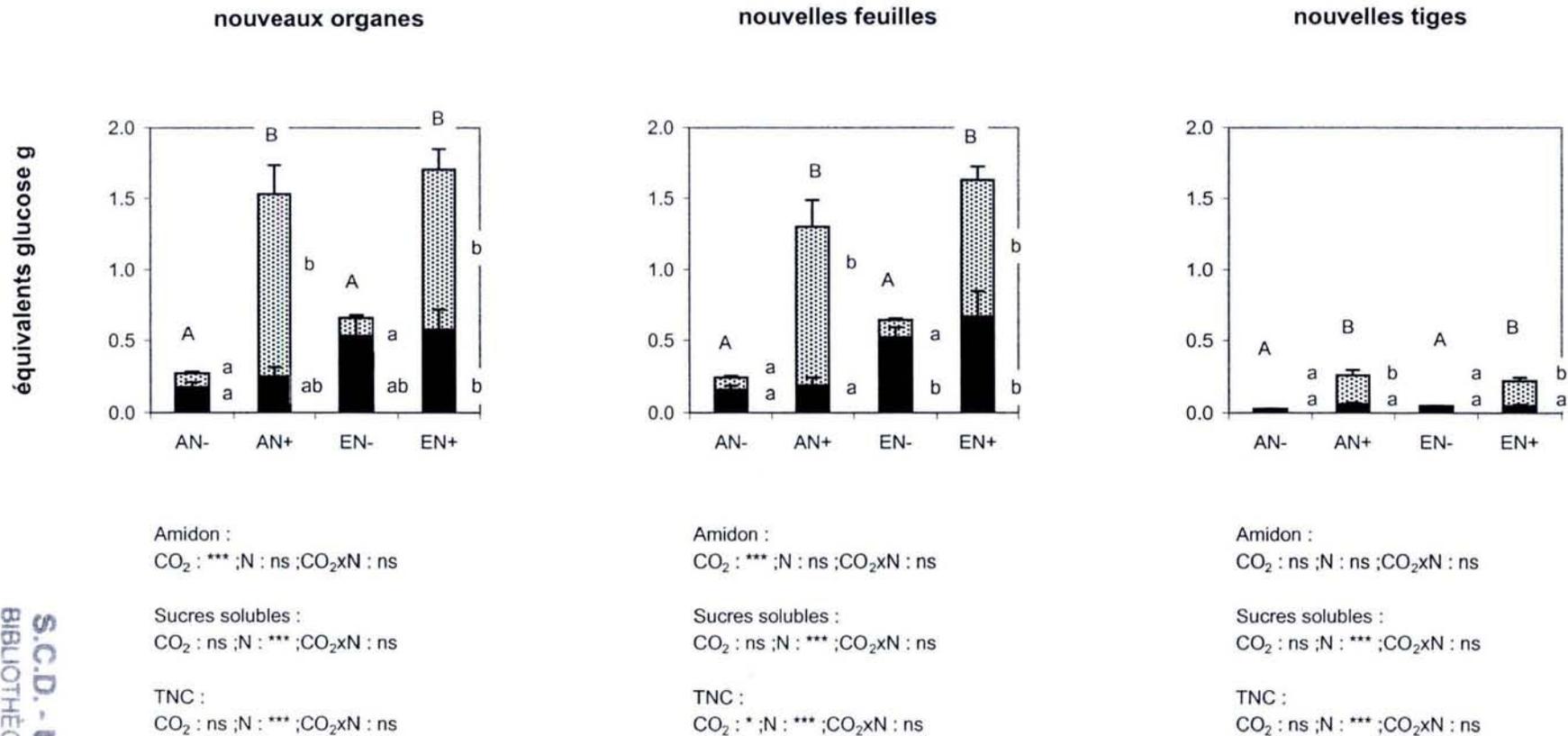
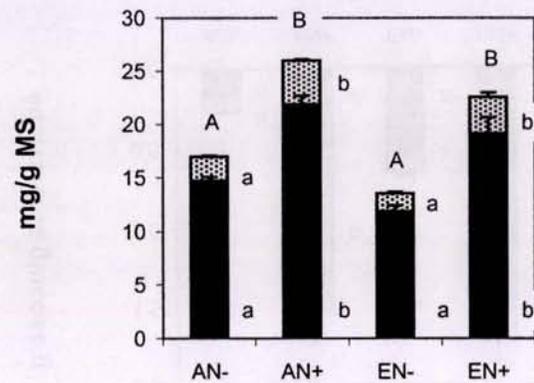


Figure 33 : Teneurs en protéines solubles (noir), en acides aminés (points) et en TSN (total) contenues dans les nouveaux organes formant le 1er étage de croissance en 2ème saison de végétation par de jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation N soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol de N/l. Chaque valeur correspond à la moyenne de 4 à 10 plants. Pour chacun des organes, une lettre identique suivant les moyennes des traitements indique que ces moyennes ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,0001).

nouveaux organes

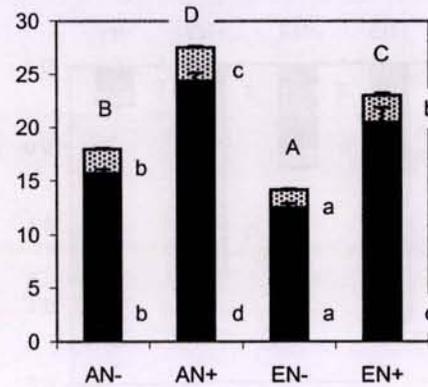


Protéines solubles :
CO₂ : ** ; N : *** ; CO₂xN : ns

Acides aminés :
CO₂ : ** ; N : *** ; CO₂xN : ns

TSN :
CO₂ : ** ; N : *** ; CO₂xN : ns

nouvelles feuilles

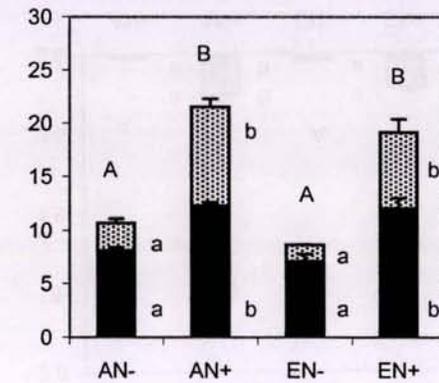


Protéines solubles :
CO₂ : *** ; N : *** ; CO₂xN : ns

Acides aminés :
CO₂ : *** ; N : *** ; CO₂xN : ns

TSN :
CO₂ : *** ; N : *** ; CO₂xN : ns

nouvelles tiges

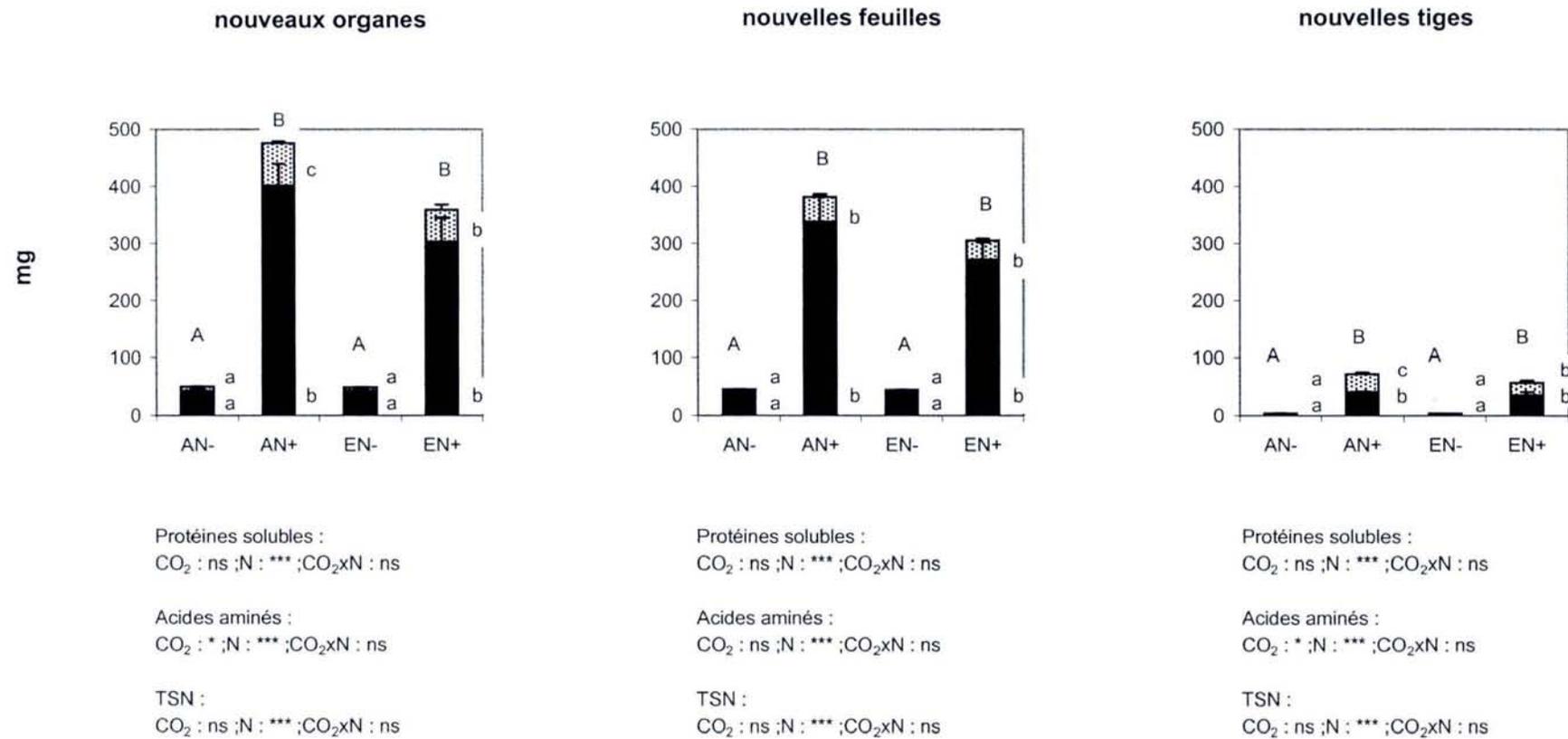


Protéines solubles :
CO₂ : ns ; N : *** ; CO₂xN : ns

Acides aminés :
CO₂ : * ; N : *** ; CO₂xN : ns

TSN :
CO₂ : ns ; N : *** ; CO₂xN : ns

Figure 34 : Quantités de protéines solubles (noir), d'acides aminés (points) et de TSN (total) contenues dans les nouveaux organes formant le 1er étage de croissance en 2ème saison de végétation par de jeunes plants de *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous une [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation N soit à 0,61 (N-) soit à 6,1 (N+) mmol de N/l. Chaque valeur correspond à la moyenne de 4 à 10 plants. Pour chacun des organes, une lettre identique suivant les moyennes des traitements indique que ces moyennes ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,0001).



- **Quantités**

L'augmentation de la [CO₂] n'affecte pas la quantité de sucres solubles contenue dans les nouvelles tiges et les nouvelles feuilles (**figure 32**). Par contre, la quantité d'amidon augmente dans les nouvelles feuilles, mais pas dans les nouvelles tiges, ni dans l'ensemble de nouveaux organes sous l'effet de l'augmentation de la [CO₂]. Toutefois, la quantité de TNC n'est significativement modifiée dans aucun organe.

L'augmentation du niveau de fertilisation N n'affecte pas la quantité d'amidon contenue dans les nouvelles tiges et les nouvelles feuilles, mais engendre une augmentation de la quantité de sucres solubles et de TNC dans ces organes.

3.5.2. Acides aminés et protéines solubles

- **Concentrations**

L'augmentation de la [CO₂] se traduit par une diminution d'environ 20% de la concentration en acides aminés et en protéines solubles dans les nouvelles feuilles, quel que soit le niveau de fertilisation N associé (**figure 33**). Néanmoins, dans les nouvelles tiges et l'ensemble de nouveaux organes, les concentrations en acides aminés et en protéines solubles ne sont pas affectées par l'augmentation de la [CO₂].

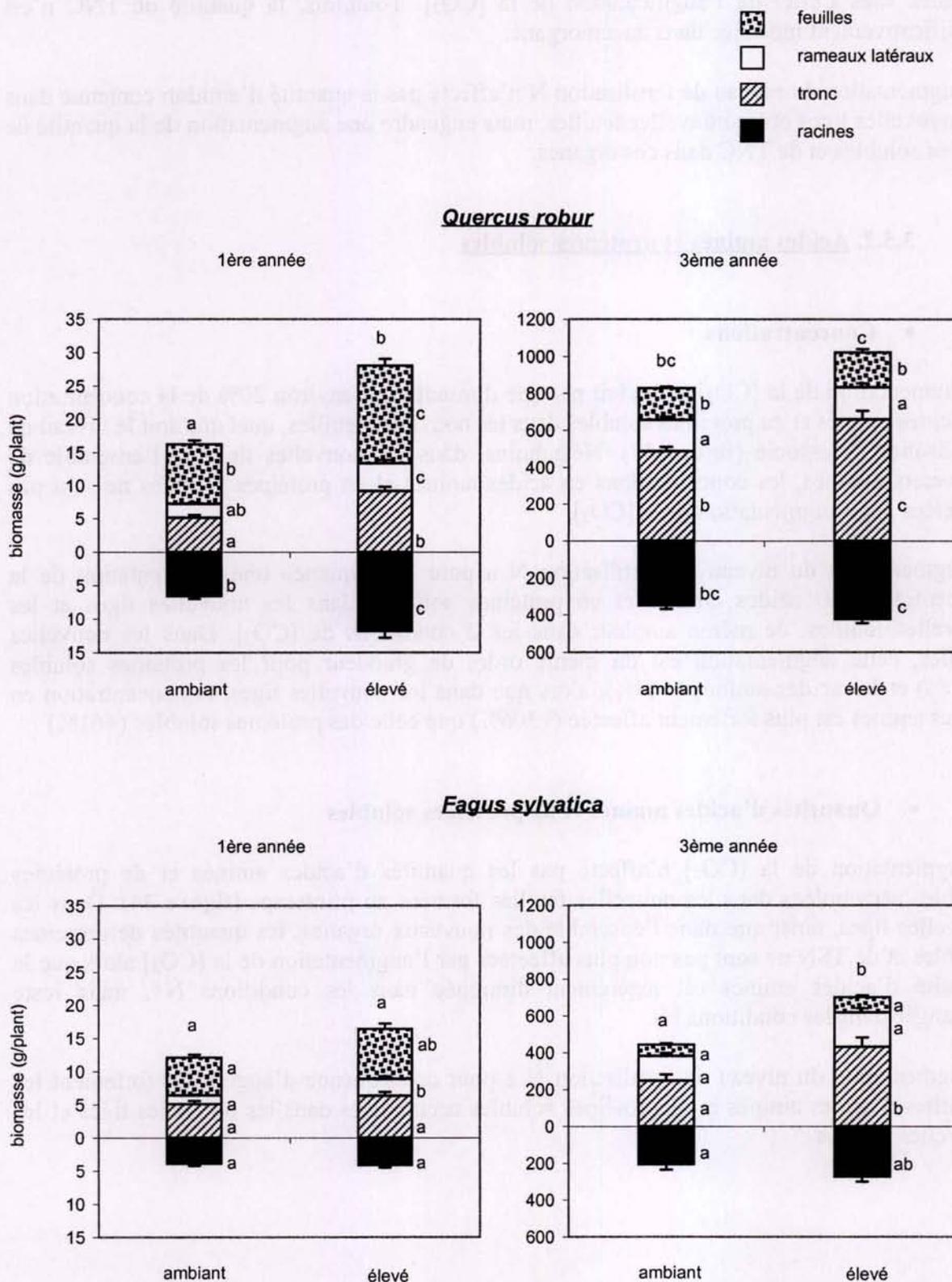
L'augmentation du niveau de fertilisation N a pour conséquence une augmentation de la concentration en acides aminés et en protéines solubles dans les nouvelles tiges et les nouvelles feuilles, de même ampleur dans les 2 conditions de [CO₂]. Dans les nouvelles feuilles, cette augmentation est du même ordre de grandeur pour les protéines solubles (+60%) et les acides aminés (+44%), alors que dans les nouvelles tiges, la concentration en acides aminés est plus fortement affectée (+306%) que celle des protéines solubles (+61%)

- **Quantités d'acides aminés et de protéines solubles**

L'augmentation de la [CO₂] n'affecte pas les quantités d'acides aminés et de protéines solubles accumulées dans les nouvelles feuilles formées au printemps (**figure 34**). Dans les nouvelles tiges, ainsi que dans l'ensemble des nouveaux organes, les quantités de protéines solubles et de TSN ne sont pas non plus affectées par l'augmentation de la [CO₂] alors que la quantité d'acides aminés est légèrement diminuée dans les conditions N+, mais reste inchangée dans les conditions N-.

L'augmentation du niveau de fertilisation N a pour conséquence d'augmenter fortement les quantités d'acides aminés et de protéines solubles accumulées dans les nouvelles tiges et les nouvelles feuilles.

Figure 35 : Biomasse (en g \pm erreur standard) en 1ère (août) et en 3ème année (octobre) des différents organes de *Quercus robur* et *Fagus sylvatica* cultivés depuis le semis sous une [CO₂] ambiante ou élevée. Les valeurs correspondent à la moyenne de 16 à 27 individus en 1ère année, et de 8 à 10 individus en 3ème année (Anova suivie du test de Tukey : une lettre différente pour un organe cultivé sous [CO₂] ambiante ou élevée, indique une moyenne statistiquement différente au seuil de 5%)



**PARTIE II : ETUDE COMPARATIVE DES EFFETS DE LA CONCENTRATION EN CO₂
ATMOSPHERIQUE SUR LA CROISSANCE ET LE BOIS DE JEUNES PLANTS DE
QUERCUS ROBUR ET *FAGUS SYLVATICA***

1. CROISSANCE ET DENSITE DU BOIS

1.1. Croissance primaire et morphologie des plants

1.1.1. Biomasse

La biomasse totale accumulée par les plants de chêne au cours de leur première saison de végétation est stimulée (+75%) par l'augmentation de la concentration en CO₂. Cette stimulation est liée à l'augmentation de la biomasse de tous les organes dans des proportions équivalentes (de +64% à +97%) (**figure 35**).

Cependant, au terme de la 3^{ème} année de culture, mis à part la biomasse de la tige qui reste stimulée par le CO₂ élevé (+35%), la biomasse des organes et du plant ne diffèrent pas significativement entre les 2 conditions de CO₂.

Au cours de la première année de culture, la biomasse totale des plants de hêtre ne diffère pas significativement entre les 2 conditions de CO₂, malgré une stimulation significative de l'accumulation de biomasse dans les rameaux latéraux (+91%) sous l'effet du CO₂ élevé (**figure 35**).

Cet effet n'est pas maintenu au terme de la 3^{ème} année de culture. Cependant, la biomasse totale du plant est significativement plus élevée dans les conditions de CO₂ élevé par rapport au CO₂ ambiant (+51%), en raison de l'augmentation de la biomasse de la tige (+73%) dans ces conditions.

1.1.2. Morphologie

Au cours des 3 années de croissance, le nombre d'étages formés chaque année par les plants de chêne ne diffère pas significativement entre les plants cultivés sous CO₂ ambiant et ceux cultivés sous CO₂ élevé (**tableau 20**). Par contre, le nombre de rameaux latéraux émis pendant la première année de croissance est plus important dans le cas des plants soumis au CO₂ élevé par rapport à ceux soumis au CO₂ ambiant, mais cet effet n'est plus observable au cours des 2 années suivantes. En première année, le nombre de feuilles et la surface foliaire du plant sont augmentés, et la surface spécifique foliaire (SLA) est diminuée, sous CO₂ élevé par rapport au CO₂ ambiant. En 3^{ème} année, aucune différence significative n'est observée pour aucun de ces 3 caractères, entre les plants cultivés sous CO₂ ambiant et CO₂ élevé.

Dans le cas du hêtre, au cours des 3 années de culture, le nombre d'étages formés chaque année ne diffère pas significativement entre les plants cultivés sous CO₂ ambiant et ceux cultivés sous CO₂ élevé (**tableau 20**). Le nombre de rameaux latéraux émis pendant la première et la deuxième années de croissance ne diffère pas entre les 2 conditions de CO₂. Par contre, lors de la troisième année de croissance, un plus grand nombre de rameaux sont

Tableau 20 : Morphologie des plants de *Quercus robur* et *Fagus sylvatica* cultivés pendant 3 ans depuis le semis sous une [CO₂] ambiante ou élevée. Le nombre d'étages et de rameaux formés chaque année est mentionné. Le nombre de feuilles, la surface (en m²) et la surface spécifique (SLA, en cm²/g) de l'ensemble du feuillage formé pendant la 1^{ère} et la 3^{ème} année est également mentionné. Les valeurs correspondent à la moyenne de 26 à 30 individus pour les données concernant les étages et les rameaux, et dans le cas des feuilles, de 16 à 27 individus pour la 1^{ère} année et de 8 à 10 individus pour la 2^{ème} année. Pour chaque donnée, dans chacune des années de croissance, une lettre identique suivant les valeurs moyennes des traitements indique que ces valeurs ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey)

Année de croissance	1 ^{ère}		2 ^{ème}		3 ^{ème}	
	350	700	350	700	350	700
<i>Quercus robur</i>						
Nombre d'étages	3,6 b	3,9 b	3,3 b	2,9 b	3,2 b	2,6 ab
Nombre de rameaux	18,7 a	26,0 b	26,0 b	29,0 b	3,9 a	3,2 a
Nombre de feuilles	134 b	191 c	-	-	1559 a	1366 a
Surface foliaire (m ²)	0,20 b	0,29 c	-	-	3,18 b	3,21 b
SLA (cm ² /g)	225 b	202 a	-	-	185 ab	170 a
<i>Fagus sylvatica</i>						
Nombre d'étages	1,4 a	1,3 a	1,9 a	1,9 a	2,4 a	2,4 a
Nombre de rameaux	17,0 a	18,5 a	16,4 a	17,4 a	5,8 a	9,7 b
Nombre de feuilles	64 a	91 a	-	-	1210 a	1439 a
Surface foliaire (m ²)	0,11 a	0,14 a	-	-	1,26 a	1,85 a
SLA (cm ² /g)	194 a	185 a	-	-	204 bc	219 c

Figure 36 : Hauteur totale moyenne du plant et hauteur moyenne de la section annuelle du tronc des plants de *Quercus robur* et *Fagus sylvatica* à la fin de chacune des 3 années de croissance des plants. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous une [CO₂] ambiante ou élevée. Les valeurs sont exprimés en m et correspondent à la moyenne de 17 à 20 individus (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001)

◆ CO2 ambiant ◆ CO2 élevé

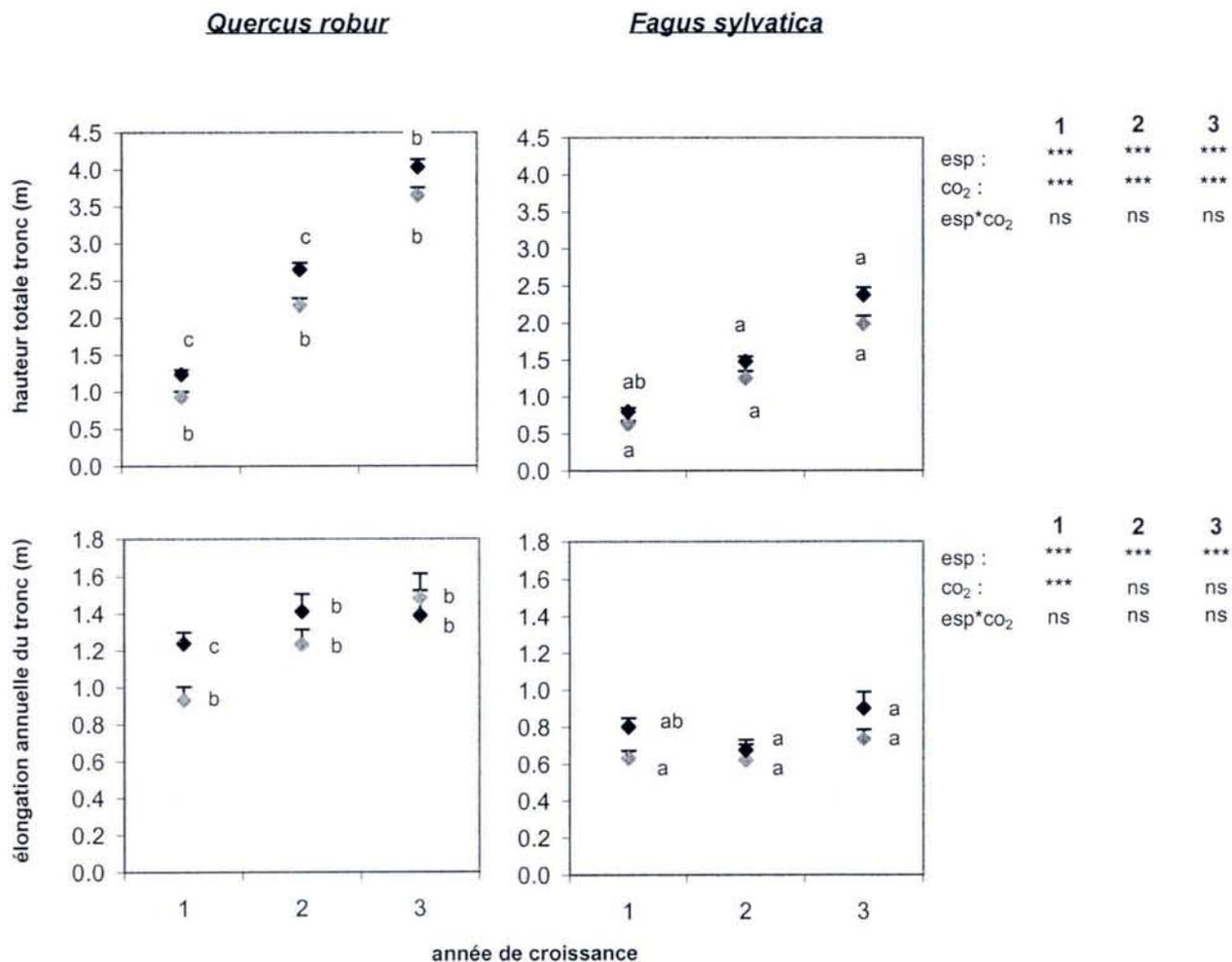
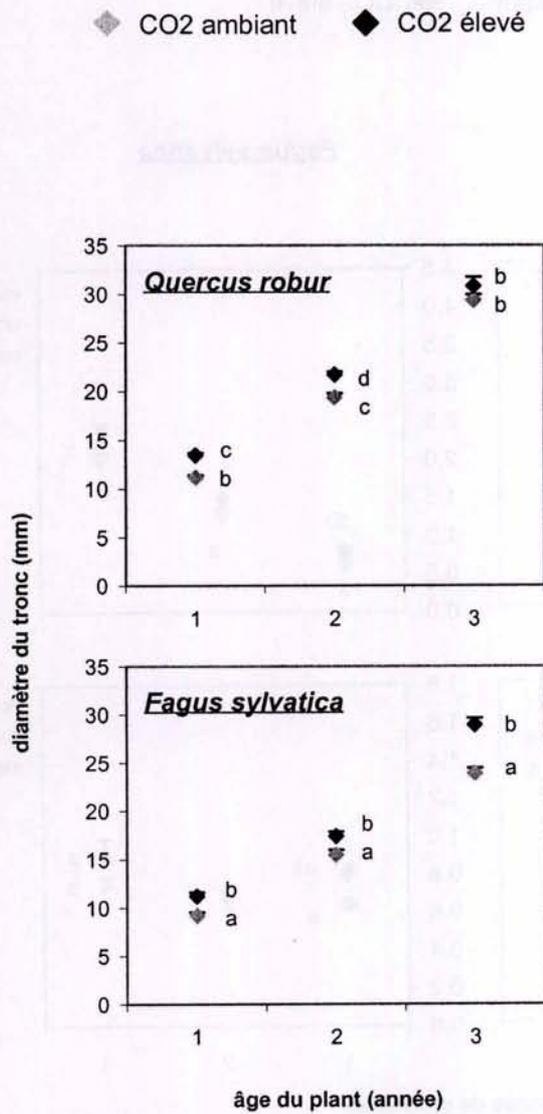


Figure 37 : Diamètre moyen (en mm, \pm erreur standard) du tronc de *Quercus robur* et *Fagus sylvatica* en fonction de l'âge du plant. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous une [CO₂] ambiante ou élevée. Les valeurs correspondent à la moyenne de 17 à 20 individus (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001)



esp :	***	***	***
CO ₂ :	***	***	***
esp*CO ₂ :	ns	ns	*

formés sous CO₂ élevé par rapport au CO₂ ambiant. Ni en 1^{ère}, ni en 3^{ème} année, le nombre de feuilles, la surface foliaire du plant et la surface spécifique foliaire (SLA) ne diffèrent significativement entre les plants cultivés sous CO₂ ambiant et ceux cultivés sous CO₂ élevé.

1.1.3. Croissance en hauteur

A l'issue de la 1^{ère} année de croissance, les chênes cultivés sous CO₂ élevé ont développé une tige d'une longueur plus importante (+ 33%) que ceux cultivés sous CO₂ ambiant (**figure 36**). Cet effet du CO₂ élevé sur l'allongement annuel de la tige n'a pas lieu les 2 années suivantes. Toutefois, au terme de la 2^{ème} année, les plants cultivés sous CO₂ élevé conservent une tige d'une hauteur totale supérieure à celle des plants cultivés sous CO₂ ambiant, à cause de l'effet bénéfique du CO₂ élevé sur leur croissance au cours de la 1^{ère} année. Au terme de la 3^{ème} année, cet effet disparaît et les plants cultivés sous CO₂ élevé et ceux cultivés sous CO₂ ambiant ont une hauteur totale qui ne diffère pas significativement.

Chez le hêtre, au cours des 3 années étudiées (**figure 36**), l'élongation annuelle de la tige n'est pas modifiée par le CO₂ élevé ni, par conséquent, la hauteur totale de la tige.

Dans une condition de CO₂ donnée, quelle que soit l'année considérée, la croissance de la tige des chênes est plus forte que celle des hêtres.

1.2. Croissance secondaire

1.2.1. Diamètre moyen du tronc

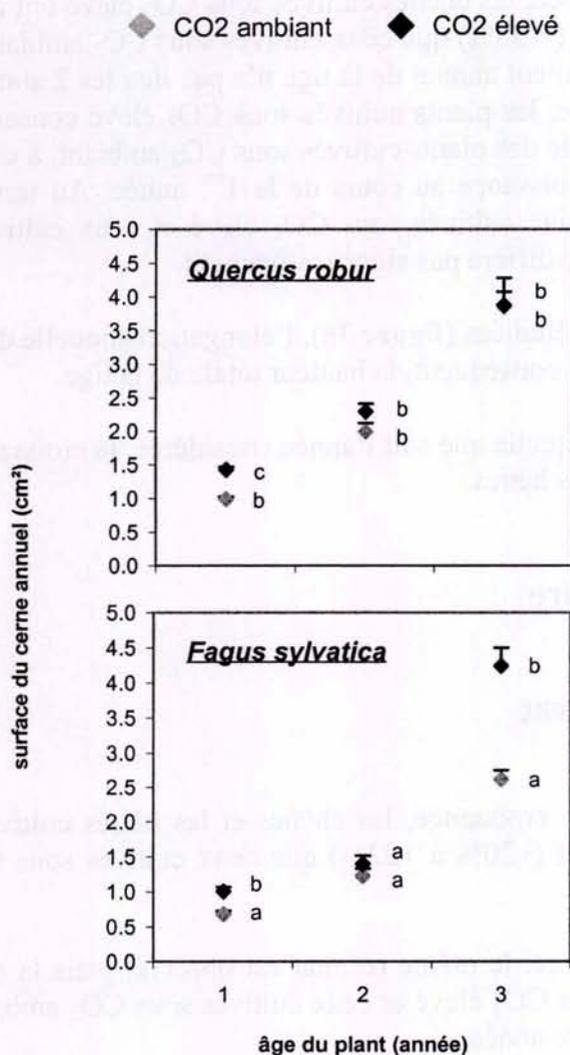
Au terme de leur première année de croissance, les chênes et les hêtres cultivés sous CO₂ élevé ont un diamètre plus important (+20% à +22%) que ceux cultivés sous CO₂ ambiant (**figure 37**).

A la fin de la 2^{ème} année de croissance, le même résultat est observé, mais la différence de diamètre entre les plants cultivés sous CO₂ élevé et ceux cultivés sous CO₂ ambiant (+12% à 13%) est moins grande qu'en première année.

En fin de 3^{ème} année, chez le chêne, le diamètre du tronc des plants cultivés sous CO₂ élevé n'est pas significativement différent de celui des plants cultivés sous CO₂ ambiant. Dans le cas du hêtre, le diamètre du tronc des plants cultivés sous CO₂ élevé est supérieur (+21%) à celui des plants cultivés sous CO₂ ambiant.

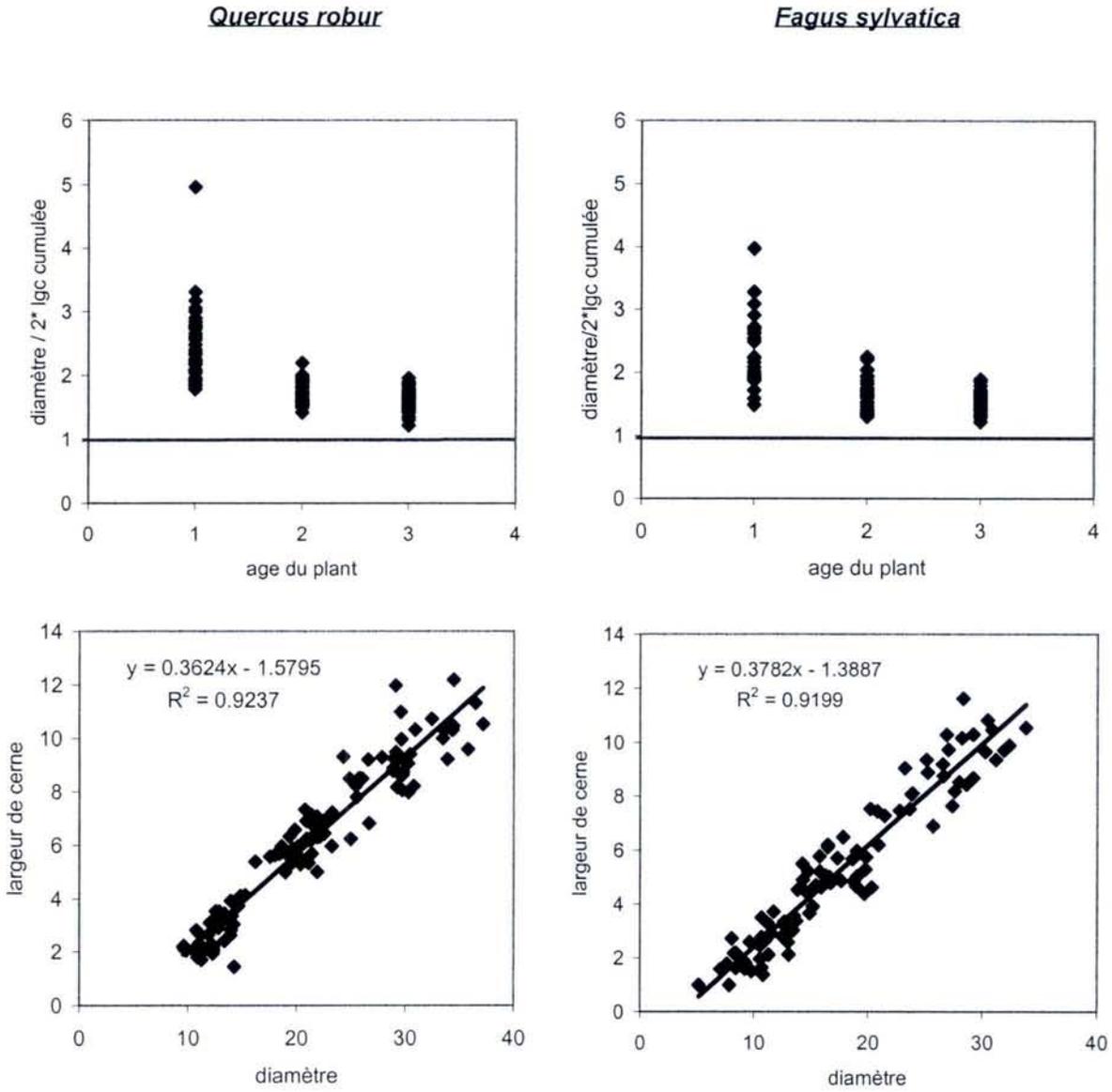
Jusqu'à la fin de la 2^{ème} année de croissance, le diamètre des chênes est supérieur à celui des hêtres dans chacune des conditions de CO₂. En fin de 3^{ème} année, les plants de hêtre cultivés sous CO₂ élevé ont un diamètre du même ordre de grandeur que celui des chênes cultivés sous CO₂ élevé, alors qu'il reste inférieur à celui des chênes, sous CO₂ ambiant.

Figure 38 : Surface du cerne annuel (en cm², ± erreur standard) du tronc de *Quercus robur* et *Fagus sylvatica* en fonction de l'âge du plant. Les plants ont été cultivés pendant 3 années depuis le semis sous une [CO₂] ambiante ou élevée. Les valeurs correspondent à la moyenne de 17 à 20 individus (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001)



esp :	***	***	ns
CO ₂ :	***	ns	**
esp*CO ₂ :	ns	ns	**

Figure 39 : Relation entre la largeur du cerne de croissance annuel et le diamètre du tronc chez *Quercus robur* et *Fagus sylvatica* (sans distinction des conditions de [CO₂]; 2*lgc cumulée : largeur cumulée des cernes multipliée par 2).



1.2.2. Surface des cernes de croissance annuels

Au terme de leur première année de croissance, les chênes et les hêtres cultivés sous CO₂ élevé ont développé une surface de cerne plus importante (+44% à +48%) que les plants cultivés sous CO₂ ambiant (**figure 38**).

A la fin de la 2^{ème} année de croissance, bien qu'une tendance identique à la 1^{ère} année soit observée, aucune différence significative entre la surface des cernes formés en 2^{ème} année des plants cultivés sous CO₂ élevé ou CO₂ ambiant n'apparaît, pour les deux espèces.

En fin de 3^{ème} année, la surface des cernes annuels formés sous CO₂ élevé est identique à celle de ceux formés sous CO₂ ambiant chez le chêne. Dans le cas du hêtre, la surface des cernes annuels formés sous CO₂ élevé est supérieure (+62%) à ceux formés sous CO₂ ambiant.

La surface des cernes formés au terme de chacune des 3 années de culture augmente chaque année, pour chacune des espèces, et dans chaque condition de CO₂.

Jusqu'à la fin de la 2^{ème} année de croissance, la surface des cernes annuels des chênes est supérieure à celle des hêtres dans chacune des conditions de CO₂. En fin de 3^{ème} année, les plants de hêtre cultivés sous CO₂ élevé ont une surface de cerne annuel du même ordre de grandeur que celle des chênes cultivés sous CO₂ élevé, alors qu'elle reste inférieure à celle des chênes, sous CO₂ ambiant.

1.2.3. Largeur des cernes de croissance annuels

- **Remarque préliminaire**

La largeur cumulée des différents cernes d'un tronc, multipliée par 2, est égale au diamètre de ce tronc. Sur nos échantillons cette relation n'est pas vérifiée. En effet, le rapport diamètre / largeur cumulée de cernes est supérieur à 1 (**figure 39**), en particulier dans la première année de croissance. Cette incohérence apparente s'explique par le fait que les troncs ne sont pas parfaitement circulaires et le fait que le mode de mesure diffère pour les 2 séries de données. Ainsi, le diamètre a été mesuré avec un pied à coulisse, sur du matériel frais, en prenant une mesure à l'endroit le plus large du tronc et une mesure à l'endroit le plus étroit. La largeur des cernes, quant à elle, a été obtenue par analyse d'image des rondelles de tronc radiographiées lors de l'analyse de la densité du bois (voir matériel et méthodes). Dans cette méthode, les rondelles sont séchées et seule une étroite section du tronc, située à un endroit quelconque, est étudiée. Cette méthode est donc sans doute plus approximative pour estimer la largeur de cernes que la première.

Cependant, bien que les 2 types de mesures ne concordent pas exactement, elles sont très fortement corrélées ($R^2 = 0,92$) aussi bien chez le chêne que chez le hêtre. Par conséquent, même si les valeurs absolues des données obtenues par la 2^{ème} méthode sont à considérer avec précaution, les observations faites à l'aide de cette méthode (paragraphe suivant) quant aux effets du CO₂ ou au comportement des espèces l'une par rapport à l'autre semblent tout de même valables.

Figure 40 : Largeur des cernes de croissance annuels du tronc de *Quercus robur* et *Fagus sylvatica* âgés de 3 ans et cultivés depuis le semis sous une [CO₂] ambiante ou élevée. La largeur totale totale, la largeur du bois initial et du bois final de chacun des 3 cernes formés est représentée (en mm, ± erreur standard) ainsi que leur texture (en %, ± erreur standard) . Les valeurs correspondent à la moyenne de 16 à 19 individus (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001)

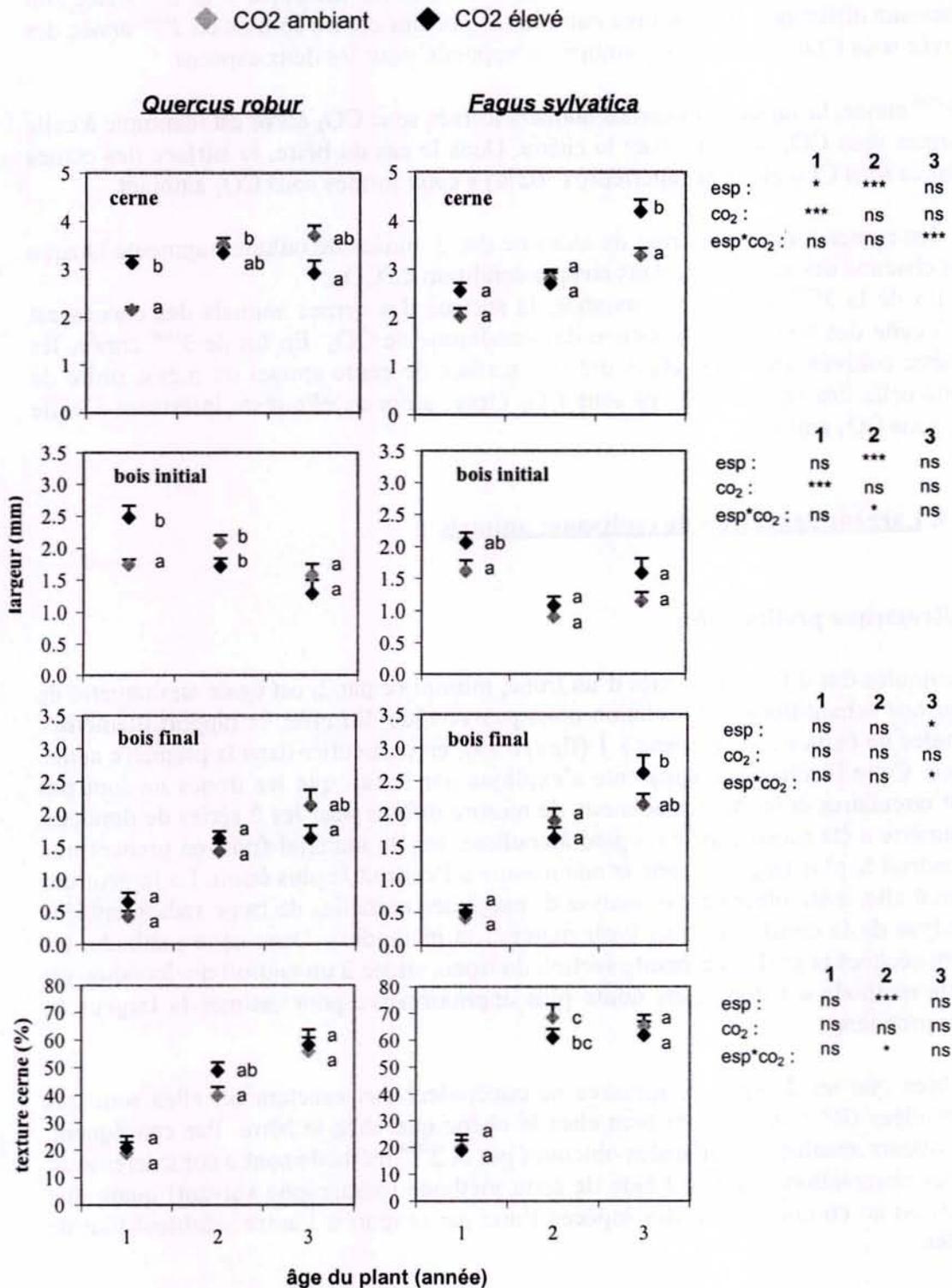


Figure 41 : Evolution de la croissance cumulée en diamètre du tronc (mm, \pm erreur standard) et de la vitesse de croissance en diamètre (mm/jour, \pm erreur standard) du tronc de *Quercus robur* et *Fagus sylvatica* au cours de la 3^{ème} année de croissance. La zone grisée représente la période de débourrement. Les plants ont été cultivés depuis le semis sous une [CO₂] ambiante ou élevée. Les valeurs correspondent à la moyenne de 17 à 20 individus (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001)

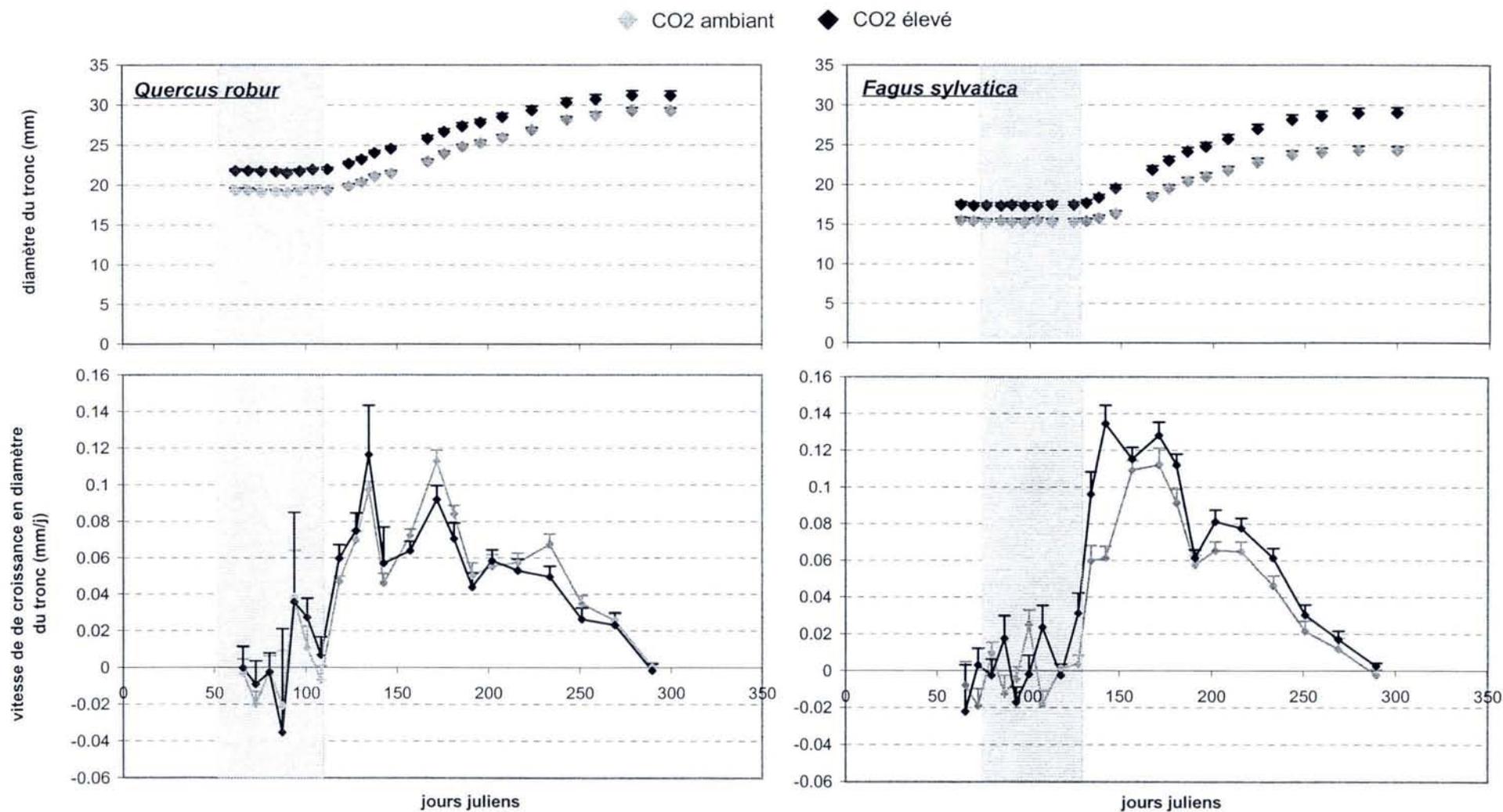


Tableau 21 : Résultats de l'analyse statistique de la vitesse de croissance relative en diamètre du tronc de *Quercus robur* et *Fagus sylvatica* tout au long de la 3^{ème} année de culture sous [CO₂] ambiante ou élevée (voir figure 37). Les valeurs étudiées correspondent à la moyenne de 17 à 20 individus. Pour une période donnée, une lettre différente indique une moyenne statistiquement différente au seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001).

	Période (jours juliens)	<i>Quercus robur</i>		<i>Fagus sylvatica</i>		Esp	CO ₂	Esp*CO ₂
		ambient	élevé	ambient	élevé			
1	62 - 69	0,00 a	0,00 a	-0,01 a	-0,02 a	ns	ns	ns
2	69 - 76	-0,02 a	-0,01 a	- 0,02 a	0,00 a	ns	ns	ns
3	76 - 84	0,00 a	0,00 a	0,01 a	0,00 a	ns	ns	ns
4	84 - 90	-0,02 a	-0,04 a	-0,01 a	0,02 a	ns	ns	ns
5	90 - 97	0,04 a	0,04 a	0,00 a	-0,02 a	ns	ns	ns
6	97 - 104	0,01 a	0,03 a	0,02 a	0,00 a	ns	ns	ns
7	104 - 112	-0,01 ab	0,01 ab	-0,02 a	0,02 b	ns	**	ns
8	112 - 124	0,05 b	0,06 b	0,00 a	0,00 a	***	ns	ns
9	124 - 131	0,07 b	0,07 b	0,00 a	0,03 a	***	ns	ns
10	131 - 138	0,10 a	0,12 a	0,06 a	0,10 a	ns	ns	ns
11	138 - 147	0,05 a	0,06 a	0,06 a	0,13 b	***	***	*
12	147 - 167	0,07 a	0,06 a	0,11 b	0,12 b	***	ns	ns
13	167 - 176	0,11 ab	0,09 a	0,11 ab	0,13 b	*	ns	*
14	176 - 186	0,08 a	0,07 a	0,09 ab	0,11 b	***	ns	*
15	186 - 196	0,05 a	0,04 a	0,06 a	0,06 a	ns	ns	ns
16	196 - 208	0,06 a	0,06 a	0,07 ab	0,08 b	**	ns	ns
17	208 - 224	0,06 ab	0,05 a	0,06 ab	0,08 b	**	ns	ns
18	224 - 243	0,07 a	0,05 a	0,05 a	0,06 a	ns	ns	**
19	243 - 259	0,03 a	0,03 a	0,02 a	0,03 a	ns	ns	ns
20	259 - 279	0,03 a	0,02 a	0,01 a	0,02 a	ns	ns	ns
21	279 - 300	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	ns	ns	ns

• Résultats

Au terme de la 1^{ère} année de croissance, la largeur du cerne formé par les plants de chêne cultivés sous CO₂ élevé est supérieure (+ 45%) à celle des plants cultivés sous CO₂ ambiant (**figure 40**). Cette augmentation est liée à l'augmentation de la largeur de bois initial, car la largeur de bois final n'est pas affectée par l'augmentation du CO₂. La texture du cerne, qui correspond à la proportion de bois final dans le cerne, n'est pas modifiée par l'augmentation du CO₂.

Chez le hêtre, ni la largeur de bois initial, ni la largeur de bois final ne sont significativement différentes entre les plants cultivés sous CO₂ ambiant et CO₂ élevé (**figure 40**). Par conséquent, ni la largeur, ni la texture du cerne ne diffèrent significativement entre les 2 conditions de CO₂ chez cette espèce.

Au terme de la 2^{ème} année de croissance, ni la largeur de bois initial, ni la largeur de bois final ne sont affectées par l'augmentation du CO₂ chez le chêne et chez le hêtre. Par conséquent, ni la largeur, ni la texture du cerne formé ne sont significativement différentes entre les 2 conditions de CO₂ pour les 2 espèces.

A la fin de la 3^{ème} année, chez le chêne, la largeur de bois initial et la largeur de bois final n'étant pas significativement différentes entre les 2 conditions de CO₂, la largeur et la texture du cerne ne sont pas modifiées par l'augmentation du CO₂.

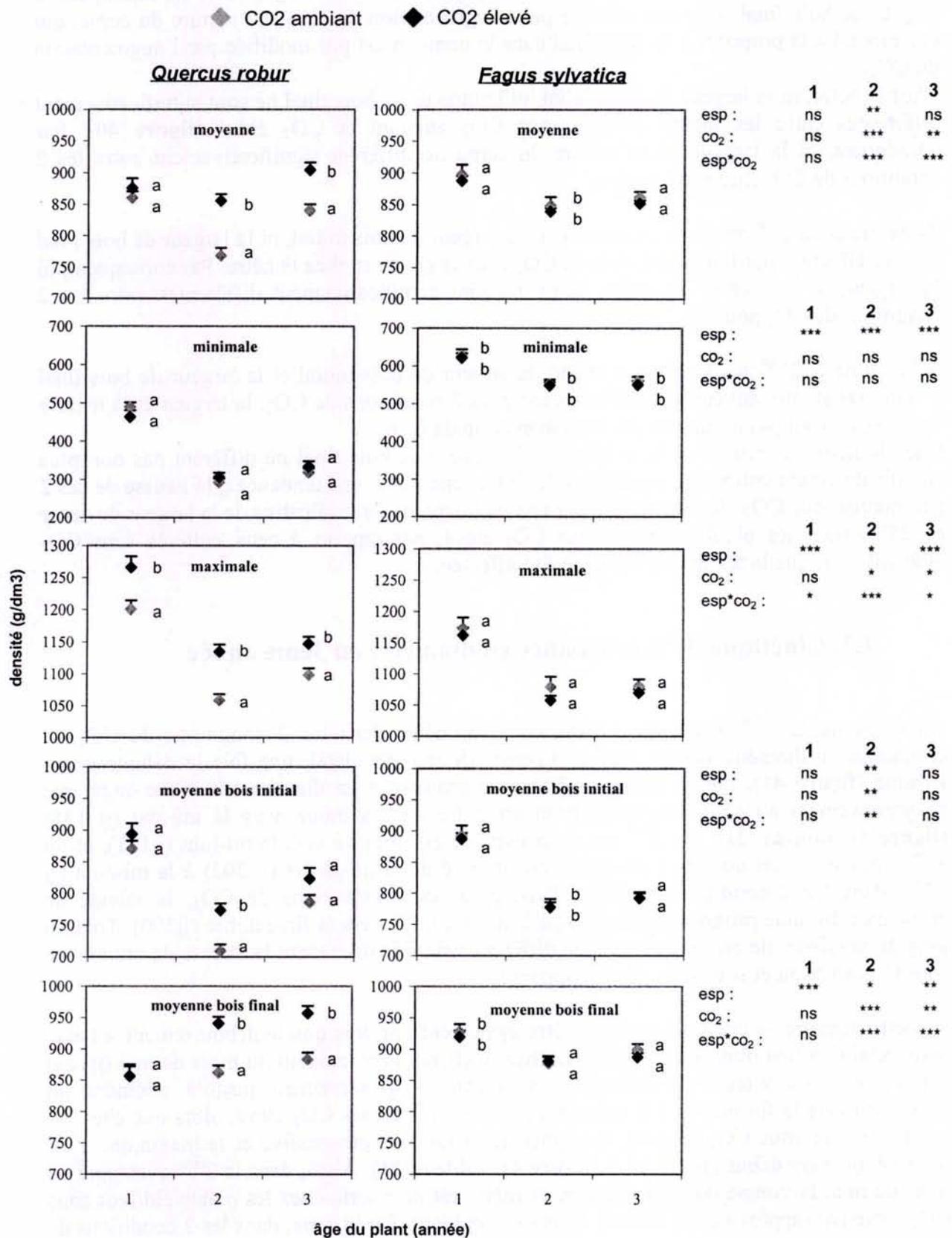
Chez le hêtre, la largeur de bois initial et la largeur de bois final ne diffèrent pas non plus significativement entre les 2 conditions de CO₂; cependant, une tendance à la hausse de ces 2 paramètres sous CO₂ élevé se traduit par une augmentation significative de la largeur de cerne (+ 28%) pour les plants cultivés sous CO₂ élevé, par rapport à ceux cultivés sous CO₂ ambiant, sans que la texture du cerne ne soit affectée.

1.3. Cinétique de la croissance en diamètre en 3^{ème} année

Au cours de la 3^{ème} année de culture, chez le chêne, dans les 2 conditions de CO₂, la croissance en diamètre débute vers la mi-avril (jour julien 104), une fois le débourrement terminé (**figure 41**). Par la suite, la vitesse de croissance en diamètre du tronc augmente progressivement au cours du temps pour atteindre un maximum vers la mi-mai (jj 135) (**figure 41, tableau 21**). Un 2^{ème} pic de croissance est observé vers la mi-juin (jj171), et un 3^{ème} pic, moins fort que les 2 premiers, est observé de la mi-juillet (jj 202) à la mi-août (jj 233), dans les 2 conditions de CO₂. Puis, pour les 2 conditions de CO₂, la vitesse de croissance diminue progressivement jusqu'à devenir nulle vers la fin octobre (jj300). Tout au long de la saison de croissance, aucune différence significative entre la vitesse de croissance sous CO₂ ambiant et sous CO₂ élevé n'apparaît.

Le hêtre démarre sa croissance en diamètre également une fois que le débourrement achevé, mais celui-ci a lieu plus tardivement que chez le chêne, vers le début du mois de mai (jj124) (**figure 41**). La vitesse de croissance augmente progressivement jusqu'à atteindre un maximum vers la fin-mai (jj 142) chez les plants cultivés sous CO₂ élevé, alors que chez les plants cultivés sous CO₂ ambiant, l'augmentation est plus progressive et le maximum n'est observé que vers début juin (jj 157) (**figure 41, tableau 21**). Ainsi, dans la 2^{ème} quinzaine du mois de mai, la vitesse de croissance en diamètre est plus forte chez les plants cultivés sous CO₂ élevé par rapport à ceux cultivés sous CO₂ ambiant. Par la suite, dans les 2 conditions de

Figure 42 : Densité des cernes du tronc de *Quercus robur* et *Fagus sylvatica* âgés de 3 ans et cultivés depuis le semis sous une [CO₂] ambiante ou élevée. La densité moyenne, minimale, maximale ainsi que la densité moyenne du bois initial et du bois final de chacun des 3 cernes formés est représentée (en g/dm³ ± erreur standard). Les valeurs correspondent à la moyenne de 16 à 19 individus. (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001)



CO₂, une forte croissance est maintenue jusqu'à la mi-juin (jj 171), puis un 2^{ème} pic de croissance, moins fort que le premier, est observé de la mi-juillet à début août (jj 202 à 216), après lequel la vitesse de croissance diminue progressivement jusqu'à devenir nulle vers la fin octobre (jj 300). Cependant, à aucun moment la vitesse de croissance ne diffère significativement entre les 2 conditions de CO₂.

Ainsi, aussi bien chez le chêne que chez le hêtre, le démarrage de la croissance en diamètre débute une fois le débourrement terminé, c'est-à-dire une fois que le premier étage foliaire est mis en place. Chez les 2 espèces, l'évolution de la croissance en diamètre tout au long de la saison se caractérise par une vitesse de croissance, forte en début de saison qui, par la suite, tend globalement à diminuer tout au long de la saison, tout en laissant apparaître des vagues de croissance dont la période, la durée, et l'intensité sont spécifiques à chacune des 2 espèces. Les vitesses de croissance mesurées sont du même ordre de grandeur chez le chêne et chez le hêtre. Cependant, pour les plants cultivés sous CO₂ élevé, durant les plus fortes périodes de croissance du hêtre (fin mai à mi-juin et mi-juillet à début août), la vitesse de croissance chez le hêtre est significativement plus forte que celle du chêne.

1.4. Densité des cernes de croissance annuels

Au terme de la 1^{ère} année de croissance, chez le chêne, la densité minimale du cerne formé ne diffère pas entre les 2 conditions de CO₂, alors que la densité maximale est augmentée pour les plants cultivés sous CO₂ élevé (**figure 42**). Cependant, la densité moyenne du cerne ne diffère pas entre les 2 conditions de CO₂, ni au niveau du bois initial, ni au niveau du bois final.

Chez le hêtre, la densité moyenne du cerne ne diffère pas entre les 2 conditions de CO₂ car ni la densité minimale, ni la densité maximale ne sont affectées par l'augmentation du CO₂, ni la densité du bois initial, ni celle du bois final (**figure 42**).

Au terme de la 2^{ème} année de croissance, chez le chêne, la densité minimale du cerne formé ne diffère pas entre les 2 conditions de CO₂, alors que la densité maximale du cerne est plus forte sous CO₂ élevé que sous CO₂ ambiant. La densité du bois initial et la densité du bois final sont toutes 2 plus importantes sous CO₂ élevé que sous CO₂ ambiant. Par conséquent, le cerne formé sous CO₂ élevé a une densité moyenne plus forte (+11%) que celui formé sous CO₂ ambiant.

Chez le hêtre, aucun changement de densité n'est observé entre les plants cultivés sous CO₂ ambiant ou CO₂ élevé.

Au terme de la 3^{ème} année de croissance, chez le chêne, la densité minimale du cerne formé ne diffère pas entre les 2 conditions de CO₂, alors que la densité maximale du cerne est plus forte sous CO₂ élevé que sous CO₂ ambiant. La densité du bois initial ne diffère pas non plus entre les 2 conditions de CO₂, alors que la densité du bois final augmente chez les plants cultivés sous CO₂ élevé par rapport à ceux cultivés sous CO₂ ambiant, ce qui se répercute au niveau de l'ensemble du cerne par une augmentation de la densité moyenne du cerne (+8%) sous CO₂ élevé.

La densité minimale des différents cernes de hêtre est toujours supérieure à la densité minimale des cernes de chêne. La densité maximale des cernes de hêtre est toujours inférieure

Figure 43 : Teneur en azote, en carbone, en cendres (g/100 g matière sèche \pm erreur standard), et rapport C/N, dans les troncs de *Quercus robur* et *Fagus sylvatica* de 3 ans. Depuis le semis, les plants ont été cultivés en serre sous une [CO₂] ambiante ou élevée. Chaque valeur correspond à la moyenne de 16 à 19 individus. (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001. Pour chacune des données, une lettre différente indique des valeurs statistiquement différentes au seuil de 5%)

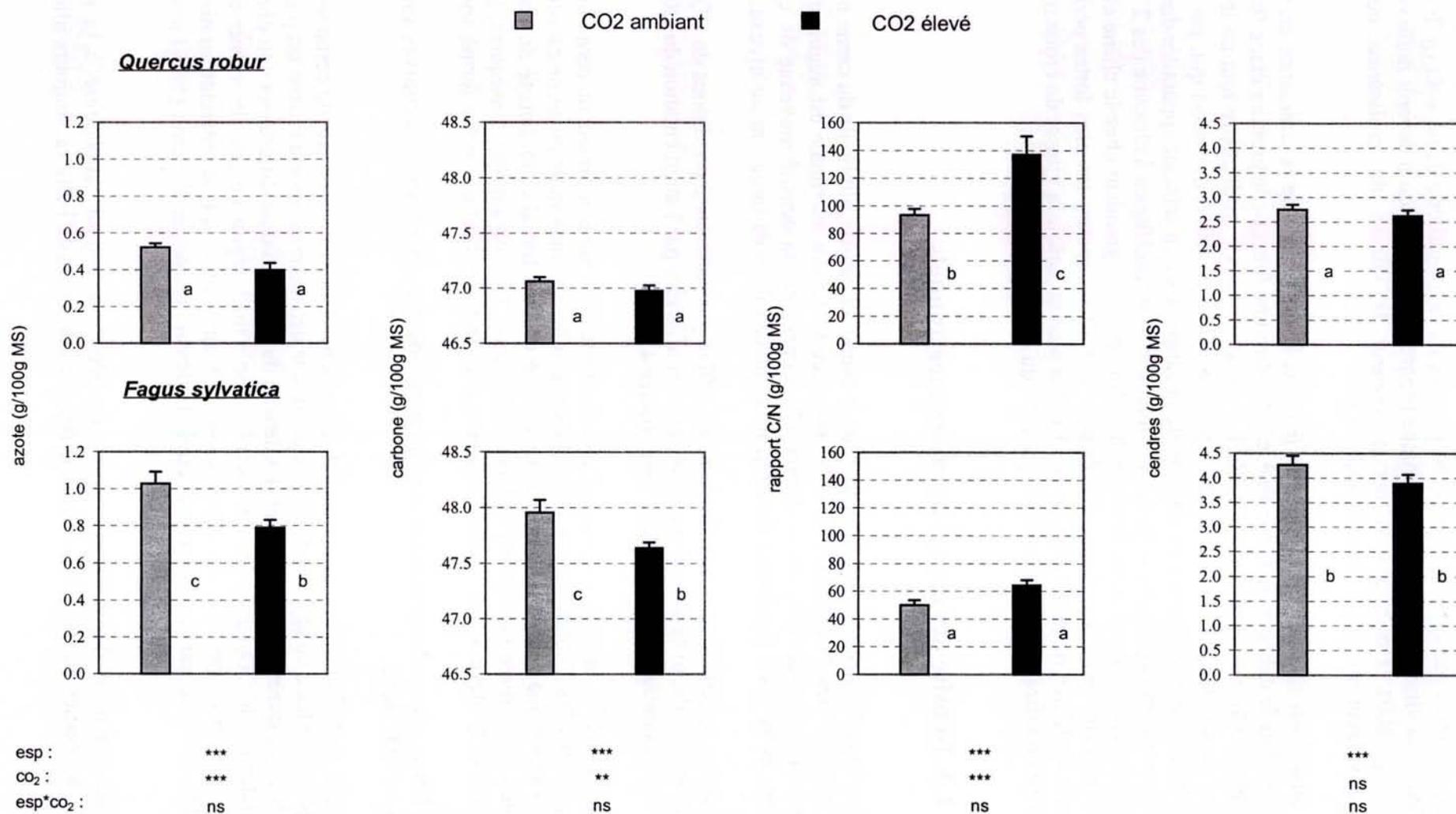
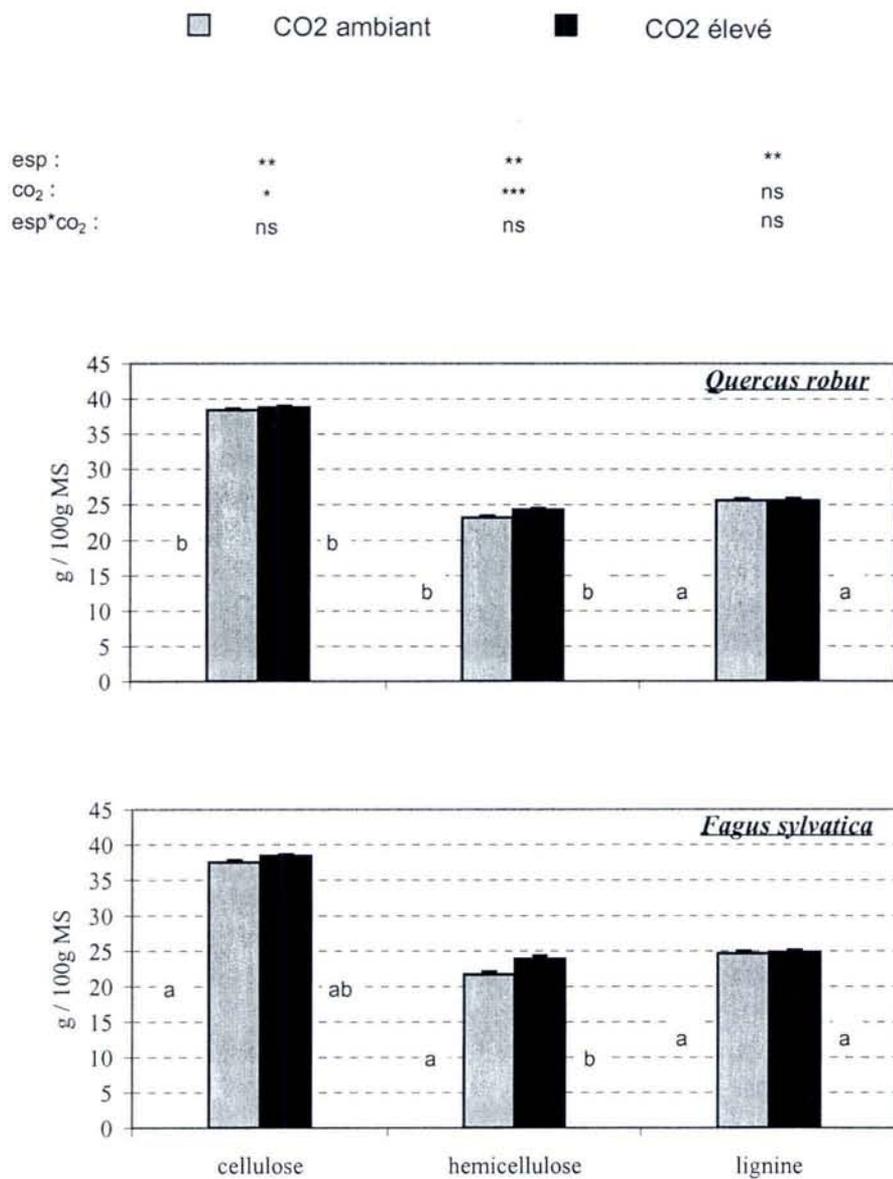


Figure 44 : Teneur en cellulose, hémicellulose et lignine (en g/100 g de matière sèche, ± erreur standard) contenues dans les troncs de *Quercus robur* et *Fagus sylvatica* âgés de 3 ans. Depuis le semis, les plants ont été cultivés en serre sous une [CO₂] ambiante ou élevée. Chaque valeur correspond à la moyenne de 16 à 19 individus (Anova suivie du test de Tukey : (ns) non significatif ; (*) p<0,05 ; (**) p<0,01 ; (***) p<0,001)



ou égale à celles des cernes de chêne. Par conséquent, l'amplitude des variations de densité observées sont supérieures chez les chênes par rapport aux hêtres.

2. COMPOSITION CHIMIQUE DU BOIS

2.1. Composition élémentaire

L'enrichissement en CO₂ durant 3 années de culture ne modifie pas significativement la teneur en azote, en carbone, et en cendres (ensemble des minéraux) du bois de chêne. Cependant, une tendance à la baisse de la teneur en azote sous CO₂ élevé se répercute sur le rapport C/N qui augmente significativement de 47% dans ces conditions (**figure 43**).

Chez le hêtre, l'enrichissement en CO₂ durant 3 années a pour résultat de diminuer de 23% la teneur en azote et de 0,7% la teneur en carbone, sans que, toutefois, le rapport C/N ne soit significativement affecté (**figure 43**). Le CO₂ élevé ne modifie pas la teneur en cendre chez cette espèce.

Dans chacune des 2 conditions de CO₂ appliquées aux plants, le hêtre présente une teneur en azote environ 2 fois plus importante que celle du chêne, et une teneur en cendres environ 1,5 fois plus importante. Les teneurs en carbone, même si elles varient beaucoup moins fortement entre les 2 espèces, sont également plus fortes chez le hêtre que chez le chêne.

2.2. Composition en composés structuraux

Les bois de chêne et de hêtre ont une composition en composés structuraux très proche (**figure 44**) : ils sont constitués d'environ 38% de cellulose, 23% d'hémicellulose et 25% de lignine.

Chez le chêne, l'enrichissement en CO₂ pendant 3 années ne modifie ni la teneur en cellulose, ni en hémicellulose, ni en lignine. Chez le hêtre, l'enrichissement en CO₂ se traduit par une augmentation de 10% de la teneur en hémicellulose, mais aucun changement significatif de la teneur en cellulose et en lignine n'est observé.

DISCUSSION

PARTIE I : EFFETS INTERACTIFS DE LA [CO₂] ET DE LA FERTILISATION N SUR LA GESTION DU C ET N CHEZ DES JEUNES PLANTS DE *QUERCUS ROBUR*

1. UTILISATION DU C ET DE N DE L'ANNEE

1.1. Croissance et Répartition du C entre les organes

Au terme d'une saison de végétation, nous constatons que l'augmentation de la [CO₂] stimule la croissance en hauteur et l'accumulation de C dans nos jeunes plants de *Quercus robur* cultivés dans de bonnes conditions de fertilisation N. Cet effet stimulant sur la croissance a été rapporté pour un très grand nombre d'espèces ligneuses (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Amthor 1995 ; Saxe *et al.* 1998 ; Curtis & Wang 1998 ; Ward & Strain 1999 ; Atkinson 2000), dont le chêne (Vivin 1995, Picon 1996 et Maillard *et al.* 2001 sur *Quercus robur* ; Picon 1996 sur *Quercus petraea* ; Lindroth *et al.* 1993 sur *Quercus rubra*). Cet effet s'explique par une stimulation de l'activité photosynthétique, liée à une augmentation du taux de carboxylation ainsi qu'à une diminution du taux d'oxygénation de la Rubisco sous [CO₂] élevée (Stitt 1991 ; Conroy & Hocking 1993 ; Bowes 1996 ; Drake *et al.* 1997).

Norby (1996) a montré que, pour 73 espèces du genre *Quercus*, la biomasse totale du plant est augmentée de 32% en moyenne sous l'effet d'un doublement de la [CO₂], mais précisent que les données présentent une grande variabilité entre les expériences. Par exemple, pour *Quercus robur*, l'augmentation de biomasse du plant peut aller de 16% (Vivin 1995) à 139% (Maillard *et al.* 2001). Cette variabilité est probablement liée à des différences de protocoles (âge, nutrition, durée des expériences) et de conditions environnementales inégales entre les expérimentations. Nos résultats sont tout à fait cohérents avec ceux mentionnés dans la littérature puisque nous observons une augmentation de l'accumulation de biomasse de 84% à l'échelle du plant sous l'effet de l'augmentation de la [CO₂].

Cependant, cette réponse de la croissance des plants à l'augmentation de la [CO₂] est conditionnée par le niveau de fertilisation N puisqu'aucun effet significatif sur la croissance des organes n'est observé dans les conditions de fertilisation N limitantes. D'une façon générale, de nombreux auteurs s'accordent pour dire que les conditions nutritionnelles déterminent l'ampleur des effets de l'augmentation de la [CO₂] sur la croissance des plants (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Amthor 1995 ; Rastetter *et al.* 1997 ; Curtis & Wang 1998 ; Roberntz & Linder 1999 ; Stitt & Krapp 1999 ; Tognetti & Johnson 1999a). Ainsi, en conditions sub-optimales de nutrition azotée, les effets de l'augmentation de la [CO₂] sont de moindre ampleur (Norby *et al.* 1986 ; Conroy 1992 ; Gebauer *et al.* 1996 et Petterson *et al.* 1993 cités dans Geiger *et al.* 1999 ; Stitt & Krapp 1999). Dans certains cas même, l'accumulation de biomasse n'est pas stimulée par l'augmentation de la [CO₂] en présence d'un traitement limitant en azote, comme c'est le cas dans notre étude (Tognetti & Johnson

1999a sur *Quercus ilex* ; Maillard *et al.* 2001 sur *Quercus robur*). Ces résultats trouvent leur origine probablement dans l'acclimatation de la photosynthèse aux [CO₂] élevées. En effet, celle-ci est souvent observée, ou est plus marquée, dans le cas de conditions nutritionnelles pauvres (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Drake *et al.* 1997 ; Ward & Strain 1999).

Si la croissance de tous les organes est augmentée sous une [CO₂] élevée, dans la plupart des cas, cette stimulation de la croissance s'accompagne d'une modification de la répartition de la biomasse entre les organes, généralement en faveur de la partie souterraine (Rogers *et al.* 1992 ; Atkinson 2000). Toutefois il apparaît, à travers les études faisant varier le niveau de fertilisation des plants, que l'augmentation du R/S en réponse à l'augmentation de la [CO₂] est toujours plus forte dans les conditions nutritionnelles les moins favorables, voire même elle ne se manifeste que dans ces conditions (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Saxe *et al.* 1998 ; Curtis & Wang 1998). Cette stimulation de la croissance des racines constitue certainement une réponse à la plus forte demande en éléments nutritifs et en eau qui est à relier aux forts taux de croissance observés sous [CO₂] élevée (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Ward & Strain 1999 ; Atkinson 2000).

Dans notre étude, dans les conditions de fertilisation N non limitantes, la croissance de tous les organes est augmentée par la [CO₂] élevée, mais la tige est l'organe le plus fortement stimulé (+104% contre +74% pour les racines fines et +58% pour les grosses racines). Cependant, le rapport R/S n'est pas significativement modifié. A l'inverse, dans les conditions de fertilisation N limitantes, la croissance des différents organes n'est pas modifiée significativement par l'augmentation de la [CO₂], mais le rapport R/S est significativement diminué.

Par conséquent, pour les 2 conditions de fertilisation N, l'augmentation de la [CO₂] marque une tendance à stimuler la croissance de la tige, relativement au système souterrain. Ce résultat, qui va à l'encontre de nombreuses études, pourrait s'expliquer par un effet 'pot' sur la croissance des racines déjà mentionné dans d'autres expérimentations (Arp 1991 ; Ceulemans & Mousseau 1994 ; Vivin 1995). Les expériences menées en conditions contrôlées présentent l'inconvénient de nécessiter l'utilisation de pots qui peuvent contraindre la croissance du système souterrain et donc diminuer sa force de puits de C dont peut alors bénéficier une autre partie de la plante, comme la tige, ou résulter en une baisse de la croissance globale du plant. Ce résultat pourrait également être la conséquence de mécanismes d'adaptation qui ont été décrits pour des espèces cultivées sous [CO₂] élevée, tendant à optimiser l'azote dont elles disposent, comme l'a déjà suggéré Vivin (1995). Nous développerons ce point dans la partie 1.2 de cette discussion. Cependant, cet effet stimulant de l'augmentation de la [CO₂] sur la croissance de la tige n'est pas très marqué, car il disparaît si l'on exprime les données sous la forme de répartition relative du C entre organes. En effet, la répartition relative du C entre les différents organes n'est pas influencée par la [CO₂], celle-ci ne dépend que du niveau de fertilisation N : l'allocation relative de C aux racines fines n'est modifiée par aucun des traitements, alors que l'augmentation du niveau de fertilisation N augmente l'allocation du C aux tiges relativement au système souterrain. D'autres auteurs ont également observé que la [CO₂] n'a pas d'effet, ou un effet moindre, sur la répartition de la biomasse par rapport à la disponibilité en nutriments (Martins-Louçao & Cruz 1999 ; Poorter & Nagel 2000 ; Zak *et al.* 2000 ; Sigurdsson *et al.* 2001).

De nombreuses conclusions quant aux effets de la [CO₂] sur l'allocation de la biomasse sont basées sur les estimations des rapports R/S. Cependant, ce type d'estimation donne des informations sur la structure des plants à un moment donné de leur existence mais ne tient pas compte de son évolution possible au cours du développement (Samson & Werk 1986 cités

dans Ward & Strain 1999). Or, des changements dans l'allocation de la biomasse liés à l'ontogénie ont habituellement lieu au cours du développement des plantes. Ce type de comparaison ne permet donc pas de déterminer si des changements observés dans l'allocation de la biomasse sont liés à un effet de la $[CO_2]$ ou à une différence de taille entre les plants comparés (Ward & Strain 1999 ; Centritto 2000).

Pour palier ce problème, nous avons représenté la valeur de R/S de chaque individu en fonction de sa biomasse dans le but de voir si une seule et même relation lie l'ensemble des données ou si, au contraire, des relations distinctes lient les données concernant les individus issus de chacune des $[CO_2]$, ce qui traduirait un effet de la $[CO_2]$ sur l'allocation de biomasse. Le manque de recouvrement entre les données issues des différents traitements ne nous permet pas de conclure avec certitude sur ce point, bien que l'ensemble de nos données semble être décrites par une seule et même relation et plaide donc en la faveur de l'absence d'effet de l'augmentation de la $[CO_2]$ sur l'allocation de biomasse entre parties aérienne et souterraine. Cet effet, s'il était vérifié, irait dans le sens de plusieurs publications récentes sur ce sujet (Curtis & Wang 1998 ; Saxe *et al.* 1998 ; Norby *et al.* 1999 ; Poorter & Nagel 2000) et, en particulier, celles dans lesquelles l'effet 'taille du plant' est éliminé (Bowler & Press 1993 ; Stirling *et al.* 1998 ; Gebauer *et al.* 1996 et Tissue *et al.* 1997 cités dans Ward & Strain 1999 ; Centritto 2000), et qui tendent à montrer que le principal effet de l'augmentation de la $[CO_2]$ consisterait en une accélération du développement ontogénique du plant (Bowler & Press 1993 ; Centritto *et al.* 1999 ; Bernacchi *et al.* 2000).

Par ailleurs, certains auteurs ont noté une amplification de la rythmicité chez le chêne en réponse à un doublement de la $[CO_2]$, qui se traduit par une formation plus précoce et plus rapide des étages de croissance, conduisant à un plus grand nombre d'étages en fin de saison de végétation (Vivin 1995, Picon 1996). Dans nos conditions expérimentales, nous n'observons pas d'augmentation du nombre d'étages formés au terme d'une saison de végétation sous $[CO_2]$ élevée quel que soit le niveau de fertilisation N associé.

1.2. Acquisition et Utilisation de N de l'année

Dans la quasi-totalité des espèces d'arbres forestiers étudiés, une diminution de la teneur en azote dans les organes est observée lorsque les plants sont soumis à une élévation de la $[CO_2]$ (Conroy 1992 ; Ceulemans & Mousseau 1994 ; Cotrufo *et al.* 1998 ; Saxe *et al.* 1998) et ce phénomène semble indépendant de la concentration de cet élément dans le sol (Conroy 1992 ; El Kohen *et al.* 1992 ; Conroy & Hocking 1993 ; Cotrufo *et al.* 1998).

Dans notre étude, au terme d'une saison de végétation, nous observons une diminution de la teneur en N d'un même ordre de grandeur pour tous les organes (-31% à l'échelle du plant) en réponse à l'augmentation de la $[CO_2]$, mais cet effet n'est significatif que dans les conditions de fertilisation N non limitantes. Certains auteurs constatent également que le niveau de fertilisation N module l'effet de la $[CO_2]$ sur la teneur en N : les plants cultivés sous une $[CO_2]$ élevée présentent une diminution de teneur en N forte lorsqu'ils sont cultivés dans des conditions de fertilisation N limitantes, celle-ci est faible et parfois non significative, lorsqu'ils sont cultivés dans des conditions de fertilisation non limitantes (Rogers *et al.* 1993 et 1996 ; Chu *et al.* 1996 ; Bowler & Press 1996 ; Baxter *et al.* 1997 ; Geiger *et al.* 1999). Ces résultats semblent traduire une accentuation, par l'augmentation de la $[CO_2]$, de la limitation en N imposée par le niveau de fertilisation, et correspondent à l'inverse de ceux que nous obtenons.

Cependant, les termes de fertilisation 'limitante' ou 'non limitante' utilisées dans la littérature ne fournissent pas de critères comparables entre les expériences. D'une part, ces termes sont rarement définis par rapport aux besoins physiologiques des plantes étudiées, mais sont plutôt attribués arbitrairement pour identifier un traitement plus ou moins optimal relativement à un autre. D'autre part, les besoins en N diffèrent d'une plante à une autre et changent avec le stade de développement. Dans ces conditions, une comparaison rigoureuse entre les études est difficile. Nous pouvons donc émettre l'hypothèse que les conditions de fertilisation N, que nous qualifions de non limitantes dans notre étude, correspondent d'un point de vue des besoins des plants à une situation sub-optimale pour d'autres études, et que les conditions limitantes correspondent à un niveau de fertilisation très limitant pour lequel une diminution supplémentaire de la teneur en N est impossible. En effet, d'après Janssen *et al.* (1990 cité dans Wolf 1998), dans des conditions de fertilisation limitantes, la teneur en nutriments diminue dans les tissus durant le cycle de croissance jusqu'à un minimum spécifique pour la plante considérée, et une diminution supplémentaire apparaît impossible. Ainsi, Wolf (1998) observe-t-il des résultats similaires aux nôtres sur *Beta vulgaris* : dans les conditions non limitantes et légèrement limitantes en N, la teneur en N de la plupart des organes diminue avec l'augmentation de la [CO₂], alors qu'elle n'est pas significativement modifiée dans le traitement fortement limitant en N.

La diminution de la teneur en N que nous observons dans le traitement EN+ ne provient pas d'une diminution de l'acquisition de N à l'échelle du plant. En effet, l'augmentation de la [CO₂] ne modifie pas la quantité de N contenue dans les racines fines et les grosses racines, et augmente même de façon significative la quantité de N contenue dans la tige (+50%) et l'ensemble du plant. Des résultats similaires ont été observés dans d'autres expérimentations (Conroy & Hocking 1993 ; Vivin 1995 ; Tissue *et al.* 1997 ; Stitt & Krapp 1999).

Certains auteurs ont avancé l'hypothèse que la diminution de la transpiration généralement observée sous [CO₂] élevée pourrait avoir également comme conséquence un ralentissement du flux de nitrate vers les racines pouvant expliquer les baisses de teneurs en N dans les tissus (Conroy 1992 ; Conroy & Hocking 1993 ; Stitt & Krapp 1999). Nous n'avons pas mesuré la transpiration de nos plants et ne pouvons donc conclure sur ce point. Toutefois, cette hypothèse a été controversée par Wong (1979 cité dans Conroy & Hocking 1993) qui suggère que ce serait plutôt une perturbation dans l'équilibre entre les métabolismes C et N dans les feuilles des plantes en C₃ qui serait responsable de la diminution de la teneur en N. En effet, cet auteur montre que, bien que les taux de transpiration soient diminués dans les mêmes proportions chez le maïs et le coton cultivés sous [CO₂] élevée, une diminution de la teneur en N foliaire n'est observable que chez le coton.

Il apparaît plutôt, de manière assez générale, que la diminution de la teneur en N résulterait d'un effet stimulant de l'augmentation de la [CO₂] sur l'acquisition de N de moindre ampleur que pour C, conduisant à une 'dilution' de l'azote dans les tissus et une augmentation du rapport C/N à l'échelle de la plante (Eamus & Jarvis 1989 ; Vivin 1995 ; Stitt & Krapp 1999). En particulier, dans certaines expériences, et notamment dans le feuillage, la forte accumulation de glucides observée sous des [CO₂] élevées suffit à expliquer la dilution de N (Conroy & Hocking 1993 ; Vivin 1995). Notre expérimentation ne valide pas cette explication, car les plants cultivés sous [CO₂] élevée ne présentent pas des teneurs en glucides supérieures à ceux cultivés sous [CO₂] ambiante, ni à l'échelle du plant, ni dans aucun de ses organes. D'autres auteurs estiment que cette explication n'a qu'une réalité partielle car l'expression de la teneur en N sur une base structurelle ne supprime pas l'effet de dilution de l'azote (Stitt 1991 ; Conroy 1992 ; Conroy & Hocking 1993 ; Tissue *et al.* 1997 ; Stitt & Krapp 1999). De plus, souvent les teneurs des autres éléments dans la feuille ne sont pas

affectées par l'enrichissement en CO₂, ce qui suggère également qu'il ne s'agit pas d'un simple effet de dilution (Norby *et al.* 1986 ; O'Neill *et al.* 1987 ; Conroy *et al.* 1990a ; Peñuelas *et al.* 1997).

Bien que les glucides ne puissent pas être mis en cause dans notre étude, l'ensemble de nos résultats montre clairement que l'augmentation de la [CO₂] a un effet moindre sur le pool N que sur le pool C, qui se traduit par une augmentation du rapport C/N à l'échelle du plant et de la plupart des organes, de même ampleur dans les 2 conditions de fertilisation N. Cette stimulation de la croissance malgré la diminution de la teneur en N, observées sous [CO₂] élevée, suggère que la plante diminue sa demande en azote et optimise l'azote dont elle dispose au cours de son développement. Certains auteurs, face à ce type de constatations ont parlé d'augmentation de 'l'efficacité d'utilisation de l'azote' (taux d'assimilation du C par unité de masse de N présente dans le feuillage) (Norby *et al.* 1986 ; O'Neill *et al.* 1987 ; Conroy 1992 ; Drake *et al.* 1997 ; Saxe *et al.* 1998 ; Fangmeier *et al.* 1999) ou de meilleure 'productivité de l'azote' (biomasse produite par unité de masse de N dans le feuillage ou la plante) (Conroy 1992 ; Vivin *et al.* 1995 ; Stitt & Krapp 1999 ; Harmens *et al.* 2001) sous des [CO₂] élevées.

Les modalités de cette optimisation de l'azote disponible pourraient être associées à une réallocation de N au sein de la plante. Field & Mooney (1986 cités dans Ceulemans & Mousseau 1994) suggèrent que les plantes maximisent leur efficacité d'utilisation de l'azote sous des [CO₂] élevées en allouant leur azote entre les tissus de façon à maintenir un équilibre entre les processus photosynthétiques et non-photosynthétiques. L'élévation de la [CO₂] augmentant la capacité de fixation du C par la Rubisco (Conroy & Hocking 1993), une partie de l'azote investi dans la Rubisco et les enzymes du cycle de Calvin pourrait être réallouée vers les tissus non photosynthétiques (Ceulemans & Mousseau 1994 ; Drake *et al.* 1997 ; Cotrufo *et al.* 1998), comme par exemple les racines fines (El Kohen *et al.* 1992, Körner & Arnone 1992 et Norby *et al.* 1992, cités dans Ceulemans & Mousseau 1994).

Nos résultats ne montrent pas une augmentation de l'allocation de N dans les racines fines sous [CO₂] élevée. La répartition relative de N au sein du plant est principalement influencée par le niveau de fertilisation N. Néanmoins, dans les conditions non-limitantes en N, l'augmentation de la [CO₂] se traduit par une augmentation de la répartition relative de N dans la tige. Il est difficile d'interpréter ce résultat. En effet, la réallocation de N foliaire vers les racines fines, par essence même, ne peut se produire que durant la période feuillée, et n'a d'intérêt pour la plante que si les racines sont elles aussi en pleine activité. Or, dans notre étude, à la date qui nous intéresse (janvier), les plants sont en repos végétatif, ils ont perdu leurs feuilles et l'activité assimilatrice des racines est probablement nulle. De plus, la réallocation de l'azote foliaire vers les parties pérennes au moment de la sénescence a pu masquer la répartition relative de l'azote entre les organes existant au cours de la période feuillée. Par conséquent, nous ne pouvons pas conclure sur le sens de cette augmentation de l'allocation relative de N dans les tiges.

Par ailleurs, d'après Coleman *et al.* (1993), la dilution de l'azote observée sous [CO₂] élevée serait plus liée à un artéfact résultant de la croissance accélérée des plants qu'à une réelle augmentation de l'efficacité d'utilisation de l'azote. Cet auteur souligne qu'habituellement dans les études sur les effets des [CO₂] élevées, les plantes sont comparées au même âge et non au même stade ontogénique, et qu'en comparant des plants d'*Abutilon theophrasti* de même taille, aucune diminution de la teneur en N n'est observée. Ce résultat a toutefois été démenti chez d'autres espèces (Roumet *et al.* 1996 ; Harmens *et al.* 2001). De même, nos résultats ne plaident pas en faveur de cette hypothèse. En effet, le rapport C/N de l'ensemble

du plant est significativement augmenté sous $[CO_2]$ élevée, sans qu'il y ait une interaction significative avec le niveau de fertilisation N. Or, si les plants cultivés dans les conditions N+ ont des biomasses différentes dans les 2 conditions de $[CO_2]$, ce n'est pas le cas des plants cultivés dans les conditions N-. Par conséquent, l'effet de l'augmentation de la $[CO_2]$ étant de même ampleur dans les 2 conditions de fertilisation N, pour des plants dont la taille peut être identique ou différente, nous concluons que la productivité de l'azote est augmentée sous $[CO_2]$ élevée, et que cet effet n'est pas un artéfact lié à l'accélération de l'ontogénie des plants.

1.3. Caractéristiques du Stockage de C et N

L'étude de l'évolution saisonnière des réserves glucidiques et azotées chez les feuillus indique que celles-ci présentent un maximum à la période où les plants entrent en repos végétatif (Titus & Kang 1982 ; Tromp 1983 ; Kajji 1992 ; Lacoïnte *et al.* 1994 ; Sauter & van Cleve 1994 ; Sauter & Wellenkamp 1998 ; Bollmark *et al.* 1999). Aussi, dans notre expérience, bien que nous n'ayons pas étudié les variations de concentrations des réserves sur l'ensemble de l'année, nous pouvons considérer l'entrée en phase hivernale (janvier) comme le moment où les réserves atteignent leur maximum annuel.

Dans les paragraphes suivants, nous nous intéressons à ce stade de stockage maximal pour les réserves glucidiques et azotées.

- **Les réserves Glucidiques**

L'amidon est souvent cité comme la forme privilégiée de stockage des glucides pour de nombreux arbres (Nelson & Dickson 1981 ; Stassen *et al.* 1981 ; Tromp 1983 ; Witt & Sauter 1994 ; Bollmark *et al.* 1999) dont le chêne (Hoch *et al.* 2003 et Barbaroux 2002 sur *Quercus petraea*). Nos résultats confirment que l'amidon est la forme principale de stockage des glucides chez le chêne pédonculé, dans tous les organes et pour tous les traitements. En effet, dans tous les organes pendant la phase de repos végétatif, l'amidon est très largement représenté par rapport aux sucres solubles et les variations de teneurs en TNC observées au cours du temps sont principalement liées aux variations de teneurs en amidon.

La quantité de TNC stockés dans nos plants au début de la phase hivernale est très importante puisqu'elle représente entre 22 et 34% de la biomasse du plant selon le traitement. Ces valeurs sont en accord avec les données fournies par la littérature qui indiquent que les réserves glucidiques peuvent représenter jusqu'à 35% de la matière sèche chez de jeunes plants feuillus (Nelson & Dickson 1981 ; Tromp 1983 ; Dickson 1991). Ces valeurs sont probablement proches d'un maximum possible pour les plants parce que, d'une part, les individus jeunes contiennent dans leurs tissus une forte proportion de cellules vivantes, seules capables de stocker des composés de réserve et d'autre part, la culture en conditions contrôlées évite au plant tout stress d'ordre biotique ou abiotique susceptible de consommer une partie des réserves.

A l'entrée de l'hiver, nos plants de chêne se caractérisent par une abondance de réserves glucidiques dans le système souterrain, dans tous les traitements. En particulier, les grosses racines constituent un compartiment particulièrement important pour le stockage des glucides chez le chêne pédonculé, puisqu'elles sont l'organe le plus riche en TNC et contiennent de 58 à 83% des TNC du plant. Les racines sont habituellement décrites comme un organe

particulièrement important pour le stockage de réserves glucidiques (Hansen & Grauslund 1973 ; Bollmark *et al.* 1999 ; Lacoïnte 2001 ; Ludovici *et al.* 2002) en particulier chez les sujets jeunes. Avec l'âge, le tronc prenant plus d'importance pondéralement, la dominance des racines pour le stockage de réserves décroît (Lacoïnte 2001 ; Ludovici *et al.* 2002).

L'augmentation de la teneur en glucides dans les organes, et en particulier de l'amidon, constitue une des réponses classiques à l'augmentation de la [CO₂] observées chez de nombreux végétaux (Wong 1990 ; Lindroth *et al.* 1993 ; Griffin *et al.* 1996 ; Fonseca *et al.* 1997 ; Will & Ceulemans 1997 ; Will & Teskey 1997 ; Crookshanks *et al.* 1998 ; Curtis & Wang 1998 ; Saxe *et al.* 1998 ; Tognetti *et al.* 1998 ; Roberntz & Linder 1999 ; Stitt & Krapp 1999). Pourtant, nos résultats montrent que, chez le chêne pédonculé, l'augmentation de la [CO₂] n'a aucun effet ni sur la teneur en amidon, ni sur celle des sucres solubles, présentes à l'entrée de l'hiver, dans aucun organe.

D'autres études ont montré que l'augmentation de la teneur en TNC n'est pas une réponse universelle des espèces ligneuses et que de considérables variations interspécifiques ont été rapportées (Saxe *et al.* 1998). Par exemple, l'augmentation de la [CO₂] ne conduit à aucun changement significatif de la teneur en amidon dans les feuilles d'*Acer saccharum* (Lindroth *et al.* 1993), *Betula papyrifera* et *Pinus strobus* (Roth & Lindroth 1994). De même, la teneur en sucres solubles, en amidon et en TNC n'est pas affectée par la [CO₂] élevée dans les racines, la tige et les feuilles chez *Quercus virginiana* Mill. (Tognetti & Johnson 1999b) ou les racines de *Pinus taeda* et *Pinus ponderosa* (King *et al.* 1997). La teneur en amidon diminue même dans les racines de *Quercus petraea* (Crookshanks *et al.* 1998) et de *Pinus palustris* (Entry *et al.* 1998) soumis à une [CO₂] élevée.

Ces résultats contradictoires peuvent être bien sûr attribués à la variabilité interspécifique, mais également à des différences dans les protocoles et les conditions expérimentales. Ainsi par exemple, de nombreuses recherches se cantonnent à l'étude d'un seul organe, bien souvent la feuille, alors que des comportements différents entre les organes sont mentionnés dans la littérature (Chomba *et al.* 1993 sur *Picea engelmannii* ; Fonseca *et al.* 1997 sur *Plantago major* ; Kainulainen *et al.* 1998 sur *Pinus sylvestris* ; Bollmark *et al.* 1999 sur *Salix viminalis*). D'autre part, la concentration en [CO₂] dite 'élevée' dans la plupart des études est en général égale au double de la concentration ambiante (voire parfois plus) mais des expérimentations avec des concentrations légèrement supérieures au niveau ambiant sont également menées (+150 µmol/mol, Tognetti & Johnson 1999a, b) et pourraient peut-être expliquer l'absence de stimulation sous [CO₂] élevée. Par ailleurs, la durée des expériences varie également énormément, et peu fréquentes sont celles qui durent au moins une ou deux saisons de végétation. Or, les effets de l'augmentation de la [CO₂] peuvent apparaître ou, au contraire, disparaître avec le temps.

Ainsi, dans le feuillage de *Pinus sylvestris*, un effet de l'augmentation de la [CO₂] ne se manifeste qu'à partir de l'automne de la 3^{ème} année d'exposition, où l'amidon augmente mais uniquement dans les aiguilles de l'année (Kainulainen *et al.* 1998). Chez *Picea engelmannii* Parry, l'augmentation de la [CO₂] augmente la vitesse d'accumulation de glucides, ce qui conduit à une augmentation significative de la teneur en TNC à l'échelle du plant entier, mais uniquement de façon transitoire (Chomba *et al.* 1993). Cet effet est restreint à la période de formation des bourgeons hivernaux où l'allongement du tronc est ralenti et où davantage de C est donc disponible pour l'élaboration de réserves. Cependant, probablement en raison d'une acclimatation à la [CO₂] élevée, la teneur maximale en TNC atteinte pendant la période hivernale n'est pas affectée par la [CO₂] (Chomba *et al.* 1993). Néanmoins, Campagna & Margolis (1989) ont montré que l'augmentation de la [CO₂] ne modifiait la teneur en TNC

accumulée dans les plantules d'épicéa à aucune période de l'année, ni avant, ni après la formation des bourgeons hivernaux.

Par contre, le niveau de fertilisation N a un effet significatif sur les teneurs en TNC accumulées à l'entrée de l'hiver dans le système souterrain, mais pas dans les tiges. Seules les teneurs en amidon sont affectées, et cela sans qu'il y ait interaction avec le niveau de [CO₂], et dans un sens contraire dans les racines fines et les grosses racines.

Dans les grosses racines, les teneurs en amidon sont diminuées de 19% en moyenne sous l'effet de l'augmentation du niveau de fertilisation N, ce qui conduit à une diminution significative de 31% de la teneur en amidon dans l'ensemble du plant. Ces résultats sont cohérents avec ceux couramment publiés dans la littérature. L'augmentation du niveau de fertilisation azotée diminue la teneur en TNC chez *Malus domestica* (Cheng & Fuchigami 2002) et la teneur en amidon sur *Prunus persica* et *Nicotiana tabacum* (Ali *et al.* 1999 ; Geiger *et al.* 1999). Et, à l'inverse, une limitation de la nutrition N conduit généralement à une augmentation de la teneur en TNC (Stitt & Krapp 1999), souvent plus marquée dans les racines que dans les feuilles (Rufty *et al.* 1988). Cette augmentation est principalement due à une augmentation de la teneur en amidon (Waring *et al.* 1985 ; Hofstra *et al.* 1985 ; Rufty *et al.* 1988 ; Hocking & Meyer 1991 ; Fichtner & Schulze 1992 ; Fichtner *et al.* 1993 ; Delgrado *et al.* 1994 ; Paul & Driscoll 1997 ; Scheible *et al.* 1997a), alors que la teneur en sucres solubles reste relativement basse et parfois même décroît (Rufty *et al.* 1988 ; Fichtner *et al.* 1993 ; Reddy *et al.* 1996 ; Scheible *et al.* 1997b ; Tognetti & Johnson 1999a).

Dans les racines fines, au contraire, la teneur en amidon augmente de 63% en moyenne sous l'effet de l'augmentation du niveau de fertilisation N. Ce comportement atypique pourrait s'expliquer par des besoins en glucides au printemps différents entre les 2 conditions de fertilisation N. En effet, au terme d'une saison de végétation, nous avons observé que les plants N+ avaient des potentialités de croissance plus fortes que les plants N-. On peut alors supposer que de plus fortes quantités de glucides sont alors nécessaires pour assurer la croissance et le fonctionnement des jeunes racines fines au printemps dans les conditions N+ relativement aux conditions N-. Par ailleurs, il semble que le transfert des composés de réserves entre 2 points dans l'arbre privilégierait la plus courte distance entre sources et puits (Matsuura *et al.* 2001 ; Cerasoli 2002). Par conséquent, ces fortes teneurs en amidon stockées dans les racines fines à l'entrée de l'hiver pourraient être liées à une utilisation locale de ces réserves au printemps plus importante dans les conditions N+ que N-. Nous approfondirons ce point dans la partie 2.2.

Malgré l'absence d'effet de l'augmentation de la [CO₂] et l'effet dépressif de l'augmentation du niveau de fertilisation N sur les teneurs en TNC, du fait de l'impact positif de ces traitements sur la croissance, le stockage de TNC à l'échelle du plant et des organes est stimulé dans les 2 traitements. Finalement, il apparaît que la quantité de TNC stockée dans le plant à l'entrée de l'hiver est proportionnelle à la croissance du plant (représentée par la quantité de C).

- **Les réserves Azotées**

L'augmentation du niveau de fertilisation N conduit à une augmentation de la teneur en TSN de tous les organes, traduisant une amélioration du statut azoté des plants. Ce résultat est en

accord avec ceux publiés dans la littérature (Taylor 1967 et Stassen *et al.* 1981b sur *Prunus persica* (L.) Batsch. ; Taylor *et al.* 1975 sur poirier ; Sennerby-Forsse & von Fircks 1987 sur *Salix dasyclados* Wimm. ; Wetzel *et al.* 1995 sur *Populus deltoides* Barth. x *Populus nigra* L. ; Bollmark *et al.* 1999 sur *Salix viminalis*).

Certains auteurs ont montré que la concentration en N organique, au contraire, diminuait en réponse à une [CO₂] élevée (Wong 1979 ; Curtis *et al.* 1989 ; Garbutt *et al.* 1990 ; Coleman *et al.* 1991 ; Hocking & Meyer 1991 ; Coleman & Bazzaz 1992 ; Gries *et al.* 1993 ; Pettersson *et al.* 1993 ; Körner & Miglietta 1994 ; Pettersson & MacDonald 1994 ; Ferrario-Mery *et al.* 1997 ; Poorter *et al.* 1997 ; Geiger *et al.* 1999). Nos résultats montrent, en effet, que l'augmentation de la [CO₂] se traduit par une diminution de la teneur en TSN d'un même ordre de grandeur pour tous les organes (-32% à l'échelle du plant) dans les conditions non limitantes en N, mais n'affecte la teneur en TSN d'aucun organe dans les conditions de fertilisation N limitantes.

Cependant, malgré ces effets, aucun des traitements appliqués ne modifie significativement la proportion de l'azote total allouée aux TSN à l'échelle du plant et des organes, mis à part pour les racines fines. Dans ce compartiment, l'augmentation du niveau de fertilisation N conduit à une légère augmentation de la part de l'azote total alloué aux TSN (+17%), due à une augmentation de la proportion d'acides aminés dans les TSN. Cet effet, dont la compréhension nécessiterait des études complémentaires, peut correspondre à une nécessité physiologique pour cet organe mais aussi n'être simplement que le reflet d'une assimilation de N qui se prolonge plus tardivement dans la saison chez les plants N⁺ relativement aux plants N⁻, et qui reste sous la forme d'acides aminés alors qu'elle aurait été incorporée dans une autre fraction azotée si elle avait été assimilée plus tôt dans la saison.

Ainsi, à l'exception des racines fines, les effets observés sur les teneurs en TSN dans les organes et le plant ne sont que le reflet des effets des traitements sur les teneurs en N et les résultats obtenus, à la lumière de cette information, sont cohérents avec ceux discutés dans la partie 1.2 de cette discussion.

Par conséquent, la quantité de TSN stockée dans les organes pérennes chez le chêne pédonculé est directement dépendante de la quantité de N totale assimilée au terme de la saison de végétation.

Par ailleurs, dans les conditions de fertilisation limitantes en N, les différents organes stockent des concentrations équivalentes en TSN et l'augmentation du niveau de fertilisation N augmente le stockage de TSN dans tous les organes, mais particulièrement dans les grosses racines. Cet effet confirme l'importance des racines pour le stockage de N comme cela a déjà été mentionné dans la littérature (Titus & Kang 1982 ; Policarpo *et al.* 2002).

Comme dans le cas des réserves glucidiques, du fait de l'impact des traitements sur l'accumulation de biomasse, le stockage de TSN à l'échelle du plant entier est stimulé par l'augmentation du niveau de fertilisation N, et l'augmentation de la [CO₂] est responsable d'une accumulation supplémentaire de TSN mais uniquement dans les conditions de fertilisation non limitantes en N. Néanmoins, cet effet de la [CO₂] sur la quantité de TSN à l'entrée de l'hiver (janvier) disparaît à la fin de cette période (mars), et le stock de TSN ne diffère plus qu'entre les 2 conditions de fertilisation N. Cette différence entre les 2 dates résulte certainement plutôt d'une différence liée à la variabilité génétique entre les lots de plants que d'une perte de N à l'échelle du plant au cours de l'hiver. Par conséquent, l'importance du stock de TSN dans le plant est principalement dépendante des conditions de fertilisation N, mais les plants cultivés sous des [CO₂] ont la possibilité de compenser leurs

plus faibles teneurs en TSN par une plus forte biomasse qui peut résulter en un stock supérieur de TSN.

La plupart des études se focalisent sur les effets de l'augmentation de la [CO₂] sur la teneur en N des organes, mais l'impact sur les différents composés N contenus dans le plant est beaucoup moins connu (Geiger *et al.* 1999 ; Stitt & Krapp 1999). En particulier, de nombreuses études s'intéressent au stockage et à la remobilisation de l'azote total, sans détailler les formes biochimiques impliquées (Deng *et al.* 1989 a,b ; Millard 1989 ; Millard & Proe 1993 ; Millard 1994 ; Wendler *et al.* 1995 ; Tagliavini *et al.* 1998 ; Dyckmans *et al.* 2000 ; Proe *et al.* 2000 ; Cherbuy *et al.* 2001 ; Cheng & Fuchigami 2002). Or, une partie de l'azote des organes n'est pas remobilisable (Terziev *et al.* 1997 ; Sauter & Wellenkamp 1998 ; Cheng & Fuchigami 2002), de ce fait ce type d'approche se révèle peu précis. De plus, si le NO₃⁻ peut représenter une fraction variable mais non négligeable de l'azote soluble (Geiger *et al.* 1999 ; Stitt & Krapp 1999), l'azote organique soluble constitue une forme directement disponible pour la croissance des nouveaux organes, au sein de laquelle les acides aminés et les protéines forment les composés les plus fréquemment cités comme ayant un rôle dans le stockage et la remobilisation de N (Tromp 1983 ; Dickson 1989).

Nos résultats montrent que, chez le chêne pédonculé, les traitements [CO₂] et fertilisation N appliqués affectent les teneurs en acides aminés et en protéines solubles, dans le même sens qu'ils affectent les teneurs en TSN. Mais la répartition entre acides aminés et protéines solubles à l'intérieur des TSN est modifiée : dans le plant entier et la plupart des organes, l'augmentation du niveau de fertilisation N se traduit par une augmentation de la part des acides aminés dans les TSN et une diminution de la part des protéines solubles, alors que la [CO₂] n'influence pas la répartition entre acides aminés et protéines solubles dans les TSN. Ainsi, l'amélioration du statut N des plants, conduit à une accumulation de N préférentiellement sous forme d'acides aminés. Toutefois, les acides aminés représentent en moyenne 49% des TSN pour les plants N- et 61% pour les plants N+, donc ils constituent une fraction équivalente aux protéines solubles chez les plants N-, et une fraction légèrement supérieure aux protéines solubles chez les plants N+. Cependant, selon le traitement, de 71 à 80% de la quantité de TSN remobilisés au printemps dans l'ensemble des parties pérennes correspond à des acides aminés. De ce fait, quel que soit le traitement, la remobilisation de N au printemps affecte plus fortement le pool des acides aminés que celui des protéines solubles. Par conséquent, chez le chêne pédonculé, les acides aminés et les protéines solubles constituent des formes de stockage de N, mais les acides aminés semblent avoir une plus grande importance relativement aux protéines solubles.

L'importance relative des acides aminés et des protéines dans la fonction de stockage de N est l'objet de controverses (Tromp 1983). Les protéines et les acides aminés peuvent servir concomitamment de composés de stockage de l'azote chez les arbres (Durzan 1968, Pomeroy *et al.* 1970, Gezelius *et al.* 1981, Margolis & Waring 1986, Wetzal & Greenwood 1989, cités dans Wetzal & Greenwood 1991) mais, parfois, l'une ou l'autre forme biochimique tend à dominer. Ainsi, le chêne pédonculé se comporte comme le pommier, le pêcher (Schneider 1958 et Oland 1959 cités dans Zapata 1998 ; Oland 1954, Taylor & Van den Ende 1969 et 1970 cités dans Stepien 1992), la vigne (Kliwer & Cook 1974, Schaller *et al.* 1989 et Kliwer 1991 cités dans Zapata 1998) ou les espèces du genre *Citrus* (Kato 1986) qui ont été décrites comme des espèces qui stockent préférentiellement leur N sous forme d'acides aminés.

Néanmoins, chez le chêne pédonculé, les protéines jouent aussi un rôle dans le stockage et la remobilisation de l'azote quantitativement moins important que les acides aminés, mais qu'il serait prématuré de qualifier de secondaire, car le rôle exact des composés de stockage lors de

la reprise de croissance est encore très mal comprise à l'heure actuelle. En effet, par exemple dans le tronc de pêcher, alors que la plus grande partie (55%) de l'azote remobilisé au printemps pour la reprise de croissance provient de la fraction non protéique, les protéines de stockage qui ne fournissent que 5% de l'azote, présentent une remobilisation très précoce qui suggère un rôle dans l'initiation de la reprise de croissance (Gomez & Faurobert 2002).

- **Relations entre réserves glucidiques et azotées**

Nos résultats montrent que, chez le chêne pédonculé, la concentration en TNC n'est pas indépendante de la concentration en TSN dans le plant à l'entrée de la phase hivernale.

D'autres études mentionnent des relations semblables. Cheng & Fuchigami (2002) ont montré l'existence d'une relation linéaire de pente négative liant la concentration en TNC et la concentration en N dans des jeunes plants dormants de pommier soumis à une gamme de niveaux de fertilisation N. De même, Ali *et al.* (1999) ont constaté que le niveau de fertilisation N affecte de façon inverse la concentration en N et la concentration en amidon dans les racines et les feuilles de pêcher. Poorter & Villar (1997), en compilant diverses données concernant aussi bien des espèces ligneuses qu'herbacées, ont pu montrer que, dans chaque cas, il y avait une corrélation négative entre la concentration en TNC ou en amidon et la concentration de l'ensemble des composés azotés organiques contenus dans les feuilles ou les parties aériennes des plants cultivés sous divers niveaux de fertilisation N.

Cependant, jusqu'à présent ces relations restent plus constatées que réellement expliquées.

L'imbrication des métabolismes C et N constitue certainement au moins une partie des fondements de cette relation. A l'échelle biochimique, la relation entre les 2 métabolismes implique une répartition du C photosynthétique entre la synthèse des sucres et celle des acides aminés. Chez les algues et les plantes supérieures, l'acquisition d'azote favorise le flux de C vers la synthèse d'acides aminés au coût de la production de glucides (Champigny *et al.* 1991 ; Huppe & Turpin 1994 ; Martins-Loução & Cruz 1999). Ainsi, Van Quy *et al.* (1991) observent une relation inverse entre la synthèse de saccharose et l'assimilation de NO_3^- . De même, la fourniture d'ammonium diminue la quantité de glucides stockés dans les plants (Ferrario *et al.* 2001). Au contraire, lorsqu'il y a une limitation de la nutrition azotée, une accumulation de composés carbonés de stockage est observée (Huppe & Turpin 1994). En particulier, l'ADP-glucose pyrophosphorylase (ADPGpp) est activée en conditions de faible nutrition azotée ce qui a pour conséquence d'augmenter la synthèse d'amidon (Scheible *et al.* 1997a). Des plants de soja cultivés à 3 niveaux de fertilisation N accumulent d'autant moins d'amidon que le niveau de fertilisation est élevé (Robinson & Baysdorfer 1985). De plus l'excès de C accumulé le premier jour chez des plants de soja privés d'azote équivaut à la quantité de C nécessaire pour soutenir le taux journalier d'assimilation de l'azote chez ces plants (Rufty *et al.* 1988).

Par conséquent, ces observations suggèrent une relation négative entre les concentrations en glucides et en acides aminés dans les plants. Dans notre étude, les protéines solubles sont associées aux acides aminés dans la fraction azotée considérée. Cependant, les protéines étant constituées d'un assemblage d'acides aminés, les inclure dans la fraction azotée ne modifie pas le raisonnement suivi.

Toutefois, sur le plan quantitatif, la diminution d'investissement de C dans les TNC, observée lors de l'augmentation du niveau de fertilisation N, permettrait un gain théorique en TSN 5 à

9 fois plus important (sous $[CO_2]$ ambiante et $[CO_2]$ élevée respectivement) si tout le C perdu par les TNC était investi dans les TSN. Par conséquent, d'autres mécanismes sont également impliqués dans ces variations coordonnées de concentrations en TNC et TSN.

Il est possible que cette corrélation négative entre la concentration en glucides et la concentration en TSN reflète également une demande différente en glucides selon le statut azoté des plants. Nous définissons ici le statut N des plants comme un paramètre directement proportionnel à la teneur en N des plants (Tan & Hogan 1998). Or, dans notre expérimentation, la concentration en TSN est proportionnelle au statut N des plants puisqu'il existe une relation linéaire entre concentration en TSN et teneur en N.

D'une façon générale, les glucides sont considérés comme un compartiment 'tampon' traduisant l'équilibre entre activité source (acquisition de C) et puits (croissance) de C au sein de la plante (Fischer *et al.* 1997) : de faibles concentrations en glucides sont associées à une utilisation importante du C dans les processus de croissance, alors que de fortes concentrations en glucides sont associées à de faibles taux de croissance (Farrar & Williams 1991 et Wareing & Patrick 1975 cités dans Fischer *et al.* 1997).

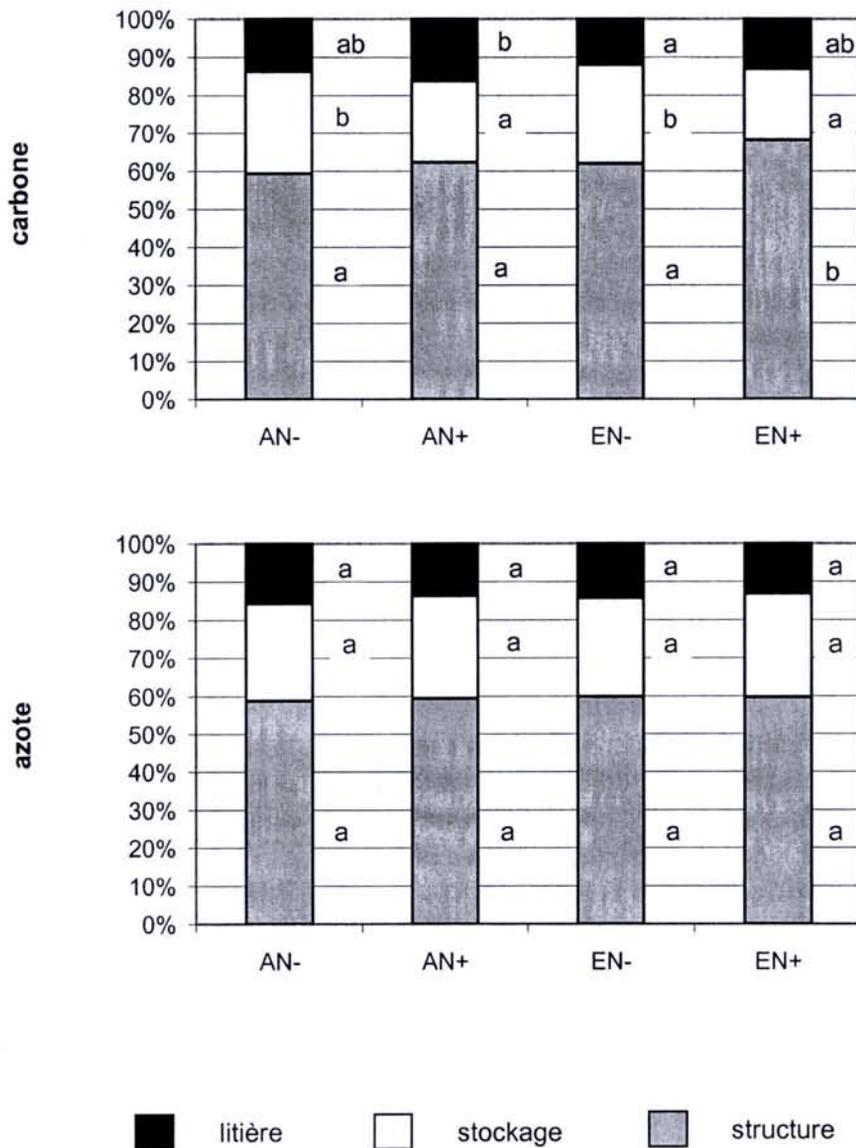
Or, l'amélioration du statut N des plants implique en général une augmentation de la croissance (Levin *et al.* 1989 ; Tan & Hogan 1998 ; Berger & Glatzel 2001), et une diminution de la concentration en glucides (Stitt & Krapp 1999). Par conséquent, nous pouvons émettre l'hypothèse que le statut N des plants pourrait être à l'origine de cette répartition différente du C acquis entre croissance et stockage de TNC. Nos résultats ne nous permettent pas de formuler des hypothèses quant aux bases physiologiques de ce phénomène, mais certains auteurs ont montré que le métabolisme glucidique pouvait être régulé de façon directe par des composés du métabolisme N, comme par exemple le nitrate (Scheible *et al.* 1997a). Par ailleurs, la répartition de l'azote peut également expliquer un tel phénomène : Poorter & Villar (1997) estiment que les plants cultivés dans les conditions limitantes en N ont clairement un excès de glucides qui pourrait s'expliquer par un surinvestissement de N dans l'appareil photosynthétique de ces plants. Ainsi, en admettant que les plants essaient en général de maximiser leur croissance face à un panel de conditions limitantes, ces auteurs concluent que les plantes cultivées dans des conditions limitantes en N ont un comportement sub-optimal dans ces conditions.

Par ailleurs, nos résultats montrent également que la relation liant la concentration en TNC et en TSN est influencée par la $[CO_2]$. L'augmentation de la $[CO_2]$ se traduit par une relation de pente plus forte. Ce résultat indique que, pour une même variation de concentration en TNC, la variation de concentration en TSN correspondante est plus faible sous $[CO_2]$ élevée que sous $[CO_2]$ ambiante. Ce résultat est probablement directement en rapport avec la diminution de la concentration en N dans les tissus sous $[CO_2]$ élevée, puisque nous avons montré que, dans le cas de nos plants, la fraction de l'azote total qui est investi dans les TSN est constante entre les traitements.

1.4. Bilan de l'utilisation du C et N de l'année

Les quantités de C et N contenues dans la litière varient selon les conditions expérimentales, en accord avec les données obtenues pour les organes pérennes : toutes deux augmentent fortement avec le niveau de fertilisation N et, dans les conditions de fertilisation N non limitantes, l'augmentation de la $[CO_2]$ est responsable d'une accumulation supplémentaire de C dans la litière, mais pas de N. Cependant, à l'échelle du plant entier, les quantités de C et de

Figure 45 : Investissement du carbone et de l'azote de l'année (en %) en éléments de structure, de stockage ou en litière à l'échelle du plant entier chez *Quercus robur*. Les plants ont été cultivés depuis le semis et jusqu'à la chute des feuilles sous une atmosphère à [CO₂] ambiante (A) ou élevée (E) en association avec une fertilisation azotée soit à 0,61 (N-) soit 6,1 (N+) mmol d'azote/l. Chaque valeur correspond à la moyenne de 6 à 8 individus. Pour chaque donnée, une lettre identique à côté des valeurs moyennes des traitements indique que celles-ci ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (Anova suivie du test de Tukey).



N perdues dans la litière représentent une part identique du C et N total contenu dans l'ensemble du plant pour tous les traitements (14% en moyenne pour le C et pour le N). Certains auteurs ont suggéré que le recyclage des composés foliaires à l'automne dépendrait plus fortement de l'état nutritionnel de l'arbre (concentrations présentes dans les parties pérennes) que des concentrations disponibles dans les feuilles (Millard & Thomson 1989). Nos résultats semblent aller dans le sens contraire. En effet, dans le cas de nos plants de chêne pédonculé, les traitements appliqués conduisent à des statuts nutritionnels différents selon le traitement considéré. Or, bien que nous n'ayons pas d'information sur les quantités de C et N remobilisées, comme la proportion de C et N du plant contenue dans la litière ne varie pas significativement entre les traitements, il semblerait plutôt que le recyclage de C et N foliaire se déroulerait de façon à remobiliser les éléments jusqu'à un maximum possible, sans tenir compte des concentrations déjà présentes dans les parties pérennes.

Les réserves sont souvent décrites comme des composés qui s'accumulent dans les plantes lorsque la production d'assimilats excède leur utilisation (Priestley 1977 ; Fischer & Höll 1991 ; Kozłowski 1992) et, ainsi, en particulier pour les glucides, leur accumulation apparaît comme une réponse passive à une diminution de la croissance (Stitt & Krapp 1999). L'étude des processus de stockage conduit Chapin *et al.* (1990) à proposer une définition plus précise. D'après ces auteurs, la synthèse de réserves apparaît selon le cas, effectivement comme un processus passif dépendant de la disponibilité en ressources, mais peut aussi correspondre à un processus actif basé sur la force de puits de la fonction de stockage. Cependant, quel qu'en soit le mécanisme (accumulation passive ou compétition entre puits de C), l'accumulation de réserves glucidiques et la croissance varient habituellement en sens inverse (Ali *et al.* 1999 ; Werker *et al.* 1999 ; Ludovici *et al.* 2002).

Nos résultats vont également dans ce sens. En effet, l'augmentation du niveau de fertilisation N est responsable d'une diminution de la part du C du plant investi dans le stockage et, lorsque celle-ci est couplée à une [CO₂] élevée, une part significativement plus importante du C du plant est investie dans la croissance (**figure 45**). Ainsi, chez le chêne pédonculé, l'augmentation de la disponibilité en ressources conduit à un changement dans l'allocation du C, favorisant la croissance au détriment du stockage.

Ce comportement n'existe pas pour N : l'allocation de N entre stockage et ensemble des processus autres que le stockage (que nous qualifions de 'structurelle', mais uniquement par convention), n'est affectée par aucun des traitements appliqués, comme nous l'avons déjà mentionné précédemment (**figure 45**). Ce caractère immuable de l'allocation de N pourrait traduire une nécessité pour les plants de maintenir impérativement un équilibre entre différents processus utilisant des composés N afin de garantir le bon fonctionnement de l'individu.

2. REMOBILISATION DES RESERVES ET CONSTITUTION DES NOUVEAUX ORGANES

2.1. Utilisation des Réserves durant l'hiver

Chez les plantes pérennes, de nombreux auteurs ont observé une augmentation de la concentration en sucres solubles durant la phase hivernale, provenant d'une dégradation plus

ou moins partielle de l'amidon stocké dans les organes (Nelson & Dickson 1981 ; Sakai et Larcher 1987 ; Sauter 1988 ; Gansert & Sprick 1998). Ce comportement est habituellement interprété comme un mécanisme de résistance au froid développé par les plantes (Parker 1962 et Sakai 1966 cités dans Kajji 1992). Au cours de la période hivernale, dans les différents organes pérennes de nos plants de chêne pédonculé, la concentration en sucres solubles n'augmente pas significativement et la concentration en amidon ne varie pas significativement. Seules dans les racines fines du traitement AN+ une légère diminution de la concentration en amidon est constatée, mais celle-ci ne se traduit pas par une augmentation de la concentration en sucres solubles et est certainement plutôt liée à la variabilité génétique existant entre les lots de plants étudiés. Ce résultat, contraire à d'autres couramment observés, trouve certainement son origine dans nos conditions de culture, contrôlées de façon à maintenir les plants dans une situation hors gel. En effet, l'évolution saisonnière de la concentration en sucres solubles est corrélée à celle de la température (Fischer & Höll 1991). Or, la température de nos tunnels sous serre est relativement élevée (moyenne mensuelle supérieure à 10°C) par rapport à des conditions naturelles, et les plants dans de telles conditions ont pu ne pas développer de réaction marquée au froid. Toutefois, ce résultat peut également être lié au genre étudié car Wardlaw (1990) constate que, face à des températures basses, la dégradation de l'amidon est de faible ampleur dans les rayons ligneux chez certains genres comme *Fraxinus*, *Larix*, et justement *Quercus*.

Au contraire, dans notre expérience, durant la phase hivernale, la concentration en sucres solubles diminue pour tous les traitements, mais uniquement dans les tiges. Cette diminution peut être attribuée à la respiration des cellules car, durant l'hiver, un des rôles des réserves glucidiques consiste à assurer le métabolisme respiratoire de maintenance des tissus (Kramer & Kozłowski 1960). Par définition, tous les tissus ont une respiration de maintenance mais celle-ci peut être d'intensité très différente. En général la respiration des tissus est corrélée à leur teneur en N, car l'énergie qu'elle produit est en grande partie utilisée pour le renouvellement du pool protéique. Nos résultats semblent indiquer que dans nos conditions expérimentales, la respiration de maintenance des parties aériennes est plus forte que celle des parties souterraines, au point que cette dernière ne soit pas décelable. Cependant, les tiges ne constituent pas un organe particulièrement riche en N, par rapport aux racines, et donc la respiration des organes ne semble pas corrélée à leur teneur en N. Ce résultat est peut-être lié à la période étudiée. En effet, durant l'hiver, du fait du ralentissement du métabolisme en général, les protéines ont peut-être une vitesse de renouvellement moins forte que durant la pleine saison de végétation, et d'autres processus peuvent alors primer dans la détermination de l'intensité respiratoire.

Cette respiration hivernale des tiges ne consomme que 1 à 2g de sucres solubles / 100g MS, mais ceci représente une fraction importante (31 à 53%) des sucres solubles contenus dans cet organe. Cependant, la quantité de ^{13}C en excès dans les tiges ne diminue significativement au cours de l'hiver que pour le traitement EN+. Le fait que la quantité de ^{13}C en excès ne diminue pas significativement dans les autres traitements s'explique aisément par le fait que, d'une part, la totalité du ^{13}C en excès n'est pas allouée aux réserves glucidiques (résultats non montrés) et, d'autre part, l'amidon, qui n'est pas dégradé lors du processus respiratoire, représente une fraction majoritaire de ces réserves. De plus, ces pertes respiratoires ne représentent qu'une faible proportion du C des tiges, car la quantité de C des tiges ne varie significativement au cours de l'hiver pour aucun des traitements.

Par conséquent, les quantités de C, de ^{13}C en excès, et les concentrations en TNC sont conservées à l'échelle du plant durant la phase hivernale.

2.2. Importance des réserves C et N relativement aux éléments nouveaux acquis par les plants lors de la croissance des nouveaux organes

Chez nos plants de chêne pédonculé, pour tous les traitements, la mise en place des nouveaux organes au printemps se déroule alors qu'à l'échelle du plant entier les quantités de C total et de ^{13}C en excès sont conservées, ce qui suggère que la nouvelle croissance se fait exclusivement aux dépens des réserves C du plant.

Cependant, dans l'ensemble des parties pérennes, la formation des nouveaux organes ne s'accompagne d'une diminution significative de la quantité de C totale pour aucun des traitements, mis à part AN- où une légère diminution est notée, et elle s'accompagne d'une diminution de la quantité de ^{13}C en excès mais uniquement dans les conditions N+. Ces résultats suggèrent que la formation des nouveaux organes consomme une fraction relativement faible du C et du ^{13}C en excès des parties pérennes, qui dans certains cas est masquée par la variabilité entre plants. En effet, les nouveaux organes représentent 16 à 27% du C total du plant, et 10 à 22% du ^{13}C en excès du plant, donc une fraction non majoritaire du plant.

Par ailleurs, nos résultats montrent que, lors de la mise en place des nouveaux organes au printemps, il se produit un renouvellement significatif du C dans le plant pour tous les traitements. Ainsi, l'apparente stabilité de la quantité de C dans le plant entier masque en réalité un comportement plus dynamique. Une partie du C du plant est perdue au cours des processus respiratoires associés au métabolisme de la reprise de croissance et à la maintenance des tissus en place, mais une quantité équivalente de C nouvellement assimilé est acquise par le plant, donnant une impression de stabilité du stock de C à l'échelle du plant.

Dans le traitement EN+, le renouvellement du C du plant est significativement plus important que dans les autres traitements (41% contre 16% respectivement), ce qui traduit la stimulation de l'acquisition du C généralement observée dans les conditions de $[\text{CO}_2]$ élevée (Eamus & Jarvis 1989 ; Long & Drake 1992 ; Amthor 1995 ; Saxe *et al.* 1998). Dans les conditions limitantes en N, cet effet n'est pas observé, traduisant probablement une acclimatation de la photosynthèse à la $[\text{CO}_2]$ comme cela a déjà été observé (Saxe *et al.* 1998 ; Stitt & Krapp 1999).

Au sein du plant, le C nouveau est alloué préférentiellement aux nouveaux organes mais de façon hétérogène entre les tiges et les feuilles. Les nouvelles feuilles constituent le puits principal pour le C nouveau et sont même constituées d'une légère majorité de C nouveau puisque celui-ci représente en moyenne 55% de la totalité de leur C pour l'ensemble des traitements, alors que les nouvelles tiges ne contiennent que 18% en moyenne de C nouveau. Cette différence peut résulter d'une différence intrinsèque entre ces 2 organes quant à leur source de C, mais est probablement plutôt la conséquence d'une différence de phénologie caractérisée par un achèvement de la croissance plus tardif pour les feuilles que pour les tiges. Dans les nouveaux organes, les proportions relatives de C ancien et nouveau ne varient pas significativement entre les traitements. Ce résultat suggère que la transition entre utilisation des réserves C et du C nouveau dépend plus du stade phénologique des organes que du statut nutritionnel des plants.

Nous pouvons donc conclure que les réserves C participent à l'édification des nouveaux organes chez nos plants de chêne pédonculé, mais dans des proportions comparables au C nouvellement assimilé. D'après la littérature, leur rôle consiste tout aussi bien à fournir du C

pour la construction des nouveaux tissus, que des substrats pour les processus respiratoires nécessaires au cours de cette période, mais dans des proportions qui restent à déterminer pour notre étude. Nous n'avons pas mesuré la respiration des tissus, mais en se basant sur la conservation de la quantité de C totale dans le plant, on peut estimer que la quantité de C consommée par respiration au cours de la formation des nouveaux organes équivaut grossièrement à la quantité de C nouveau dans le plant. Le rapport entre cette quantité et la quantité de C ancien formant les nouveaux organes nous indique que, dans tous les traitements, le C issu des réserves est investi préférentiellement dans la respiration (1,6 à 7 fois) que dans la construction des nouveaux tissus. Ces résultats sont en accord avec la plupart des résultats obtenus par d'autres auteurs, qui indiquent que les réserves C sont majoritairement utilisées pour les processus respiratoires associés à la reprise de croissance au printemps (Hansen & Grauslund 1973 ; Louahlia *et al.* 1998 ; Teng *et al.* 1999b).

Nos résultats montrent également que les nouveaux organes ne constituent pas l'unique puits de C nouveau puisqu'une partie du C nouvellement assimilé est incorporée dans les parties pérennes dans tous les traitements. Les choix méthodologiques que nous avons fait pour mener cette étude ne nous permettent pas de calculer le renouvellement du C dans chacun des organes individuellement. En effet, du fait que nous ayons choisi de marquer les réserves plutôt que les assimilats courants, nous avons 2 sources de 'dilution' du marquage dans les organes pérennes au printemps, le départ d'éléments marqués vers les nouveaux organes et l'arrivée des assimilats courants, ce qui rend impossible ce type de calcul (voir matériel et méthodes). Par conséquent, nous ne pouvons pas savoir si le C nouveau alloué aux parties pérennes bénéficie essentiellement à un organe en particulier ou à l'ensemble des organes. Au printemps, les nouveaux organes ne constituent pas les seuls organes en forte croissance, mais la réactivation cambiale pour la formation du nouveau cerne de croissance ainsi que les racines fines peuvent également constituer des processus fortement demandeurs en assimilats pouvant expliquer une incorporation de C nouveau (Hansen & Beck 1994).

Notons aussi que, bien que les nouveaux organes constituent la partie du plant ayant les plus forts taux de renouvellement du C, du fait de la différence importante de biomasse entre parties pérennes et nouveaux organes, en termes de quantités de C nouveau allouées aux organes, les parties pérennes constituent le puits principal de C nouveau dans le plant pour tous les traitements.

La croissance des nouveaux organes au printemps dépend étroitement des ressources internes en N car, dans tous les traitements, des quantités importantes de N et de ^{15}N sont perdues par l'ensemble des parties pérennes, alors que les quantités de N et de ^{15}N sont conservées à l'échelle du plant entier. La seule exception concerne le traitement AN- pour lequel aucune remobilisation significative du ^{15}N n'est apparente. Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que, dans ce traitement, le lot de plants prélevés au mois d'avril semble avoir incorporé des quantités de ^{15}N supérieures aux 2 autres lots, probablement en raison d'une erreur lors de l'administration des doses de ^{15}N ou d'un lessivage des pots insuffisant (voir matériel et méthodes). Néanmoins, cet effet n'est pas significatif d'après les analyses statistiques, mais cela est certainement le fait du nombre relativement faible de répétitions pour les données isotopiques (3 à 5 plants).

Ce problème explique également les valeurs incohérentes obtenues pour ce même traitement lors du calcul du renouvellement de N à l'échelle du plant entier. Pour les 3 autres traitements, nos résultats indiquent qu'un renouvellement de N a lieu à l'échelle du plant mais uniquement

dans les plants N+. Ce renouvellement de N est de plus faible ampleur que celui observé pour le C, puisqu'il concerne entre 10 et 23% du N total.

Le calcul du renouvellement de N dans les nouveaux organes fournit également des valeurs incohérentes mais pour l'ensemble des conditions N-. Si le problème évoqué ci-dessus explique en partie les résultats incohérents pour AN-, il n'explique pas les résultats pour EN-. Dans le cas des nouveaux organes, le renouvellement de N a été calculé différemment que pour le plant entier (voir « matériel et méthodes »), et a nécessité la purification des composés de réserves N. Nous avons donc purifié partiellement la fraction cellulaire contenant les acides aminés et bien que l'abondance isotopique en ^{15}N de cette fraction se révèle supérieure à celle de la fraction résiduelle, indiquant la purification effective de composés de réserves N, le degré de purification obtenu apparaît insuffisant pour ces calculs. En effet, l'obtention de valeurs supérieures à 1 pour la fraction de N ancien est mathématiquement le résultat d'une sous-estimation de la valeur du A% ^{15}N de la source (acides aminés) résultant logiquement de son degré de purification insuffisant et conduisant à une surestimation de la fraction de N ancien (voir matériel et méthodes). Bien que les valeurs obtenues pour les plants des conditions N+ ne soient pas aberrantes, le degré de purification de la source est certainement du même ordre de grandeur que pour les plants des conditions N-, ce qui a les mêmes conséquences sur les valeurs obtenues. Donc, bien que l'on puisse émettre des réserves quant aux valeurs absolues obtenues pour les calculs de renouvellement de N dans les nouveaux organes, il semble néanmoins ressortir de l'ensemble des résultats que du N nouvellement assimilé peut être incorporé dans les nouveaux organes et que cet effet est plus marqué pour les plants recevant une fertilisation N non limitante relativement à ceux recevant une fertilisation N limitante. Cette idée est renforcée par le fait que ce résultat va dans le même sens que celui obtenu sur le plant entier alors que le mode de calcul est différent. En raison des problèmes rencontrés, nous n'avons pas jugé utile de mener une étude statistique sur ces résultats concernant le renouvellement de N et donc les résultats obtenus restent à confirmer et à préciser.

La participation des réserves C et N à la formation des nouveaux organes au printemps s'illustre par les fortes diminutions de ces pools biochimiques dans les parties pérennes et le plant, traduisant la remobilisation et la transformation de ces composés au sein du plant.

Au printemps, l'évolution des teneurs en glucides dans le plant entier ainsi que dans l'ensemble des parties pérennes se caractérise, pour tous les traitements, par la forte diminution de la teneur en amidon et l'augmentation de la teneur en sucres solubles.

A cette même période, une importante diminution de la teneur en TSN est également observée dans l'ensemble des parties pérennes, liée plus fortement à la diminution de la teneur en acides aminés qu'à celle des protéines solubles.

La quantité de TSN remobilisée à partir de l'ensemble des parties pérennes dépend uniquement du niveau de fertilisation N. Les plants cultivés dans les conditions N+ remobilisent des quantités nettement plus importantes que ceux cultivés dans les conditions N- (767 mg contre 102 mg respectivement), mais ces quantités représentent de 50 à 54% de la totalité des TSN stockés dans le plant durant la phase hivernale, donc une part semblable des TSN. Ces valeurs sont cohérentes avec les valeurs des fractions de ^{15}N et de N total du plant investies dans les nouveaux organes.

A l'échelle du plant, la remobilisation des glucides concerne essentiellement le système souterrain et en particulier les grosses racines. Cet organe à lui seul contribue selon le

traitement de 71 à 92% à la diminution de la quantité d'amidon dans l'ensemble des parties pérennes.

Les diminutions de concentration en TSN sont du même ordre de grandeur dans les tiges et les grosses racines et les quantités remobilisés à partir de ces organes ne sont donc que le reflet de leur taille respective. Dans les racines fines, une diminution significative de la teneur en TSN n'est observée que dans les conditions N⁺ et celle-ci est de moindre ampleur que pour les autres organes.

Par contre, l'évolution des quantités de ¹³C et ¹⁵N en excès dans les différents organes pérennes au printemps ne laisse pas apparaître de tendance claire quant à l'origine des marqueurs pour la formation des nouveaux organes. Le faible nombre d'individus (3 à 5 plants) combiné à la forte variabilité entre individus en est probablement la cause. Toutefois, les quantités de ¹³C et ¹⁵N en excès semblent plus stables dans les racines fines que dans les autres organes, ce qui semble exclure cet organe du schéma global de remobilisation du C et N au sein du plant, et nous a conduit à ne pas considérer cet organe pour la purification des réserves C et N. Or, comme nous le précisons plus haut, dans cet organe, une partie du stock de TNC et TSN est consommé au printemps. L'ensemble de ces résultats semble indiquer que les réserves C et N contenues dans les racines fines subissent des transformations au printemps, mais que les produits résultants restent dans cet organe. Cette hypothèse est renforcée aussi par le fait que les racines fines constituent le seul organe pour lequel les teneurs en N et le C/N n'évoluent pas significativement au printemps. L'utilisation locale des ressources dans les racines fines a déjà été observée et a conduit certains auteurs à qualifier cet organe 'd'égoïste' (Bréda, communication personnelle ; Barbaroux 2002). D'autre part, dans cet organe, la diminution des teneurs en TNC et TSN au printemps est plus marquée dans les plants cultivés dans les conditions N⁺ que N⁻. Cet effet pourrait expliquer le plus fort renouvellement de N au printemps dans les plants des conditions N⁺, car les produits de ces transformations sont probablement impliqués dans la reprise de l'activité des racines.

2.3. Facteurs déterminants pour la croissance des nouveaux organes

Nous avons voulu suivre le développement des nouveaux organes au printemps. Le suivi régulier de l'accumulation de biomasse n'était pas envisageable du fait du grand nombre de plants que cela aurait nécessité. Nous avons donc choisi de suivre l'allongement de la nouvelle tige principale en faisant l'hypothèse qu'il était représentatif de la croissance de l'ensemble des rameaux du plant. Nos résultats montrent que les plants cultivés sous une [CO₂] élevée démarrent leur croissance avec un léger retard par rapport à ceux cultivés sous une [CO₂] ambiante, mais cette différence entre traitements s'estompe rapidement et, quand les tiges ont quasiment atteint leur taille finale, l'importance de l'allongement des nouvelles tiges ne dépend plus que du niveau de fertilisation N. Ainsi, pendant la période où la croissance de la tige est la plus intense, la longueur des tiges ne diffère pas significativement entre traitements. Par conséquent, l'existence d'un stock de réserves différent entre traitements, ne semble pas influencer la vitesse de remobilisation des réserves mais aurait plutôt un impact sur la durée de leur remobilisation et sur les quantités impliquées, permettant ainsi aux plants cultivés dans les meilleures conditions nutritionnelles, qui présentent les stocks les plus importants de réserves, d'avoir une plus forte croissance au printemps.

Au terme du développement du premier étage de croissance, l'importance du développement des nouveaux organes n'est influencée que par le niveau de fertilisation N. L'augmentation du

niveau de fertilisation N est responsable d'une stimulation du nombre de tiges et de feuilles formées, ce qui se traduit par une augmentation de la longueur totale développée par les tiges et de la surface foliaire du plant. En conséquence, l'accumulation de C est fortement stimulée dans les tiges et dans les feuilles (+460% en moyenne pour l'ensemble des nouveaux organes).

De même, la quantité de N accumulée dans les nouveaux organes n'est pas influencée par la [CO₂] mais ne dépend que du niveau de fertilisation N. L'augmentation du niveau de fertilisation N stimule de façon importante l'accumulation de N dans les tiges et dans les feuilles (+845% en moyenne dans l'ensemble des nouveaux organes).

Par conséquent, l'effet stimulant de l'augmentation de la [CO₂] lorsqu'il est associé à une fertilisation N non limitante, sur la croissance des organes que l'on observe au terme d'une saison de végétation, ne se manifeste pas sur les nouveaux organes formés au printemps suivant.

Pourtant les plants cultivés dans ces conditions possèdent en phase hivernale un stock de réserves glucidiques supérieur aux autres traitements, qui aurait pu laisser supposer que cela présenterait un avantage pour la croissance des nouveaux organes. En fait, les réserves glucidiques n'apparaissent pas comme un facteur limitant la croissance des nouveaux organes puisque le stock de TNC restant dans les parties pérennes au terme de la croissance des nouveaux organes n'est épuisé dans aucun des traitements, et il est même plus important dans les conditions EN+ que dans les autres traitements. Ce résultat est certainement lié, au moins en partie, au fait que dans tous les traitements les plants sont capables d'acquérir du C nouveau probablement tôt au cours de leur croissance comme l'illustre la grande quantité de C nouveau présente dans les nouveaux organes.

Il ressort clairement que les réserves N sont impliquées plus fortement que les réserves glucidiques dans la formation des nouveaux organes. En effet, pour tous les traitements, la constitution des nouveaux organes implique la remobilisation d'environ la moitié du stock de ¹⁵N du plant (46 à 63% selon le traitement), mais seulement autour de 1/6^{ème} du stock de ¹³C (10 à 22% selon le traitement). La diminution de la teneur en N et l'augmentation du rapport C/N dans les parties pérennes au printemps confirme également que la formation des nouveaux organes génère un coût plus important en composés N qu'en composés C.

Par ailleurs, le stock de TSN est fortement dépendant des conditions de fertilisation N, mais n'est que peu, voire pas du tout, influencé par la [CO₂] (voir partie 1.3. de cette discussion). Etablir, pour chaque individu, la relation entre la croissance des nouveaux organes et la variation de TSN dans le plant lors de leur mise en place, est impossible dans notre étude du fait que les prélèvements sont destructifs. Mais puisque d'une part, l'azote total est conservé à l'échelle du plant au printemps, et d'autre part les TSN constituent une part constante de l'azote total, l'étude de la relation entre l'azote total du plant et la croissance des nouveaux organes permet d'établir une relation indirecte entre l'importance du stock de réserves N et la croissance des nouveaux organes. Nos résultats montrent qu'il existe une relation forte entre la quantité de N dans le plant et la quantité de C, mais aussi la quantité de N, accumulées dans les nouveaux organes. Le même type de raisonnement est fait avec le C total du plant (représentant les réserves glucidiques) mais les relations trouvées avec le C et N des nouveaux organes sont nettement moins bonnes.

L'ensemble de ces résultats indique que la quantité de réserves N, bien plus que la quantité de réserves glucidiques, stockées par les plants, détermine l'importance de la croissance des nouveaux organes ainsi que leur quantité de N. Cette conclusion est conforme à plusieurs

résultats obtenus par d'autres auteurs (Harley *et al.* 1958 ; Taylor 1967, Taylor & May 1967, Taylor *et al.* 1975, cités dans Titus & Kang 1982 ; Tagliavini *et al.* 1998 ; Morgan *et al.* 2001 ; Cheng & Fuchigami 2002)

Cependant, si l'augmentation de la [CO₂] n'a pas d'impact sur la croissance des nouveaux organes, elle affecte néanmoins l'architecture des plants. Dans des conditions non limitantes en N, l'augmentation de la [CO₂] stimule le nombre de tiges et de feuilles formées, sans affecter la longueur totale de tiges, ni la surface foliaire ce qui indique que l'augmentation de la [CO₂] stimule les processus d'organogenèse des plants, comme cela a déjà été suggéré (Eamus & Jarvis 1989 ; Murray & Ceulemans 1996 sur peuplier, Tissue *et al.* 1997 sur pin, Bucher *et al.* sur chêne, aulne, frêne, cités dans Saxe *et al.* 1998). Les mécanismes impliqués restent à préciser.

2.4. Composition chimique des nouveaux organes

Les nouveaux organes se caractérisent par des teneurs en TNC relativement importantes puisqu'elles peuvent atteindre des valeurs proches de celles observées dans certains organes pérennes durant la phase hivernale. Mais, en raison de la faible participation des nouveaux organes à la biomasse totale du plant dans tous les traitements, la quantité de TNC n'augmente que très discrètement le stock de TNC du plant. Certains auteurs constatent que le stockage de glucides commence tôt dans la saison (Gansert & Sprick 1998 ; Sauter et Wellekamp 1998 ; Barbaroux 2002), parallèlement à la croissance de la nouvelle pousse (Stassen *et al.* 1981a). Nous observons donc aussi ce comportement, et particulièrement pour le traitement EN-. Cette précocité dans la reconstitution partielle du stock d'amidon pourrait expliquer l'absence de variation significative du stock d'amidon dans les parties pérennes et le plant au printemps dans ce traitement. Ce comportement explique également la faible valeur du SLA observée pour ce traitement comparativement aux autres.

L'augmentation du niveau de fertilisation N se traduit par une augmentation de la teneur en sucres solubles et une diminution de la teneur en amidon dans les tiges et les feuilles. L'augmentation de la concentration en CO₂ a également un impact sur les teneurs en glucides de ces 2 organes, mais uniquement dans les conditions N-, se traduisant par une augmentation de la teneur en amidon, mais pas en sucres solubles. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par d'autres auteurs (Wong 1979 et 1990 ; Waring *et al.* 1985 ; Hofstra *et al.* 1985 ; Rufty *et al.* 1988 ; Hocking & Meyer 1991 ; Fichtner & Schulze 1992 ; Fichtner *et al.* 1993 ; Delgado *et al.* 1994 ; Bowler & Press 1996 ; Baxter *et al.* 1997 ; Ferrario-Mery *et al.* 1997 ; Fischer *et al.* 1997 ; Paul & Driscoll 1997 ; Scheible *et al.* 1997a, b ; Tognetti & Johnson 1999a ; Ali *et al.* 1999 ; Geiger *et al.* 1999 ; Cheng & Fuchigami 2002).

L'augmentation du niveau de fertilisation N conduit à une augmentation de la teneur en acides aminés et en protéines solubles dans les tiges et les feuilles, traduisant le meilleur statut N des plants, comme nous l'avons également observé dans les parties pérennes. Quel que soit le niveau de fertilisation N, l'augmentation de la [CO₂] conduit à une diminution de la teneur en acides aminés et protéines solubles dans les feuilles mais n'affecte pas les teneurs en acides aminés et protéines solubles dans les tiges et l'ensemble des nouveaux organes. De même, l'augmentation de la [CO₂] conduit à une diminution de la teneur en N et à une augmentation du rapport C/N dans les nouveaux organes. Cet effet est plus marqué dans les conditions N-

que dans les conditions N⁺ et il n'est d'ailleurs pas significatif pour les tiges des conditions N⁺.

Il ressort très clairement de l'ensemble de ces résultats que les effets de l'augmentation de la [CO₂] sur la composition chimique et biochimique des nouveaux organes diffèrent de ceux observés pour les organes pérennes.

Nous pouvons attribuer cette différence au fait que l'étude porte sur des organes différents, et que les effets de la [CO₂] peuvent différer selon les organes (Chomba *et al.* 1993 ; Fonseca *et al.* 1997 ; Kainulainen *et al.* 1998 ; Bollmark *et al.* 1999). Toutefois, cette explication est peu convaincante dans la mesure où les nouvelles tiges devraient alors se comporter comme les anciennes, alors qu'en réalité leur réponse aux traitements est plus proche de celle des feuilles que des tiges anciennes.

Ces différences de comportement sont plus probablement liées au fait que les organes ne sont pas comparés à la même période de l'année. Or, des changements dans les effets de la [CO₂] selon le stade phénologique des organes ont déjà été rapportés (Chomba *et al.* 1993 ; Kainulainen *et al.* 1998). Ceci suggère qu'au cours de la saison des phénomènes de régulation se mettent en place de façon à ajuster le métabolisme aux ressources disponibles et permettre ainsi le bon fonctionnement de la plante.

D'autre part, ces différences peuvent également être liées au fait qu'à cette période de l'année, les organes peuvent bénéficier de 2 sources d'éléments pour leur fonctionnement, les ressources externes (éléments nouveaux) et les ressources internes (réserves), le niveau de chacun variant selon le traitement.

**PARTIE II : ETUDE COMPARATIVE DES EFFETS DE LA CONCENTRATION EN CO₂
ATMOSPHERIQUE SUR LA CROISSANCE ET LE BOIS DE JEUNES PLANTS DE
QUERCUS ROBUR ET *FAGUS SYLVATICA***

1. CROISSANCE PRIMAIRE ET MORPHOLOGIE

Au terme d'une saison de végétation, la croissance du chêne est stimulée par l'augmentation de la [CO₂]. Cet effet se traduit par la stimulation de l'allongement de la tige, l'accumulation supérieure de biomasse dans tous les organes (+75% à l'échelle du plant) et la formation d'un plus grand nombre de rameaux et de feuilles. Par contre, contrairement à d'autres études, la rythmicité n'est pas modifiée, comme nous l'avons déjà observé dans l'étude de la partie I.

La surface spécifique foliaire (SLA) est diminuée dans les conditions de [CO₂] élevée. Ce résultat est fréquemment observé et peut être attribué à une accumulation de sucres dans les feuilles ou à la formation d'un plus grand nombre d'assises cellulaires (Eamus & Jarvis 1989 ; Saxe *et al.* 1998). Dans notre cas, la seconde hypothèse semble plus probable que la première, car au cours de l'étude de la partie I, nous avons observé que l'augmentation de la [CO₂] ne modifiait généralement pas les teneurs en glucides dans les organes chez le chêne et, en particulier dans le cas des feuilles, une augmentation de la teneur en amidon en réponse à la [CO₂] n'est observée que dans les conditions limitantes en N, ce qui n'est pas le cas ici.

Cependant, ces effets stimulants de la [CO₂] élevée disparaissent au cours du temps. Dès la 2^{ème} année, l'allongement annuel du tronc ne diffère pas entre les 2 conditions de [CO₂], et la hauteur totale du tronc n'est supérieure chez les plants cultivés sous [CO₂] élevée relativement à ceux cultivés sous [CO₂] ambiante, que grâce aux effets positifs sur la croissance observés en 1^{ère} année. Après 3 années de culture sous des [CO₂] élevées, la tige reste le seul organe dont la croissance est toujours stimulée par l'augmentation de la [CO₂], mais sans que cela conduise à une accumulation de biomasse différente à l'échelle du plant entier entre les 2 conditions de [CO₂]. Le nombre d'organes formés et la SLA ne diffèrent pas entre les 2 conditions de [CO₂].

Chez le hêtre, malgré une stimulation de la biomasse des rameaux, au terme d'une saison de culture l'augmentation de la [CO₂] ne se traduit pas par une stimulation de la croissance du plant, ni par des changements significatifs dans sa morphologie.

Mais, après 3 années de culture sous une [CO₂] élevée, la biomasse totale du plant est augmentée de 51%, en raison d'une stimulation de la croissance de la tige, et sans changement de la morphologie du plant, mis à part une augmentation du nombre de rameaux. Cependant, au cours des 3 années de mesures, l'élongation annuelle de la tige, et donc aussi sa hauteur totale, ne diffèrent pas significativement entre les 2 conditions de [CO₂].

Ainsi, nos résultats montrent que les 2 espèces étudiées réagissent différemment face à l'élévation de la [CO₂].

La croissance du chêne répond positivement à l'augmentation de la [CO₂] dans les 1^{ers} temps d'exposition, mais cette réponse disparaît progressivement au cours du temps. Il semble, que la croissance d'un individu reste stimulée par l'augmentation de la [CO₂] tant que celui-ci est capable d'augmenter, soit le nombre de puits de C, soit la capacité de stockage des puits

existants, cette capacité étant déterminée génétiquement (Ceulemans & Mousseau 1994), ainsi que par les facteurs du milieu. Dans notre expérience, la culture en conteneurs a pu restreindre la capacité de croissance des plants et limiter ainsi leur réponse à l'augmentation de la [CO₂], comme cela a déjà été proposé (Arp 1991 ; Vivin 1995). Néanmoins, à l'issue d'études menées en pleine terre, d'autres auteurs concluent également à des effets transitoires de l'augmentation de la [CO₂] sur la croissance des arbres. Par exemple, Jach & Ceulemans (1999) observent que de jeunes plants de *Pinus sylvestris* soumis à des [CO₂] élevées présentent de plus fortes vitesses de croissance par rapport à ceux soumis à des [CO₂] ambiantes lors de leur 1^{ère} saison d'exposition, mais des vitesses de croissance similaires durant la 2^{ème} année d'exposition. De même chez *Pinus taeda*, Tissue *et al.* (1997) constatent que l'augmentation de la biomasse en réponse à une [CO₂] élevée observée au terme de 4 années de culture est due à la stimulation de la croissance observée uniquement lors de la 1^{ère} année d'exposition à des [CO₂] élevées.

Au contraire du chêne, chez le hêtre la stimulation de la croissance en réponse à une élévation de la [CO₂] n'apparaît que progressivement au cours du temps. Cette différence pourrait être attribuée à une différence dans le degré de tolérance à l'ombrage entre les 2 espèces. En effet, Bazzaz *et al.* (1990) constatent que la croissance des espèces les plus tolérantes à l'ombrage, à croissance plus lente, répond plus fortement à l'augmentation de la [CO₂] que la croissance des espèces les moins tolérantes à l'ombrage, à croissance plus rapide (Bazzaz *et al.* 1990). Kerstiens (1998) confirme l'existence d'une interaction significative entre le degré de tolérance à l'ombrage et la réponse de la croissance à l'augmentation de la [CO₂]. Bien que les mécanismes impliqués restent à élucider, cet auteur propose que les espèces les plus tolérantes à l'ombrage seraient prédisposées de façon inhérente, en terme d'architecture, de répartition de la biomasse et de l'azote, à une utilisation plus efficace des ressources potentiellement limitantes sous des [CO₂] élevées (lumière, eau, nutriments) que les espèces les moins tolérantes à l'ombrage.

Par ailleurs, pour les 2 espèces, la tige est un compartiment particulièrement stimulé pouvant indiquer un effet potentiel sur le compartiment bois.

2. CROISSANCE SECONDAIRE, DENSITE ET COMPOSITION CHIMIQUE DU BOIS

Au terme de la 1^{ère} année de croissance, chez le chêne, l'élévation de la [CO₂] conduit à une augmentation du diamètre du tronc (+20%), traduisant une augmentation de la largeur et de la surface du cerne de croissance annuel formé, liées à l'augmentation de la largeur de bois initial dans le cerne. Mais la densité moyenne du cerne ne diffère pas significativement entre les 2 conditions de [CO₂], car ni celle du bois initial, ni celle du bois final ne subissent de modifications.

Au cours des 2 années suivantes, la surface et la largeur des cernes annuels ne diffèrent pas entre les 2 conditions de [CO₂], ainsi que la structure du cerne (largeur de bois initial et de bois final). Néanmoins, probablement en raison de l'effet positif de l'élévation de la [CO₂] en 1^{ère} année, une stimulation de la croissance en diamètre du tronc est toujours observée en 2^{ème} année, mais cet effet disparaît la 3^{ème} année. Ceci est confirmé par l'étude de la cinétique de croissance en diamètre durant la 3^{ème} année, qui montre que la vitesse de la croissance en diamètre ne varie pas significativement entre les 2 conditions de [CO₂] durant toute la saison de végétation, et ainsi la différence de diamètre observée entre les 2 conditions de [CO₂] au début de la saison est progressivement 'gommée' durant la saison de végétation. Cependant, au cours des 2^{ème} et 3^{ème} années de croissance, la densité moyenne du cerne de croissance

annuel augmente significativement sous [CO₂] élevée (+11% et +8% respectivement). Cet effet est lié à l'augmentation de la densité moyenne du bois initial et du bois final en 2^{ème} année, et uniquement à l'augmentation de la densité moyenne du bois final en 3^{ème} année.

Dans le cas du hêtre, l'élévation de la [CO₂] conduit à une stimulation de la croissance en diamètre du tronc pour les 3 années de mesures, et cela sans modification significative de la structure des cernes. En 2^{ème} année, cependant, la stimulation observée est de moindre ampleur que celles observées pour les 2 autres années (+13% contre 22 et 21%), et du fait que l'on observe pas d'augmentation de la largeur et de la surface du cerne cette année, cette stimulation est certainement liée à l'effet positif noté en première année, comme dans le cas du chêne. Ces effets limités de l'augmentation de la [CO₂] observés pour les 2 espèces au cours de la 2^{ème} année de culture sont certainement dus à un stress subi par les plants durant la période de leur transfert des tunnels sous serres vers les serres de plus grande taille (voir matériel et méthodes). Par contre, en 3^{ème} année, l'augmentation de la largeur et de la surface du cerne est particulièrement stimulée par l'élévation de la [CO₂] chez le hêtre. Cet effet est lié à un maintien d'une vitesse de croissance maximale plus longtemps sous [CO₂] élevée que sous [CO₂] ambiante en début de saison de végétation.

Les densités du bois initial et du bois final ne sont affectées par l'élévation de la [CO₂] pour aucune des 3 années considérées chez le hêtre, et ainsi, la densité moyenne du cerne de croissance annuel ne varie pas non plus.

Par ailleurs, nos résultats montrent que ces effets ne s'accompagnent que de faibles changements dans la composition biochimique du bois. Les teneurs en cellulose et lignine du tronc, ainsi que la teneur en cendres ne sont affectées par l'augmentation de la [CO₂] chez aucune des 2 espèces. La teneur en hémicellulose est légèrement augmentée (+10%) chez le hêtre mais pas chez le chêne. Chez le chêne, une tendance à la baisse de la teneur en N sous [CO₂] élevée est observée, toutefois celle-ci n'est pas significative, mais se répercute sur le rapport C/N du bois qui augmente significativement (+47%) dans ces conditions. Chez le hêtre, une diminution significative de la teneur en N est observée sous [CO₂] élevée, mais celle-ci étant compensée par une diminution significative de la teneur de C, le rapport C/N du bois n'est pas significativement modifié dans ces conditions.

Par conséquent, nos résultats font ressortir un comportement différent du chêne et du hêtre concernant la réponse à l'augmentation de la [CO₂] de l'allocation de C dans la tige.

Chez le chêne, la stimulation de l'allongement de la tige et de la croissance radiale observées au début de l'exposition à des [CO₂] élevées, disparaissent toutes 2 au cours du temps, alors que la biomasse de la tige reste stimulée par l'augmentation de la [CO₂] tout au long de notre étude. Cet effet s'explique par la stimulation de la densité des cernes de croissance annuels. Un changement dans la proportion respective de bois initial et de bois final dans le cerne peut constituer un mécanisme de changement de densité moyenne du cerne, mais tel n'est pas le cas chez le chêne. Ce changement de densité s'explique donc probablement par un changement dans l'anatomie du bois, se traduisant par une augmentation de la proportion de parois dans un volume donné, et par conséquent une diminution de la taille des vaisseaux dans le cerne. Si cette hypothèse était vérifiée, cela aurait probablement des conséquences au niveau des propriétés hydrauliques du système conducteur du chêne, en plus des conséquences potentielles des changements de la densité sur les propriétés mécaniques du bois.

Dans le cas du hêtre, au contraire, le C supplémentaire à disposition dans les conditions de [CO₂] élevée est utilisé pour la croissance radiale mais sans que la structure et la densité du bois ne soient modifiées.

Les effets de l'augmentation de la [CO₂] sur la croissance, la structure, et la composition chimique du compartiment bois ont été peu étudiés jusqu'à présent, et en particulier chez les feuillus.

Il ressort néanmoins des études menées que la croissance radiale est souvent augmentée (Nicolussi *et al.* 1995 sur *Pinus cembra* ; Hättenschwiler *et al.* 1997 sur *Quercus ilex*), en relation avec l'augmentation de la croissance générale des plants.

Dans certains cas, l'augmentation de la [CO₂] est responsable d'une augmentation de la densité du bois (Conroy *et al.* 1990 b sur *Pinus radiata*), mais cette réponse n'est pas un cas général (Donaldson *et al.* 1987 sur *Pinus radiata*). Ainsi, par exemple, sur de jeunes plants de *Picea abies*, Hättenschwiler *et al.* (1996) observent des résultats similaires à ceux que nous obtenons pour le chêne : après 3 ans d'exposition à des [CO₂] élevées, la croissance radiale des plants n'est pas stimulée, mais la densité du bois est augmentée dans ces conditions. Au contraire, pour *Pinus taeda*, Telewski *et al.* (1999) observent que, après 4 années d'exposition à une [CO₂] élevée, la croissance radiale des plants est augmentée mais la densité moyenne du bois formé n'est pas modifiée, comme nous l'observons aussi pour le hêtre.

Certains auteurs proposent que la croissance sous une [CO₂] élevée pourrait affecter divers aspects du métabolisme secondaire chez les arbres car une plus grande disponibilité en C dans le plant pourrait être investie dans la synthèse de métabolites secondaires comme la lignine (Saxe *et al.* 1998). Des changements dans la production de lignine, cellulose, ou d'autres composés C structurels ont des impacts potentiels sur la qualité du bois produit (Saxe *et al.* 1998). Nous observons une augmentation de la teneur en hémicellulose chez le hêtre, mais aucun effet sur les composés structurels du bois pour le chêne. Par contre, nous constatons une augmentation du rapport C/N du bois de chêne et du rapport lignine/N chez le hêtre. Or, une augmentation du rapport C/N ou lignine/N dans le bois est également susceptible d'affecter le cycle des nutriments dans les écosystèmes forestiers dans le sens d'un ralentissement de la décomposition de la matière organique (Hättenschwiler *et al.* 1996).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Au terme d'une saison de croissance, l'augmentation de la [CO₂] conduit à une forte stimulation de la croissance chez *Quercus robur* mais cet effet est fortement modulé par le niveau de fertilisation N. Les résultats semblent traduire que cet effet stimulant ne peut être maintenu que si l'assimilation de N suit celle du C. Cependant une augmentation du rapport C/N du plant est constatée sous [CO₂] élevée, de même ampleur quelles que soient les conditions de fertilisation N, traduisant une meilleure productivité de l'azote au sein du plant. Certains auteurs proposent que cette optimisation de l'utilisation de N pourrait être engendrée par une réallocation de N à l'échelle du plant, de manière à maintenir un équilibre entre processus photosynthétiques et non-photosynthétiques. Notre étude, concernant en majeure partie la phase de repos végétatif, ne nous permet pas de conclure quant à cette hypothèse. Mais les mécanismes impliqués dans ce phénomène sont loin d'être pleinement compris à l'heure actuelle, et il semble tout à fait fondamental de faire un effort de recherche dans ce sens de façon à mieux appréhender l'impact de N sur la réponse des plantes à l'augmentation de la [CO₂].

Les différentes conditions expérimentales que nous avons mises en place ont généré des plants avec des stocks de réserves différents. Dans les organes pérennes, le stockage de réserves azotées mais aussi glucidiques, en terme de concentrations et de quantités, est principalement dépendant du niveau de fertilisation N. L'augmentation de la [CO₂] ne stimule pas le stockage de composés de réserve. Dans de bonnes conditions nutritionnelles (N+), il diminue même la concentration en réserves N. Cependant, dans de bonnes conditions nutritionnelles, du fait de l'effet positif sur les biomasses accumulées, l'augmentation de la [CO₂] se traduit par un stock de réserves glucidiques plus important que dans les autres traitements. Cet effet est également observé pour les réserves N mais il n'est pas suffisamment important pour conduire à un stock significativement supérieur aux autres traitements.

L'étude de la formation des nouveaux organes au printemps nous révèle que la croissance et la quantité de N qu'ils contiennent sont relativement indépendantes du niveau de réserves glucidiques stockées dans les plants avant l'hiver, mais sont fortement contrôlées par le niveau de réserves N stockées dans les plants. Ceci explique pourquoi la stimulation de la croissance des plants observée sous [CO₂] élevée n'est pas observée pour les nouveaux organes, malgré le plus grand stock de réserves glucidiques qu'ils contiennent. Cependant, bien que le niveau supérieur en réserves glucidiques ne représente pas avantage dans les premiers stades de développement des plants au printemps, ceux-ci peuvent néanmoins constituer un avantage au cours de la croissance ultérieure.

Il apparaît donc judicieux de poursuivre l'étude sur l'ensemble de la saison de végétation en séparant les effets dus aux réserves des effets dus aux éléments courants, par le biais de manipulation des ressources courantes des plants.

Par ailleurs, nos résultats soulignent également l'importance de la prise en compte des études concernant les effets de l'augmentation de la [CO₂] sur le long terme, puisque pour les 2 espèces que nous avons choisi d'étudier, chêne et hêtre, les effets observés sur le court terme diffèrent de ceux observés à long terme.

De plus, notre étude a également mis en évidence un effet de l'augmentation de la [CO₂] sur la gestion du C à long terme différent pour le chêne et pour le hêtre. Sur le long terme, le hêtre répond aux [CO₂] élevées par une stimulation de sa croissance primaire et radiale, sans que la structure du bois ne soit affectée. Le chêne, au contraire, répond aux [CO₂] élevées sur le long terme par une augmentation de la densité de son bois, sans modifications de la croissance primaire et radiale. Ces changements de la structure du bois constatés chez le chêne sont probablement liés à des changements dans l'anatomie du système conducteur, caractérisés par une diminution de la taille des vaisseaux, et pourraient avoir des répercussions sur la capacité de transport de l'eau et la sensibilité à l'embolie de cette espèce.

Ainsi, ces différences de comportements entre espèces ont des impacts potentiels sur la compétition entre espèces, mais aussi sur la sensibilité aux stress hydriques de chaque espèce et donc pourraient occasionner des changements de la composition des communautés forestières. Par conséquent, il paraît intéressant de vérifier cette hypothèse, mais aussi d'étendre l'étude à d'autres espèces, pour essayer de comprendre les bases de ces différences de comportements, ou tout du moins de tenter d'établir une classification par groupe fonctionnel.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Académie des Sciences, 1990** : L'effet de serre et ses conséquences climatiques, évaluation scientifique – rapport n° 25, 182 p.
- Académie des Sciences, 1994** : L'effet de serre – rapport n° 31, Ed TEC et DOC Lavoisier – Paris, 88 p.
- Ali K, Nii N, Yamaguchi K, Nishimura M, 1999** : Levels of nonstructural carbohydrate in leaves and roots and some characteristics of chloroplasts after application of different amounts of nitrogen fertilizer to peach seedlings. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 68 (4) : 717-723
- Amthor JS, 1995** : Terrestrial higher-plant response to increasing atmospheric [CO₂] in relation to the global carbon cycle. Commissioned Review. *Global Change Biology*, 1 : 243-274
- Arp WJ, 1991** : Effects of source-sink relations on photosynthetic acclimation to elevated CO₂. *Plant Cell Environ.*, 14 : 869-875
- Atkinson CJ, 2000** : Effects of climate change on the behavior of woody perennials. *In* Environmental pollution and plant responses. Eds Agrawal SB and Agrawal M - Lewis Publishers, 19-32
- Bacastow RB, Keeling CD, Whorf TP, 1985** : Seasonal amplitude increase in atmospheric CO₂ concentration in Mauna Loa, Hawaii, 1959-1982. *J Geophys Res*, 90 : 10529-10540
- Barbaroux C, 2002** : Analyse et modélisation des flux de carbone de peuplements forestiers pour la compréhension de la croissance de 2 espèces feuillues *Quercus petraea* et *Fagus sylvatica*. Thèse de Doctorat, Université de Paris XI – Orsay, 183 p
- Baxter R, Ashenden TW, Farrar J, 1997** : Effect of elevated carbon dioxide and nutrient status on growth, dry matter partitioning and nutrient content of *Poa alpina* var. *vivpara* L. *Journal of Experimental Botany*, 48 : 1477-1486
- Bazzaz FA, Coleman JS, Morse SR, 1990** : Growth responses of seven major co-occurring tree species of the northeastern United States to elevated CO₂. *Can. J. For. Res.*, 20 : 1479-1484
- Berger TW, Glatzel G, 2001** : Response of *Quercus petraea* seedlings to nitrogen fertilization. *Forest Ecology and Management*, 149 : 1-14
- Bernacchi CJ, Coleman JS, Bazzaz FA, McConnaughay KDM, 2000** : Biomass allocation in old-field annual species grown in elevated CO₂ environments : no evidence for optimal partitioning. *Global Change Biology*, 6 : 855-863
- Berry JA et Throughton JH, 1974** : Carbon isotope fractionation by C₃ and C₄ plants in 'closed' and 'open' atmospheres. *Carnegie Institution of Washington Year Book*, 73 : 735-737
- Birck EM, Matson PA, 1986** : Site fertility affects seasonal carbon reserves in loblolly pine. *Tree Physiol.*, 2 : 17-27
- Bloom AJ, Jackson LE, Smart DR, 1993** : Root growth as a function of ammonium and nitrate in the root zone. *Plant Cell Envir.*, 16 : 199-206
- Boehringer SA, 1988** : D-glucose. *In* Chimie alimentaire. Méthodes enzymatiques pour l'analyse agroalimentaire. Boehringer Mannheim France, notice n° 273-CA, 4 p.

- Bolin B, 1997** : Le problème de la modification globale du climat. In Face aux changements climatiques. Aménagement et nature, 126 : 5-10
- Bollard EG, 1957** : Translocation of organic nitrogen in the xylem. Aust. J. Biol. Sci., 10 : 292-301
- Bollmark L, Sennerby-Forsse L, Ericsson T, 1999** : Seasonal dynamics and effects of nitrogen supply rate on nitrogen and carbohydrate reserves in cutting-derived *Salix viminalis* plants. Can. J. For. Res., 29 : 85-94
- Bory G, Clair-Maczulajtys D, 1988a** : L'étude des métabolites de réserve. Bull. Soc. Bot. Fr, 135, Actual. Bot. 1 : 5-8
- Bory G, Clair-Maczulajtys D, 1988b** : Aptitude au débourrement des bourgeons et répartition des glucides dans la pousse d'un an de l'*Ailanthus glandulosa* Desf. (Simarubacées). Bull. Soc. Bot. Fr, 135, Actual. Bot. 1 : 81-90
- Bowes G, 1996** : Elevated carbon dioxide. In Advances in Photosynthesis, Vol. 3, Environmental Stress and Photosynthesis, Academic Press, Dordrecht, (Ed. N Baker), 387-407
- Bowler JM, Press MC, 1993** : Growth responses of two contrasting upland grass species to elevated CO₂ and nitrogen concentration. New Phytol., 124 : 515-522
- Bowler JM, Press MC, 1996** : Effects of elevated carbon dioxide, nitrogen form and concentration on growth and photosynthesis of a fast- and a slow-growing grass. New Phytol., 132 : 391-401
- Bradford M, 1976** : A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilising the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem., 72, 248-254
- Bréda N, 1994** : Analyse du fonctionnement hydrique des chêne sessile (*Quercus petraea*) et pédonculé (*Quercus robur*) en conditions naturelles ; effets des facteurs du milieu et de l'éclaircie. Thèse de Doctorat, Université de Nancy I, 59 p.
- Bréda N, Granier A, Aussenac G, 2000** : Evolutions possibles des contraintes climatiques et conséquences pour la croissance des arbres, Revue forestière française, N°spécial 2000, 73 -90.
- Campagna MA, Margolis HA, 1989** : Influence of short-term CO₂ enrichment on growth, allocation patterns, and biochemistry of black spruce seedlings at different stages of development. Can. J. For. Res., 19 : 773-782
- Canham CD, Kobe RK, Latty EF, Chazdon RL, 1999** : Interspecific and intraspecific variation in tree seedling survival : effects of allocation to roots versus carbohydrate reserves. Oecologia, 121 : 1-11
- Carrodus B, 1967** : Absorption of nitrogen by mycorrhizal roots of beech. II. Ammonium and nitrate as sources of nitrogen. New Phytol., 66 : 1-4
- Centritto M, 2000** : Source-sink relations affect growth but not the allocation pattern of birch (*Betula pendula* Roth) seedlings under elevated [CO₂]. Plant Biosystem, 134 (1) : 31-37
- Centritto M, Lee H, Jarvis PG, 1999** : Increased growth in elevated [CO₂] : an early, short-term response ? Global Change Biology, 5 : 623-633
- Cerasoli S, 2002** : Partição e mobilização do carbono e do azoto no sobreiro (*Quercus suber* L.). Doutoramento em Engenharia Florestal, Universidade técnica de Lisboa – Lisboa, 96 p
- Ceulemans R, Mousseau M, 1994** : Effects of elevated atmospheric CO₂ on woody plants. Tansley review n° 71. New Phytol, 127 : 425-446
- Champigny ML, Van Quy L, Valadier MH, 1991** : Effet immédiat des nitrates sur la photoassimilation du CO₂ et la synthèse de saccharose dans les feuilles de blé. CR Acad. Sci., 312 : 469-476

- Chapin FS, Kedrowski RA, 1983** : Seasonal changes in nitrogen and phosphorus fractions and autumn retranslocation in evergreen and deciduous taiga trees. *Ecology*, 64 : 373-391
- Chapin FS, Schulze ED, Mooney HA, 1990** : The ecology and economics of storage in plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 21 : 423-447
- Chaves MM, 1991** : Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany*, 42 (234) : 1-16
- Chemillier P., 1997** : L'effet de serre : pourquoi et comment lutter contre ses conséquences ? *In Face aux changements climatiques. Aménagement et nature*, 126 : 11-18
- Cheng L, Fuchigami LH, 2002** : Growth of young apple trees in relation to reserve nitrogen and carbohydrates. *Tree Physiol.*, 22 : 1297-1303
- Cherbuy B, Joffre R, Gillon D, Rambal S, 2001** : Internal remobilization of carbohydrates, lipids, nitrogen and phosphorus in the Mediterranean evergreen oak *Quercus ilex*. *Tree Physiol.*, 21 : 9-17
- Choisnel, 1990** : In « Climate effects on agriculture and forests ». Report WMO commission for agricultural meteorology, 218-228
- Chomba BM, Guy RD, Weger HG, 1993** : Carbohydrate reserve accumulation and depletion in Engelmann spruce (*Picea engelmannii* Parry) : effects of cold storage and pre-storage CO₂ enrichment. *Tree Physiol.*, 13 : 351-364
- Chu CC, Field CB, Mooney HA, 1996** : Effects of carbon dioxide and nutrient enrichment on tissue quality of two Californian annuals. *Oecologia*, 107 : 433-440
- Coleman JS, Bazzaz FA, 1992** : Effects of carbon dioxide and temperature on growth and resource use of co-occurring C₃ and C₄ annuals. *Ecology*, 73 : 1244-1259
- Coleman JS, McConnaughay KDM, Bazzaz FA, 1993** : Elevated CO₂ and plant nitrogen-use : is reduced tissue nitrogen concentration size-dependent ? *Oecologia*, 93 : 195-200
- Coleman JS, Rochefort L, Bazzaz FA, Woodward FI, 1991** : Atmospheric carbon dioxide, plant nitrogen status and the susceptibility of plants to an acute increase in temperature. *Plant Cell Environ.*, 14 : 667-674
- Conroy JP, 1992** : Influence of elevated atmospheric CO₂ concentration on plant nutrition. *Aust. J. Bot.*, 40 : 445-456
- Conroy JP, Hocking P, 1993** : Nitrogen nutrition of C₃ plants at elevated atmospheric CO₂ concentrations. *Physiologia Plantarum*, 89 : 570-576
- Conroy JP, Milham PJ, Barlow EWR, 1990 a** : Increases in phosphorus requirement for CO₂-enriched pine species. *Plant Physiol.*, 92 : 977-982
- Conroy JP, Milham PJ, Mazur M, Barlow EWR, 1990 b** : Growth, dry weight partitioning and wood properties of *Pinus radiata* D. Don after 2 years of CO₂ enrichment. *Plant Cell Environ.*, 13 : 329-337
- Constable JVH, Bassirirad H, Lussenhop J, Zerihun A, 2001** : Influence of elevated CO₂ and mycorrhizae on nitrogen acquisition : contrasting responses in *Pinus taeda* and *Liquidambar styraciflua*. *Tree Physiol.*, 21 : 83-91
- Coruzzi G, Bush DR, 2001** : Nitrogen and carbon nutrient and metabolite signaling in plants. *Plant Physiology*, 125 : 61-64
- Cote B, Dawson JO, 1986** : Autumnal changes in total nitrogen, salt-extractable proteins and amino-acids in leaves and adjacent bark of black alder, eastern cottonwood and white basswood. *Physiol. Plant.* 67, 102-108
- Cotrufo MF, Ineson P, Scott A, 1998** : Elevated CO₂ reduces the nitrogen concentration of plant tissues. *Global Change Biology*, 4 : 43-54

- Crookshanks M, Taylor G, Broadmeadow M, 1998** : Elevated CO₂ and tree root growth : contrasting responses in *Fraxinus excelsior*, *Quercus petraea* and *Pinus sylvestris*. *New Phytol.*, 138 : 241-250
- Curtis PS, Drake BG, Whigham DF, 1989** : Nitrogen and carbon dynamics in C₃ and C₄ estuarine marsh plants grown under elevated CO₂ *in situ*. *Oecologia*, 78 : 297-301
- Curtis PS, Wang X, 1998** : A meta-analysis of elevated CO₂ effects on woody plant mass, form and physiology. *Oecologia*, 113 : 299-313
- Damesin C, Rambal S, Joffre R, 1997** : Between-tree variations in leaf δ¹³C of *Quercus pubescens* and *Quercus ilex* among Mediterranean habitats with different water availability. *Oecologia*, 111 : 26-35
- Davidson RL, 1969** : Effect of root:leaf temperature differentials on root:shoot ratios in some pasture grasses and clover. *Ann. Bot.*, 33 : 561-569
- Deléens E, 1983** : Application du traçage isotopique naturel par le ¹³C à la mesure du renouvellement de la matière foliaire chez les plantes C₃. *Physiol. Veg.*, 21: 723-729
- Deléens E, Cliquet JB, Prioul JL, 1994** : Using ¹³C and ¹⁵N label near natural abundance for monitoring carbon and nitrogen partitioning. *Aust. J. Plant Physiol.*, 21 (2)
- Delgado E, Mitchell RAC, Parry MAJ, Driscoll SP, Mitchell VJ, Lawlor DW, 1994** : Interacting effects of CO₂ concentration, temperature and nitrogen supply to leaves on photosynthesis and composition of winter wheat leaves. *Plant Cell Environ.*, 17 : 1205-1213
- Den Hertog J, Stulen I, Posthumus F, Poorter H, 1998** : Interactive effects of growth-limiting N supply and elevated atmospheric CO₂ concentration on growth and carbon balance of *Plantago major*. *Physiologia Plantarum*, 103 : 451-460
- Deng X, Weinbaum SA, DeJong TM, 1989 b** : Use of labelled nitrogen to monitor transition in nitrogen dependence from storage to current-year uptake in mature walnut trees. *Trees*, 3 : 11-16
- Deng X, Weinbaum SA, DeJong TM, Muraoka TT, 1989 a** : Utilization of nitrogen from storage and current-year uptake in walnut spurs during the spring flush of growth. *Physiologia Plantarum*, 75 : 492-498
- Dickson RE, 1989** : Carbon and nitrogen allocation in trees. *Ann Sci For*, 46 (suppl) : 631-647
- Dickson RE, 1991** : Assimilate distribution and storage. *In* *Physiology of trees*. Eds AS Raghavendra, J Wiley and Sons, Inc., New York, pp 51-85
- Dickson RE, Vogelmann TC, Larson PR, 1985** : Glutamine transfer from xylem to phloem and translocation to developing leaves of *Populus deltoïdes*. *Plant Physiol.*, 77 : 412-417
- Differt J, 2001** : Phénologie des espèces arborées. Synthèse bibliographique. Analyse des données du réseau national de suivi à long terme des écosystèmes forestiers (RENECOFOR). Rapport ENGREF, 97 p. + annexes
- Donaldson LA, Hollinger D, Middleton TM, Souter ED, 1987** : Effect of CO₂ enrichment on wood structure in *Pinus radiata* D. Don. *IAWA Bulletin*, 8 : 285-289
- Dong S, Cheng L, Scagel CF, Fuchigami LH, 2002** : Nitrogen absorption, translocation and distribution from urea applied in autumn to leaves of young potted apple (*Malus domestica*) trees. *Tree Physiol.*, 22 : 1305-1310
- Drake GB, González-Meler MA, Long SP, 1997** : More efficient plants : a consequence of rising atmospheric CO₂ ? *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*. 48 : 607-637
- Dubroca E, 1983** : Evolution saisonnière des réserves dans un taillis de châtaigniers, *Castanea sativa* Mill., avant et après coupe. Thèse de l'université de Paris Sud, 209 p + annexes

- Duranceau M, Gashghaie J, Badeck F, Deléens E, Cornic G, 1999** : $\delta^{13}\text{C}$ of CO_2 respired in the dark in relation to $\delta^{13}\text{C}$ of leaf carbohydrates in *Phaseolus vulgaris* L. under progressive drought. *Plant Cell Environ.*, 22 : 515-523
- Dyckmans J, Flessa H, 2002** : Influence of tree internal nitrogen reserves on the response of beech (*Fagus sylvatica*) trees to elevated atmospheric carbon dioxide concentration. *Tree Physiol*, 22 : 41-49
- Dyckmans J, Flessa H, Polle A, Beese F, 2000** : The effect of elevated $[\text{CO}_2]$ on uptake and allocation of ^{13}C and ^{15}N in beech (*Fagus sylvatica* L.) during leafing. *Plant Biol.*, 2 : 113-120
- Eamus D, Jarvis PG, 1989** : The direct effects of increase in the global atmospheric CO_2 concentration on natural and commercial temperate trees and forests. *Advances in Ecological Research* 19 : 1-55
- El Kohen A, Rouhier H, Mousseau M, 1992** : Changes in dry weight and nitrogen partitioning induced by elevated CO_2 depend on soil nutrient availability in sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.). *Ann. Sci. For.*, 49 : 1-8
- Entry JA, Runion GB, Prior SA, Mitchell RJ, Rogers HH, 1998** : Influence of CO_2 enrichment and nitrogen fertilization on tissue chemistry and carbon allocation in longleaf pine seedlings. *Plant and Soil*, 200 : 3-11
- EPICA Community Members, 2004** : Eight glacial cycles from an Antarctic ice core. *Nature*, 429 : 623-628
- Fangmeier A, De Temmerman L, Mortensen L, Kemp K, Burke J, Mitchell R, van Oijen M, Weigel HJ, 1999** : Effects on nutrients and on grain quality in spring wheat crops grown under elevated CO_2 concentrations and stress conditions in the European, multiple-site experiment "ESPACE-wheat". *European Journal of Agronomy*, 10 : 215-229
- [0]Farquhar GD, O'Leary MH, Berry JA, 1982** : On the relationship between carbon isotope discrimination and intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Aust. J. Plant Physiol.* 9, 121-137.
- Ferrario S, Foyer CH, Morot-Gaudry JF, 2001** : Co-ordination between nitrogen photosynthetic and respiratory metabolism. *Nitrogen Assimilation by Plants*. Enfield, Science Publishers Inc., chapter 15 : 269-283
- Ferrario-Mery S, Thibaud MC, Betsche T, Valadier MH, Foyer CH, 1997** : Modulation of carbon and nitrogen metabolism, and of nitrate reductase, in untransformed *Nicotiana plumbaginifolia* during CO_2 enrichment of plants grown in pots and hydroponic culture. *Planta*, 202 : 510-521
- Fichtner K, Quick WP, Schulze ED, Mooney HA, Rodermel SR, Bogorad L, Stitt M, 1993** : Decreased ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase in transgenic tobacco transformed with 'antisens' *rbcS*. V. Relationship between photosynthetic rate, storage strategy, biomass allocation and vegetative plant growth at three different nitrogen supplies. *Planta*, 190 : 1-9
- Fichtner K, Schulze ED, 1992** : The effect of nitrogen nutrition on annuals originating from habitats of different nitrogen availability. *Oecologia*, 92 : 236-241
- Fischer BU, Frehner M, Hebeisen T, Zanetti S, Stadelmann F, Luscher A, Hartwig UA, Hendrey GR, Blum H, Nosberger J, 1997** : Source-sink relations in *Lolium perenne* L. as reflected by carbohydrate concentrations in leaves and pseudostems during regrowth in a free air carbon dioxide enrichment experiment. *Plant Cell Environ.*, 20 : 945-952
- Fischer C, Höll W, 1991** : Food reserves of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). I. Seasonal changes in the carbohydrate and fat reserves in pine needles. *Trees*, 5 : 187-195

- Fischer C, Höll W, 1992** : Food reserves of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). II. Seasonal changes and radial distribution of carbohydrate and fat reserves in pine wood. *Trees*, 6 : 147-155
- Fonseca F, Bowsher CG, Stulen I, 1997** : Impact of elevated atmospheric CO₂ on nitrate reductase transcription and activity in leaves and roots of *Plantago major*. *Physiologia Plantarum*, 100 : 940-948
- Forshey CG, 1963** : A comparison of soil nitrogen fertilization and urea sprays as sources of nitrogen for apple trees in sand culture. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 83 : 32-45
- Foyer CH, Ferrario-Méry S, Noctor G, 2001** : Interactions between carbon and nitrogen metabolism. *Plant Nitrogen*, Eds J. Lea, JF Morot-Gaudry, Springer-Verlag, Berlin, p 237-254
- France RC, Reid CPP, 1979** : Absorption of ammonium and nitrate by mycorrhizal and non-mycorrhizal roots of pine. Symposium "La physiologie des racines et symbioses" Nancy, 11-15 sept 1978 (Eds Riedacker A, Gagnaire-Michard J)
- Fries N, 1952** : Variations in the content of phosphorus, nucleic acids and adenine in the leaves of some deciduous trees during the autumn. *Plant and Soil*, 4 : 29-42
- Gadal P, 1970** : Métabolisme du chêne et de ses zoocécidies. Etude particulière de la biosynthèse des acides aminés aromatiques. Thèse ès Sciences Naturelles de l'Université Paul Sabatier, Toulouse, 190 p.
- Gansert D, Sprick W, 1998** : Storage and mobilization of nonstructural carbohydrates and biomass development of beech seedlings (*Fagus sylvatica* L.) under different light regimes. *Trees*, 12 : 247-257
- Garbutt K, Williams WE, Bazzaz FA, 1990** : Analysis of the differential response of five annuals to elevated carbon dioxide during growth. *Ecology*, 7 : 1185-1194
- Gastal F, Saugier B, 1989** : Relationships between nitrogen uptake and carbon assimilation in whole plants of tall fescue. *Plant Cell Environ.*, 12 : 407-418
- Geiger M, Haake V, Ludewig F, Sonnewald U, Stitt M, 1999** : The nitrate and ammonium nitrate supply have a major influence on the response of photosynthesis, carbon metabolism, nitrogen metabolism and growth to elevated carbon dioxide in tobacco. *Plant Cell and Environment*, 22 : 1177-1199
- Geiger M, Ludewig F, Sonnewald U, Harnecker J, Schulze ED, Walch-Liu P, Scheible WR, Stitt M, 1998** : Enhanced carbon dioxide leads to a modified diurnal rhythm of nitrate reductase activity in older plants, and a large stimulation of nitrate reductase activity and higher levels of amino acids in young tobacco seedlings. *Plant Cell Environ.*, 21 : 253-268
- Gillon D, Houssard C, Joffre R, 1999** : Using near-infrared reflectance spectroscopy to predict carbon nitrogen and phosphorus content in heterogeneous plant material. *Oecologia*, 118 : 173-182
- Glavac V, Jochheim H, 1993** : A contribution to understanding the internal nitrogen budget of beech (*Fagus sylvatica* L.). *Trees*, 7 : 237-241
- Gomez L, Faurobert M, 2002** : Contribution of vegetative storage proteins to seasonal nitrogen variations in the young shoots of peach trees (*Prunus persica* L. Batsch). *Journal of Experimental Botany*, 53 : 2431-2439
- Grasmanis VO, Nicholas DJD, 1971** : Annual uptake and distribution of N¹⁵-labelled ammonium and nitrate in young Jonathan/MM 104 apple trees grown in solution cultures. *Plant and Soil*, 35 : 95-112
- Greenway H, Gunn A, 1966** : Phosphorus retranslocation in *Hordum vulgare* during early tillering. *Planta* 71 : 43-67

- Gries C, Kimball BA, Idso SB, 1993** : Nutrient uptake during the course of a year by sour orange trees growing in ambient and elevated dioxide concentrations. *Journal of Plant Nutrition*, 16 : 129-147
- Griffin KL, Winner WE, Strain BR, 1996** : Construction cost of loblolly and ponderosa pine leaves grown with varying carbon and nitrogen availability. *Plant, Cell, Environ.*, 19 : 729-738
- Hansen J, Beck E, 1990** : The fate and path of assimilation products in the stem of 8-year-old Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) trees. *Trees*, 4 : 16-21
- Hansen J, Beck E, 1994** : Seasonal changes in the utilization and turnover of assimilation products in 8-year-old Scots pine (*Pinus sylvestris*) trees. *Trees*, 8 : 172-182
- Hansen J, Vogg G, Beck E, 1996** : Assimilation, allocation and utilization of carbon by 3-year-old scots pine (*Pinus sylvestris*) trees during winter and early spring. *Trees*, 11 : 83-90
- Hansen P, 1971** : ¹⁴C-studies on apple trees. VII. The early seasonal growth in leaves, flowers and shoots as dependent upon current photosynthetates and existing reserves. *Physiol. Plant.*, 25 : 469-473
- Hansen P, Grauslund J, 1973** : ¹⁴C studies on apple trees. VIII. The seasonal variation and nature of reserves. *Physiol. Plant.* 28 : 24-32
- Harley CP, Regeimbal LO, Moon HH, 1958** : The role of nitrogen reserves in new growth of apple and the transport of P³² from roots to leaves during early-spring growth. *Proceeding of the American Society for Horticultural Science*, 72 : 57-63
- Harmens H, Marshall C, Stirling CM, Farrar JF, 2001** : Partitioning and efficiency of use of N in *Dactylis glomerata* as affected by elevated CO₂ : interaction with N supply. *Int. J. Plant Sci.*, 162 (6) : 1267-1274
- Hättenschwiler S, Miglietta F, Raschi A, Körner C, 1997** : Thirty years of *in situ* tree growth under elevated CO₂ : a model for future forest responses ? *Global Change Biology*, 3 : 463-471
- Hättenschwiler S, Schweingruber FH, Körner C, 1996** : Tree ring responses to elevated CO₂ and increased N deposition in *Picea abies*. *Plant Cell Environ.*, 19 (12) : 1369-1378
- Heller R, Esnault R, Lance C, 1991** : *Physiologie végétale*. I. Nutrition. 4^{ème} édition. Eds Masson.
- Hoch G, Popp M, Körner C, 2002** : Altitudinal increase of mobile carbon pools in *Pinus cembra* suggest sink limitation of growth at Swiss treeline. *Oikos*, 98 : 361-374
- Hoch G, Richter A, Körner C, 2003** : Non-structural carbon compounds in temperate forest trees. *Plant Cell and Environment*, 26 : 1067-1081
- Hocking PJ, Meyer CP, 1991** : Effects of CO₂ enrichment and nitrogen stress on growth and partitioning of dry matter and nitrogen in wheat and maize. *Australian Journal of Plant Physiology*, 18 : 339-356
- Hofstra R, Lanting L, De Visser R, 1985** : Metabolism of *Urtica dioica* as dependent on the supply of mineral nutrients. *Physiologia Plantarum*, 63 : 13-18
- Huppe HC, Turpin DH, 1994** : Integration of carbon and nitrogen metabolism in plant and algal cells. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 45 : 577-607
- Jach ME, Ceulemans R, 1999** : Effects of elevated atmospheric CO₂ on phenology, growth and crown structure of Scots pine (*Pinus sylvestris*) seedlings after two years of exposure in the field. *Tree Physiol.*, 19 : 289-300
- Jacob J, Greitner C, Drake BG, 1995** : Acclimation of photosynthesis in relation to Rubisco and non-structural carbohydrate contents and *in situ* carboxylase activity in *Scirpus olneyi* grown at elevated carbon dioxide in the field. *Plant Cell Environ.* 18 : 875-884

- Joffre R, Gillon D, Dardenne P, Agneessens R, Biston R, 1992** : The use of near-infrared reflectance spectroscopy in litter decomposition studies. *Ann. Sci. For.*, 49 : 481-488
- Kainulainen P, Holopainen JK, Holopainen T, 1998** : The influence of elevated CO₂ and O₃ concentrations on scots pine needles : changes in starch and secondary metabolites over three exposure years. *Oecologia*, 114 : 455-460
- Kajji A, 1992** : Gestion du carbone chez le jeune noyer. Thèse de l'Université de Clermont-Ferrand II, 77 p + annexes
- Kandiah S, 1971** : Studies on the physiology of pruning tea. I. Turnover of resources in relation to pruning. *Tea Quart.* 42 : 89-100
- Kang SM, Titus JS, 1980** : Qualitative and quantitative changes in nitrogenous compounds in senescing leaf and bark tissues of apple. *Physiol. Plant.*, 50 : 285-290
- Kang SM, Titus JS, 1989** : Specific proteins may determine maximum cold resistance in apple shoots. *J. Hort. Sci.*, 62 : 281-285
- Kato T, 1986** : Nitrogen metabolism and utilization in *Citrus*. *Hortic. Rev.*, 8 : 181-216
- Kavakli IH, Slattery CJ, Ito H, Okita TW, 2000** : The conversion of carbon and nitrogen into starch and storage proteins in developing organs : an overview. *Aust. J. Plant Physiol.*, 27 : 561-570
- Keeling CD, Bacastow RB, Carter AF, Piper SC, Whorf TP, Heimann M, Mook WG, Roeloffzen H, 1989** : A three dimensional model of atmospheric CO₂ transport based on observed winds : observational data and preliminary analysis. *In Aspects of climate variability in the pacific and the western Americas. Geophys. Monogr.* 55 : 165-235
- Keller JD, Loescher WH, 1989** : Non-structural carbohydrate partitioning in perennial parts of sweet cherry. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 114 : 969-975
- Kerstiens G, 1998** : Shade-tolerance as a predictor of responses to elevated CO₂ in trees. *Physiol. Plant.*, 102 : 472-480
- Kimball BA, Mauney JR, Nakayama FS, Idso SB, 1993** : Effects of elevated CO₂ and climate variables on plants. *J Soil Water Conserv* 48 : 9-14
- King JS, Thomas RB, Strain BR, 1997** : Morphology and tissue quality of seedling root systems of *Pinus taeda* and *Pinus ponderosa* as affected by varying CO₂, temperature, and nitrogen. *Plant Soil*, 195 : 107-119
- Körner C, Miglietta F, 1994** : Long-term effects of naturally elevated CO₂ on Mediterranean grassland and forest trees. *Oecologia* , 99 : 343-351
- Kozlowski TT, 1992** : Carbohydrates sources and sinks in woody plants. *Bot. Rev.*, 58 : 107-122
- Kramer PJ, Kozlowski TT, 1960** : Physiology of trees. McGraw Hill Book Company, New York, USA, 642 p.
- Kramer PJ, Kozlowski TT, 1979** : Physiology of woody plants. Academic Press, London, 811 p.
- Lacointe A, 2001** : Gestion et dynamique inter-annuelle des réserves. Premières Rencontres d'Ecophysiologie de l'Arbre. Ecole Thématique (INRA), Autrans, 16-19 janvier 2001
- Lacointe A, Kajji A, Daudet FA, Archer P, Frossard JS, 1993** : Mobilization of carbon reserves in young walnut trees. *Acta Bot. Gallica*, 140 (4) : 435-441
- Lacointe A, Sauter JJ, Ameglio T, Harms U, Pellicer V, Frossard JS, 1994** : Carbohydrate and protein reserves in trees. EUROSILVA. Contribution to Forest Tree Physiology. Dourdan (France), 7-10 novembre 1994. Les Colloques n°76 (Eds. H Sandermann Jr, M Bonnet-Masimbert, Ed. INRA, Paris) pp 273-296
- Lanier L, 1994** : Précis de sylviculture. 2^{ème} édition. ENGREF, Nancy, 477 p.
- Larcher W, Thomaser-Thin W, 1988** : Seasonal changes in energy content and storage patterns of Mediterranean sclerophylls in a northernmost habitat. *Oecol. Plant.*, 9 : 271-283

- Lavarenne S, Champagnat P, Barnola P, 1971** : Croissance rythmique de quelques végétaux ligneux de régions tempérées, cultivés en chambres climatisées à température élevée et constante et sous diverses photopériodes. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 118 : 131-162
- Le Blevenc L, 1986** : Mise au point d'une solution nutritive pour les cultures annuelles et pérennes. *Cahiers des Sciences et Techniques INRA*, 14 : 29-32
- Lebourgeois F, Granier A, Bréda N, 2001** : Une analyse des changements climatiques régionaux en France entre 1956 et 1997. Réflexions en terme de conséquences pour les écosystèmes forestiers. *Ann. Sci. For.*, 58 : 733-753.
- Levin SA, Mooney HA, Field C, 1989** : The dependence of plant root : shoot ratios on internal nitrogen concentration. *Annals of Botany*, 64 : 71-75
- Lindroth RL, Kinney KK, Platz CL, 1993** : Response of deciduous trees to elevated CO₂ : productivity, phytochemistry and insect performance. *Ecology*, 74 : 763-777
- Long SP, Drake BG, 1992** : Photosynthetic CO₂ assimilation and rising atmospheric CO₂ concentrations. *In* Crop photosynthesis : spatial and temporal determinants. The Hague : Elsevier Science Publishers B. V. (Baker NR, Thomas H, eds) 69-103
- Louahlia S, Avice JC, Le Dily F, Kim TH, Corre N, Simon JC, Macduff JH, Ourry A, Boucaud J, 1998** : Rôles des réserves N et C durant la repousse foliaire printanière ou après une coupe chez les espèces fourragères. *In* Fonctionnement des peuplements végétaux sous contraintes environnementales, Paris (France), 20-21 janvier 1998, ed. INRA, Paris, 2000, Les Colloques, n°93
- Ludovici KH, Allen HL, Albaugh TJ, Dougherty PM, 2002** : The influence of nutrient and water availability on carbohydrate storage in loblolly pine. *Forest Ecology and Management*, 159 : 261-270
- Maillard P, Deléens E, Daudet FA, Lacoïnte A, Frossard JS, 1994** : Carbon economy in walnut seedlings during the acquisition of autotrophy studied by long-term labelling with ¹³C. *Physiologia Plantarum* 91 : 359-368
- Maillard P, Guehl JM, Muller JF, Gross P, 2001** : Interactive effects of elevated CO₂ concentration and nitrogen supply on partitioning of newly fixed ¹³C and ¹⁵N between shoot and roots of pedunculate oak seedlings (*Quercus robur*). *Tree Physiol.*, 21 : 163-172
- Mariotti A, Mariotti F, Champigny ML, Amarger N, Moyse A, 1982** : Nitrogen isotope fractionation associated with nitrate reductase activity and uptake of NO₃⁻ by pearl millet. *Plant Physiol.*, 69 (4)
- Martin F, Botton B, 1993** : Nitrogen metabolism of ectomycorrhizal fungi and ectomycorrhizas. *Adv. Plant Pathol.*, 9 : 83-102
- Martins-Loução MA, Cruz C, 1999** : Role of nitrogen source in carbon balance. Nitrogen nutrition and plant growth (HS Srivastava, RP Singh, Eds), chapter 7, 231-282
- Matsuura K, Tanabe K, Tamura F, Itai A, 2001** : Storage and translocation of ¹³C-photosynthetates from "Masui Daufine" Fig (*Ficus carica* L.) leaves administered ¹³CO₂ in autumn. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 70 (1) : 66-71
- Millard P, 1988** : The accumulation and storage of nitrogen by herbaceous plants. *Plant Cell Environ.*, 11 : 1-8
- Millard P, 1989** : Effect of nitrogen supply on growth and internal nitrogen cycling within deciduous trees. *Ann. Sci. For.*, 46(suppl.) : 666s-668s
- Millard P, 1993** : A review of internal cycling of nitrogen within trees in relation to soil fertility. *In* Optimization of Plant Nutrition, MAC Fragozo & ML van Beusichem, eds, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp 623-628
- Millard P, 1994** : Measurements of the remobilisation of nitrogen for spring leaf growth of trees under field conditions. *Tree Physiol.* 14 : 1049-1054

- Millard P, 1996** : Ecophysiology of the internal cycling of nitrogen for tree growth. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.*, 159 : 1-10
- Millard P, Proe MF, 1993** : Nitrogen uptake, partitioning and internal cycling in *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. as influenced by nitrogen supply. *New Phytol.*, 125 : 113-119
- Millard P, Proe MF, 1994** : Leaf demography and the seasonal internal cycling of nitrogen in sycamore (*Acer pseudoplatanus* L.) seedlings in relation to nitrogen supply. *New Phytol.*, 117 : 587-596
- Millard P, Thomson CM, 1989** : The effect of the autumn senescence of leaves on the internal cycling of nitrogen for the spring growth of apples trees. *J. Exp. Bot.*, 40 : 1285-1289
- Millard P, Wendler R, Hepburn A, Smith A, 1998** : Variations in the amino acid composition of xylem sap of *Betula pendula* Roth. trees due to remobilization of stored N in the spring. *Plant Cell Environ.*, 21 (7) : 715-722
- Minster JF, Merlivat L, 1992** : Où va le gaz carbonique ? Le rôle des océans. *La Recherche* 243, mai 1992, vol. 43, pp 642-597
- Morgan JA, Skinner RH, Hanson JD, 2001** : Nitrogen and CO₂ affect regrowth and biomass partitioning differently in forages of three functional groups. *Crop Sci.*, 41 : 78-86
- Mortier F, 1995** : Le CO₂ et la forêt. *Bulletin technique de l'ONF n° 29*, 159 p.
- Mothe F, Duchanois G, Zannier B, Leban JM, 1998** : Analyse microdensitométrique appliquée au bois : méthode de traitement des données utilisée à l'INRA-ERQB (programme CERD). *Ann. Sci. For.*, 55 : 301-313
- Nambiar EKS, Fife DN, 1987** : Growth and nutrient retranslocation in needles of radiata pine in relation to nitrogen supply. *Annals of Botany*, 60 : 147-156
- Nelson EA, Dickson RE, 1981** : Accumulation of food reserves in cottonwood stems during dormancy induction. *Can. J. For. Res.*, 11 : 145-154
- Nguyen PV, Dickmann DI, Pregitzer KS, Hendrick R, 1990** : Late-season changes in allocation of starch and sugar to shoots, coarse-roots, and fine roots in two hybrid poplar clones. *Tree Physiol.*, 7 : 95-105
- Nicolussi K, Bortenschlager S, Körner C, 1995** : Increase in tree-ring width in subalpine *Pinus cembra* from the central Alps that may be CO₂-related. *Trees*, 9 : 181-189
- Nie GY, Long SP, Garcia RL, Kimball BA, Lamorte RL, Pinter PJ, Wall GW, Webber AN, 1995** : Effects of free-air CO₂ enrichment on the development of the photosynthetic apparatus in wheat, as indicated by changes in leaf proteins. *Plant Cell Environ.*, 18 : 855-864
- Norby RJ, 1996** : Oaks in a high-CO₂ world. *Ann. Sci. For.*, 53 : 413-429
- Norby RJ, O'Neill EG, Luxmoore RJ, 1986** : Effects of atmospheric CO₂ enrichment on the growth and mineral nutrition of *Quercus alba* seedlings in nutrient-poor soil. *Plant Physiol.*, 82 : 83-89
- Norby RJ, Wullschleger SD, Gunderson CA, Johnson DW, Ceulemans R, 1999** : Tree responses to rising CO₂ in field experiments : implications for the future forest. *Plant Cell Environ.*, 22 : 683-714
- O'Kennedy BT, Titus JS, 1979** : Isolation and mobilization of storage proteins from apple shoot bark. *Physiol. Plant.*, 45 : 419-424
- O'Neill EG, Luxmoore RJ, Norby RJ, 1987** : Elevated atmospheric CO₂ effects on seedling growth, nutrient uptake, and rhizosphere bacterial populations of *Liriodendron tulipifera* L. *Plant Soil*, 104 : 3-11
- Ourry A, Macduff JH, Volenec JJ, Gaudillere JP, 2001** : Nitrogen traffic during plant growth and development. *In Plant nitrogen*, PJ Lea and JF Morot-Gaudry Eds., Berlin, Springer-Verlag, 255-273

- Ozerol NH, Titus JS, 1968** : Translocation of nitrogenous compounds in one year old apples trees. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 93 : 7-15
- Pace GH, Volk RJ, Jackson WA, 1990** : Nitrate reduction in response to CO₂-limited photosynthesis. Relationship to carbohydrate supply and nitrate reductase activity in maize seedlings. Plant Physiol., 92 : 286-292
- Paul M, Driscoll SP, 1997** : Sugar repression of photosynthesis during N deficiency. Plant Cell Environ., 20 : 110-116
- Pearman GI, 1980** : The global carbon cycle and increasing levels of atmospheric carbon dioxide. In "carbon dioxide and climate : Australian research", Pearman GI, ed, Aust Acad Sci, Canberra, 11-20
- Peñuelas J, Estiarte M, 1998** : Can elevated CO₂ affect secondary metabolism and ecosystem function. Tree, 13 : 20-24
- Peñuelas J, Idso SB, Ribas A, Kimball BA, 1997** : Effects of long-term atmospheric CO₂ enrichment on the mineral concentration of *Citrus aurantium* leaves. New Phytol., 135 : 439-444
- Pereira JS, Linder S, Araujo MC, Pereira N, Ericsson T, Borralho N, Leal LC, 1988** : Optimization of biomass production in *Eucalyptus globulus* plantations : a case study. In Biomass Production by fast-Growing Trees (Eds JS Pereira, JJ Landsberg), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 101-121
- Petit M, 1997** : Activités humaines et effet de serre atmosphérique. In Face aux changements climatiques. Aménagement et nature, 126 : 33-40
- Pettersson R, MacDonald JS, 1994** : Effects of nitrogen supply on the acclimatation of photosynthesis to elevated CO₂. Photosynthesis Research, 39 : 389-400
- Pettersson R, MacDonald JS, Stadenburg I, 1993** : Response of small birch plants (*Betula pendula* Roth.) to elevated CO₂ and nitrogen supply. Plant Cell Environ., 16 : 1115-1121
- Picon C, 1996** : Effets combinés d'un doublement de la concentration en CO₂ de l'air et de sécheresses édaphiques sur la croissance et l'efficience d'utilisation de l'eau de *Quercus petraea*, *Quercus robur* et *Pinus pinaster*. Thèse de l'Université de Nancy I, 105 p
- Polge H, Nicholls JWP, 1972** : Quantitative radiography and the densitometric analysis, Wood Sciences, 5 : 51-59
- Policarpo M, Di Marco L, Caruso T, Gioacchini P, Tagliavini M, 2002** : Dynamics of nitrogen uptake and partitioning in early and late fruit ripening peach (*Prunus persica*) tree genotypes under a mediterranean climate. Plant and Soil, 239 : 207-214
- Pomeroy MK, Siminovitch D, Wightman F, 1970** : Seasonal biochemical changes in the living bark and needles of red pine (*Pinus resinosa*) in relation to adaptation to freezing. Can. J. Bot. 48 : 953-967
- Poorter H, Nagel O, 2000** : The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water : a quantitative review. Aust. J. Plant Physiol., 27 : 595-607
- Poorter H, van Berkel V, Baxter R, den Hertog J, Dijkstra P, Gifford RM, Griffin KL, Rounet C, Roy J, Wong SC, 1997** : The effect of elevated CO₂ on the chemical composition and construction cost of leaves of 27 C3 species. Plant Cell Environment, 20 : 472-482
- Poorter H, Villar R, 1997** : The fate of acquired carbon in plants : chemical composition and construction costs. In Plant Ressource Allocation (Eds Bazzaz FA, Grace J), Academic Press, 39-72
- Priestley CA, 1977** : The annual turnover of resources in young olive trees. J. Hort. Sci., 52 : 105-112

- Proe MF, Midwood AJ, Craig J, 2000** : Use of stable isotopes to quantify nitrogen, potassium and magnesium dynamics in young Scots pine (*Pinus sylvestris*). *New Phytol.*, 461-469
- Rameau JC, Mansion D, Dumé G, 1989** : Flore forestière française. Guide écologique illustré. I. Plaines et collines. Institut pour le Développement Forestier, 1785 p.
- Rastetter EB, Ågren GI, Shaver GR, 1997** : Responses of N-limited ecosystems to increased CO₂ : a balanced-nutrition, coupled-element-cycles model. *Ecological Applications*, 7 (2) : 444-460
- Reddy AR, Reddy KR, Padjung R, Hodges HF, 1996** : Nitrogen nutrition and photosynthesis in leaves of pima cotton. *Journal of Plant Nutrition*, 19 : 755-770
- Riedacker A, 1981** : Le Hêtre. Croissance aérienne et souterraine, Institut National de la Recherche Agronomique, 160-168
- Roberntz P, Linder S, 1999** : Effects of long-term CO₂ enrichment and nutrients availability in Norway spruce. II. Foliar chemistry. *Trees*, 14 : 17-27
- Robinson JM, Baysdorfer C, 1985** : Interrelationships between photosynthetic carbon and nitrogen metabolism in mature soybean leaves and isolated leaf mesophyll cells. *In* Regulation of carbon partitioning in photosynthetic tissue, eds. RL Eeath, J Preiss, Rockville, MD : Am. Soc. Plant Physiol., pp 333-357
- Rogers GS, Milham PJ, Gillings M, Conroy J, 1996** : Sink strength may be the key to growth and nitrogen response in N-deficient wheat at elevated carbon dioxide. *Australian Journal of Plant Physiology*, 23 : 253-264
- Rogers GS, Payne L, Milham PJ, Conroy J, 1993** : Nitrogen and phosphorus requirements of cotton and wheat under changing CO₂ concentrations. *Plant and Soil*, 155 : 231-234
- Rogers HH, Peterson CM, McCrimmon JN, Cure JD, 1992** : Response of plant roots to elevated atmospheric carbon dioxide. *Plant Cell Environ.*, 15 : 749-752
- Roth SK, Lindroth RL, 1994** : Effects of CO₂-mediated changes in paper birch and white pine chemistry on gypsy moth performance. *Oecologia*, 98 : 133-138
- Rouhier H, Billes G, El Kohen A, Mousseau M, Bottner P, 1994** : Effect of elevated CO₂ on carbon and nitrogen distribution within a tree (*Castanea sativa* Mill.)-soil system. *Plant Soil*, 162 : 281-292
- Roumet C, Bel MP, Sonie L, Jardon F, Roy J, 1996** : Growth response of grasses to elevated carbon dioxide : a physiological plurispecific response. *New Phytol.*, 133 : 595-603
- Rufty TW, Huber SC, Volk RJ, 1988** : Alterations in leaf carbohydrate metabolism in response to nitrogen stress. *Plant Physiol.*, 88 : 725-730
- Rufty TW, MacKown CT, Volk RJ, 1989** : Effects of altered carbohydrate availability on whole plant assimilation of ¹⁵NO₃⁻. *Plant Physiol.*, 89 : 457-463
- Rytter L, Ericsson T, 1993** : Leaf nutrient analysis in *Salix viminalis* (L.) energy forest stands growing on agricultural land. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.*, 156 : 349-356
- Sakai A, Larcher W, 1987** : Frost survival of plants. *Ecol. Studies*, 62 : 1-340
- Salsac L, Chaillou S, Morot-Gaudry JF, Lesaint C, Jolivet E, 1987** : Nitrate and ammonium nutrition in plants. *Plant Physiol. Biochem.*, 25 : 805-812
- Sauter JJ, 1988** : Temperature-induced changes in starch and sugars in the stem of *Populus × Canadensis* "robusta". *J. Plant. Physiol.*, 132 : 608-612
- Sauter JJ, van Cleve B, 1994** : Storage, mobilization and interrelations of starch, sugars, protein and fat in the ray storage tissue of poplar trees. *Trees*, 8 : 297-304
- Sauter JJ, van Cleve B, Apel K, 1988** : Protein bodies in ray cells of *populus x canadensis* Moench 'robusta'. *Planta*, 173 : 31-34

- Sauter JJ, van Cleve B, Wellenkamp S, 1989** : Ultrastructural and biochemical results on the localization and distribution of storage proteins in poplar tree and in twigs of other tree species. *Holzforschung*, 43 : 1-6
- Sauter JJ, Wellenkamp S, 1998** : Seasonal changes in content of starch, protein, and sugars in the twig wood of *Salix caprea* L. *Holzforschung* 52 : 255-262
- Saxe H, Ellsworth D, Heath J, 1998** : Tree and forest functioning in an enriched CO₂ atmosphere. Tansley review n° 98. *New Phytol*, 139 : 395-436
- Schaberg PG, Snyder MC, Shane JB, Donnelly JR, 2000** : Seasonal patterns of carbohydrates reserves in red spruce seedlings. *Tree Physiol.*, 20 : 549-555
- Scheible WR, Gonzales-Fontes A, Lauerer M, Müller-Röber B, Caboche M, Stitt M, 1997a** : Nitrate acts as a signal to induce organic acid metabolism and repress starch metabolism in tobacco. *Plant Cell*, 9 : 783-798
- Scheible WR, Gonzales-Fontes A, Morcuende R, Lauerer M, Geiger M, Glaab J, Gojon A, Schulze ED, Stitt M, 1997b** : Tobacco mutants with a decreased number of functional *nia* genes compensate by modifying the diurnal regulation of transcription, post-transcriptional modification and turnover of nitrate reductase. *Planta*, 203 : 304-319
- Scheible WR, Lauerer M, Schulze ED, Caboche M, Stitt M, 1997c** : Accumulation of nitrate in the shoot acts as signal to regulate shoot-root allocation in tobacco. *The Plant Journal*, 11 : 671-691
- Schmadel-Hageböiling HE, Engel C, Schmitt V, Wild A, 1998** : The combined effects of CO₂, ozone and drought on rubisco and nitrogen metabolism of young oak trees (*Quercus petraea*). A phytotron study. *Chemosphere*, 36 (4-5) : 789-794
- 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.
- Sennerby-Forsse L, von Fircks HA, 1987** : Ultrastructure of cells in the cambial region during winter hardening and spring dehardening in *Salix dasyclados* Wim. grown at two nutrient levels. *Trees*, 1 : 151-163
- Shenk JS, Westerhaus MO, 1991** : ISI NIRS-2 Software for Near Infrared Instruments. Infracsoft International
- Shim KK, Titus JS, Splittstoesser WE, 1972** : The utilization of post-harvest urea sprays by senescing apple leaves. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 97 : 552-596
- Shim KK, Titus JS, Splittstoesser WE, 1973** : The upward and lateral translocation of urea supplied to roots of apple trees. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 98 : 523-525
- Sicher RC, Kremer DF, Bunce JA, 1995** : Photosynthetic acclimation and photosynthate partitioning in soybean leaves in response to carbon dioxide enrichment. *Photosynthesis Research*, 46 : 409-417
- Sigurdsson BD, Thorgeirsson H, Linder S, 2001** : Growth and dry-matter partitioning of young *Populus trichocarpa* in response to carbon dioxide concentration and mineral nutrient availability. *Tree Physiol.*, 21 : 941-950
- Siminovitch D, Rheaume B, Pomeroy K, Lepage M, 1968** : Phospholipid, protein, and nucleic acid increases in protoplasm and membrane structures associated with development of extreme freezing resistance in black locust tree cells. *Cryobiology*, 5 : 202-225
- Sinnott EW, 1918** : Factors determining character and distribution of food reserves in woody plants. *Botanical Gazette*, 66 : 162-175
- Spencer PW, Titus JS, 1972** : Biochemical and enzymatic changes in apple leaf tissue during autumnal senescence. *Plant Physiol.*, 49 : 746-750

- Stassen PJC, Strydom DK, Stindt HW, 1981 a** : Seasonal changes in carbohydrate fractions of young kakamas peach trees. *Agroplanta*, 13 : 47-53
- Stassen PJC, Terblanche JH, Strydom DK, 1981 b** : The effect of time and rate of nitrogen application on development and composition of peach trees. *Agroplanta*, 13 : 55-61
- Staswick PE, 1994** : Storage proteins of vegetative plant tissues. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 45 : 303-322
- Stepien V, 1992** : Contribution à l'étude des protéines de réserve végétatives du peuplier (*Populus x euramericana*). Thèse de Doctorat, Université de Nancy I, 145 p
- Stepien V, Brun A, Botton B, Martin F, 1991** : Corpuscules protéiques dans les cellules de l'écorce de *Populus x euramericana*. *C. R. Acad. Sci.*, t. 313, Série III, 153-158
- Stewart GR, Pearson J, Kershaw JL, Clough ECM, 1989** : Biochemical aspects of inorganic nitrogen assimilation by woody plants. *Ann. Sci. For.*, 46 suppl. : 648-653
- Stirling CM, Heddell-Cowie M, Jones ML, Ashenden TW, Sparks TH, 1998** : Effects of elevated CO₂ and temperature on growth and allometry of five native fast-growing annual species. *New phytol.*, 140 : 343-354
- Stitt M, 1991** : Rising CO₂ levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. *Plant Cell and Environment*, 14 : 741-762
- Stitt M, Krapp A, 1999** : The interaction between elevated carbon dioxide and nitrogen nutrition : the physiological and molecular background. *Plant Cell and Environment*, 22 : 583-621
- Tagliavini M, Millard P, Quartieri M, 1998** : Storage of foliar-absorbed nitrogen and remobilization for spring growth in young nectarine (*Prunus persica* var. *Nectarina*) trees. *Tree Physiol.*, 18 : 203-207
- Tamm CO, 1991** : Nitrogen in terrestrial ecosystems. Springer-Verlag, Berlin, 115 p.
- Tan W, Hogan GD, 1998** : Dry weight and N partitioning in relation to substrate N supply, internal N status and developmental stage in jack pine (*Pinus banksiana* Lamb.) seedlings : implications for modelling. *Annals of Botany*, 81 : 195-201
- Taylor BK, 1967** : The nitrogen nutrition of the peach tree. I. Seasonal changes in nitrogenous constituents in mature trees. *Aust. J. Biol. Sci.*, 20 : 379-387
- Taylor BK, van den Ende B, Canterford RL, 1975** : Effets of rate and timing of nitrogen applications on the performance and chemical composition of young pear trees, cv. 'Williams Bon Chretien'. *J. Hort. Sci.*, 50 : 29-40
- Telewski FW, Swanson RT, Strain BR, Burns JM, 1999** : Wood properties and ring width responses to long-term atmospheric CO₂ enrichment in field-grown loblolly pine (*Pinus taeda* L.). *Plant Cell Environ.*, 22 (2) : 213-219
- Temperton VM, Millard P, Jarvis PG, 2003** : Does elevated atmospheric carbon dioxide affect internal nitrogen allocation in the temperate trees *Alnus glutinosa* and *Pinus sylvestris* ? *Global Change Biology*, 9 : 286-294
- Teng Y, Tanabe K, Tamura F, Itai A, 1999 a** : Translocation of ¹³C-assimilates in the spring following fall assimilation of ¹³CO₂ by "Nijisseiki" pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 68 (2) : 248-255
- Teng Y, Tanabe K, Tamura F, Itai A, 1999 b** : Partitioning pattern of ¹³C-assimilates in young "Nijisseiki" pear trees during the initial period of fruit growth. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 68 (6) : 1079-1083
- Terziev N, Boutelje J, Larsson K, 1997** : Seasonal fluctuations of low-molecular-weight sugars, starch and nitrogen in sapwood of *Pinus sylvestris* L. *Scand. J. For. Res.*, 12 : 216-224
- Tissue DT, Thomas RB, Strain BR, 1997** : Atmospheric CO₂ enrichment increases growth and photosynthesis of *Pinus taeda* : a 4 year experiment in the field. *Plant Cell Environ.*, 20 : 1123-1134

- Titus JS, 1989** : Nitrogen recycling in the apple (*Malus domestica* Borkh.). Ann. Sci. For. 46 : 654-659
- Titus JS, Kang SM, 1982** : Nitrogen metabolism , translocation, and recycling in apple trees. Horticultural Reviews, 4 : 204-246
- Tognetti R, Johnson JD, 1999a** : Responses to elevated atmospheric CO₂ concentration and nitrogen supply of *Quercus ilex* L. seedlings from a coppice stand growing at a natural CO₂ spring. Ann. For. Sci, 56 : 549-561
- Tognetti R, Johnson JD, 1999b** : The effect of elevated atmospheric CO₂ concentration and nutrient supply on gas exchange, carbohydrates and foliar phenolic concentration in live oak (*Quercus virginiana* Mill.) seedlings. Ann Sci For, 56 : 379-389
- Tognetti R, Johnson JD, Michelozzi M, Raschi A, 1998** : Response of foliar metabolism in mature trees of *Quercus pubescens* and *Quercus ilex* to long-term elevated CO₂. Environmental and Experimental Botany, 39 : 233-245
- Tromp J, 1970** : Storage and mobilization of nitrogenous compounds in apple trees with special reference to arginine. In Physiology of Tree Crops, eds. LC Luckwill, CV Cuttings, pp 143-159, New York, Academic
- Tromp J, 1983** : Nutrient reserves in roots of fruit trees, in particular carbohydrates and nitrogen. Plant and Soil, 71 : 401-413
- Tromp J, Ovaa JC, 1969** : The effect of nitrogen application on the seasonal variations in the amino acid composition of xylem sap of apple. Z. Pflanzenphysiol., 60 : 232-241
- Tromp J, Ovaa JC, 1976** : Effect of time of nitrogen application on amino nitrogen composition of roots and xylem sap of apple. Physiol. Plant., 37 : 29-34
- Tromp J, Ovaa JC, 1979** : Uptake and distribution of nitrogen in young apple trees after application of nitrate or ammonium, with special reference to asparagine and arginine. Physiol. Plant., 45 : 23-28
- Tyrrell LE, Boerner RJE, 1987** : *Larix laricina* and *Picea mariana* : relationships among leaf life span, foliar nutrient patterns, nutrient conservation, and growth efficiency. Can. J. Bot., 65 : 1570-1577
- Van Quy L, Lamaze T, Champigny ML, 1991** : Short-term effects of nitrate on sucrose synthesis in wheat leaves. Planta, 185 : 53-57
- Vanderklein DW, Reich PB, 1999** : The effect of defoliation intensity and history on photosynthesis, growth and carbon reserves of two conifers with contrasting lifespans and growth habits. New phytologist, 144 : 121-132
- Vivin P, 1995** : Effets de l'augmentation de la concentration atmosphérique en CO₂ et de contraintes hydriques sur l'allocation de carbone et d'azote et sur l'ajustement osmotique chez *Quercus robur* L. Thèse de l'Université de Nancy I, 135 p
- Vivin P, Gross P, Aussenac G, Guehl JM, 1995** : Whole-plant CO₂ exchange, carbon partitioning, and growth in *Quercus robur* seedlings exposed to elevated CO₂. Plant Physiol. Biochem. 33 : 201-211
- Von Caemmerer S, Farquhar GD, 1981** : Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. Planta, 153 : 376-387
- Ward JK, Strain BR, 1999** : Elevated CO₂ studies : past, present and future. Tree Physiol., 19 : 211-220
- Wardlaw IF, 1990** : The control of carbon partitioning in plants. New Phytol., Tansley Review, No. 27, 116 : 341-381
- Waring RH, McDonald AJS, Larsson S, Ericsson T, Wiren A, Arwidsson E, Ericsson A, Lohammar T, 1985** : Differences in chemical composition of plants grown at constant relative growth rates with stable mineral nutrition. Oecologia, 66 : 157-160

- Watson RT, Rodhe H, Oeschger H, Siegenthaler U, 1990** : Greenhouse gases and aerosols. In "Climate change : the IPCC Scientific Assessment" JT Houghton, GJ Jenkins et JJ Ephraums (eds), University Press, Cambridge, UK, 1-40
- Wendler R, Carvalho PO, Pereira JS, Millard P, 1995** : Role of nitrogen remobilisation from old leaves for new leaf growth of *Eucalyptus globulus* seedlings. *Tree Physiol.*, 15 : 679-683
- Werker AR, Jaggard KW, Allison MF, 1999** : Modelling partitioning between structure and storage in sugar beet : effects of drought and soil nitrogen. *Plant Soil*, 207 : 97-106
- Wetzel S, Greenwood JS, 1991** : A survey of seasonal bark proteins in eight temperate hardwoods. *Trees*, 5 : 153-157
- Wetzel S, Sennerby-Forsse L, Burgess D, 1995** : Storage compounds in *Populus* cuttings in response to two different nitrogen regimes. In Nutrient uptake and cycling in forest ecosystems. LO Nilsson, RF Hüttel, UT Johansson, Eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, pp 677-685
- White LM, 1973** : Carbohydrates reserves of grasses : a review. *J. Range Manage.* 26 : 13-18
- Will RE, Ceulemans R, 1997** : Effects of elevated CO₂ concentration on photosynthesis, respiration and carbohydrate status of coppice *Populus* hybrids. *Physiologia Plantarum*, 100 : 933-939
- Will RE, Teskey RO, 1997** : Effect of elevated carbon dioxide concentration and root restriction on net photosynthesis, water relations and foliar carbohydrates status of loblolly pine seedlings. *Tree Physiol.*, 17 : 655-661
- Witt W, Sauter JJ, 1994** : Starch metabolism in poplar wood ray cells during spring mobilization and summer deposition. *Physiologia Plantarum*, 92 : 9-16
- Wolf J, 1998** : Effects of nutrient (NPK) supply on sugar beet response to elevated atmospheric CO₂. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 46 : 157-170
- Wong SC, 1979** : Elevated atmospheric partial pressure of CO₂ and plant growth. I. Interaction of nitrogen nutrition and photosynthetic capacity in C₃ and C₄ plants. *Oecologia*, 44 : 68-74
- Wong SC, 1990** : Elevated atmospheric partial pressure of CO₂ and plant growth. II. Nonstructural carbohydrate content in cotton plants and effect on growth parameters. *Photosynthesis Research*, 23 : 171-180
- Woodwell GM, 1978** : The carbon dioxide question. *Sci. Am.*, 238 : 34-43
- Yemm EW, Cocking EC, 1955** : The determination of amino-acids with ninhydrin. *Analyst.*, 80 : 209-213
- Zak DR, Pregitzer KS, Curtis PS, Vogel CS, Holmes WE, Lussenhop J, 2000** : Atmospheric CO₂, soil-N availability and allocation of biomass and nitrogen by *Populus tremuloïdes*. *Ecological Applications*, 10(1) : 34-46
- Zapata C, 1998** : Suivi pluriannuel de la mise en place et de la mobilisation des réserves carbonées et azotées chez deux cépages de vigne (*Vitis vinifera* L.) présentant une sensibilité différente à la coulure. Thèse de Doctorat, Institut National Agronomique Paris-Grignon, 106 p.

ANNEXES

ANNEXE 1

Composition de la solution nutritive utilisée (d'après Le Blevenec (1986))

Solutions mères en MACROELEMENTS

KNO ₃ (1)	202	g/l
Ca(NO ₃) ₂ , 4H ₂ O (1)	345	g/l
(NH ₄) ₂ SO ₄	72,5	g/l
K ₂ HPO ₄	75	g/l
KH ₂ PO ₄ (1)	96	g/l
MgSO ₄ , 7H ₂ O	270	g/l
NaCl	10	g/l

(1) : faire chauffer et faire l par l

KNO₃ : solution qui cristallise au froid, diluer par 2 ou chauffer avant chaque utilisation

Solution mère en OLIGOELEMENTS

Solution acide EDTA Mn	26	g (Mn)/l	1,21 ml
Solution acide EDTA Zn	28,5	g (Zn)/l	8,85 ml
Solution acide EDTA Cu	28,5	g (Cu)/l	0,52 ml
Acide borique (ortho-)	2,82	g/l	
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ , 4H ₂ O	0,25	g/l	

Solution mère de FER

EDDHA Fe (6%Fe)	0,042 g/l
-----------------	-----------

SOLUTION N+

Pour 1 bidon de 200 l, mettre dans l'ordre suivant :

1°	EDDHA Fe	8,4 g
2°	NaCl	200 ml
3°	KNO ₃	200 ml
4°	MgSO ₄ , 7H ₂ O	200 ml

Bien mélanger à ce stade

5°	(NH ₄) ₂ SO ₄	200 ml
6°	K ₂ HPO ₄	200 ml
7°	(KH) ₂ PO ₄	200 ml
8°	Ca(NO ₃) ₂	200 ml
9°	Oligoéléments	40 ml

Bien agiter et compléter à 200 l avec de l'eau osmosée

Le Ca(NO₃)₂ provoque une précipitation des éléments minéraux s'il n'y a pas assez d'eau au moment de son ajout

SOLUTION N-

De même que pour N+, sauf pour KNO₃, (NH₄)₂SO₄ et Ca(NO₃)₂ : 20 ml à la place de 200 ml

ANNEXE 2 :

Solutions pour l'extraction et le dosage des sucres solubles et de l'amidon

Ethanol 80%

Mélanger 80 ml d'éthanol pur avec 20 ml d'eau ultrapure

NaOH 5 M

Dissoudre 20 g de NaOH dans 100 ml d'eau ultrapure

NaOH 0,02 M

Dissoudre 0,16 g de NaOH dans 200 ml d'eau ultrapure

Tampon Citrate 0,32 M pH 4,6

Dissoudre dans 70 ml H₂O ultrapure :

3,45 g acide citrique, 1H₂O

4,55 g de tri-sodium citrate, 2H₂O

Ajuster à pH 4,6 avec NaOH 5 M

Compléter à 100 ml avec de l'eau ultrapure

Tampon Citrate 0,32M pH 4,2

Dissoudre dans 70 ml d'eau ultrapure :

4,25 g acide citrique, 1H₂O

3,45 g tri-sodium citrate, 2H₂O

Ajuster à pH 4,2 avec NaOH 5 M

Compléter à 100 ml avec de l'eau ultrapure

Tampon Triéthanolamine 0,75 M pH 7,6

Dissoudre dans 80 ml d'eau ultrapure :

14 g triéthanolamine

0,25 g MgSO₄, 7H₂O

Ajuster à pH 7,6 avec NaOH 5 M

Compléter à 100 ml avec de l'eau ultrapure

NADP (5 mg/ml)

Dissoudre 100 mg de NADP (Boehringer Mannheim) dans 20 ml H₂O ultrapure

ATP (25 mg/ml)

Dissoudre 300 mg d'ATP (Boehringer Mannheim) dans 20 ml de tampon Triéthanolamine

β-Fructofuranosidase (Invertase) (5 mg/ml)

Dissoudre 10 mg d'invertase (Boehringer Mannheim) dans 2 ml de tampon citrate 0,32 M pH 4,6

HK/G6PDH (450 U et 200 U / ml)

Mélanger :

0,3 ml d'hexokinase (450 U, Boehringer Mannheim)

0,2 ml de G6PDH (200 U, Boehringer Mannheim)

0,5 ml de tampon triéthanolamine

PGI (1 mg/ml)

Diluer de moitié la phosphoglucoisomérase (Boehringer Mannheim) avec le tampon Triéthanolamine

Amyloglucosidase (150 U/ml)

Le nombre d'unités par mg de matière sèche varie en fonction du lot, mais en général, autour de 20 mg sont à dissoudre dans 1 ml de tampon citrate 0,32M pH 4,2

Milieu réactionnel pour les enzymes :

Les réactions enzymatiques se déroulent dans milieu réactionnel tamponné à pH 7,6 contenant du NADP, de l'ATP et de la triéthanolamine. Un volume suffisant de ce milieu est préparé extemporanément de façon à ce que le même milieu soit réparti entre toutes les cuves.

Pour 40 ml de milieu réactionnel, mélanger :

12,5 ml de triéthanolamine

2,5 ml de NADP

2,5 ml d'ATP

22,5 ml d'eau ultrapure

ANNEXE 3 :

Composition des solutions utilisées pour le dosage des acides aminés et des protéines solubles

Tampon citrate de Na 0,8 M pH 5,25

168 g d'acide citrique

64 g de NaOH

ajuster le volume à 1 litre avec de l'eau osmosée

(tampon pouvant être conservé au frais)

Solution mère KH_2PO_4 0,1 M

Solution 0,1 M : 13,6 g pour 1 litre

Solution mère Na_2HPO_4 0,1 M

Solution 0,1 M : 35,8 g pour 1 litre

Tampon Phosphate Na K 0,1 M pH 7,38

Pour faire 10 ml de tampon, mélanger 8 ml de Na_2HPO_4 0,1 M avec 2 ml de KH_2PO_4 0,1 M

DTT (DiThioThréitol)

Solution à 5 mM : 0,8 mg / ml

PEG 20 000 (PolyEthylèneGlycol)

- Pour Tiges, Racines fines et grosses :

18 mg / 30 mg MS (4,5 mg / ml de tampon)

- Pour Feuilles :

2,1 mg / 30 mg MS (0,525 mg / ml de tampon)

PVP 40 000 (PolyVinylPyrrolidone)

- Pour Tiges, Racines fines et grosses :

78 mg / 30 mg MS (19,5 mg / ml de tampon)

- Pour Feuilles :

1,12 mg / 30 mg MS (0,28 mg / ml de tampon)

Mademoiselle **VIZOSO MARTINEZ Seraphina**

DOCTORAT de l'UNIVERSITE HENRI POINCARÉ, NANCY 1
en **BIOLOGIE VEGETALE & FORESTIERE**

S.C.D. - U.H.P. NANCY 1
BIBLIOTHÈQUE DES SCIENCES
Rue du Jardin Botanique
54600 VILLERS-LES-NANCY

VU, APPROUVÉ ET PERMIS D'IMPRIMER N° 1006

Nancy, le 23 Novembre 2004

Le Président de l'Université



ଓଡ଼ିଆ ଓଡ଼ିଆ

Titre :

Effets combinés de l'augmentation de la concentration atmosphérique en CO₂ et du niveau de fertilisation azotée sur la gestion du carbone et de l'azote chez le chêne pédonculé (*Quercus robur*) et le hêtre (*Fagus sylvatica*)

Résumé :

Ce travail concerne l'analyse de l'impact de l'augmentation de la [CO₂] atmosphérique sur la productivité des forêts.

Nous avons pris en compte des effets interactifs entre l'augmentation de la [CO₂] et le niveau de fertilisation N concomitamment sur la gestion et le métabolisme C et N. Nos résultats montrent l'importance de la disponibilité en N dans le contrôle de la réponse de *Quercus robur* aux [CO₂] élevées, et en particulier pour la formation des nouveaux organes au printemps par le biais de son effet prépondérant sur les réserves carbonées et surtout azotées.

Notre travail met également en évidence, en réponse à une [CO₂] élevée, une augmentation de la densité du bois chez *Quercus robur* mais pas chez *Fagus sylvatica*, ainsi qu'une évolution inverse au cours du temps de la réponse de la croissance pour ces 2 espèces.

Mots clés :

CO₂, fertilisation N, isotopes, carbone, azote, relations C-N, croissance, croissance printanière, réserves, bois, effets à long terme

Title :

Interactive effects of elevated atmospheric CO₂ concentration and nitrogen fertilization level on carbon and nitrogen management for pedunculate oak (*Quercus robur*) and beech (*Fagus sylvatica*)

Abstract :

This work addresses the impacts of elevated atmospheric [CO₂] on forest productivity.

We considered the interactive effects of elevated [CO₂] and N fertilization level on both C and N metabolism. Our results underline the importance of N availability in controlling the response of *Quercus robur* to elevated [CO₂], and in particular during spring growth by the way of its major effect on C storage compounds, and primarily on N storage compounds.

In response to elevated [CO₂], we found that wood density was increased for *Quercus robur* but not for *Fagus sylvatica*. We also found an opposite time course of the growth responses in these two species.

Key words :

CO₂, N fertilization, isotopes, carbon, nitrogen, C-N relationships, growth, spring growth, reserves, wood, long-term effects