

N° d'ordre : 2834

# THÈSE

présentée à

## L'UNIVERSITÉ BORDEAUX I

École Doctorale de Sciences du Vivant, Géosciences, Sciences de  
l'Environnement

par **Sylvain DELZON**

POUR OBTENIR LE GRADE DE

## DOCTEUR

SPÉCIALITÉ : **Biogéochimie de l'Environnement**

\*\*\*\*\*

### **CAUSES FONCTIONNELLES ET STRUCTURALES DU DECLIN DE PRODUCTIVITE DES FORETS AVEC L'AGE :**

**Analyse expérimentale d'une chronoséquence de peuplements de Pin maritime.**

\*\*\*\*\*

Soutenue le : 28/06/2004

Après avis de :

<b>MM.</b>	André GRANIER (DR INRA Nancy) Fédérico MAGNANI (Pr. Florence- Italie)	<b>Rapporteurs</b>
------------	--	--------------------

Devant la commission d'examen formée de :

<b>MM.</b>	Jean-Pierre RENAUDIN (Pr. Bordeaux I) André GRANIER (DR INRA Nancy) Fédérico MAGNANI (Pr. Florence- Italie) Richard MICHALET (Pr. Bordeaux I) Roland HUC (CR INRA Avignon) ..... Denis LOUSTAU (DR INRA Bordeaux)	<b>Président</b> <b>Rapporteur</b> <b>Rapporteur</b> <b>Examineur</b> <b>Examineur</b>  <b>Directeur de Thèse</b>
------------	---	---

- Année 2004 -



## **Avant propos**

Ce mémoire de doctorat en Ecophysiologie végétale de l'Ecole Doctorale de Sciences du Vivant, Géosciences et Sciences de l'Environnement de l'Université de Bordeaux I est rédigé sous forme de thèse sur publications. Ma bourse de recherches, d'une durée de trois ans, a été financée, d'une part, par l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) à hauteur de deux tiers et, d'autre part, par l'ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie) pour le tiers restant. Ces recherches ont été partie prenante du projet européen CARBO-Age n° EVK4-1999-00305 et du projet région-Aquitaine "Bilan de carbone de la forêt Landaise". Ce travail s'est déroulé au sein du Laboratoire d'Ecophysiologie et Nutrition de l'Unité de Recherches Forestières de l'INRA-Pierroton, intégré, depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2004, dans la nouvelle unité de recherches de l'INRA-Bordeaux, EPHYSE (Ecologie fonctionnelle et PHYSique de l'Environnement).



# Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mes parents, pour m'avoir constamment soutenu et laissé libre de mes choix lors de mes orientations universitaires, ainsi que pour l'équilibre qu'ils m'ont toujours apporté. Merci de tout mon cœur.

Je remercie sincèrement Denis, qui m'a fait découvrir cette passion qu'est la recherche, il y a maintenant quelques années et qui m'a transmis sa fibre scientifique. Je te remercie pour la confiance que tu m'as accordée lors de chaque nouveau défi que nous nous sommes lancés. Tu m'as laissé de grandes marges de manœuvres dans l'orientation de mes travaux de thèse, une attention dont je te suis reconnaissant.

Mitch, je ne sais comment te remercier, toi mon acolyte des virées nocturnes (potentiel de base à 3h du mat), mon acolyte d'escalade (flux de sève en nacelle ou suspendu aux échafaudages), mon acolyte du travail de terrain "prohibé" à 10h le vendredi soir, enlisé lors d'un franchissement de fossé en 4X4 sur ces beaux terrains de jeux que sont Baudes et Le Bray. Merci pour ton aide et bien plus encore...

Un grand merci à Cathy, qui en plus de son aide lors des expérimentations en laboratoire, m'a supporté pendant ces trois années de thèse. Merci pour ta bonne humeur et ta spontanéité, qui ont constamment égayées notre bureau. Je recommande vivement ma place de "coloc" à mon futur successeur.

Je voudrais également remercier l'ensemble des personnes qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail ; lors de la rédaction de ce mémoire, Rod, Annabel, Alex, Mark et Andy ; lors des interminables expérimentations de terrain, Régis, Lisa, Andy, Cédric, Eric, Fred B., Michel G., Hervé, Laurent, Bernard, Nicolas, Paul et Jean-Marc ; et lors des multiples réflexions et discussions, Pierre, Momo, Céline, Véronique, Thierry, Luc, Antoine, Fred D., Didier, Patrick. Un grand merci également à Valérie qui m'a largement facilité la vie pendant ces trois ans et Catherine pour son phrasé et son sens des mots irréprochables.

Je remercie également l'ensemble du laboratoire d'écologie des communautés de Bordeaux I, Estelle, Blaise, Manu, Thomas et plus particulièrement, Richard pour m'avoir fait confiance en me proposant des enseignements de Master, qui ont été pour moi plus qu'un grand bonheur.

J'exprime également ici ma reconnaissance aux membres du jury de thèse, Jean-Pierre Renaudin, André Granier, Federico Magnani, Roland Huc et Richard Michalet pour l'intérêt qu'ils ont manifesté pour ce travail.

Et enfin, je ne peux finir sans une pensée romantique pour mon Dou, que j'ai rencontré un jour à l'orée d'une forêt. Merci pour ton soutien.

## Résumé

Ce travail de thèse avait pour objectif la détermination des processus physiologiques et structuraux à l'origine du déclin de la productivité primaire nette des forêts avec l'âge. Il concerne plus particulièrement les processus régulant les flux et les états hydriques dans la plante au cours de sa croissance. Nous nous sommes attachés à développer une approche expérimentale dans le cadre d'une chronoséquence de Pin maritime dans le Sud-Ouest de la France. La démarche envisagée a consisté en l'étude de plusieurs paramètres écophysologiques sur une chronoséquence constituée de quatre peuplements équiennes et monospécifiques de Pin maritime âgés de 10 à 91 ans.

Nous avons montré que la production primaire nette aérienne diminue de 60 % entre 10 ( $673 \text{ gC m}^{-2} \text{ an}^{-1}$ ) et 91 ans ( $275 \text{ gC m}^{-2} \text{ an}^{-1}$ ). Même si les effets d'un accroissement de la respiration autotrophe et d'une dérive avec l'âge de l'allocation de carbone dans la plante n'ont pas fait l'objet d'une approche quantitative, nous avons pu attribuer essentiellement ce déclin à une diminution de la production primaire brute (GPP). Nous avons démontré qu'il est expliqué à la fois par une réduction de l'indice foliaire du peuplement et une diminution de la productivité par unité de surface foliaire.

Nous avons décrit le fonctionnement hydrique de l'arbre, en phase liquide et en phase vapeur, à l'aide de paramètres intégrés résumant les limitations au transfert liées à la structure hydraulique et au fonctionnement stomatique. La conductivité hydraulique spécifique foliaire ( $K_L$ ) diminue avec l'accroissement en hauteur de l'arbre. Nous avons montré que la plante maintient son potentiel hydrique au-dessus d'une limite critique ( $-2 \text{ MPa}$ ), quelles que soient les conditions de disponibilité en eau du sol et indépendamment de son âge et de sa hauteur. Ce maintien est assuré par deux types d'ajustement. A moyen terme, le rapport surface foliaire / surface d'aubier diminue, mais cette diminution ne compense pas en totalité l'effet de la hauteur sur  $K_L$ . L'homéostasie hydrique est complétée à court terme par la régulation stomatique. Ces deux mécanismes de compensation participent au déclin de productivité aérienne.

Nous montrons par une étude comparative des capacités de photosynthèse suivant l'âge des arbres, qu'une diminution de la vitesse maximale de carboxylation foliaire pourrait s'ajouter aux processus de régulation hydraulique après l'âge de 20 ans. Dans la chronoséquence étudiée, les variations inter-peuplements de la photosynthèse sont bien expliquées par la teneur foliaire en phosphore. Ce résultat complète des observations

empiriques qui étayent l'hypothèse que la séquestration des nutriments limitants comme le phosphore dans le cas du Pin maritime pourrait aussi contribuer à l'affaiblissement de la production primaire brute avec l'âge.

En plus de leur impact sur l'assimilation du carbone de l'arbre et du couvert, le déclin de l'indice foliaire et de la conductance stomatique diminuent la transpiration du peuplement de 70 % entre les peuplements jeunes et les peuplements âgés. Cette réduction de transpiration des arbres est compensée par une augmentation de l'évapotranspiration du sous-étage : sol et strate herbacée, ce qui ne permet pas de réduire le déficit hydrique annuel du sol.

Nous concluons que les facteurs trophiques au sens large expliquent la plus grande part de l'évolution de la productivité d'un peuplement de Pin maritime entre la régénération et la fin de la révolution forestière.



# Sommaire

- Chapitre 1.** Problématique, concepts et cadre d'étude
- Chapitre 2.** Radial profiles of sap flow with increasing tree size in maritime pine. *Tree Physiology* (in press).
- Chapitre 3.** Hydraulic responses to height growth in maritime pine trees. *Plant, Cell & Environment* (in press).
- Chapitre 4.** Age-related decline in stand water use: sap flow and transpiration in a pine forest chronosequence. *Agricultural and Forest Meteorology* (accepted).
- Chapitre 5.** Temperature response of parameters of a biochemically based model of photosynthesis. I. Seasonal changes in mature maritime pine (*Pinus pinaster Ait.*). *Plant, Cell & Environment* (published).
- Chapitre 6.** Variation of photosynthetic capacity across a chronosequence of maritime Pine correlates with needle phosphorus concentration. *Annals of Forest Science* (submitted).
- Chapitre 7.** Synthèse
- 
- Annexes I.** Ogee J., Brunet Y., Loustau D., Berbigier P. & Delzon S. (2003) MuSICA, a CO<sub>2</sub>, water and energy multilayer, multileaf pine forest model: evaluation from hourly to yearly time scales and sensitivity analysis. *Global Change Biology* 9, 697-717.
- Annexes II.** Posters



# Liste des Abréviations

Symbole	Définition	Unité
$\alpha$	Rendement quantique de la photosynthèse	mol e <sup>-</sup> mol <sup>-1</sup> photon
$\gamma$	Constante psychrométrique	Pa C <sup>-1</sup>
$\Delta$	Discrimination isotopique du carbone	‰
$\delta^{13}C$	Composition isotopique du carbone de l'échantillon étudié	‰
$\delta^{13}C_a$	Composition isotopique du carbone de l'air	‰
$\Delta\Psi_{S-L}$	Différence de potentiel hydrique entre le sol et les feuilles	MPa
$\Delta W_a$	Accroissement en biomasse aérienne	gC m <sup>-2</sup> an <sup>-1</sup>
$\theta$	Teneur en eau du sol	kg m <sup>-2</sup> ou mm
$\lambda$	Chaleur latente de vaporisation	J kg <sup>-1</sup>
$\mu_w$	Potentiel chimique	J mol <sup>-1</sup>
$\mu_w^0$	Potentiel chimique de l'eau pure libre au niveau du sol	J mol <sup>-1</sup>
$\rho_a$	Masse volumique de l'air	kg m <sup>-3</sup>
$\rho_w$	Masse volumique de l'eau	kg m <sup>-3</sup>
$\Psi_g$	Potentiel gravitationnel	MPa
$\Psi_L$	Potentiel hydrique foliaire	MPa
$\tilde{\Psi}_L$	Potentiel hydrique foliaire non gravitationnel	MPa
$\Psi_{Lc}$	Potentiel hydrique foliaire critique	MPa
$\Psi_{Lm}$	Potentiel hydrique foliaire minimum	MPa
$\Psi_{Lp}$	Potentiel hydrique foliaire de base	MPa
$\tilde{\Psi}_{Lp}$	Potentiel hydrique foliaire de base non gravitationnel	MPa
$\Psi_\pi$	Potentiel osmotique	MPa
$\Psi_p$	Potentiel hydrostatique	MPa
$\Psi_S$	Potentiel hydrique du sol	MPa
$a$	Coefficient de discrimination isotopique du carbone lors de la diffusion stomatique du CO <sub>2</sub>	‰
$A_L$	surface foliaire développée	m <sup>2</sup> arbre <sup>-1</sup>
$A_L:A_S$	Ratio surface foliaire/surface d'aubier	m <sup>2</sup> m <sup>-2</sup>
$A_n$	Assimilation nette du CO <sub>2</sub> par unité de surface foliaire	μmol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
$A_{max}$	Taux maximal d'assimilation nette du CO <sub>2</sub> par unité de surface foliaire	μmol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
$A_S$	surface d'aubier à 1.3 m	m <sup>2</sup> arbre <sup>-1</sup>
$A_{S,LC}$	surface d'aubier à la base de la couronne	m <sup>2</sup> arbre <sup>-1</sup>
$b$	Coefficient de discrimination isotopique du carbone lors de la carboxylation par la RubisCo	‰

<i>C</i>	Facteur de correction pour le profil radial de flux de sève	
<i>C<sub>a</sub></i>	Concentration en CO <sub>2</sub> de l'air	μmol mol <sup>-1</sup>
<i>C<sub>i</sub></i>	Concentration en CO <sub>2</sub> de la chambre sous stomatique	μmol mol <sup>-1</sup>
<i>d</i>	diamètre de l'arbre à 1.3 m	m
<i>D</i>	Déficit de pression de saturation en vapeur d'eau de l'air	Pa
<i>d<sub>LC</sub></i>	diamètre de l'arbre à la base de la couronne	m
<i>D<sub>w</sub></i>	Infra-densité du bois	kg m <sup>-3</sup>
<i>E</i>	Transpiration	kg m <sup>-2</sup> sol j <sup>-1</sup> ou mm j <sup>-1</sup>
<i>E<sub>L</sub></i>	Transpiration par unité de surface de feuille	mmol m <sup>-2</sup> feuille s <sup>-1</sup>
ETP	Evapotranspiration potentielle	kg m <sup>-2</sup> j <sup>-1</sup> , mm j <sup>-1</sup>
ETR	Evapotranspiration réelle de l'écosystème	kg m <sup>-2</sup> sol j <sup>-1</sup> ou mm j <sup>-1</sup>
<i>g</i>	Surface terrière de l'arbre à 1.3 m (basal area)	m <sup>2</sup> arbre <sup>-1</sup>
<i>G</i>	Surface terrière à 1.3 m du peuplement (basal area)	m <sup>2</sup> ha <sup>-1</sup>
<i>g<sub>a</sub></i>	Conductance aérodynamique du couvert	mmol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
<i>g<sub>c</sub></i>	Conductance de couronne pour la vapeur d'eau	mmol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
GPP	Production primaire brute	gC m <sup>-2</sup> an <sup>-1</sup>
<i>g<sub>s</sub></i>	Conductance stomatique pour la vapeur d'eau	mmol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
<i>g<sub>sCO2</sub></i>	Conductance stomatique pour le CO <sub>2</sub>	mmol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
<i>g<sub>sref</sub></i>	Conductance stomatique pour la vapeur d'eau à <i>D</i> = 1000 Pa	mmol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
<i>h</i>	Hauteur totale de l'arbre	m
<i>H<sub>a</sub></i>	Energie d'activation	kJ mole <sup>-1</sup>
<i>H<sub>d</sub></i>	Energie de désactivation	kJ mole <sup>-1</sup>
<i>J<sub>max</sub></i>	Vitesse maximale de transport d'électron	μmol e <sup>-</sup> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
<i>K<sub>L</sub></i>	Conductance hydraulique spécifique foliaire	mol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> MPa <sup>-1</sup>
<i>k<sub>s</sub></i>	Conductivité hydraulique spécifique du xylème	mol m <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> MPa <sup>-1</sup>
LAI	Indice foliaire	m <sup>2</sup> m <sup>-2</sup>
<i>m</i>	Sensibilité de <i>g<sub>s</sub></i> au déficit de pression de vapeur de l'air	
<i>N<sub>a</sub></i>	Concentration foliaire d'azote par unité de surface foliaire	g m <sup>-2</sup>
NBP	Productivité nette du biome	gC m <sup>-2</sup> an <sup>-1</sup>
NEE	Echange net de l'écosystème	gC m <sup>-2</sup> an <sup>-1</sup>
NEP	Production nette de l'écosystème	gC m <sup>-2</sup> an <sup>-1</sup>
<i>N<sub>m</sub></i>	Concentration foliaire d'azote par unité de masse	10 <sup>-2</sup> gN g <sup>-1</sup> MS
NPP	Production primaire nette	gC m <sup>-2</sup> an <sup>-1</sup>
aNPP	Production primaire nette aérienne	gC m <sup>-2</sup> an <sup>-1</sup>
<i>P<sub>a</sub></i>	Concentration foliaire de phosphore par unité de surface foliaire	g m <sup>-2</sup>
PAI	Indice de surface de la végétation (feuillage-branche)	m <sup>2</sup> m <sup>-2</sup>
PAR	Rayonnement utile à la photosynthèse (400-700 nm)	mmol photon m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
<i>P<sub>i</sub></i>	Précipitation	kg H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> sol j <sup>-1</sup> ou mm
<i>P<sub>m</sub></i>	Concentration foliaire de phosphore par unité de masse	10 <sup>-2</sup> gP g <sup>-1</sup> MS
<i>Q</i>	Flux de photons 400-700 nm par unité de surface foliaire	μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>

$Q_s$	Densité de flux de sève	kg H <sub>2</sub> O dm <sup>-2</sup> aubier h <sup>-1</sup>
$Q_{s,ref}$	Densité de flux de sève mesurée sur les 20 mm extérieur du tronc	kg H <sub>2</sub> O dm <sup>-2</sup> aubier h <sup>-1</sup>
$R_E$	Respiration de l'écosystème	gC m <sup>-2</sup> an <sup>-1</sup>
$R_d$	Respiration mitochondriale	μmol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> feuille s <sup>-1</sup>
$R_g$	Rayonnement global incident	W m <sup>-2</sup>
$R_i$	Ratio de densité de flux de sève	
$R_n$	Rayonnement net disponible	W m <sup>-2</sup>
$R_{na}$	Rayonnement net absorbé par le couvert	W m <sup>-2</sup>
$s$	Pente de la relation entre la pression de saturation en vapeur d'eau et la température de l'air	Pa K <sup>-1</sup>
SLA	Surface massique foliaire	m <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup>
$T_a$	Température de l'air	°C
$u$	Vitesse horizontale de vent	m s <sup>-1</sup>
$V_{cmax}$	Vitesse maximale de carboxylation	μmol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
$V_w$	Volume molaire de l'eau 18.05*10 <sup>-6</sup> m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> à 20°C	m <sup>-3</sup> mol <sup>-1</sup>
$W_a$	Concentration en vapeur d'eau de l'air	mmol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
$W_c$	Teneur relative en eau du bois	
$W_i$	Concentration en vapeur d'eau des espaces intercellulaires	mmol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>



## CHAPITRE 1

---

Problématique, concepts et cadre d'étude





## CHAPITRE 1

### SOMMAIRE

<b>1. INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>2. LE DECLIN DE PRODUCTIVITE DES FORETS AVEC L'AGE</b> .....	<b>4</b>
2.1. Définitions .....	4
2.2. Mise en évidence .....	5
2.3. Cas du Pin maritime dans les Landes de Gascogne .....	9
2.4. Analyse et décomposition du déclin de productivité .....	11
<b>3. LES HYPOTHESES AVANCEES POUR EXPLIQUER LE DECLIN DE PRODUCTIVITE</b> .....	<b>13</b>
3.1. Augmentation de la respiration .....	13
3.2. Diminution de la disponibilité des nutriments .....	16
3.3. Augmentation des contraintes hydrauliques .....	17
3.4. Sénescence .....	21
3.5. Augmentation des coûts de la reproduction .....	22
3.6. Augmentation de la mortalité .....	23
<b>4. OBJECTIFS DE CE TRAVAIL</b> .....	<b>25</b>
<b>5. CADRE THEORIQUE</b> .....	<b>28</b>
5.1. L'état hydrique de la plante .....	28
5.2. Le flux d'eau dans l'arbre.....	31
5.3. Conductance et Conductivité Hydraulique .....	35
5.4. Efficience d'utilisation de l'eau et discrimination isotopique du carbone .....	40
5.5. L'assimilation du carbone.....	44
<b>6. CADRE D'ETUDE</b> .....	<b>49</b>
6.1. Le Pin maritime et la Forêt Landaise .....	49
6.2. La chronoséquence étudiée .....	51
6.3. Approches expérimentales .....	52



# 1. INTRODUCTION

Il est bien connu par les forestiers et les écologues que la croissance des forêts change en fonction de leur âge. Cette croissance, initialement lente, augmente avec le développement de la surface foliaire, avant d'atteindre un seuil, pour enfin décroître après la fermeture de la canopée. Ces changements sont fondamentaux en biologie forestière et en sylviculture. Ils affectent directement l'économie du bois de production et notamment le déclin de croissance, qui affecte la durée de révolution. Plus récemment, l'étude du cycle global du carbone a conduit des scientifiques à effectuer des recherches portant sur les flux de carbone en forêt. Par la suite, celles-ci les ont amenés à s'intéresser en particulier à l'évolution de ces flux en fonction de l'âge de la forêt. Ces changements de croissance, ou de flux de carbone, liés à l'âge sont fondamentaux pour comprendre, (i) si les forêts sont des sources ou des puits de carbone, (ii) si le passage d'un vieux à un jeune peuplement, ou si le raccourcissement de la durée de révolution influencent le stockage de carbone.

Actuellement, nous savons qu'environ un tiers des émissions annuelles de CO<sub>2</sub> d'origines anthropiques est fixé par la biosphère terrestre (Keeling et al. 1996). D'après Ciais et al. (1995) et Tans et al. (1990), le puits majeur de carbone terrestre se trouverait dans l'hémisphère Nord, mais la taille exacte et la distribution longitudinale de ce puits demeurent très incertaines (Gurney et al. 2002). Or, sachant que les forêts renferment 90 % du carbone organique des écosystèmes continentaux et représentent 65 % du NPP terrestre (Schlesinger 1991), on comprend mieux l'importance et l'intérêt du déclin de NPP en fonction de l'âge de la forêt, pour le budget global du carbone. C'est dans ce contexte que, depuis une dizaine d'années, de nombreuses études se sont intéressées à la dynamique intra- et inter-annuelle du carbone dans les forêts européennes. Valentini et al. (2000) ont conclu que les flux de CO<sub>2</sub> des forêts européennes varient d'un puits de carbone de 6.6 tC ha<sup>-1</sup> an<sup>-1</sup> à une source de 1 tC ha<sup>-1</sup> an<sup>-1</sup> en fonction de la latitude. Le résultat majeur provenant de ces études est l'estimation entre 0.17 et 0.35 Gt(C) par an du puits de carbone de la forêt européenne (Martin 1998). Cependant, ces estimations sont basées sur des mesures effectuées sur des forêts d'âge moyen et ne prennent donc pas en compte les variations de flux le long d'une révolution forestière et encore moins des phases de perturbation, comme les coupes rases. Or, dans un écosystème forestier, le carbone se trouve dans la biomasse vivante et dans la matière organique morte ou en décomposition de la litière et du sol. Ces « réservoirs » de carbone ne sont pas stables et

évoluent en fonction du stade de développement de la forêt. La production nette d'un écosystème forestier donné (NEP) varie en fonction des conditions climatiques (qui ont une incidence sur les taux d'absorption et de libération du CO<sub>2</sub>), mais elle dépend aussi, dans une large mesure, du stade de développement du peuplement et de son histoire (Law et al. 2001). De plus, à l'échelle du paysage (biome), une forêt est une mosaïque composée de nombreux peuplements forestiers d'âges différents (écosystèmes individuels). A cette échelle, le bilan net du carbone représente la somme de celui de tous les écosystèmes du paysage. Les changements dans l'accumulation nette de carbone, à l'échelle du paysage, ont donc deux composantes : les changements de la productivité des écosystèmes, avec des variations environnementales, et les changements dans la répartition des classes d'âges, associés aux variations du paysage en termes de mortalité et de recrutement. L'évolution de ce stock de carbone dans les forêts européennes a été estimée lors d'une étude utilisant des modèles basés sur des inventaires forestiers nationaux. La productivité nette du biome (NBP<sup>1</sup>) a été estimée à 70 gC m<sup>-2</sup> an<sup>-1</sup> en moyenne (Janssens et al. 2003), dont 70 % du puits était attribué à la biomasse des arbres et 30 % au sol (Liski et al. 2002; Nabuurs et al. 2003). Ce puits de carbone annuel résulte, d'une part du changement de la distribution des classes d'âges de la forêt européenne, et d'autre part du taux de prélèvement annuel qui reste inférieur à celui de la production dans la plupart des pays européens (Janssens et al. 2003). Ces résultats confirment donc que la forêt européenne est un puits de carbone, mais l'incertitude qui réside sur la valeur de ce puit est grande. L'âge des peuplements est donc un facteur d'hétérogénéité spatiale très important à l'échelle du paysage. Une meilleure quantification et compréhension des causes du déclin de productivité sont donc aujourd'hui nécessaires pour estimer précisément le bilan global du carbone des forêts européennes.

Les perturbations constituent un élément important du cycle naturel des forêts. Les incendies, les insectes ravageurs et les activités de récolte du bois modifient la structure d'âge de la forêt. Elles conditionnent ainsi sa capacité à séquestrer le carbone. La récolte des peuplements âgés entraîne la perte du carbone se trouvant stocké dans la biomasse et l'émission de plus fortes quantités de dioxyde de carbone dans l'atmosphère par la décomposition des parties résiduelles des arbres (souches, racines et rémanents de récoltes). La gestion des écosystèmes forestiers pourrait donc s'orienter vers des stratégies visant à accroître la densité des stocks de carbone présents dans les forêts, à conserver les forêts déjà

---

<sup>1</sup> Cette notion inclut les pertes de carbone autres que la respiration comme les prélèvements et le feu. (Schultze and Heimann 1998). Voir schéma p4.

en place et à accroître leur superficie. Or, une telle gestion nécessite la connaissance, (i) du temps requis pour qu'un écosystème forestier passe d'une source à un puits de carbone suite à une perturbation, (ii) et de la rapidité du déclin de productivité avec l'âge. En effet, lorsque le peuplement est âgé, il peut redevenir une source de carbone (Valentini et al. 2000).

Dans un premier temps, je donnerai une vue d'ensemble du déclin de productivité des forêts avec l'âge, afin de souligner la généralité de ce déclin pour tous les écosystèmes forestiers naturels ou gérés. Dans un second temps, je présenterai les grandes hypothèses avancées pour expliquer les causes de ce déclin. J'exposerai les résultats d'études antérieures, qui appuient ou bien réfutent certaines de ces hypothèses, afin de faire ressortir les plus probables d'entre elles, que j'aborderai par la suite lors de mon travail de thèse.



## 2. LE DECLIN DE PRODUCTIVITE DES FORETS AVEC L'AGE

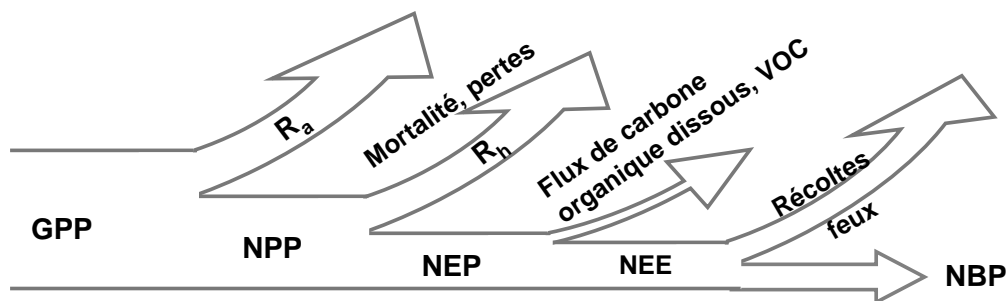
### 2.1 Définitions

Avant de recenser les différentes études portant sur le déclin de productivité, il est utile de clarifier les notions de croissance et de productivité, utilisées tout au long de ce mémoire. Premièrement, la production courante de bois, exprimée en  $\text{m}^3_{\text{bois}} \text{ha}^{-1} \text{an}^{-1}$ , est utilisée en ingénierie forestière et correspond à l'augmentation de volume de bois de tige dont le diamètre est supérieur à 7 cm. L'accroissement en biomasse aérienne ( $\Delta W_a$ ) est défini comme l'incrément net en biomasse de l'ensemble du compartiment aérien (tronc, branches et feuillage) entre deux instants. Ces deux notions sont distinctes de la production primaire nette, NPP, ( $\text{gC m}^{-2} \text{an}^{-1}$  ou  $\text{tC ha}^{-1} \text{an}^{-1}$ ). Cette dernière correspond à la différence entre la production primaire brute, GPP, (quantité de matière produite par unité de temps lors de la photosynthèse) et la quantité de matière dégradée par la respiration végétale ( $R_a$ ) (Figure 2) :

$$(1) \quad GPP = A_n + R_d$$

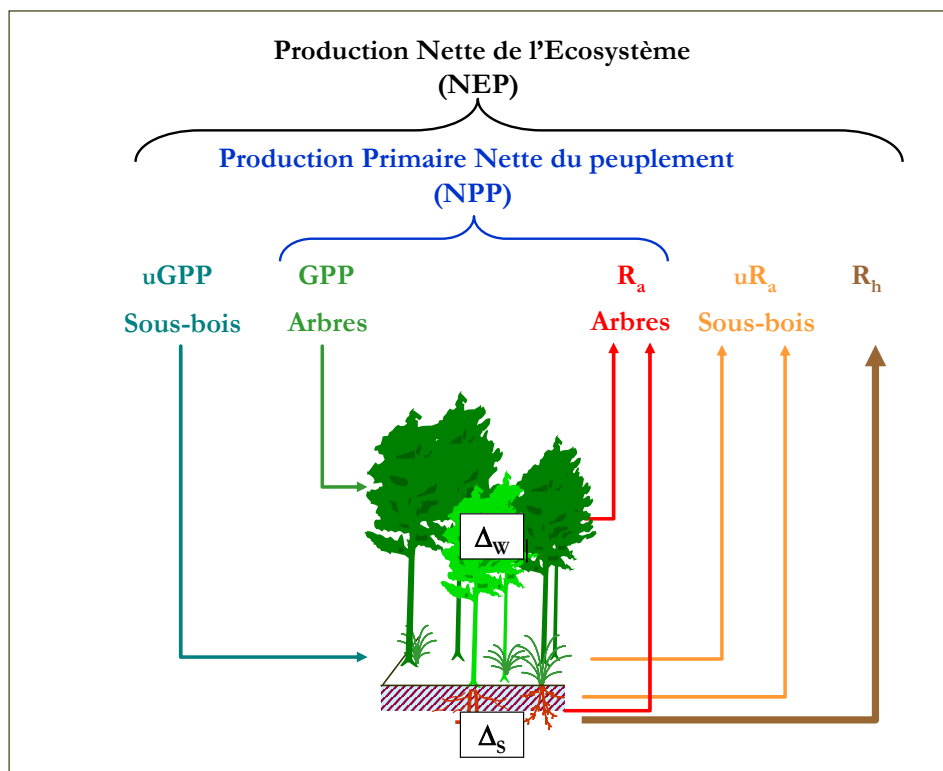
$$(2) \quad NPP = GPP - R_a = \Delta W_a + \Delta W_b + F_L + F_R + F_H$$

où  $A_n$  est la photosynthèse nette,  $R_a$  et  $R_d$  sont respectivement la respiration autotrophe et mitochondriale foliaire ( $A_n + R_d =$  photosynthèse brute),  $\Delta W_a$  et  $\Delta W_b$  les accroissements en biomasse aérienne et souterraine du peuplement ( $\text{gC m}^{-2} \text{an}^{-1}$ ),  $F_L$  la production par mortalité d'organes caducs aériens (feuilles, branches, fleurs, pollen, semences et écorce),  $F_R$  la production de racines mortes et  $F_H$  le flux de consommation par les herbivores.



**Figure 1.** Schéma décrivant les notions de productivité. NEE = Net Ecosystem Exchange et NBP=Net Biome Productivity.

NPP n'étant pas facilement mesurable, on retrouve souvent dans la littérature la notion ambiguë de production primaire nette aérienne (aNPP), mesurée comme étant la somme de l'accroissement en biomasse aérienne du peuplement ( $\Delta W_a$ ) et la chute de litière ( $F_L$ ). A l'échelle de l'écosystème, la production nette (NEP) est la différence entre le GPP et la respiration totale de l'écosystème (autotrophe et hétérotrophe). Récemment, un nouveau concept a été proposé, la productivité nette du biome (NBP). NBP correspond à la somme des productions nettes de tous les écosystèmes constituant le biome, à laquelle sont soustraites les pertes liées aux prélèvements et aux feux (Figure 1).



**Figure 2.** Schéma des flux et des stocks de carbone d'un écosystème à deux strates. NPP représente la production primaire nette du peuplement et il en est ainsi dans l'ensemble du mémoire.  $NEP = GPP + {}_uGPP - R_a - {}_uR_a - R_h = \Delta W + \Delta S$ , où,  ${}_uGPP$  et  ${}_uR_a$  représentent la production primaire brute et la respiration du sous-bois,  $R_h$  la respiration hétérotrophe,  $\Delta W$  le changement de biomasse totale de la forêt et  $\Delta S$  le changement de stock de carbone du sol.

## 2.2 Mise en évidence

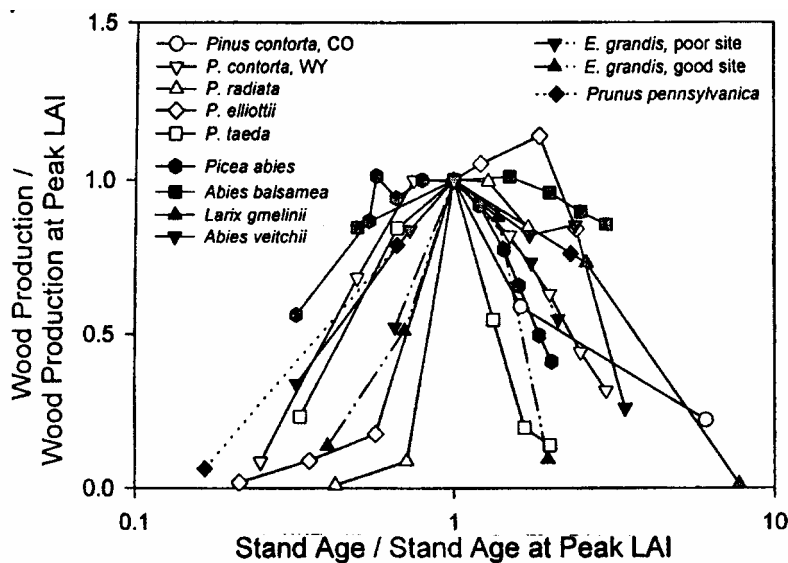
Au cours du développement et de la croissance d'un peuplement équié, la production annuelle en volume de bois de tronc augmente rapidement et atteint ensuite un plateau lorsque l'indice foliaire est au maximum (fermeture de la canopée). A la suite de ce pic de production,



le taux d'augmentation de la biomasse de la forêt diminue de façon importante (Ryan et al. 1997).

Le déclin de productivité a tout d'abord été observé lors d'études portant sur le rendement forestier (Assmann 1970; Assmann and Franz 1965; Eichhorn 1904). Ces dernières étaient basées sur des mesures de croissance en volume, effectuées dans des peuplements forestiers d'âge différent, et également sur des mesures de largeur de cernes. Ces études ont alors révélé que le taux de croissance des peuplements âgés (30 à 100 ans après le pic de production maximale) était en moyenne égal à 57 % de la valeur maximale. Grier et al. (1989) ont rassemblé des informations sur la biomasse et la croissance de 75 forêts de Douglas de la côte Nord Ouest des Etats Unis et concluent que l'accroissement courant en biomasse augmente lors des 20 premières années de la vie du peuplement, puis diminue de 20 à 50% au cours des 20 années suivantes.

Par la suite, de nombreuses études ont montré que la production primaire nette aérienne (aNPP) atteint un maximum très tôt au cours du développement de la forêt, avant de diminuer progressivement de 43 % en moyenne (Tableau 1). Ce déclin concerne tous les biomes et types forestiers. Une autre analyse, réalisée à partir de chronoséquences (Ryan et al. 1997), montre que la production courante en bois diminue après avoir atteint un pic coïncidant avec celui de la surface foliaire du peuplement (Figure 3). La production de bois des peuplements les plus âgés de la chronoséquence est environ 50% plus faible par rapport au pic de production. Il convient de souligner que la productivité d'espèces à croissance rapide diminue extrêmement tôt au cours du développement du peuplement; vers 2 ans pour l'Eucalyptus (Ryan et al. 2004) et 4 ans pour le Pin radiata (Beets and Pollock 1987).



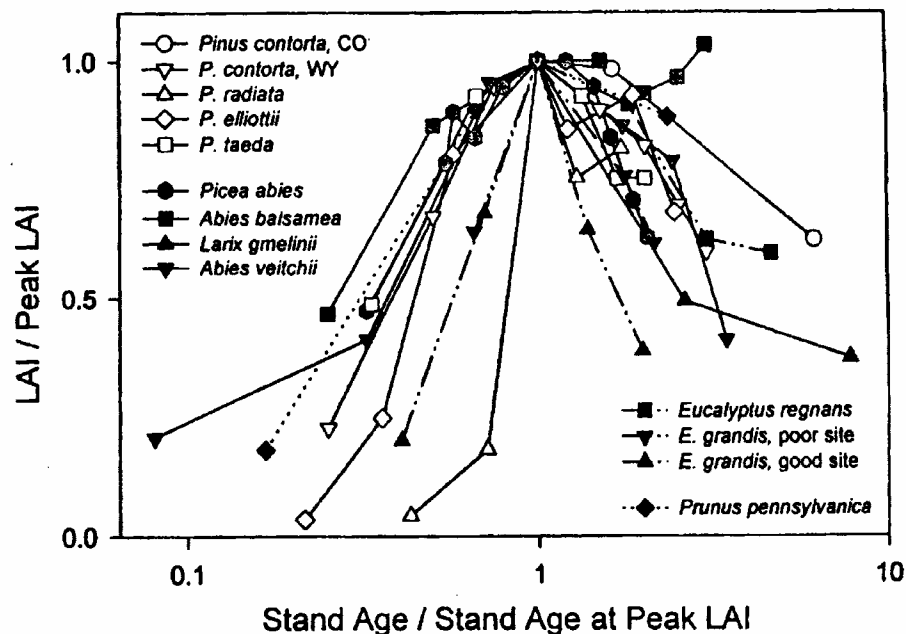
**Figure 3.** Production de bois relative par rapport à la production de bois lorsque la forêt est à son maximum de surface foliaire, en fonction de l'âge de la forêt relatif par rapport à l'âge lorsque le peuplement est à son maximum de surface foliaire. Ces données sont issues de 12 chronoséquences d'espèces forestières différentes. D'après Ryan et al. (1997).

**Tableau 1.** Production primaire nette aérienne (aNPP, gC m<sup>-2</sup> an<sup>-1</sup>) tirée d'études basées sur des chronoséquences. Celles-ci ont été classées en fonction du climat sous lequel elles se situaient.

Biome/espèces	Localisation géographique	Gamme d'âge en années (nombre de peuplements étudiés entre parenthèses)	aNPP (gC m <sup>-2</sup> an <sup>-1</sup> )		
			Maximum	Forêts âgées	Réduction (%)
<b>Boréal</b>					
<i>Larix gmelinii</i> <sup>1</sup>	Sibérie	50-380 (3)	245	120	51
<i>Picea abies</i> <sup>2</sup>	Russie	22-138 (10)	310	130	58
<b>Tempéré froid</b>					
<i>Abies balsamea</i> <sup>3</sup>	New York, USA	0-60 (6)	160	55	66
<i>Pinus contorta</i> <sup>4</sup>	Colorado, USA	40-245 (3)	105	25	76
<i>Pinus contorta</i> <sup>5</sup>	Wyoming, USA	15-260 (5)	192	92	52
<i>Pinus densiflora</i> <sup>6</sup>	Mt Mino, Japon	18-390 (7)	805	370	54
<i>Populus tremuloides</i> <sup>7</sup>	Wisconsin, USA	8-63 (5)	555	535	4
<i>Pinus grandidentata</i> <sup>8</sup>	Michigan, USA	10-70	230	175	24
<i>Pseudotsuga menziesii</i> <sup>9</sup>	Washington, USA	22-73 (4)	465	255	45
<i>Pinus sylvestris</i> <sup>10</sup>	UK	7-59 (6)	890	250	72
<i>Pinus ponderosa</i> <sup>11</sup>	Oregon, USA	9-316 (12)	323	180	44
<b>Tempéré chaud</b>					
<i>Pinus elliottii</i> <sup>12</sup>	Floride, USA	2-34 (6)	660	435	34
<i>Pinus radiata</i> <sup>13</sup>	Puruki, NZ	2-7 (6)	1460	1175	20
<b>Tropical</b>					
<i>Eucalyptus saligna</i> <sup>14</sup>	Hawaii, USA	2-6 (2)	1390	600	57
<i>Pinus caribaea</i> <sup>15</sup>	Afaka, Nigéria	5-15 (4)	960	925	4
<i>Pinus kesiya</i> <sup>16</sup>	Meghalaya, Inde	1-22 (9)	1505	1005	33
<i>Forêt tropical humide</i> <sup>17</sup>	Amazonie	1-200 (8)	660	360	45

1, (Schulze et al. 1995); 2, (Kazimirov and Morozova 1973); 3, (Sprugel 1984); 4, (Ryan and Waring 1992); 5, (Smith and Resh 1999); 6, (Nishioka 1981); 7, (Ruark and Bockheim 1988); 8, (Cooper 1981); 9, (Turner and Long 1975); 10, (Magnani et al. 2000); 11, (Law et al. 2003; Law et al. 2001); 12, (Gholz and Fisher 1982); 13, (Beets and Pollock 1987); 14, (Ryan et al. in press); 15, (Kabeda 1991); 16, (Das and Ramakrishnan 1987); 17, (Saldarriaga and Luxmoore 1991);

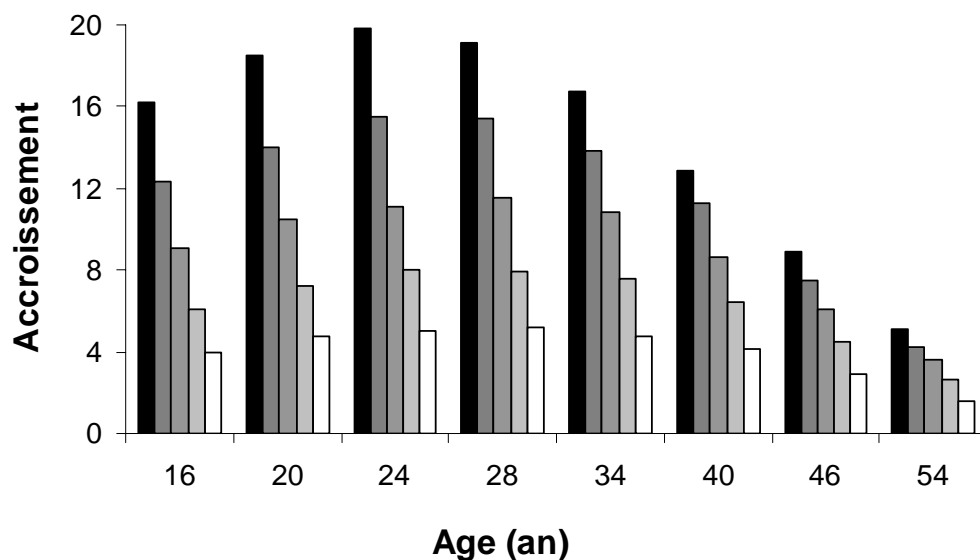
En général, la diminution de productivité coïncide avec une réduction de l'indice foliaire du peuplement, et ce déclin de surface foliaire avec l'âge semble également être un phénomène communément observé chez les peuplements forestiers. Des mesures d'indice foliaire, effectuées sur des chronoséquences d'espèces différentes (Figure 4), montrent la généralité de ce phénomène. Dans la plupart des chronoséquences, après une rapide augmentation et l'atteinte d'un maximum, un déclin de LAI est observé, sauf chez *Abies balsamea*, qui ne semble pas suivre cette tendance générale. On constate toutefois que les vitesses d'augmentation et de réduction du LAI diffèrent entre les espèces, e.g. les espèces sélectionnées pour la sylviculture intensive, comme l'*Eucalyptus* et *Pinus radiata*, atteignant leur maximum de surface foliaire plus rapidement que les autres, et se caractérisant par un déclin de LAI plus rapide. Des exceptions chez des espèces tropicales ont néanmoins été observées par Harrington and Fownes (1993, 1996) chez lesquelles le déclin de productivité ne s'accompagne pas d'une réduction de la surface foliaire du peuplement.



**Figure 4.** Indice foliaire (LAI) relatif par rapport à la valeur de LAI lorsque le peuplement est à son maximum de surface foliaire, en fonction de l'âge normalisé, en divisant par l'âge où le LAI est maximum. Ce graphique illustre des résultats obtenus sur 12 chronoséquences. D'après Ryan et al. (1997).

### 2.3 Cas du Pin maritime dans les Landes de Gascogne

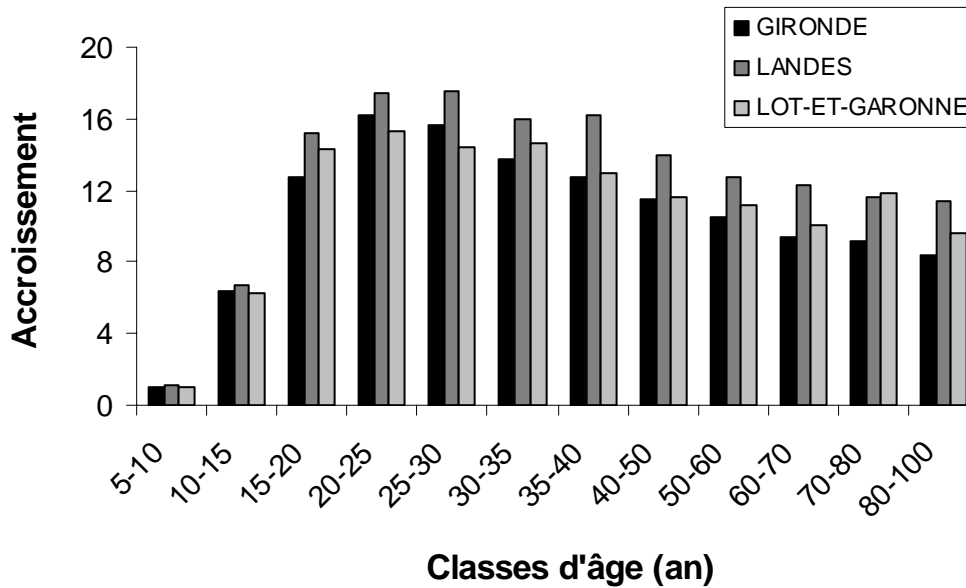
La productivité du Pin maritime est connue à travers des tables de production, établies avant les années 70 (Lemoine 1982; Lemoine and Decourt 1969). Ces tables donnent une estimation fiable de l'évolution de la productivité avec l'âge du peuplement, car elles ont été construites à partir de données exemptes d'amélioration de la sylviculture ou de dérive génétique. Elles montrent une diminution de l'accroissement courant de bois à partir de 24 – 28 ans, quel que soit l'index de fertilité du peuplement (Figure 5). Le déclin est toutefois plus marqué pour les peuplements les plus fertiles, diminuant progressivement avec la réduction de la fertilité (noir : 74 % et blanc : 68 %). Nous constatons également que les différences entre les classes d'âge (entre 24 et 54 ans) sont du même ordre de grandeur que celles observées entre les classes de fertilité à 24 ans. Ceci confirme bien que l'âge est un des facteurs majeurs de l'hétérogénéité spatiale à l'échelle de la forêt des Landes de Gascogne.



**Figure 5.** Accroissement courant de bois ( $\text{m}^3 \text{ha}^{-1} \text{an}^{-1}$ ) en fonction de l'âge du peuplement pour le Pin maritime dans le sud-ouest de la France, tiré des tables de production de (Lemoine and Decourt 1969). Chaque niveau de gris représente une classe de fertilité, le noir correspondant à la fertilité la plus élevée.

D'autre part, l'Inventaire Forestier National (IFN) a réalisé quatre cycles d'inventaires dans le Massif Landais depuis sa création en 1956. La méthode appliquée s'appuie sur une première évaluation des formations végétales et de leur importance à partir de photographies aériennes et des mesures dendrométriques des arbres *in situ* à partir d'un échantillonnage aléatoire. Nous avons utilisé ici les données d'accroissement courant de bois ( $\text{m}^3 \text{ha}^{-1} \text{an}^{-1}$ )

selon des classes d'âge de 5 et 10 ans obtenues lors du quatrième cycle d'inventaire en 1998 (Figure 6).



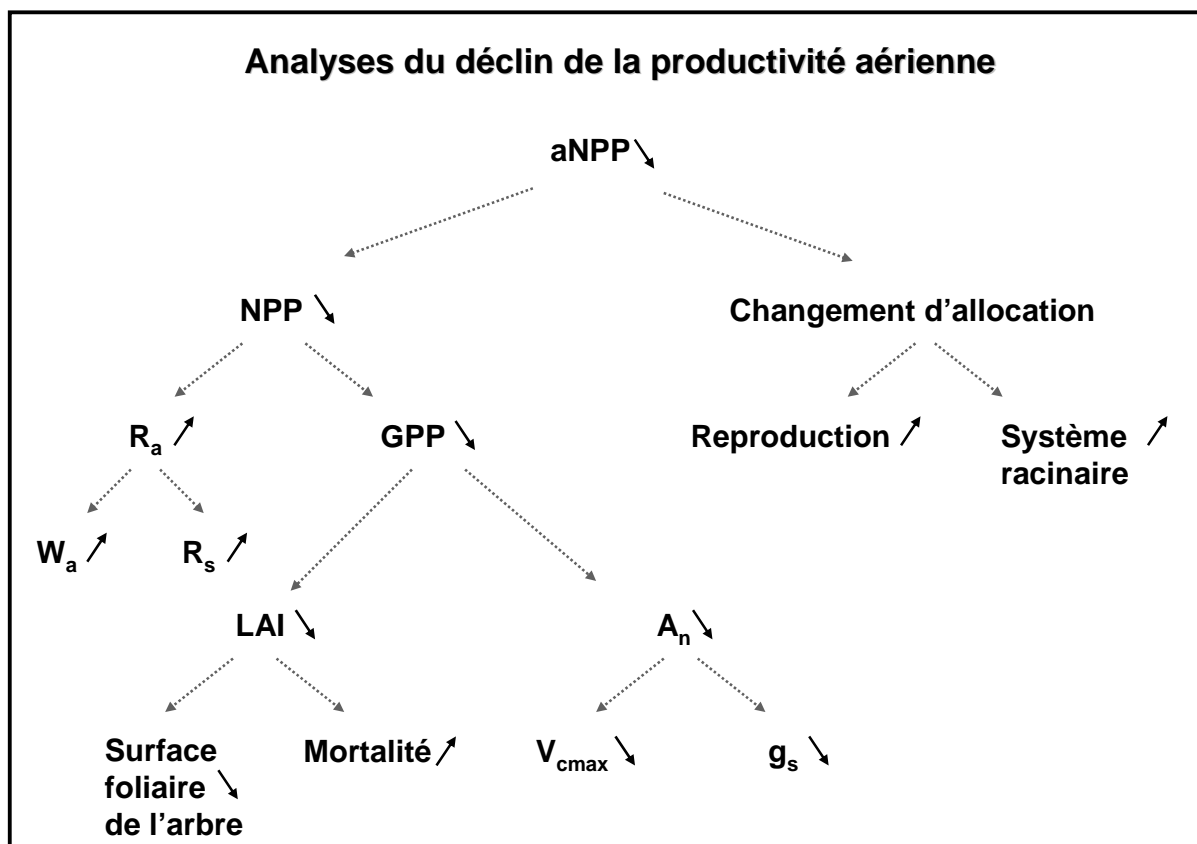
**Figure 6.** Evolution de l'accroissement courant de bois ( $m^3 ha^{-1} an^{-1}$ ) mesurée lors du 4<sup>ème</sup> cycle d'inventaires en 1998 sur les départements des Landes, de la Gironde et du Lot-et-Garonne. Ces données comprennent l'accroissement des arbres vifs sur pied, des arbres morts sur pied de moins de 5 ans et des arbres prélevés dans les 5 dernières années.

Ces données révèlent une diminution de l'accroissement de bois à partir de la classe d'âge 20-25 ans pour les départements de la Gironde et du Lot et Garonne, et 25-30 ans pour celui des Landes. L'accroissement des peuplements âgés (80 à 100 ans) est réduit de 40 % par rapport à la valeur maximale, alors que la diminution est seulement de 35 % chez les peuplements de 50-60 ans. La quantification exacte des effets liés à l'âge, à partir de ces données d'inventaire, reste toutefois contestable car l'amélioration des pratiques sylvicoles au cours des dernières années tend à accentuer le déclin observé et donc à surestimer les effets liés à l'âge du peuplement. Dans ces effets, nous englobons l'introduction de la sylviculture en ligne, la fertilisation à la plantation et la sélection génétique des pins, qui font évoluer la croissance des jeunes peuplements depuis les années 70. Toutefois, la plupart des peuplements âgés (au-delà de 50 ans) n'est pas récoltée selon le schéma classique de la sylviculture en raison de leur forte productivité (particulièrement dans le département des Landes). Ces derniers sont souvent localisés dans des stations très fertiles, divisant ainsi le graphique en deux classes de fertilité (<50 ans et >50 ans). Or, le déclin de productivité est inférieur à celui observé à l'aide des tables de production. Les données IFN, qui ne distinguent pas les classes de fertilité, me semblent moins pertinentes que les tables de production pour évaluer des effets liés à l'âge du peuplement.

En conclusion, le déclin de productivité aérienne avec l'âge du peuplement suit une tendance générale à l'échelle de la forêt des Landes de Gascogne, quel que soit le département ou le niveau de fertilité de la station. Nous avons également constaté que ce déclin de productivité des forêts, après la fermeture de la canopée, est un phénomène universel à l'échelle du globe et, à notre connaissance, aucun contre exemple n'a été observé à ce jour. Il se produit plus précocement chez les espèces forestières à croissance rapide et s'accompagne d'une réduction de l'indice foliaire. Actuellement, les mécanismes régissant ce phénomène sont mal connus et les paragraphes suivants seront consacrés à l'analyse, puis au recensement des différentes hypothèses, qui pourraient être à l'origine du déclin observé avec l'âge des forêts.

## 2.4 Analyse et décomposition du déclin de productivité

Le déclin de productivité aérienne peut être décomposé en (i) un déclin de NPP et (ii) un changement d'allocation du carbone. La Figure 7 regroupe l'ensemble des composantes impliquées à l'échelle de l'arbre et à celle du peuplement.



**Figure 7.** Schéma détaillant les différentes composantes intervenant dans le déclin de production aérienne ( $\Delta W_a$ ,  $gC\ m^{-2}\ an^{-1}$ ).  $W_a$  et  $R_s$  étant respectivement la biomasse aérienne et la respiration du sol.

Le déclin de productivité pourrait résulter d'une réduction de l'allocation au tronc. En effet, pour un NPP constant avec l'âge, un changement de l'allocation des assimilats carbonés vers le système racinaire ou les organes reproducteurs pourrait être la cause du déclin de productivité aérienne.

Par ailleurs, ce déclin peut être directement causé par une diminution de NPP avec l'âge du peuplement. En raison de l'activité méristématique prolongée et du perpétuel renouvellement des tissus, l'effet néfaste du vieillissement cellulaire ne paraît pas jouer le même rôle chez les plantes que chez les animaux (Nooden 1988). Dans le cas d'une diminution de NPP avec l'âge, l'explication semble plutôt venir du changement d'équilibre entre la photosynthèse et la respiration. En se basant sur l'équation (2), deux cas sont possibles : soit  $R_a$  augmente plus en proportion que GPP, soit GPP diminue au cours du développement du peuplement. Dans le deuxième cas, la diminution de la photosynthèse de la canopée pourrait être induite : (i) par une réduction de l'indice foliaire du peuplement, par exemple due à l'apparition de trouée suite à la mortalité d'individus, ou par des actions anthropiques ou par une réduction de la surface foliaire de l'arbre; (ii) par un taux d'assimilation foliaire plus faible chez les individus âgés, autrement dit, une diminution des performances photosynthétiques, en lien avec une réduction des capacités photosynthétiques ou une réduction de l'entrée de  $CO_2$  par fermeture stomatique.





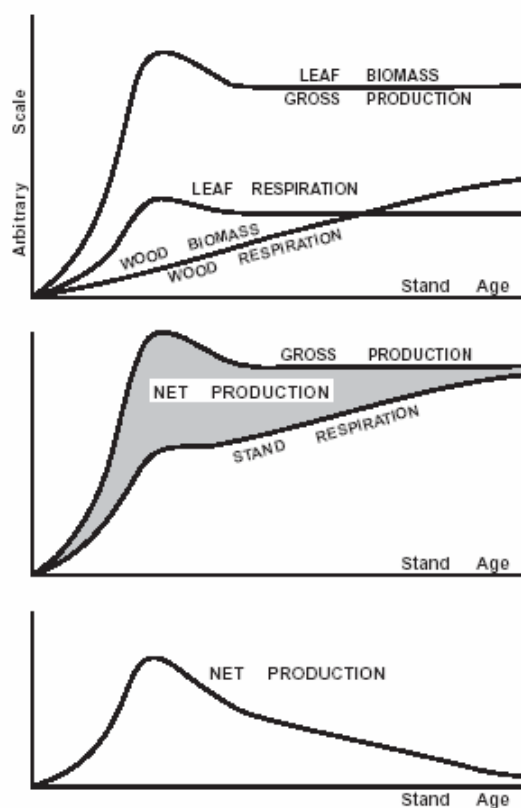
### **3. LES HYPOTHESES AVANCEES POUR EXPLIQUER LE DECLIN DE PRODUCTIVITE**

Les mécanismes responsables des phases d'augmentation et du pic de croissance sont bien connus, mais ceux à l'origine du déclin n'ont jamais été clairement mis en évidence. Toutefois, la compréhension de ce phénomène étant fondamental en écologie, en gestion forestière, ainsi que pour l'étude des cycles biogéochimiques (eau-carbone-azote), des recherches ont été menées sur les changements structuraux et fonctionnels observés après que l'indice foliaire de la forêt (LAI) ait atteint son maximum. En effet, pour prédire la croissance et la production dans différents environnements, les modèles mécanistes de croissance forestière nécessitent la connaissance de l'évolution de la surface foliaire, de la nutrition, de l'allocation du carbone et de la physiologie.

Plusieurs hypothèses ont alors été avancées pour expliquer le déclin de productivité aérienne au cours du développement du peuplement. Le déclin a longtemps été attribué à un déséquilibre du bilan de carbone de la plante dû à l'augmentation de la respiration relativement à celle de l'assimilation (Kira and Shidei 1967). Trois autres hypothèses ont été avancées plus récemment : la limitation de la biodisponibilité en nutriments (Gower et al. 1996a; Murty et al. 1996), la limitation hydraulique (Ryan and Waring 1992; Ryan and Yoder 1997; Yoder et al. 1994) et une modification physiologique du fonctionnement des méristèmes (sénescence) (Day et al. 2001). Nous débattons également de l'impact éventuel d'une augmentation des coûts de reproduction et de la mortalité des arbres.

#### **3.1 Augmentation de la respiration**

Le processus de respiration des cellules vivantes du feuillage, des racines fines et du bois d'aubier peut consommer 50 à 70 % du carbone fixé par la photosynthèse (Ryan 1991; Ryan et al. 1994). En raison de cet important coût de respiration, la première hypothèse, avancée pour expliquer un déclin de NPP, est un déplacement de l'équilibre entre la photosynthèse et la respiration (Yoda et al. 1965). Après la fermeture de la canopée, si GPP reste constant et que la respiration augmente, ou bien, si cette dernière augmente plus en proportion que GPP, alors le bilan de carbone de l'arbre ou du peuplement sera déséquilibré. L'augmentation de la respiration sera alors responsable du déclin de NPP, comme l'illustre la Figure 8.



**Figure 8.** Simulation de l'évolution de la production primaire nette du peuplement avec l'âge. Du début du développement, jusqu'à la fermeture de la canopée, le NPP et GPP augmentent parallèlement à l'indice foliaire. Par la suite, ce dernier plafonne et décline légèrement avant de se stabiliser. Lorsque le LAI et par conséquent le GPP sont stables, le NPP diminue sous l'effet de l'augmentation de la respiration. D'après Kira and Shidei (1967).

A partir des années 50, l'hypothèse d'une augmentation du taux de respiration autotrophique est avancée, en particulier par (Odum 1956) qui pensait que la respiration des plantes augmentait avec le temps jusqu'à ce que l'accumulation en biomasse approche zéro. Yoda et al. (1965) ont avancé l'idée que le rapport entre le NPP et le GPP pourrait différer entre les peuplements d'âge différent, car la biomasse foliaire reste constante alors que la biomasse de bois augmente. Par la suite, des mesures de respiration de biomasse ont été réalisées dans les forêts tempérées et tropicales et l'hypothèse d'une diminution de la production de bois due à l'augmentation des pertes de respiration lorsque la forêt accumule de la biomasse a été largement développée (Kira and Shidei 1967; Whittaker and Woodwell 1967; Yoda et al. 1965). L'accroissement de la biomasse de bois (phloème - xylème), de feuilles et de racines serait responsable de l'augmentation de la respiration d'entretien. Parmi ces tissus, les feuilles ont, et de loin, le coût de respiration le plus élevé (Ryan et al. 1994). Mais, l'hypothèse d'une augmentation de  $R_f$  est contredite par le fait que l'indice foliaire semble toujours diminuer au cours de la vie de la forêt. De même, la respiration d'entretien du

phloème saurait difficilement expliquer le déclin de productivité, car la quantité de phloème, lequel est directement proportionnel à la surface du tronc et des branches, reste stable ou décline chez les peuplements âgés (Sprugel 1984). Enfin, la supposition que la respiration des éléments vivants du xylème serait la cause première du déclin de aNPP a été réfutée par de nombreuses études. Des mesures récentes ont démontré que l'augmentation de respiration du bois n'avait qu'une faible contribution à la diminution de productivité. Elle représenterait seulement 5 à 10 % du budget annuel du carbone (Ryan et al. 1995; Ryan and Waring 1992) et n'augmenterait quasiment pas après la fermeture de la canopée (Ryan and Waring 1992). Murty et al. (1996) ont conclu que la différence d'allocation à la respiration, entre des peuplements d'âge moyen et des peuplements âgés, était insuffisante pour expliquer le déclin de productivité observé. De plus, dans une chronoséquence de *Pinus contorta*, la respiration d'entretien du bois augmente de  $18 \text{ g C m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$  entre un peuplement de 40 et un peuplement de 245 ans alors que la production de bois et le coût associé de respiration diminuent de  $164 \text{ g C m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ . Dans les peuplements âgés, le plus faible taux de respiration associée à la croissance compenserait largement la modeste augmentation de respiration d'entretien.

Ces conclusions sont contredites par des études récentes, utilisant l'outil de modélisation et portant sur la respiration du bois (Magnani et al. 2000; Makela and Valentine 2001). En effet, Magnani et al. (2000) ont mis en évidence une augmentation de la respiration d'entretien chez le Pin sylvestre, due aux augmentations simultanées de la biomasse de bois et de la biomasse de racines fines. Cette augmentation non négligeable de la respiration explique 12 % du déclin de productivité dans leur chronoséquence. Hunt et al. (1999), à l'aide d'un modèle à l'échelle du peuplement, ont conclu que le déclin de productivité chez *Abies balsamea*, était dû à une augmentation de la respiration, augmentant le ratio respiration / photosynthèse chez les peuplements âgés. Malgré cela, l'augmentation de la respiration ne peut contribuer, au mieux, que partiellement au déclin de productivité (12% chez le Pin sylvestre). Mais, il paraît cependant peu probable qu'elle l'explique dans sa totalité. Dans les paragraphes suivants, deux hypothèses alternatives soulevées par Gower et al. (1996a) et Ryan and Yoder (1997), seront développées : tout d'abord, une diminution de la biodisponibilité des nutriments chez les forêts âgées en raison de la séquestration des nutriments dans la biomasse ou le compartiment détritique, puis une baisse de la photosynthèse due à une diminution de la conductance stomatique chez les grands arbres.

### 3.2 Diminution de la disponibilité des nutriments

Cette seconde hypothèse, expliquant le déclin de productivité, repose sur une diminution de l'absorption des nutriments au cours du développement de la forêt, généralement de l'azote qui est un des facteurs les plus limitants de la croissance des arbres. Au cours du développement du peuplement, cette réduction peut résulter de deux causes : soit la quantité totale de nutriments dans les sols diminue, soit leur disponibilité change.

Le pool de nutriments séquestré dans la biomasse des arbres augmente avec l'accumulation de biomasse, diminuant ainsi la quantité de nutriments disponibles dans le sol. De plus, les taux de minéralisation et de nitrification diminuent durant la deuxième succession (Vitousek et al. 1989). Ce déclin est fortement contrôlé par le taux de décomposition de la litière, lequel est directement affecté par les conditions environnementales et les caractéristiques physicochimiques de la litière elle-même. Un des effets liés à l'âge de la forêt est la diminution progressive du rapport feuille/bois de la litière avec le développement de la forêt (Landsberg and Gower 1997). Les feuilles ayant un ratio C/N faible, contrairement à celui du bois, ce phénomène induit un changement de la qualité de la litière. Un deuxième effet lié à l'âge semble provenir de l'accumulation de bois dans la litière, induisant une décomposition plus lente, due à un rapport surface/volume plus faible comparé à celui de la litière fine. La réduction de la qualité de la litière, avec le développement de la forêt, augmente le taux d'immobilisation de l'azote durant la décomposition de la litière, laquelle voit sa minéralisation nette diminuer avec l'âge du peuplement (Davidson et al. 1992; Hart et al. 1994). Toutefois, dans les études revues par Ryan et al. (1997), aucune tendance claire n'a été observée entre la disponibilité en nutriments et l'âge de la forêt. Pour des forêts de *Pinus contorta*, la quantité de nutriments est à la fois élevée chez les jeunes (<50 ans) et les vieux peuplements (>200 ans) alors que cette dernière était plus faible pour des peuplements intermédiaires (Binkley et al. 1995; Olsson et al. 1998; Ryan and Waring 1992).

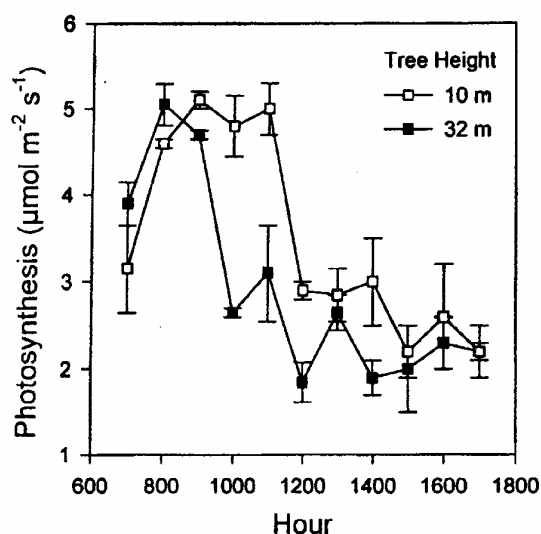
La ressource en nutriments est souvent liée au NPP (Miller 1984; Nadelhoffer et al. 1985; Waring and Schlesinger 1985) et le changement des ressources en nutriments affecte généralement le NPP (Giardina et al. 2003; Gower et al. 1992; Ryan et al. 2004). La diminution d'azote disponible au cours du développement de la forêt affecte défavorablement la photosynthèse et la surface foliaire de l'arbre. Ce phénomène induit une réduction de l'interception de la lumière et du GPP (McMurtrie 1994). Une réduction de la teneur foliaire en azote entraîne inévitablement une diminution des capacités photosynthétiques de l'arbre car, généralement, la quantité de RubisCO présente dans les feuilles s'en trouve affectée

(limitation biochimique). La limitation azotée peut également induire un changement de l'allocation de la biomasse dans l'arbre. En effet, l'hypothèse d'une allocation préférentielle dans les parties racinaires, comme conséquence directe d'un appauvrissement de la disponibilité des nutriments dans le sol, a été avancée par Gower et al. (1992), Haynes and Gower (1995) et Murty et al. (1996). L'allocation de carbone à la partie racinaire représente entre 30 et 70 % du NPP d'après Gower et al. (1996b) et 61 % du GPP d'après Law et al. (1999). Ces valeurs démontrent que des changements d'allocation vers le système racinaire, au détriment de la partie aérienne, peuvent jouer un rôle important dans le déclin de productivité aérienne (Magnani et al. 2000). Les facteurs qui contrôlent directement l'allocation des assimilats carbonés à l'échelle de l'arbre sont méconnus. Ces facteurs peuvent être des régulations physiologiques, biochimiques et génétiques (Cannell and Dewar 1994; Gower et al. 1995), la compétition entre les arbres (Nilsson and Albrektson 1993) et le stress lié au vent (Dean 2001; Nicoll and Dunn 2000). La production de racine et le rapport d'allocation entre les parties aériennes et souterraines changent avec la fertilité du site (Commeau and Kimmins 1989; Keyes and Grier 1981) ou la fertilisation (Gower et al. 1992; Haynes and Gower 1995) et les ressources en eau (Cannell and Dewar 1994). La production de racines fines est difficile à mesurer, et de ce fait, beaucoup d'études ne prennent pas en compte la production et la respiration d'entretien de ces racines (Ewel and Gholz 1991). Très peu d'études se sont intéressées aux effets de l'âge sur la production racinaire ou l'allocation du carbone, et de grandes incertitudes demeurent dans ce domaine.

### **3.3 Augmentation des contraintes hydrauliques**

L'appareil vasculaire, les vaisseaux et les trachéides, sont sensibles à la cavitation, qui peut se produire l'hiver (succession de gel dégel) ou lors de période de sécheresse (embolie estivale). C'est cette dernière qui nous intéresse plus particulièrement. Elle se produit lorsque la tension xylémienne augmente et dépasse un certain seuil de résistance, qui diffère selon les espèces. La vulnérabilité du xylème à la cavitation constitue donc une limite fonctionnelle, qui est fréquemment atteinte en période de sécheresse. Cette limite semble associée avec une régulation stomatique qui, comme nous le verrons, peut avoir un coût pour la plante. Dans sa synthèse bibliographique sur les relations hydriques chez les plantes, Passioura (1982) a remarqué que la conductance hydraulique de la plante entière était souvent variable, alors que

le potentiel hydrique foliaire restait constant pour une large gamme de transpiration. (Whitehead et al. 1983) ont par la suite constaté, sur des jeunes plants de *Pinus radiata* sous différents déficits de pression de vapeur de l'air, que le potentiel hydrique minimum était conservé indépendamment du taux de transpiration. Ce phénomène d'homéostasie a également été observé chez le Pin maritime par Loustau et al. (1996) et Loustau et al. (1990). Sperry et ses collaborateurs ont montré que les stomates pourraient se fermer pour maintenir un potentiel hydrique en deçà d'un seuil critique, qui entraînerait de la cavitation xylémienne (Comstock 2002; Sperry et al. 1993; Sperry and Pockman 1993). Par ailleurs, différentes études ont démontré que la conductance hydraulique diminue avec la hauteur et la longueur des branches (Hubbard et al. 2002; Mencuccini and Grace 1996a, b; Tyree 2003; Waring and Sylvester 1994). Or, si la conductivité hydraulique diminue chez les grands arbres et que ces derniers maintiennent une homéostasie hydrique fonctionnelle, conservant un potentiel hydrique constant, alors la conductance stomatique, le flux d'eau et la photosynthèse devront être réduits, ou bien un ajustement de l'allométrie de la plante devra avoir lieu (e.g. augmentation de la perméabilité du xylème).

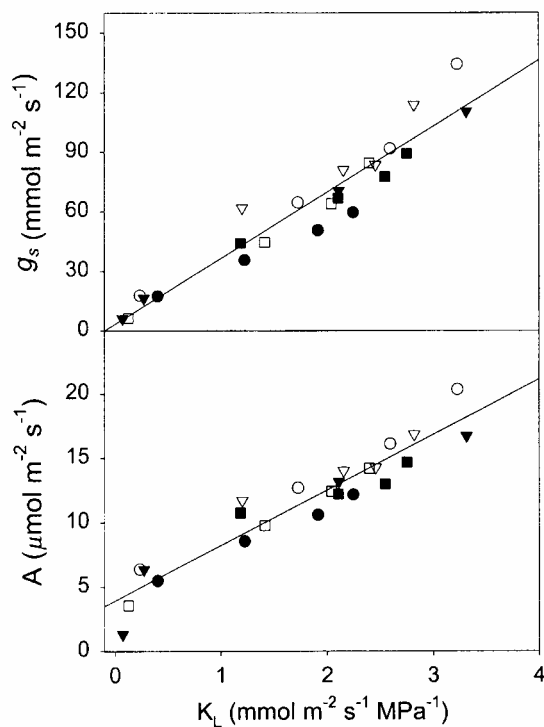


**Figure 9.** Cinétique journalière de la photosynthèse foliaire, mesurée sur des Pins de 55 ans (10 m) et de 229 ans (32 m) (*Pinus ponderosa*). Les feuilles échantillonnées étaient âgées d'un an et provenaient de la partie supérieure de la canopée. D'après Yoder et al. (1994).

Certains chercheurs ont donc étudié l'évolution de la photosynthèse en fonction de l'âge de l'arbre, mettant ainsi en évidence une diminution de celle-ci par unité de surface foliaire. Yoder et al. (1994) ont montré des évolutions journalières différentes de la photosynthèse entre de jeunes et vieux arbres chez deux espèces de conifères (*Pinus ponderosa* et *Pinus contorta*) alors que leurs capacités de photosynthèse ne semblaient pas

différentes ( $A_{\max}$  et  $N_a$  identiques) Figure 9). Hubbard et al. (1999) et Kolb and Stone (2000) ont par la suite confirmé ces résultats, en montrant que la conductance stomatique et la photosynthèse des pins âgés avaient des taux significativement inférieurs à celles des pins jeunes. Kull and Koppel (1987) avaient mis en évidence une diminution similaire de la photosynthèse avec l'âge de l'arbre chez *Picea abies*. Dans la plupart de ces études, les auteurs ont remarqué que le taux maximal de photosynthèse n'était pas affecté par l'âge et ont attribué les modifications de la cinétique journalière de la photosynthèse à une fermeture stomatique plus précoce au cours de la journée.

Par la suite, Bond (2000) et Ryan and Yoder (1997) ont avancé que la limitation hydraulique était la cause la plus vraisemblable pour expliquer la diminution de productivité, en proposant que la hauteur pourrait réduire la capacité des grands arbres à transporter l'eau jusqu'aux feuilles. Nous savons effectivement que, lors de la croissance en hauteur de l'arbre (longueur du tronc et des branches), la longueur du xylème entre les racines et les feuilles augmente et la complexité de la structure hydraulique s'accroît, diminuant ainsi la conductivité hydraulique. Cette hypothèse prédit, qu'en réponse à la diminution de conductivité hydraulique sol-feuille avec la croissance en hauteur de l'arbre, la conductance stomatique réduit le flux d'eau xylémien dans le but d'éviter des potentiels hydriques foliaires extrêmes et de la cavitation. Le fonctionnement stomatique maintiendrait une homéostasie fonctionnelle (Saliendra et al. 1995; Yoder et al. 1994), mais induirait, en retour, une baisse de photosynthèse et de la transpiration en limitant la diffusion du  $\text{CO}_2$ , quand l'arbre approche de sa taille maximale (Ryan et al. 2000; Schafer et al. 2000). Le lien entre la conductance stomatique et la conductance hydraulique du système vasculaire de l'arbre a été mis en évidence par de nombreuses études (Cochard et al. 1996; Hubbard et al. 2001; Sperry et al. 1993; Sperry and Pockman 1993; Whitehead 1998; Whitehead et al. 1996) (Figure 10).



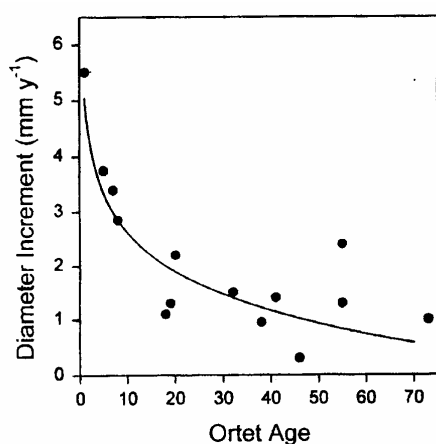
**Figure 10.** Evolution de la conductance stomatique ( $g_s$ ), et de l'assimilation ( $A$ ), en fonction de la conductance hydraulique spécifique foliaire ( $K_L$ ). La gamme de conductance hydraulique a été obtenue en injectant de l'air sous pression dans le rameau. D'après Hubbard et al. (2001).

En outre, d'autres mécanismes dits de compensation, en dehors d'une régulation stomatique, peuvent augmenter la capacité de transport d'eau de l'arbre par rapport à sa surface foliaire totale (Becker et al. 2000; Ryan and Yoder 1997). Ces ajustements hydrauliques peuvent s'exprimer à travers plusieurs mécanismes, (a)- la diminution du rapport surface foliaire-surface conductrice (Becker et al. 2000), (b)- la production de trachéides xylémiens de plus grande perméabilité (Pothier et al. 1989b), (c)- l'augmentation de la capacité de stockage d'eau dans le tronc (Becker et al. 2000), et (d)- l'augmentation de l'allocation des ressources vers les fines racines (Magnani et al. 2000). Ces compensations restent généralement insuffisantes pour contrecarrer la diminution de conductivité engendrée par l'augmentation de hauteur (Mencuccini and Magnani 2000). Ce phénomène a notamment été observé chez *Pinus ponderosa* où les arbres de grande taille avaient une conductance stomatique plus faible par rapport aux jeunes arbres de petite taille du même peuplement (Bond and Ryan 2000; Hubbard et al. 1999; Yoder et al. 1994).



### 3.4 Sénescence

La contribution de possibles changements génétiquement programmés au déclin de productivité est relativement peu documentée. Des changements morphologiques et physiologiques importants, incluant les capacités photosynthétiques, ont été décrits pour un grand nombre d'espèces entre le stade juvénile et le stade adulte. Ils ont été attribués à la compétition pour la croissance et la survie (Greenwood 1984; Greenwood and Hutchinson 1993; Hackett 1985; Rebbeck et al. 1992). De nombreux auteurs ont identifié différentes expressions de gènes lors de ce passage, et ont attribué les évolutions morphologiques et physiologiques (ontogénèse) à des modifications génétiquement programmées (Emebiri et al. 1998; Hutchison et al. 1990; Woo et al. 1994). Toutefois, le passage de l'état adulte à l'état de sénescence ne se manifeste pas par l'apparition de marqueurs, comme pouvait l'être, l'apparition des compétences reproductrices lors de changement de phase juvénile/adulte (Bond 2000). Le concept de changement continu a alors été avancé par Richardson et al 2000, lors de leur étude sur l'évolution de la morphologie foliaire avec l'âge.



**Figure 11.** Accroissement en diamètre de pousses greffées en fonction de l'âge de l'arbre parent. D'après (Greenwood and Hutchinson 1993).

Les effets de la sénescence se manifestent en particulier dans les expériences de greffage de rameaux provenant d'arbres d'âge différent. La persistance de caractères matures indique alors que la sénescence implique des modifications physiologiques au niveau des méristèmes (Greenwood and Hutchinson 1993). Des modifications de la morphologie des feuilles ont été observées chez *Picea abies* (Kull and Koppel 1987) et *Picea sitchensis* (Steele et al. 1989). De plus, un contrôle génétique (sénescence) pouvant s'observer au niveau de

caractères mesurables, notamment au niveau du fonctionnement biochimique de l'arbre, a déjà été avancé par plusieurs auteurs comme étant à l'origine du déclin de productivité des arbres (Greenwood and Hutchinson 1993). Une étude plus récente sur l'évolution de la morphologie et des échanges gazeux foliaires de *Picea rubens* a apporté des informations supplémentaires, grâce à des greffes de pousses issues de cohortes de 60 et 120 ans, réalisées sur des rhizomes juvéniles (Day et al. 2001). Chez les arbres parents et les greffons, la surface massique et le taux de photosynthèse avec l'âge diminuent significativement, mais aucune différence de conductance stomatique n'a été détectée. Les auteurs concluent que la diminution de photosynthèse foliaire est à l'origine du déclin de productivité chez les vieux arbres et que ces changements sont inhérents aux méristèmes.

L'expression génétique peut donc changer avec l'âge des tissus et ralentir la croissance de l'arbre en hauteur et diamètre (Greenwood and Hutchinson 1993; Ritchie and Keeley 1994) (Figure 11). La décroissance spectaculaire observée dans la Figure 11, montre que la sénescence pourrait expliquer la diminution de croissance chez les arbres âgés. Cependant, Ryan et al. (1997) soulignent que la majeure partie de cette décroissance se produit au cours des premières années de la vie de l'arbre (entre 1 et 4), bien avant l'âge auquel la croissance commence à décliner. A l'heure actuelle, des preuves indirectes, à partir des études écophysiologiques (Day et al. 2001) et des preuves directes, à partir de recherches génétiques (Woo et al. 1994), suggèrent que l'expression des gènes dans les méristèmes pourrait être altérée lorsque l'arbre devient vieux. Toutefois, le développement des organes d'arbres, d'âge et de taille différents, a souvent lieu sous des conditions environnementales différentes. L'importance relative de la plasticité du développement des organes, en réponse à leur environnement direct et aux changements intrinsèques dans l'expression des gènes, reste floue.

### **3.5 Augmentation des coûts de la reproduction**

L'augmentation du coût de reproduction avec l'âge aura également pour conséquence une réduction de la production de bois. Au cours de la vie de l'arbre, si la production de pollen, de fleurs et de fruits, ainsi que la respiration qui leur est associée, augmente, il y aura nécessairement moins de carbone disponible pour la croissance. Toutefois, la fraction du GPP allouée à la respiration des fruits est généralement faible. Linder and Troeng (1981) ont mis

en évidence que la production et la respiration des cônes, dans un peuplement de Pin sylvestre de 120 ans, nécessitaient  $157 \text{ kg C ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$ , soit 10 à 15 % du carbone alloué à la production et la respiration du bois. Le taux de respiration des cônes est très faible, inférieur à 3 % de l'assimilation nette chez *Pinus contorta*, car la biomasse des cônes est relativement faible et la photosynthèse qu'ils produisent, minimise les pertes de carbone (Dick et al. 1990).

Très peu d'informations existent sur les possibles changements de l'effort de reproduction au cours du vieillissement de l'arbre. Lors d'une synthèse bibliographique, Greene and Johnson (1994) ont indiqué que la production de graines augmentait généralement avec la taille de l'arbre jusqu'à un certain diamètre (0.36 m). Chez les arbres de diamètre supérieur à 0.36 m, aucune relation n'a pu être établie en raison de la grande variabilité observée. D'autre part, la production de graines étant sporadique (Eis et al. 1965), contrairement au déclin de productivité (chapitre précédent), Ryan et al. (1997) ont conclu que le coût de reproduction pourra difficilement expliquer à lui seul, le déclin de productivité. Toutefois, Smith and Greenwood (1997) ont mis en évidence une stimulation de la production de cônes chez *Picea mariana* lors d'induction de stress hydrique. Un changement du coût de reproduction pourrait alors se produire, en réponse à l'augmentation des contraintes hydrauliques lorsque l'arbre s'approche de sa taille maximale. Cependant, si ce processus ne paraît pas jouer un rôle majeur dans le déclin de productivité, il y contribue néanmoins et la quantification précise de cet effet nécessiterait des études plus approfondies.

### 3.6 Augmentation de la mortalité

A l'échelle du peuplement, une réduction de LAI peut être la conséquence d'une augmentation de la mortalité ou des prélèvements, ainsi que de l'abrasion des couronnes par frottement (Long and Smith 1992; Putz et al. 1984). Lorsque la canopée est fermée, si la mortalité des arbres ou l'abrasion des couronnes augmentent, alors la productivité du peuplement diminuera si les survivants n'arrivent pas à combler les trouées ainsi créées. La surface foliaire étant à la fois la surface d'interception et la surface assimilatrice, toute réduction de celle-ci entraînera la diminution de photosynthèse de la canopée (Landsberg et al. 1997).

Les informations sur la mortalité sont rares dans la littérature, en raison du temps requis pour obtenir des données fiables, et son taux n'a été que rarement calculé par les tables de production. Toutefois, les quelques données existantes ne paraissent pas soutenir la thèse

d'une augmentation de la mortalité avec l'âge du peuplement, comme étant la cause principale du déclin de productivité (Perala 1971; Ryan et al. 1997). Dans les peuplements équiens, la probabilité de mortalité des arbres est même plus élevée au début de la révolution forestière, lorsque la croissance est maximale (Franklin and Hemstrom 1981; Grier et al. 1989). Néanmoins, dans les forêts à l'équilibre "old-growth forests", le taux de mortalité est égal au taux de croissance des survivants, et l'accumulation est alors nulle (Franklin and DeBell 1988; Hofgaard 1993). Ce résultat résulte de la croissance extrêmement lente dans ce type d'écosystème. Il convient également de souligner que les grands arbres sont plus sensibles aux tempêtes (Cucchi and Bert 2003), et qu'une trouée survenue à la suite de la chute d'individus de grande dimension, nécessitera un temps plus long pour la combler.

## 4. OBJECTIFS DE CE TRAVAIL

L'objectif principal de ce travail est d'explorer les causes du déclin de productivité chez le Pin maritime dans le sud-ouest de la France. Dans ce contexte pédoclimatique, le régime hydrique du sol est un des facteurs stationnels déterminant les classes de productivité. Dès lors, nos investigations vont dans un premier temps s'orienter vers l'étude expérimentale de l'hypothèse de limitation hydraulique. Dans un second temps, nous aborderons l'hypothèse d'une limitation biochimique de la photosynthèse, autrement dit une diminution des capacités photosynthétiques de l'arbre avec l'âge. Notre démarche a consisté en l'étude de plusieurs paramètres écophysologiques sur une chronoséquence constituée de quatre peuplements équiens et monospécifiques de Pin maritime âgés de 10 à 91 ans. Le Pin maritime de la Forêt Landaise, choisi comme objet d'étude, s'est confirmé comme un matériel d'étude approprié pour tester ces hypothèses, en raison de l'homogénéité des peuplements (même topographie et caractéristiques de sol), des fortes contraintes hydriques rencontrées dans cette région et des recherches déployées sur cette espèce et son fonctionnement hydrique depuis 1987.

Préalablement à toute investigation, nous nous sommes attachés à vérifier l'existence d'une chute de productivité dans la chronoséquence choisie, puis à la quantifier. Ce premier travail s'est appuyé sur des mesures dendrométriques annuelles pratiquées sur l'intégralité des arbres des quatre peuplements étudiés. L'intérêt était de vérifier si notre chronoséquence était représentative du déclin de productivité observé à l'échelle du massif landais. La réduction de surface foliaire à l'échelle du peuplement (LAI) et son impact sur le déclin de productivité seront également abordés dans cette partie.

Notre principal objectif est de tester l'hypothèse de la limitation hydraulique. Dans ce contexte, le premier point étudié est celui d'une homéostasie du potentiel hydrique foliaire, afin de connaître l'existence ou non d'un seuil critique au-delà duquel le potentiel serait maintenu grâce à des régulations physiologiques de l'arbre, comme semblent l'avoir montré les travaux précédents de Loustau et al. (1996) et Loustau et al. (1990). Le maintien du potentiel hydrique au dessus de ce seuil critique permet d'éviter des dommages occasionnés par cavitation et l'embolie des tissus conducteurs. Le deuxième point requis pour vérifier cette hypothèse, et étudié lors de ce travail, est la variation de la conductance hydraulique et du flux d'eau de l'arbre avec son âge et sa dimension. Or, cette hypothèse s'appuyant principalement sur un changement du fonctionnement stomatique avec l'âge, cette variable a été l'objet

d'investigations de terrain continues durant deux années consécutives. Pour la quantifier, trois approches indépendantes ont été utilisées : la mesure de flux de sève, la mesure des échanges gazeux et la discrimination isotopique du carbone dans la cellulose des cernes. Au regard de cet objectif, une approche à l'échelle de la plante entière, prenant en compte l'influence du sol et de l'atmosphère s'est avérée indispensable pour comprendre ces phénomènes de contrôle du transport d'eau.

Nous nous sommes appliqués à déterminer l'impact de l'effet de l'âge sur la conductance stomatique, sur l'économie de l'eau et le régime hydrique des peuplements. Le bilan annuel de la transpiration de la strate arborescente a été quantifié pour les quatre peuplements de la chronoséquence. L'objectif est ici de caractériser les effets éventuels des contraintes hydrauliques, de la régulation stomatique et de l'évolution du LAI sur la transpiration du peuplement. De plus, l'ensemble des variables micrométéorologiques, mesurées au dessus de la canopée, a permis de calculer le bilan hydrique de chaque peuplement de la chronoséquence et d'étudier les variations de l'évapotranspiration de l'écosystème le long d'une révolution forestière.

La dernière partie de ce travail consiste en l'étude comparative des capacités photosynthétiques foliaires dans cette chronoséquence. Une première expérimentation, menée en parallèle à cette étude sur le déclin de productivité des forêts, a permis d'établir les réponses à la température des paramètres du modèle de (Farquhar et al. 1980) chez le Pin maritime. Puis, ce même formalisme a été utilisé pour caractériser la capacité de photosynthèse sur les peuplements de la chronoséquence et établir le rôle d'un changement éventuel des capacités photosynthétiques avec l'âge sur le déclin de productivité.

En résumé, ce travail tente principalement de répondre à la question suivante :

Quelles sont les causes du déclin de productivité observé chez les forêts âgées ?

Pour cela les deux hypothèses que je viens de citer ci-dessus vont être testées chez le Pin maritime et discutées, en les replaçant dans le contexte général du déclin de productivité à partir de l'Eqn 1 :  $NPP = GPP - R_a$ , comme suit :

Hypothèse n°1 : NPP constant avec l'âge

Après la fermeture de la canopée, NPP reste à sa valeur maximale, mais la productivité aérienne diminue en raison d'une augmentation de l'allocation vers le système racinaire.

Hypothèse n°2 : Déclin de NPP et maintien de GPP avec l'âge

GPP reste constant jusqu'à la fin de la révolution forestière et n'est pas à l'origine du déclin de NPP.

Hypothèse n°3 : Déclin de NPP et de GPP avec l'âge

La diminution de GPP au cours de la vie de la forêt peut être induite par plusieurs processus physiologiques ou structuraux :

- (i) une réduction de l'indice foliaire du peuplement.
  
- (ii) une diminution de l'assimilation foliaire du CO<sub>2</sub>, qui peut être la conséquence :
  - a) d'une diminution de la conductance stomatique en réponse à l'augmentation des contraintes hydrauliques lorsque l'arbre s'approche de sa taille maximale.
  - b) d'un déclin des capacités photosynthétiques dû à une diminution des nutriments disponibles dans le sol et/ou à une sénescence de l'appareil photosynthétique génétiquement programmée.





## 5. CADRE THEORIQUE

### 5.1 L'état hydrique de la plante

#### 5.1.1 Le potentiel hydrique

Les états hydriques dans les plantes sont décrits, de façon pratique, par la grandeur thermodynamique qui représente l'état énergétique de l'eau aussi bien aux niveaux cellulaire, tissulaire ou de l'organe entier. Il correspond au potentiel chimique de l'eau. L'énergie d'une molécule d'eau est sous forme d'énergie liée aux atomes qui la composent et aux liaisons chimiques existant entre ses atomes. Elle peut être échangée avec son environnement sous diverses formes: mouvement, rayonnement ou réaction chimique. Cette énergie disponible pour un travail est l'énergie libre ( $\mu_w$ ), et l'état de référence dans le cas de l'eau liquide est celui de l'eau libre sous la pression atmosphérique à une position gravitationnelle et sous une température donnée ( $\mu_w^0$ ). Le terme potentiel (Gibbs 1931) se réfère à cette énergie exprimée pour une mole de molécules.

Les physiologistes des plantes utilisent communément le concept de potentiel hydrique ( $\Psi$ ) formulé par Slatyer and Taylor (1960) comme :

$$(3) \quad \Psi = \frac{\mu_w - \mu_w^0}{V_w}$$

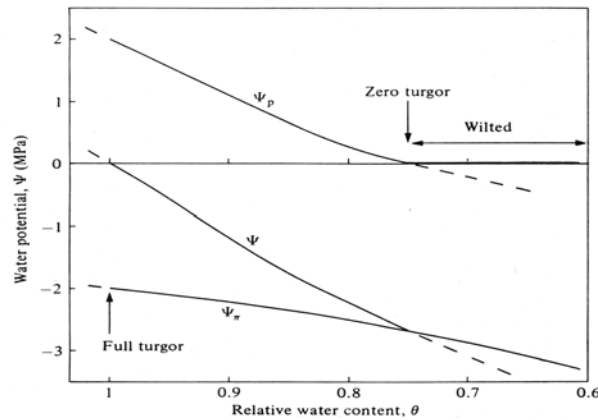
ou  $V_w$  est le volume molal de l'eau ( $= 18.05 \cdot 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1}$  à  $20^\circ\text{C}$ ). Cette définition a pour conséquence que le potentiel hydrique,  $\Psi$ , nul quand l'eau est libre, diminue vers des valeurs négatives lorsque son énergie libre décroît et se déplace depuis les fortes valeurs de potentiels hydriques vers les faibles valeurs. Le potentiel hydrique d'une plante est généralement négatif. L'unité appropriée (SI) est le pascal ( $1 \text{ Pa} = 1 \text{ N m}^{-2} = 10^{-5} \text{ bar}$ ) et le potentiel hydrique est généralement exprimé en MPa.

Le potentiel hydrique dans une plante peut être décomposé comme suit :

$$(4) \quad \Psi = \Psi_p + \Psi_\pi + \Psi_g$$

où  $\Psi_p$  est le potentiel de pression (potentiel hydrostatique),  $\Psi_\pi$  le potentiel osmotique (incluant ici le potentiel matriciel) qui peut être calculé de façon approchée par la relation de van't Hoff  $\Psi_\pi = -RTC$  où  $C$  est concentration osmolale de la solution,  $R$  est la constante des

gaz parfait,  $T$  la température en Kelvin et  $\Psi_g$  est le potentiel gravitationnel ( $\Psi_g = \rho_w g h$ , où  $\rho_w$  est la densité de l'eau,  $g$  l'accélération due à la gravité et  $h$  la hauteur au dessus du niveau du sol).



**Figure 12.** Diagramme de Höfler illustrant les relations existantes entre le potentiel hydrique ( $\Psi$ ), le potentiel de pression ( $\Psi_p$ ), le potentiel osmotique ( $\Psi_\pi$ ) et la teneur relative en eau ( $\theta$ ) d'une cellule ou d'un tissu.

Le potentiel hydrique de l'eau d'un organe donné d'une plante varie en fonction de la teneur en eau, selon le diagramme de Höfler (Fig. 4). Le potentiel osmotique est toujours négatif, alors que le potentiel de pression peut être positif (cellule) ou négatif (xylème). Le potentiel gravitationnel est toujours positif au dessus du niveau de référence, le plus souvent choisi comme le niveau du sol.

### 5.1.2 Mesure de l'état hydrique de la plante

Au sein du système conducteur de sève brute des végétaux ligneux (xylème hydroactif), la sève est généralement sous tension, sous l'effet de la transpiration, et le potentiel hydrique est donc généralement négatif.

**Le potentiel hydrique foliaire ( $\Psi_L$ )** caractérise l'état hydrique moyen d'une feuille. Il varie, au cours de la journée, en fonction du taux de transpiration. Pour caractériser le statut hydrique d'une plante, on identifie deux valeurs particulières du potentiel hydrique dans sa cinétique journalière:

- **Le potentiel hydrique de base ( $\Psi_{Lp}$ )** est le potentiel obtenu en fin de nuit, le plus souvent en condition de flux nul, lorsque le végétal est considéré en équilibre avec le sol après

une longue période sans transpiration. Ce potentiel est alors égal, en principe<sup>2</sup>, au potentiel hydrique du sol ( $\Psi_s$ ) et constitue un indicateur de la contrainte hydrique liée au contenu en eau du sol.

- **Le potentiel hydrique minimum ( $\Psi_{Lm}$ )** correspond à la valeur minimale de  $\Psi_L$  atteinte au cours de la journée (1 à 2h après le midi solaire lors d'une journée bien ensoleillée).

A la suite des travaux de Milburn et de ses successeurs (Tyree, Sperry, Cochard) sur la cavitation des vaisseaux du xylème (Cochard 1992; Tyree and Dixon 1986; Tyree et al. 1994; Tyree and Sperry 1989), une valeur critique du potentiel hydrique de la sève dans le xylème d'un organe donné a été identifiée comme étant le **potentiel foliaire critique ( $\Psi_{Lc}$ )**. Il correspond à un seuil en deçà duquel la différence de potentiel hydrique entre la colonne d'eau et l'espace interpariétal engendre la rupture de la colonne d'eau par irruption d'une bulle gazeuse. Cette embolie provoque une augmentation significative de la résistance au transfert d'eau pour l'organe entier.

### **Mesure du statut hydrique de la plante (la chambre à pression)**

Scholander et al. (1965) ont introduit la méthode de la chambre à pression, basée sur celle de Dixon (1914) et aujourd'hui communément utilisée, pour mesurer le potentiel hydrique moyen d'un organe entier. Elle consiste à placer un organe végétal à l'intérieur d'une chambre au sein de laquelle une pression pneumatique est appliquée. Cette méthode permet d'équilibrer le potentiel hydrique moyen de l'organe avec une pression pneumatique maintenant la sève brute émergente statique à la sortie de l'organe. Elle est légèrement biaisée, car elle néglige le potentiel osmotique de la sève xylémienne qui est généralement inférieur à 0.1 MPa en valeur absolue soit 0.1 à 3 % de la valeur mesurée.

Il est important de remarquer que le potentiel hydrique mesuré par cette méthode n'intègre pas le potentiel gravitationnel de la feuille. En effet, la pression mesurée avec la chambre à pression correspond au potentiel hydrique total de l'organe à une position gravitationnelle donnée. Cependant, dans le cas des arbres, la composante gravitationnelle ( $\Psi_g = \rho_w gh > 0.15$  MPa), qui n'est pas mesurée par la chambre, doit être prise en compte lors du calcul du potentiel hydrique foliaire. Le potentiel hydrique foliaire ( $\Psi_L$ ) doit donc être

<sup>2</sup> Lors de périodes de sécheresse, il est souvent observé que les végétaux de grande dimension ne sont jamais en état d'équilibre avec le sol. Le potentiel en fin de nuit ne correspond alors plus à un potentiel d'équilibre avec le sol.

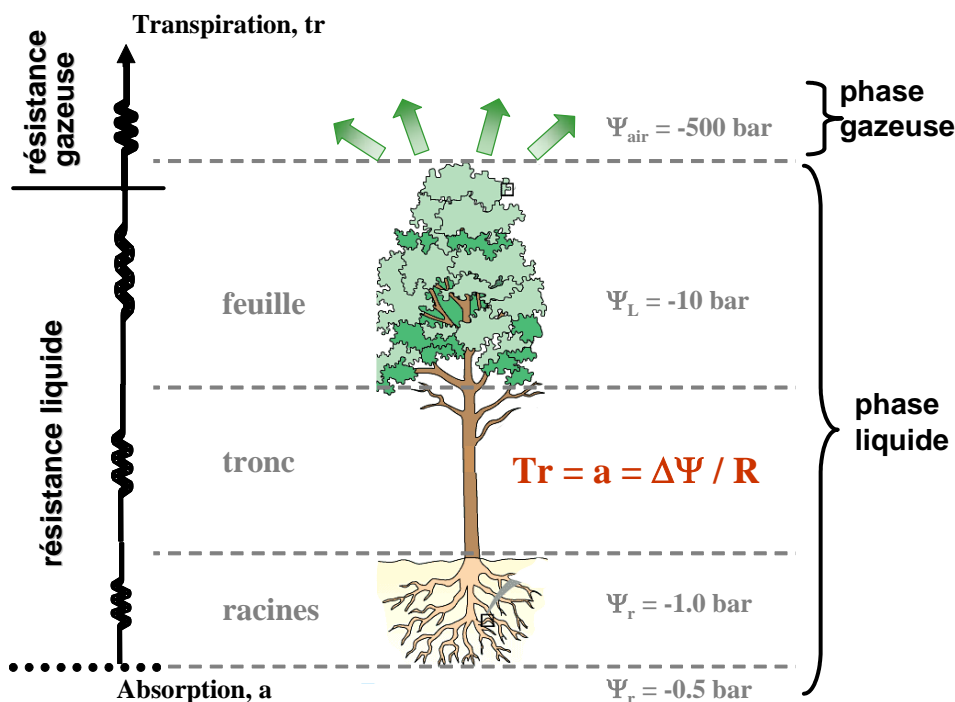
calculé à partir de la mesure obtenue avec la chambre à pression, notée  $\tilde{\Psi}_L$ , correspondant au potentiel hydrique non gravitationnel et à la hauteur de mesure,  $h$  :

$$(5) \quad \Psi_L = \tilde{\Psi}_L + \rho_w gh$$

Cette précision a une importance non négligeable lors du calcul de la conductance hydraulique, détaillé ci-dessous (IV- Conductance hydraulique).

## 5.2 Le flux d'eau dans l'arbre

Chez les plantes, la quasi-totalité de l'eau puisée dans le sol ne fait que traverser le végétal avant de s'évaporer dans l'atmosphère au niveau des feuilles. C'est la transpiration. L'énergie nécessaire au changement de phase liée à la transpiration est d'origine solaire. La vitesse de diffusion de la vapeur, depuis la feuille vers l'atmosphère, dépend de la différence de pression de vapeur entre l'air ambiant et les surfaces évaporantes internes.



**Figure 13.** Schéma du continuum sol-plante-atmosphère et représentation ohmique (van der Honert 1948) de la circulation de la sève dans la plante (D'après Cruizat and Tyree (1990) Lorsque la transpiration et l'absorption sont égales, la valeur de flux d'eau qui traverse l'arbre est donnée par le rapport de la différence de potentiel entre le sol et les feuilles.

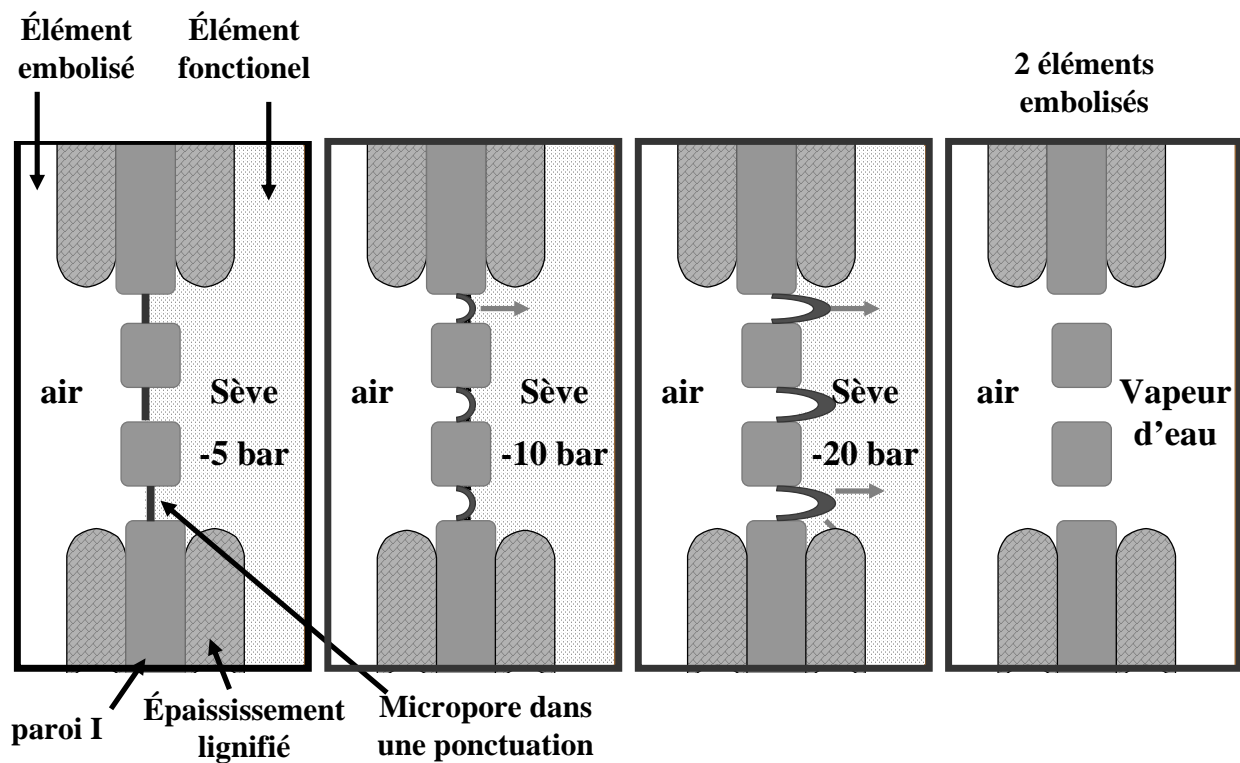
L'évaporation crée un déficit hydrique foliaire et diminue le potentiel hydrique foliaire. La différence de potentiel avec le pétiole et le xylème du rameau porteur engendre un flux d'eau vers la feuille. Celui-ci abaisse, à son tour, le potentiel hydrique du pétiole, du rameau, et ainsi de suite jusqu'aux racines, voire au sol dont les variations de potentiel hydrique suivent un cycle journalier perceptible dans la plupart des sols sous couvert. Le transfert d'eau dans le xylème de la plante s'opère donc au sein de colonnes "suspendues" dans la plante, entre les feuilles et les racines, par les forces de tension superficielle des éléments du système conducteur. Ces colonnes sont maintenues par les forces de cohésion liant entre elles les molécules d'eau. Ce phénomène est décrit par la théorie de la tension-cohésion énoncée par Dixon and Joly (1894) et reformulée par Zimmermann (1983). Dans ce continuum sol-plante-atmosphère, l'eau est sous forme de phase liquide ou de phase gazeuse (Figure 13).

### 5.2.1 En phase liquide

Le flux d'eau en phase liquide,  $Q_s$ , s'opère dans les parties périphériques, les méristèmes en croissance, le mésophylle foliaire et le parenchyme cortical racinaire dans l'espace intercellulaire, l'apoplasme et dans les cellules vivantes elles-mêmes, le symplasme. La contribution relative de ces deux voies au transfert total d'eau, le rôle des aquaporines et de plasmodesmes font encore l'objet de recherches actives (Barbour and Farquhar 2004; Siefritz et al. 2002).

C'est dans cette partie périphérique du transfert hydrique, en particulier le mésophylle foliaire, que les résistances les plus fortes se rencontrent (e.g. Nardini and Tyree (1999), Rood et al. (2000) et Yang and Tyree (1994), en cohérence avec les notions de hiérarchie et de segmentation hydraulique proposées par Zimmermann (1983). Le transport longitudinal à longue distance dans les plantes supérieures s'opère dans les vaisseaux et les trachéides du xylème, éléments morts lignifiés à paroi rigide, respectivement de 10 à 500  $\mu\text{m}$  et 10-80  $\mu\text{m}$  de diamètre et 0.01-5 m et de quelques mm de long. Les colonnes d'eau suspendues dans ce réseau conducteur sont soumises à des tensions qui naturellement peuvent atteindre des valeurs provoquant la rupture par cavitation et entrée d'air dans l'élément conducteur ou embolie. Plusieurs hypothèses ont été avancées et, à l'heure actuelle, la plus vraisemblable semble être la théorie du germe d'air (Sperry and Tyree 1988). L'embolie xylémienne, induite par le stress hydrique, est causée par l'aspiration d'une bulle d'air dans un élément fonctionnel à partir d'un élément voisin embolisé via les pores de communication inter-éléments (Figure 14). L'air est aspiré dans une trachéide fonctionnelle lorsque la tension de la sève dépasse la

valeur maximale, supportable par le ménisque air-sève des pores de la paroi. L'embolie est souvent limitée à un vaisseau ou une trachéide par l'occlusion des pores de communication intertrachéide : les punctuations aréolées chez les conifères. L'embolie met l'élément hors du circuit hydraulique et réduit la conductivité hydraulique du tissu au niveau concerné, accroissant encore les tensions et la probabilité de cavitations supplémentaires, ce qui peut conduire à une cavitation généralisée en l'absence de régulation du flux hydrique. L'entrée d'air peut favoriser la formation de tylose ce qui rend alors le processus irréversible, mais l'embolie peut aussi être réparée, dans des conditions de faible demande transpiratoire, par un flux sous pression positive racinaire chez certaines espèces. Lorsque les vaisseaux embolisés le restent définitivement, c'est la formation de nouveaux éléments conducteurs, au printemps suivant, qui permettra la survie de l'arbre.

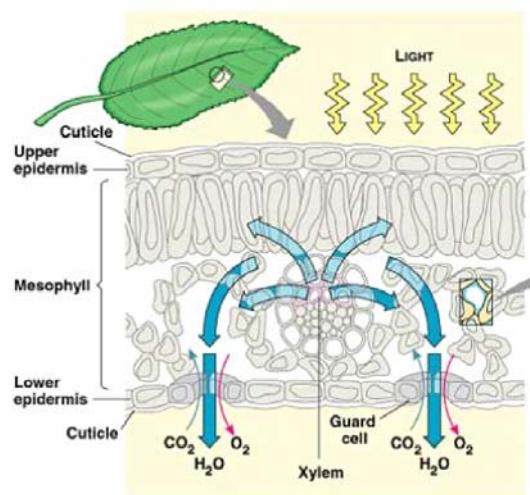


**Figure 14.** Schéma illustrant la théorie du germe d'air : propagation de la cavitation entre un élément fonctionnel et un élément voisin embolisé. L'élément embolisé, rempli d'air, est à la pression atmosphérique, alors que l'élément fonctionnel diminue vers des pressions de plus en plus négatives avec l'augmentation du stress hydrique. Lorsque la pression dépasse la limite de résistance du ménisque air-sève, une microbulle est aspirée et envahit rapidement l'élément fonctionnel, qui devient alors à son tour impropre au transport d'eau. La limite de résistance dépend du diamètre des pores. C'est donc le diamètre de ces pores, et non le diamètre des ménisques air-sève au sommet des colonnes d'eau, qui détermine la résistance à la cavitation. Ainsi, il semble bien que la taille de ces pores soit un caractère important dans l'adaptation d'une espèce à des conditions de sécheresse qui augmentent la tension de la sève.

Le flux d'eau en phase liquide d'une plante est la résultante du flux d'eau absorbée par les racines dans le sol et des flux d'eau entre les différents réservoirs d'eau de la plante et de la sève brute. Les flux liés à ces réservoirs étant généralement négligeable par rapport au flux de sève brute pour des échelles temporelles supérieures à la journée (Cruiziat 1978), le flux d'eau est assimilé au flux de sève brute. Lorsque ce flux est rapporté à la surface d'aubier de la plante, il est défini comme étant la densité de flux de sève,  $Q_s$ , ( $\text{m}^3 \text{H}_2\text{O m}^{-2} \text{aubier h}^{-1}$ ).

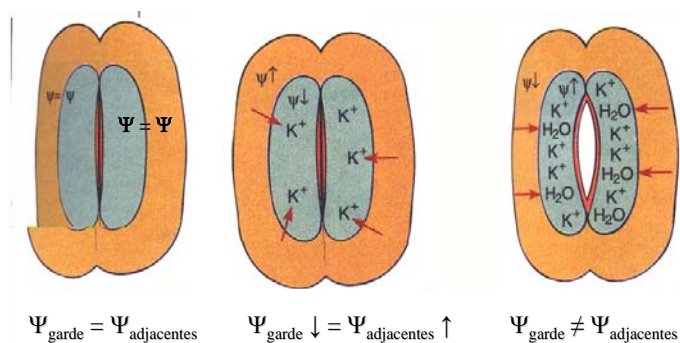
### 5.2.2 En phase gazeuse

Au niveau des feuilles, le trajet vasculaire est interrompu et le transfert périphérique d'eau circule de manière extra-vasculaire entre les nervures (xylème) et les cavités sous stomatiques (sites d'évaporation).



**Figure 15.** Schéma du trajet apoplasme de l'eau entre les vaisseaux de xylème et les cavités sous stomatiques dans une feuille.

La question du trajet de l'eau dans cette partie périphérique du circuit sol-atmosphère demeure l'objet d'hypothèses. La transpiration s'effectue à plus de 90% par l'ostiole des stomates, suivant le gradient de concentration de vapeur d'eau entre les espaces intercellulaires ( $W_i$ ) et l'atmosphère ( $W_a$ ).



**Figure 16.** Schéma du mécanisme d'ouverture et de fermeture des stomates au niveau des cellules de garde. Les stomates sont formés de deux cellules chlorophylliennes (cellules de garde) dont les parois internes concaves et opposées créent entre elles un orifice : l'ostiole. L'ouverture et la fermeture de l'ostiole sont réalisées grâce aux différences de pression de turgescence entre les cellules de garde et les cellules épidermiques.

A l'échelle foliaire, la loi de Fick simplifiée décrit la diffusion de la vapeur d'eau au niveau des stomates et la vitesse de transpiration foliaire, ( $E_L$ ;  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) comme le produit de la différence de concentration en vapeur d'eau entre les espaces intercellulaires et l'atmosphère ( $W_i - W_a$ ;  $\text{mmol H}_2\text{O mol air}^{-1}$ ) et la conductance de surface pour la vapeur d'eau, souvent assimilée à la conductance stomatique ( $g_s$ ;  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{feuille s}^{-1}$ ):

$$(6) \quad E_L = g_s \cdot (W_i - W_a)$$

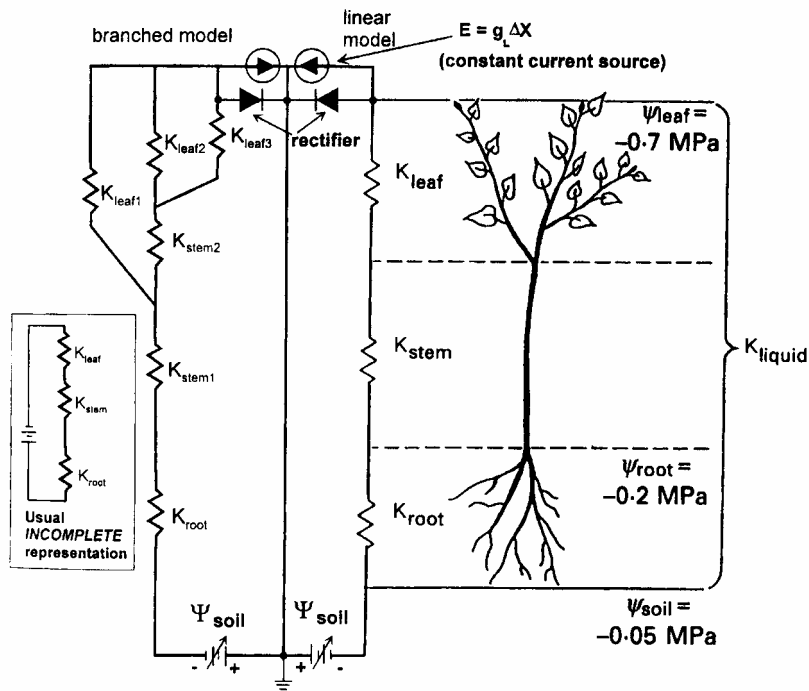
La transpiration foliaire est fortement dépendante de la demande climatique (éclairage, température et humidité de l'air et vitesse de vent) et limité par la conductance stomatique.

### 5.3 Conductance et Conductivité Hydraulique

Depuis les travaux pionniers de van der Honert (1948), le transfert de la sève dans les végétaux est commodément modélisé suivant un formalisme "ohmique". Tout comme un courant électrique prend naissance dans un circuit de résistances aux bornes duquel est appliquée une différence de potentiel, la sève se déplace à travers la plante, du sol jusqu'à l'atmosphère, grâce à l'existence d'une différence de potentiel hydrique entre racines et feuilles, entretenue par la transpiration<sup>3</sup>. La conductivité hydraulique de l'arbre est définie comme la conductance équivalente à toutes les conductances en phase liquide du système sol-plante (Figure 17).

<sup>3</sup> Dans certains cas, comme au cours de la phase pré-débourrement chez certaines espèces ligneuses à feuille caduque, la sève se déplace suivant un gradient de potentiel généré par accumulation active de composés osmotiques dans des compartiments





**Figure 17.** Schéma décrivant la conductance totale de l'arbre qui est la résultante de conductances ( $K$ ) des racines, de la tige, des branches et des feuilles en série et en parallèle. Le schéma de droite représente l'analogie à la loi d'ohm simplifiée avec les conductances en série. D'après Tyree (1999).

### 5.3.1 A l'échelle d'un segment de tige

La conductance hydraulique d'un segment ( $K$ ;  $\text{mol s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ ) peut être calculée comme étant le ratio entre le flux à travers ce segment,  $E_s$ , et la différence de potentiel hydrique entre les deux extrémités,  $\Delta\Psi$ .

$$(7) \quad K = \frac{E_s}{\Delta\Psi}$$

Elle peut être déterminée directement, par exemple par le système HPFM (High Pressure FlowMeter) qui mesure le flux d'eau traversant un segment de tige donnée en réponse à une différence de potentiel stable appliquée entre ces deux extrémités. Elle peut être exprimée par unité de longueur du segment mesuré comme la conductivité hydraulique ( $K_h$ ;  $\text{mol m s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ ):

$$(8) \quad K_h = \frac{E_s}{\Delta\Psi / L}$$

où  $L$  (m) est la longueur du segment étudié. Comme  $K_h$  dépend de la surface de section de la tige ( $A_s$ , m<sup>2</sup>), la conductivité hydraulique divisée par la surface de section de celle-ci permet d'obtenir la conductivité spécifique de la tige qui traduit la capacité d'un élément de longueur et de section unitaires à conduire un flux hydrique. Toutefois, chez les plantes ligneuses, la partie centrale de la tige (bois de cœur) est non conductrice et on exprime la conductivité par unité de surface de xylème fonctionnel (bois d'aubier) ( $A_s$ , m<sup>2</sup><sub>sapwood</sub>) afin d'obtenir la conductivité spécifique du bois d'aubier, ( $K_s$ ; mol m<sub>long</sub> m<sup>-2</sup><sub>sapwood</sub> s<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup>) :

$$(9) \quad K_s = \frac{E_s}{\Delta\Psi/L} \cdot \frac{1}{A_s} = \frac{K_h}{A_s}$$

La conductivité spécifique foliaire (LSC ; mol H<sub>2</sub>O m<sub>long</sub> m<sup>-2</sup><sub>leaf</sub> s<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup>) utilisée par (Tyree and Ewers 1991) exprime  $K_h$  par unité de surface foliaire desservie par le rameau ( $A_L$ ; m<sup>2</sup><sub>leaf</sub>) :

$$(10) \quad \text{LSC} = \frac{K_h}{A_L} = \frac{E_s}{\Delta\Psi/L} \cdot \frac{1}{A_L}$$

Donc, connaissant la transpiration foliaire du segment, le gradient de pression de part et d'autre du segment est égal à  $E_L/\text{LSC}$ . Il est intéressant de souligner que plus LSC est grand et moins le gradient de pression requis pour un taux de transpiration donné doit être élevé.

### 5.3.2 A l'échelle de la plante entière

Toujours par analogie à la loi d'Ohm, en utilisant un modèle linéaire simple à l'échelle de la plante entière, la conductance hydraulique de la plante peut être obtenue selon le même raisonnement. Généralement, le terme "conductivité" est utilisé lorsque la longueur,  $L$ , est prise en compte dans le calcul, et "conductance" lorsque  $L$  n'est pas prise en compte. La conductance hydraulique de la plante, par unité de surface foliaire ( $K_L$ ; mol m<sup>-2</sup><sub>leaf</sub> s<sup>-1</sup> MPa<sup>-1</sup>), est le rapport entre le flux d'eau par unité de surface foliaire ( $E_L$ ; mol m<sup>-2</sup><sub>leaf</sub> s<sup>-1</sup>) et la différence de potentiel créant le flux ( $\Delta\Psi_{S-L} = \Psi_s - \Psi_L$ ) :

$$(11) \quad K_L = \frac{E_L}{\Delta\Psi_{S-L}}$$

En raison de nombreuses confusions relevées dans la littérature (Hubbard et al. 1999; McDowell et al. 2002b; Whitehead 1998), il est important de préciser ici qu'en fait, la correction gravitationnelle  $\rho_w gh$  introduite dans cette équation par de nombreux auteurs n'est pas requise. En effet, en fin de nuit, lorsque le flux d'eau est nul, l'arbre est en équilibre avec

le sol et le potentiel hydrique de base ( $\Psi_{Lp}$ ) est égal à celui du sol ( $\Psi_S$ ), donc  $\Delta\Psi_{S-L} = \Delta\Psi_{Lp-L}$ . La conductance hydraulique spécifique foliaire d'un arbre peut être calculée par régression linéaire entre la transpiration par unité de surface foliaire,  $E_L$ , et le potentiel hydrique foliaire comme suit :

$$(12) \quad K_L = \frac{E_L}{\Delta\Psi_{Lp-L}} = \frac{E_L}{\Delta\tilde{\Psi}_{Lp-L}}$$

Je rappelle que  $\tilde{\Psi}_L$  est le potentiel hydrique foliaire non gravitationnel mesuré avec la chambre à pression et que  $\Delta\tilde{\Psi}_{Lp-L} = \tilde{\Psi}_{Lp} - \tilde{\Psi}_L$  (MPa) représente la différence entre le potentiel hydrique foliaire non gravitationnel de base et à l'instant  $t$ . Les deux parties de l'Eqn (12) sont donc équivalentes, car à une hauteur donnée,  $\Delta\Psi_{Lp-L} = \Delta\tilde{\Psi}_{Lp-L}$ .

Le transport d'eau dans les arbres est dépendant de la conductance hydraulique du trajet sol-racine-tronc-feuille et la conductivité hydraulique totale de l'arbre est fonction de la longueur de l'appareil conducteur et de la perméabilité de ses tissus. Des changements de  $K_L$  peuvent donc affecter les échanges gazeux foliaires, i.e. la conductance stomatique et la photosynthèse qui dépendent du transport d'eau entre le sol, les feuilles et l'atmosphère.

Le flux d'eau en phase liquide et le flux en phase vapeur sont égaux, au moins à une certaine échelle de temps, ce qui implique un couplage entre le processus de régulation des flux de ces deux phases. La conductance stomatique est alors reliée à  $K_L$  (combinaison de (11) et l'Eqn (6) par :

$$(13) \quad g_s = K_L \frac{\Delta\Psi_{S-L}}{W_i - W_a}$$

L'équation (11) prédit que pour un même gradient de potentiel hydrique et un même déficit de pression de vapeur, si  $K_L$  diminue,  $g_s$  sera alors réduit proportionnellement. Pour tester la réponse de la conductance hydraulique à l'augmentation de hauteur, j'exprime ici  $K_L$  en terme de propriété physique de l'appareil conducteur d'eau (corollaire de la loi de Darcy) (Whitehead 1998) :

$$(14) \quad K_L = k_s \frac{A_s}{A_L} \frac{1}{h}$$

avec  $k_s$  la conductivité spécifique moyenne du bois d'aubier ( $\text{mol m}_h \text{ m}^{-2}_{\text{sapwood}} \text{ s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$ ),  $h$  la hauteur "hydraulique" de l'arbre (trajet entre le sol et les feuilles),  $A_s : A_L$  étant le ratio surface

foliaire/surface d'aubier de l'arbre. Si  $k_s$  et  $A_s : A_L$  restent constants au cours de la vie de l'arbre et si la hauteur seule augmente, alors l'Eqn (14), réduite à seulement  $K_L = 1/h$ , prendra la forme d'une décroissance non linéaire de  $h$  (Mencuccini and Grace 1996a).

Pour exprimer la relation correspondante pour  $g_s$ , on peut exprimer selon le même principe (loi de Darcy) :

$$(15) \quad g_s = k_s \frac{A_s}{A_L} \frac{1}{h} \frac{\Delta\Psi_{s-L}}{W_i - W_i}$$

L'équation (15) permet de souligner plusieurs implications importantes de l'homéostasie hydrique sur le fonctionnement stomatique et hydraulique de la plante entière au cours de son accroissement en hauteur. De la même façon que pour l'Eqn (13), cette équation montre que  $g_s$  est inversement proportionnel à  $h$  si toutes les autres variables sont maintenues constantes. Toutefois, si certaines de ces variables changent au cours du développement de l'arbre, il s'avère que des mécanismes dits de compensation peuvent se produire pour compenser l'augmentation de  $h$ . Au cours du développement en hauteur d'un arbre, le maintien d'un équilibre hydrique fonctionnel peut être obtenu par ajustement hydraulique, i.e. augmentation de  $k_s$  ou du rapport section d'aubier sur surface foliaire,  $A_s : A_L$  ou de  $\Delta\Psi_{s-L}$ , ou par régulation stomatique, baisse de  $g_s$  inversement proportionnelle à  $h$ .

Cette approche théorique est simplificatrice en regard des connaissances disponibles sur l'architecture hydraulique des arbres. Par exemple, elle repose sur des hypothèses de flux et résistance conservatifs actuellement contredites par des résultats récents. En particulier, Cochard et al. (2004) ont récemment mis en évidence la "collapse" réversible des vaisseaux xylémiens des aiguilles de conifères qui contredit l'hypothèse d'une conductance hydraulique indépendante du flux.

De même, il semble probable que le circuit hydraulique racine-feuille change avec l'intensité du flux et n'implique pas les mêmes voies à faible intensité et à forte intensité (Barbour and Farquhar 2004). Néanmoins, nous pensons qu'utilisé avec ces réserves, ce formalisme de l'hydraulique globale de l'arbre permettra, non seulement de formaliser et quantifier des grandeurs pertinentes et cohérentes à l'échelle de l'arbre entier, mais également de poser les hypothèses sur les effets de changement de dimension intervenant avec l'âge.

## 5.4 Efficience d'utilisation de l'eau et discrimination isotopique du carbone

### 5.4.1 L'efficience d'utilisation de l'eau, WUE = Water Use Efficiency

Il existe plusieurs définitions de l'efficience d'utilisation de l'eau selon les échelles spatiales et temporelles qu'elle implique.

- à l'échelle de la plante entière et intégrée dans le temps, elle correspond au rapport entre la quantité de biomasse produite et la quantité d'eau transpirée intégrée sur une saison de végétation.
- à l'échelle foliaire et instantanée, elle correspond au rapport entre l'assimilation nette de CO<sub>2</sub> ( $A$ ) et la transpiration ( $E$ ).

A l'échelle foliaire, comme pour la vapeur d'eau (Eqn (6)), l'application de la loi de Fick au transfert de CO<sub>2</sub> à travers les stomates donne une expression de la vitesse d'assimilation, ( $A$ ;  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) en fonction de la conductance stomatique pour la diffusion du CO<sub>2</sub> ( $\text{mmol}_{\text{CO}_2} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) et la différence de concentration de CO<sub>2</sub> entre l'atmosphère et les espaces intercellulaires ( $C_a - C_i$ ):

$$\text{(Eqn (6), rappel)} \quad E = g_s \cdot (W_i - W_a)$$

$$(16) \quad A = g_{s\text{CO}_2} \cdot (C_a - C_i)$$

$$(17) \quad g_{s\text{CO}_2} = \frac{g_s}{1.6}$$

Ainsi, par combinaison des deux équations ci-dessus, l'efficience d'utilisation de l'eau instantanée, à l'échelle de la feuille, s'écrit :

$$(18) \quad \text{WUE} = \frac{A}{E} = \frac{A}{g_s} \frac{1}{(W_i - W_a)} = \frac{(C_a - C_i)}{1.6 (W_i - W_a)}$$

Cette efficience d'utilisation de l'eau instantanée ( $\text{mmol mol}^{-1}$ ) peut ainsi se décomposer en deux facteurs :  $1/(W_i - W_a)$ , composante environnementale liée au déficit de saturation de

vapeur d'eau et  $A/g_s$ , composante biologique liée à la régulation des échanges gazeux par la plante. Cette dernière composante est aussi appelée efficacité intrinsèque d'utilisation de l'eau  $WUE_i$  et est exprimée comme suit :

$$(19) \quad WUE_i = \frac{A}{g_s} = \frac{(C_a - C_i)}{1.6}$$

Les variations des conditions environnementales telles que la disponibilité en eau, la lumière, la salinité du milieu ou la pollution de l'air ont un impact à la fois sur l'assimilation du  $CO_2$  et la conductance stomatique. De ce fait, l'effet résultant sur  $WUE_i$  n'est pas immédiatement évident (Farquhar et al. 1989; Guehl et al. 1995).

#### 5.4.2 La discrimination isotopique du carbone, $\Delta$

Depuis quelques années, plusieurs études ont mis en évidence une relation entre les variations de composition isotopique de la cellulose dans les cernes des arbres et l'efficacité d'utilisation de l'eau intégrée (Brugnoli et al. 1988; Farquhar et al. 1989). Nous allons maintenant, détailler les processus liant la discrimination isotopique à  $WUE$ , en commençant par décrire les bases de la discrimination isotopique du carbone.

##### 5.4.2.1 Définitions

L'élément carbone a deux isotopes stables,  $^{12}C$  et  $^{13}C$ . Pour 100 atomes de carbone, nous avons ainsi 98.89 atomes de  $^{12}C$  et 1.11 de  $^{13}C$ . La proportion respective des deux éléments est définie par le rapport isotopique  $R$  (moles de  $^{13}C$  /mole de  $^{12}C$ ). La composition isotopique  $\delta^{13}C$  (‰) s'exprime selon une échelle relative à un standard :

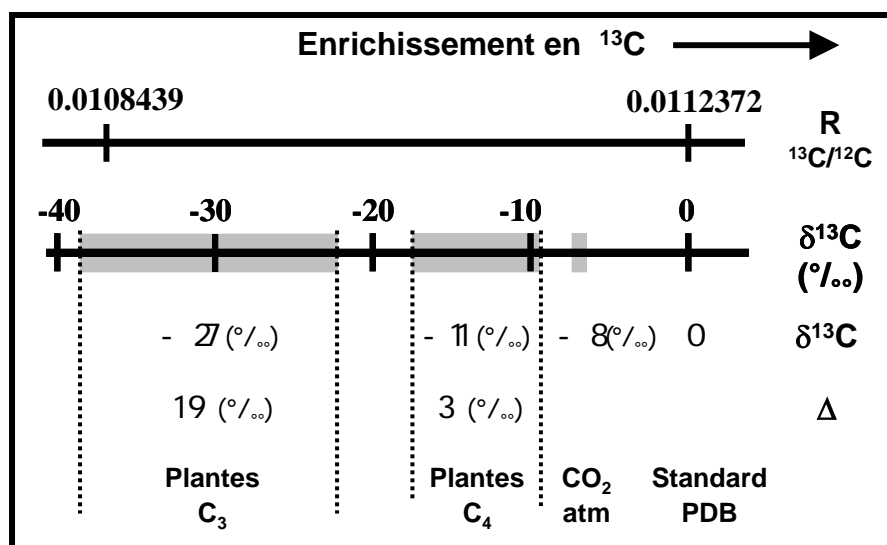
$$(20) \quad \delta^{13}C = \left( \frac{R_{ech}}{R_{std}} - 1 \right) \cdot 1000$$

avec  $R_{ech}$  et  $R_{std}$  les rapports isotopiques respectifs de l'échantillon et du standard (Pee Dee Belemnite : PDB).

Au cours de l'assimilation, la plante est enrichie en isotope 12 par rapport à la concentration de  $C-CO_2$  atmosphérique et la matière organique végétale a une composition isotopique en  $^{13}C$  plus faible que l'atmosphère. Cette discrimination isotopique du carbone,  $\Delta$ , est définie de la façon suivante :

$$(21) \quad \Delta = \left( \frac{\delta_{\text{air}} - \delta_{\text{plante}}}{1000 + \delta_{\text{plante}}} \right) \cdot 1000 \approx \delta_{\text{air}} - \delta_{\text{plante}}$$

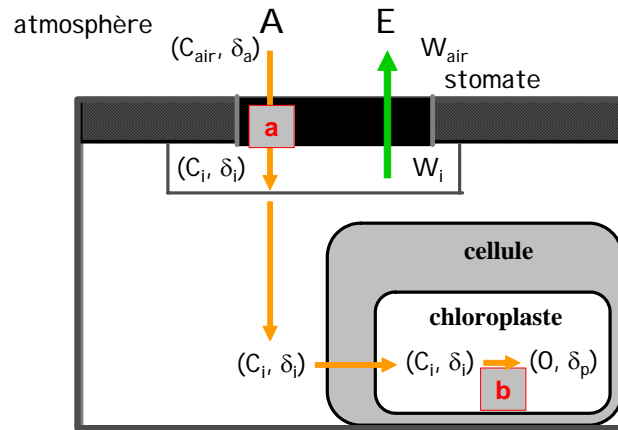
Le  $\delta_{\text{plante}}$  étant très petit devant 1000, l'équation est souvent simplifiée et réduite à la partie présentée à droite. La variation isotopique de l'air,  $\delta_{\text{air}}$ , est proche de - 8 ‰. (Bender 1968) a montré que les plantes C3 et C4 ont des valeurs de fractionnement isotopiques différentes. On constate Figure 18, que les valeurs de compositions isotopiques des deux types de végétaux forment deux groupes bien différenciés.



**Figure 18.** Caractéristiques isotopiques des végétaux C3 et C4, (D'après Deleens et al. (1993), les végétaux de type C3, dont font partie la grande majorité des arbres, forment un groupe homogène présentant des compositions isotopiques allant de -39 ‰ à -23 ‰, la valeur moyenne étant de -27 ‰.

#### 5.4.2.2 Modèle de discrimination isotopique chez les plantes en C3

La plupart des réactions chimiques et des processus physiques sont affectés par le poids moléculaire du réactif (Farquhar and Lloyd 1993), en particulier les réactions enzymatiques. Cet état de faits conduit à des produits appauvris en <sup>13</sup>C par rapport à la source de carbone, et explique la différence positive du contenu isotopique entre l'air et la plante. Dans le modèle de discrimination proposé par (Farquhar et al. 1982) pour décrire les processus intervenant au cours de l'assimilation du carbone par les plantes en C3, deux étapes sont prises en compte : (i) la diffusion du CO<sub>2</sub> à travers les stomates et (ii) la carboxylation du ribulose bisphosphate par la RubisCO dans les chloroplastes (Figure 19).



**Figure 19.** Schéma illustrant les processus élémentaires déterminant la discrimination isotopique du carbone à l'échelle foliaire lors de l'assimilation du  $\text{CO}_2$ . Avec  $C_i$  et  $C_a$ , concentration en  $\text{CO}_2$  dans l'atmosphère et dans la feuille avant la carboxylation;  $A$  et  $E$ , le taux d'assimilation et de transpiration;  $W_a$  et  $W_i$ , concentration en vapeur d'eau dans l'atmosphère et dans les espaces intercellulaires;  $\delta_a$ ,  $\delta_i$  et  $\delta_p$ , compositions isotopiques en  $^{13}\text{C}$  dans l'atmosphère, la feuille et les produit de la photosynthèse;  $a$  et  $b$  les coefficients de discrimination contre le  $^{13}\text{CO}_2$  lors de la diffusion du  $\text{CO}_2$  et la carboxylation. D'après Guehl et al. (1993).

La discrimination isotopique globale résultante à l'échelle de la feuille est :

$$(22) \quad \Delta = a + (a - b) \frac{C_i}{C_a}$$

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

$b$  est la discrimination contre le  $^{13}\text{CO}_2$  par la Rubisco

( $b = 27 \text{ ‰}$ , (Farquhar and Richards 1984).

Il est possible de relier  $\Delta$  aux différentes expressions de l'efficacité d'utilisation de l'eau. A l'échelle foliaire instantanée, la combinaison des Eqn (19) et (22) permet d'obtenir:

$$(23) \quad \text{WUE}_i = \frac{A}{g_s} = \frac{C_a}{1.6} \cdot \frac{b - \Delta}{b - a}$$

Cette relation a bien été vérifiée en estimant indépendamment les deux membres de l'Eqn (23), d'une part par mesure d'échanges gazeux foliaires, et d'autre part, par mesure de la discrimination isotopique instantanée (Farquhar et al. 1989). Les valeurs de discrimination isotopique mesurées sur les constituants organiques foliaires fournissent une estimation de  $\text{WUE}_i$  intégrée sur la durée de vie des feuilles (Farquhar et al. 1989; Farquhar et al. 1982).



L'efficacité de l'eau, intégrée sur une période de temps plus longue et sur la totalité du feuillage de l'arbre et pondérée par l'assimilation nette, peut donc théoriquement être estimée grâce aux mesures de  $\delta^{13}\text{C}$  de la cellulose des cernes annuels dans le tronc. Plusieurs travaux montrent qu'il existe effectivement une relation étroite entre la composition isotopique de la cellulose du cerne et les facteurs contrôlant l'efficacité de l'eau, e.g. chez les conifères (Nguyen-Queyrens et al. 1998; Porté and Loustau 2001; Walcroft et al. 1997). Cependant les processus post assimilation présentent aussi une discrimination du carbone qui peut être sensible au statut hydrique de la plante (Damesin and Lelarge 2003; Ghashghaie et al. 2001; Tcherkez et al. 2003). La relation de la composition isotopique C-Cellulose C-assimilé reste donc encore soumise à précisions, particulièrement chez les arbres où les problèmes d'intégration temporelle sont également importants (Helle and Schleser 2004).

## 5.5 L'assimilation du carbone

### 5.5.1 Formalisme utilisé

Le modèle utilisé est le modèle biochimique à l'échelle du chloroplaste développé par Farquhar et al. (1980), intégré à l'échelle de la feuille et modifié par Sharkey (1985) pour prendre en compte une limitation par la disponibilité intracellulaire en phosphate. Ce modèle a largement été utilisé pour caractériser la photosynthèse des plantes en C3 (Bernacchi et al. 2003a; Epron et al. 1995; Farquhar 1989; Harley et al. 1992a; Leuning 1990; Leuning et al. 1991; Lewis et al. 1994; Wullschlegel 1993). Il a déjà été développé sur le Pin maritime par Loustau et al. (1999) et Porté and Loustau (1998) et c'est pour cette raison qu'il a également été retenu dans cette étude pour analyser les effets de l'âge de l'arbre.

Nous avons fait l'hypothèse que la concentration en  $\text{CO}_2$  au niveau du chloroplaste ( $C_c$ ) est égale à la concentration dans la chambre sous-stomatique ( $C_i$ ), en négligeant la résistance mésophyllienne de diffusion au  $\text{CO}_2$ . Sachant que la photosynthèse est ici mesurée par la vitesse d'assimilation nette du  $\text{CO}_2$ , notée  $A_n$ , et que chaque oxygénation du RubP libère 0.5 molécule de  $\text{CO}_2$ ,  $A_n$  est décrite par l'équation suivante :

$$(24) \quad A_n = V_c - 0.5 V_o - R_d = \left(1 - \frac{\Gamma^*}{C_i}\right) V_c - R_d$$

où  $V_c$  et  $V_o$  ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) sont les vitesses de carboxylation et d'oxygénation du RubP par la RubisCO,  $C_i$  ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ ) est la concentration de  $\text{CO}_2$  dans les espaces intercellulaires,  $R_d$  "day respiration" ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) est le taux d'évolution du  $\text{CO}_2$  mitochondrial à la lumière résultant de processus autres que la photorespiration et  $\Gamma^*$  ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ ) est le point de compensation de l'assimilation au  $\text{CO}_2$  en absence de respiration mitochondriale.

Le modèle de Farquhar postule que la vitesse de carboxylation,  $V_c$ , est limitée : (a) soit par la vitesse de réaction de la RubisCO,  $W_c$ ; (b) soit par le taux de régénération du RubP,  $W_j$ ; (c) soit par le taux de libération du P inorganique dans le chloroplaste, égal au taux d'utilisation des trioses-P,  $W_p$ .

$$(25) \quad A_n = \left(1 - \frac{\Gamma^*}{C_i}\right) \min \{W_c, W_j, W_p\} - R_d$$

#### 5.5.1.1 Limitation par l'activité de la RubisCO

Aux faibles pressions partielles de  $\text{CO}_2$  et à éclaircissement saturant, l'assimilation nette de dioxyde de carbone est limitée uniquement par la vitesse de réaction de la RubisCO. La réaction de fixation du  $\text{CO}_2$  est alors limitée par la quantité de RubisCO activée dans la feuille, et  $W_c$  (vitesse de fixation du  $\text{CO}_2$  limitée par la RubisCO) est telle que :

$$(26) \quad W_c = V_{c\text{max}} \cdot \frac{C_i}{C_i + K_c \left(1 + \frac{O}{K_o}\right)}$$

où  $V_{c\text{max}}$  ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) est le taux maximum de carboxylation,  $O$  ( $\mu\text{mol O}_2 \text{ mol}^{-1}$ ) est la pression partielle d' $\text{O}_2$ ,  $K_c$  et  $K_o$  ( $\mu\text{mol CO}_2$  ou  $\text{O}_2 \text{ mol}^{-1}$ ) sont les constantes de Michaelis-Menten pour la carboxylation et l'oxygénation.

#### 5.5.1.2 Limitation par la régénération du RubP

Sous faible éclaircissement et à concentration élevée en  $\text{CO}_2$ , la vitesse de carboxylation  $V_c$  est limitée par la vitesse de régénération du RubP ( $W_j$ ) qui est conditionné par le flux de transport d'électrons,  $J$ .

$$(25) \quad W_j = J \frac{C_i}{4 \cdot (C_i + 2\Gamma^*)}$$

Le facteur 4 indique que le transport de 4 moles d'électrons est nécessaire pour la production d'ATP et de NADPH indispensable à la régénération d'une mole de RubP dans le cycle de Calvin (Farquhar and von Caemmerer 1982). Le taux de transport d'électrons,  $J$ , est lié au flux de photons incidents (photosynthétiquement actifs) absorbés ( $Q$ ;  $\mu\text{mol}_{\text{photon}} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); il est décrit par la racine de la fonction hyperbolique non-rectangulaire proposée par (Farquhar and Wong 1984).

$$(27) \quad \theta J^2 - (J_{\max} + \alpha Q)J + \alpha Q J_{\max} = 0$$

où  $\theta$  est la concavité de l'hyperbole,  $J_{\max}$  ( $\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) correspond au flux maximum apparent de transport d'électrons et  $\alpha$  est l'efficacité quantique (en moles d'électrons par moles de photons).

Lorsque le nombre de photons incidents est inférieur à la capacité de transport d'électrons de la feuille, la vitesse de carboxylation  $V_c$  augmente quasi linéairement avec l'intensité de l'éclairement suivant une pente  $\alpha$ , correspondant à l'efficacité quantique ou nombres de moles d'électrons produites par mole de photons absorbée. Au-delà d'un certain rayonnement et sous  $[\text{CO}_2]$  saturante, la saturation des photosystèmes est atteinte et la vitesse de transfert d'électrons est maximale. Ce palier de saturation correspond à un flux d'électrons maximal,  $J_{\max}$  ( $\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

### 5.5.1.3 Limitation par la vitesse d'utilisation des trioses-P

En condition de carence phosphatée et sous éclairement et  $\text{CO}_2$  élevé, l'assimilation peut être limitée par la quantité de phosphate inorganique ( $\text{P}_i$ ) disponible dans le chloroplaste. Sous ces conditions, la quantité d'ATP et de NADPH ainsi que l'activité de la RubisCO sont saturantes. En revanche, le flux de  $\text{P}_i$ , importé dans le chloroplaste depuis le cytoplasme et échangé stoechiométriquement avec les trioses-P, devient limitant. On observe alors, soit un plateau, soit un déclin de l'assimilation du  $\text{CO}_2$ , sous fortes concentrations en  $\text{CO}_2$  et/ou fortes concentrations en  $\text{O}_2$ . Finalement les conditions limitantes peuvent être décrites par :

$$(28) \quad W_p = \frac{3T_p C_i}{C_i - \Gamma_* \left(1 + \frac{3\alpha}{2}\right)}$$

avec  $T_p$  ( $\mu\text{mol}_{\text{triose-P}} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) le taux d'utilisation des trioses phosphate (Harley and Sharkey 1991; Harley et al. 1992b; Sage 1994; von Caemmerer 2000).

Les paramètres clefs du modèle sont  $V_{\text{cmax}}$  et  $J_{\text{max}}$ . Ces derniers sont connus pour varier entre les espèces, mais très peu d'études se sont intéressées à leur variabilité au cours de la vie de l'arbre. De plus, à l'heure actuelle très peu d'études ont entièrement paramétré la réponse à la température du modèle (Leuning 1997).

### 5.5.2 Dépendance de $K_c$ , $K_o$ et $\Gamma^*$ à la température

La dépendance à la température *in vivo* des coefficients de Michaelis-Menten pour la RubisCO,  $K_c$  ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ) et  $K_o$  ( $\text{mmol mol}^{-1}$ ) a été récemment mesurée sur du tabac transgénique avec une gamme de température allant de 0 à 40 °C (Bernacchi et al. 2003b; Bernacchi et al. 2001) et les équations suivantes ont été obtenues :

$$(29) \quad K_c = 404.9 \exp\left[\frac{79430(T_K - 298)}{298 \cdot RT_K}\right]$$

$$(30) \quad K_o = 278.4 \exp\left[\frac{36380(T_K - 298)}{298 \cdot RT_K}\right]$$

$T_K$  étant la température de feuille (°K) et  $R$  la constante des gaz parfaits ( $8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ). D'autres fonctions de dépendance de ces paramètres à la température ont également été déterminées lors de précédentes études *in vitro* (Badger and Collatz 1977; Jordan and Ogren 1984). L'effet de l'utilisation de ces différentes fonctions sur l'estimation des paramètres du modèle de Farquhar et al. 1980 a été quantifié par Medlyn et al. (2002). Lors de ce travail, nous avons choisi d'utiliser les fonctions obtenues par (Bernacchi et al. 2001), car elles ont été mesurées *in vivo*, sans perturbation de la feuille et sont par conséquent plus à même de représenter l'activité intrinsèque de la feuille.

### 5.5.3 Dépendance de $V_{\text{cmax}}$ et $J_{\text{max}}$ à la température

Dans la littérature, la réponse des paramètres du modèle de photosynthèse à la température est exprimée avec des fonctions différentes (par exemple, (Harley and Baldocchi 1995; Harley et al. 1986; Harley et al. 1992b; Lloyd et al. 1995). Ces équations sont des formes d'expression

différentes de la fonction d'Arrhenius complétée d'une fonction de désactivation des enzymes par la chaleur (Medlyn et al. 2002). Lors de ce travail,  $V_{\text{cmax}}$  a été ajusté à partir de l'équation d'Arrhenius sans désactivation :

$$(31) \quad V_{\text{cmax}}(T_K) = V_{\text{cmax}}(25) \cdot \exp\left[\frac{E_a(T_K - 25)}{298 \cdot RT_K}\right]$$

où  $V_{\text{cmax}}(25)$  est la valeur de  $V_{\text{cmax}}$  à 25°C,  $E_a$  est l'énergie d'activation de  $V_{\text{cmax}}$ ,  $R$  est la constante des gaz parfaits et  $T_K$  est la température de la feuille en kelvin. Puis, la dépendance à la température de  $J_{\text{max}}$  a été ajustée avec l'équation complète intégrant une phase de décroissance à température élevée :

$$(32) \quad J_{\text{max}}(T_K) = J_{\text{max}}(T_{\text{opt}}) \frac{H_d \cdot \exp\left[\frac{H_a(T_K - T_{\text{opt}})}{(T_K RT_{\text{opt}})}\right]}{H_d - H_a \left(1 - \exp\left[\frac{H_d(T_K - T_{\text{opt}})}{(T_K RT_{\text{opt}})}\right]\right)}$$

avec  $J_{\text{max}}(T_{\text{opt}})$ ,  $H_a$ ,  $H_d$  et  $T_{\text{opt}}$  comme paramètres. Toutefois, lors de l'ajustement de ces paramètres,  $H_d$  n'a pu être estimé et a été considéré égal à 200 kJ mol<sup>-1</sup> suivant en cela (Dreyer et al. 2001).



## 6. CADRE D'ETUDE

### 6.1 Le Pin maritime et la Forêt Landaise

Classification du Pin maritime :

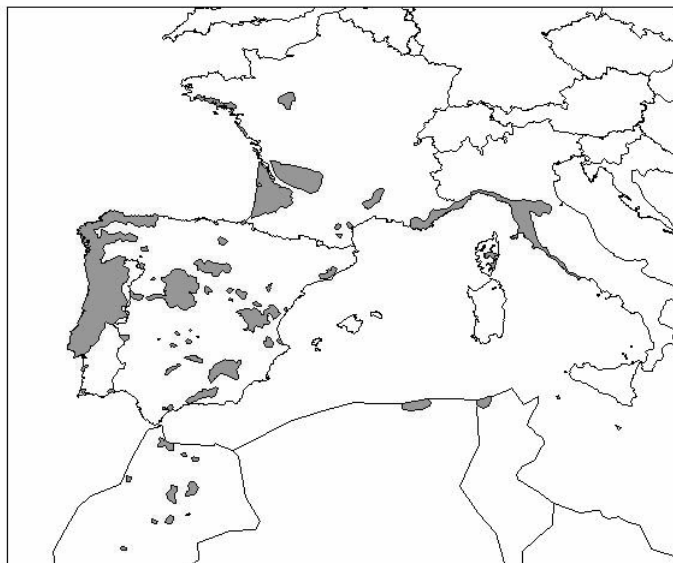
- Cormophytes (Trachéophytes), Embranchement des Spermaphytes (Phanérogames) et Sous-Embranchement des Gymnospermes
- Ordre des Coniférales (Conifères)
- Famille des Pinacées (ou Abiatacées)
- Genre *Pinus* et sous-genre *Pinus*
- Espèces *P. pinaster* Ait.



Le Pin maritime est une espèce sempervirente, à longévité moyenne d'environ 200 ans. Sa croissance initiale est rapide et l'arbre adulte peut mesurer jusqu'à 35 m. Son houppier conique est toujours clair et irrégulier et s'étale lorsque l'arbre vieillit. Il possède des paires d'aiguilles épaisses et rigides de 10 à 25 cm de long, d'une couleur vert foncé et des bourgeons ovoïdes allongés, non résineux à écailles frangées. Ses cônes ovoïdes ou coniques, de 10 à 20 cm de long, sont plus ou moins sérotineux et persistants. Résineux peu exigeant en nutrition minérale, le Pin maritime occupe souvent des stations à sol relativement pauvre comme les sols typiques des Landes de Gascogne.

Le Pin maritime possède une aire naturelle très morcelée. Paquereau (1964) a montré que le Pin maritime était déjà présent dans son aire actuelle depuis le Subatlantique (1400 ans BP), localisé dans les zones les mieux drainées, à proximité des cours d'eau et dans les zones les plus élevées (dunes continentales). Il est spontané dans tout le bassin de la Méditerranée occidentale (Figure 20). En France, on le rencontre à l'état naturel dans le massif des Maures et de l'Estérel, dans les basses montagnes du Var et des Alpes-Maritimes. Son aire de végétation est étendue jusqu'au Nord de la France le long de la côte Atlantique. Les travaux de plantation de pins furent entrepris dès le XVIIIe siècle dans les Landes de Gascogne, afin de faire face à l'avancée des dunes littorales, d'assainir et de mettre en valeur les terres. La fixation des dunes littorales, développée par Nicolas Brémontier et l'aménagement des terres de l'intérieur du département, développé par Jules Chambrelent et Henri Crouzet, sont à l'origine de la forte concentration du Pin maritime, qui peuple plus de 80 % de la Forêt

aquitaine. Néanmoins, s'il n'en fut pas toujours ainsi, on sait qu'historiquement, le Pin est l'arbre "roi" de la région, en particulier pour l'exploitation de la résine.



**Figure 20.** Aire de répartition actuelle du Pin maritime dans le bassin méditerranéen occidental. (d'après Burban, communication personnelle).

Aujourd'hui, la forêt de Landes de Gascogne forme un triangle de 1.2 millions d'ha au sud-ouest de la France, la bordure Ouest étant constituée par l'océan Atlantique, la bordure Sud / Est par l'Adour et la Bordure Est / Nord par la Garonne (Figure 21). Elle est répartie sur trois départements : La Gironde (Médoc Sud et Sud-ouest), les Landes (la quasi-totalité du département) et le Lot et Garonne (partie ouest délimitée par la Garonne). A première vue, le massif Gascon est caractérisé par sa grande homogénéité. En effet, il est constitué essentiellement par de la futaie équienne de Pin maritime (*Pinus pinaster* Ait.) qui s'étend sur environ 900 000 ha. Les 300 000 ha restant sont partagés entre des forêts mixtes, des zones boisées marginales (ripisylves), une forêt de Chêne et d'essences diverses. Ainsi, la forêt de Gascogne représente à elle seule 75 % des forêts d'Aquitaine et recouvre 45 % de la superficie des 3 départements qu'elle occupe.



**Figure 21.** Carte du massif des Landes de Gascogne (source : I.G.N.)



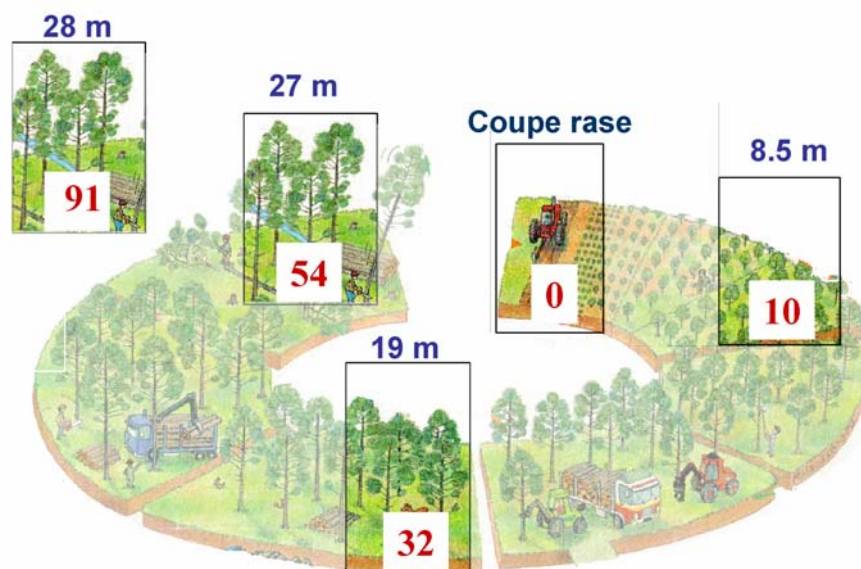
Les Landes de Gascogne sont constituées de sols podzoliques, dépôts sableux d'origine éolienne du Quaternaire datant du Pléistocène et de l'Holocène. Ces podzols sont caractérisés par une texture grossière, une pauvreté en ressources minérales assimilables, une réserve utile faible, une forte acidité et une nappe phréatique superficielle affleurant en hiver. Le pH varie entre 3.5 et 5.5, avec une moyenne autour de 4.5 (Guinaudeau et al. 1963; Juste 1992), ce qui les classe dans la catégorie des sols très acides (Duchaufour 1995). Le massif Landais a une altitude très faible (20 m au dessus du niveau de la mer) et s'avère relativement plat sur l'ensemble de sa superficie. Le climat océanique local est caractérisé par un déficit hydrique du sol marqué pendant la période estivale (Choisnel et al. 1987). A cette contrainte, s'ajoute souvent une contrainte édaphique supplémentaire : une accumulation compacte de sesquioxydes métalliques formant un horizon induré à forte concentration en aluminium et fer, constituant ainsi un obstacle chimique à la pénétration racinaire. Cet horizon, appelé localement alios, se situe à une profondeur variable de 0,2 à 1 m (Righi 1977). La faible épaisseur de sol prospecté par les racines est un facteur limitant la réserve en eau du sol disponible et aggrave le déficit hydrique en été. Pour un sol de 0.80 m de profondeur, la capacité au champ est d'environ 150 mm et le point de flétrissement permanent se situe autour de 40 mm, pour une réserve utile de 110 mm (valeurs estimées au site du Bray).

La modernisation de la sylviculture, entreprise depuis les années 1950, a imposé la ligniculture, impliquant un travail mécanique du sol, une fertilisation phosphatée à la plantation, le débroussaillage chimique et mécanique de la strate herbacée dans un itinéraire sylvicole comprenant quatre éclaircies et une coupe rase (Lesgourgues et al. 1997). Les modes de gestion actuels des peuplements forestiers landais sont basés sur une révolution forestière de 40 à 55 ans.

## 6.2 La chronoséquence étudiée

Nos recherches sur les causes du déclin de productivité avec l'âge de la forêt ont pour fondement le suivi de mesures écophysologiques dans une chronoséquence. L'étude d'une chronoséquence nécessite donc le choix de parcelles qui ne diffèrent que par l'âge des peuplements qui y sont implantés. Bien que ces conditions ne soient jamais parfaitement réalisées, compte tenu de la variabilité spatiale des caractéristiques climatiques et édaphiques, elles peuvent, néanmoins, s'en approcher, particulièrement, comme nous venons de le voir, dans la Forêt Landaise, grâce sa grande homogénéité. Ces considérations nous ont conduit à

sélectionner, dans ce massif forestier du département de la Gironde, quatre peuplements équiens et monospécifiques de 10, 32, 54 et 91 ans (Figure 23), distants seulement de 15 km. Le choix de ces 4 peuplements s'est fait après une enquête de terrain, afin de minimiser les différences pédoclimatiques et de sélectionner des peuplements de Pin maritime de même provenance (landaise).



**Figure 22.** Description de la chronoséquence étudiée (4 peuplements équiens et une coupe rase), illustrée à partir d'un schéma représentant la révolution forestière classique dans la Forêt des Landes de Gascogne avec les principaux travaux sylvicoles pratiqués (dessin de B. Patricot, CPFA, 1968).

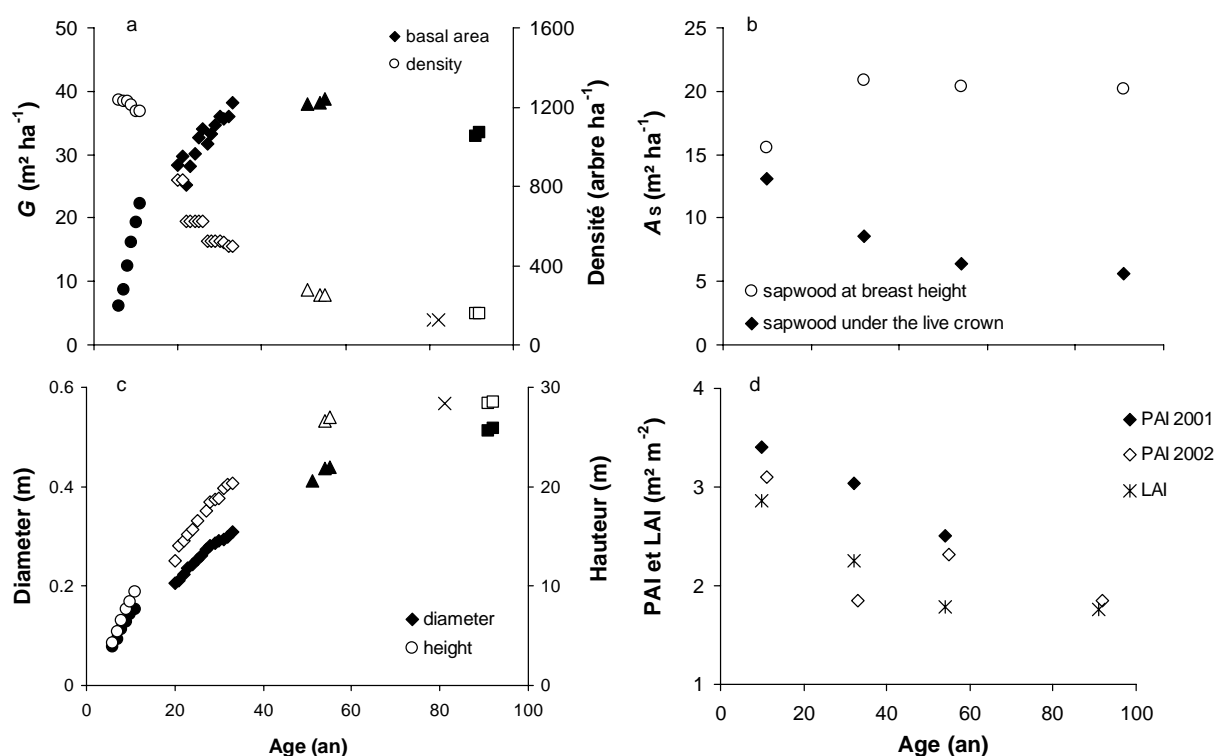
Bien que la révolution forestière dépasse rarement 55 ans, il subsiste encore quelques peuplements épars approchant le siècle. L'objectif de notre travail étant d'étudier le déclin de productivité des forêts avec l'âge, nous avons saisi de cette opportunité pour sélectionner un peuplement de 91 ans, afin de jouir d'une plus grande gamme d'âge. En outre, les flux de carbone et d'eau d'une coupe rase étant suivis en continu par le laboratoire depuis 4 ans, nous avons donc rajouté celle-ci sur le schéma ci-dessous. Les caractéristiques des peuplements de la chronoséquence sont décrites dans la Figure 23.

## 6.3 Approches expérimentales

### 6.3.1 Mesures dendrométriques

Depuis décembre 2000, des mesures annuelles hivernales de circonférence ont été réalisées, à l'aide d'un mètre ruban, sur l'ensemble des arbres de la chronoséquence. Le suivi en hauteur

des arbres a été effectué sur un échantillon de 70 à 100 arbres par peuplement (méthode de triangulation, Vertex). De plus, des données antérieures de circonférence et de hauteur obtenues dans les deux plus jeunes peuplements ont été récupérées et compilées (depuis 1996 pour le peuplement de 10 ans et depuis 1989 pour celui de 32 ans). A partir de ces données, la biomasse et l'accroissement en biomasse aérienne ont été estimés à l'aide de relations allométriques établies par Porte et al. (2000) et Porte et al. (2002) et améliorées grâce à l'ajout de deux peuplements de 10 et 52 ans, afin d'élargir la gamme de validité (Article II, Table 2). Par ailleurs, 20 pièges à litière d'un mètre de coté ont été installés dans chaque peuplement et le suivi de la chute de litière effectuée environ tous les mois. Les échantillons ont été triés pour séparer les aiguilles du reste de la litière, séchés à 65°C, puis pesés.



**Figure 23.** Evolutions de la surface terrière ( $G$ ), de la densité, de la surface d'aubier ( $A_s$ ), du diamètre, de la hauteur et de l'indice foliaire (LAI et PAI), en fonction de l'âge du peuplement. Dans les deux graphiques de gauche, les points représentés par un même symbole proviennent d'un même peuplement.

### 6.3.2 Micrométéorologie et teneur en eau du sol

Des mesures micrométéorologiques ont été réalisées au dessus de la canopée à l'aide de tours ou d'échafaudages installés au centre de chaque site, à l'exception du peuplement 54 ans qui

est distant de moins de 150 m de la tour météo du peuplement de 10 ans. Toutefois, durant une période de six mois au cours de la saison de croissance 2002, un capteur de température et d'humidité a été installé au dessus de la canopée du peuplement de 54 ans et aucune différence significative, n'a été détectée au regard de celui de 10 ans. La description des différentes variables météorologiques et les dates de début et de fin de mesures sont détaillées dans le Tableau 2.

**Tableau 2.** Descriptions des différentes variables météorologiques mesurées dans les quatre peuplements de la chronoséquence.

Age	Latitude Longitude	$T_a$ et HR	$R_n$	$R_g$	PAR	$P_{atm}$	$P_i$	$u$
Unités		°C et %	w m <sup>-2</sup>	w m <sup>-2</sup>	μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	bar	mm	m s <sup>-1</sup>
10 et 54 ans	44°44' N 0° 46' O	Mai2001 - Dec.2002	Mai2001 - Dec.2002	Mai2001 - Dec.2002	Jan.2002 - Dec.2002	Mai2001 - Dec.2002	Mai2001 - Dec.2002	Mai2001 - Dec.2002
32 ans	44°44' N 0° 46' O	Jan.2001 - Dec.2002	Jan.2001 - Dec.2002	Jan.2001 - Dec.2002	Jan.2001 - Dec.2002	Jan.2001 - Dec.2002	Jan.2001 - Dec.2002	Jan. 2001 - Dec.2002
91ans	44°37' N 0°34' O	Mai 2002 - Dec.2002	Mai 2002 - Dec.2002	-	Mai 2002 - Dec.2002	-	Mai 2002 - Dec.2002	Mai 2002 - Dec. 2002

La teneur en eau du sol a été mesurée à l'aide de deux techniques différentes, d'une part, avec un système FDR (CS615 water content reflectometer, Campbell Scientific, Ltd., Shepshed, UK), et d'autre part, avec un système TDR-TRASE (TRASE 6050X1, Soil moisture, Santa Barbara, USA). Dans les deux peuplements les plus âgés, quatre profils de sol, comprenant chacun 5 profondeurs de mesures ont été suivis en continu à l'aide de sondes FDR de 0.3 m de long, insérées horizontalement dans le sol à des profondeurs de 0.15, 0.3, 0.6, 0.9 et 1.3 m. Dans les deux plus jeunes peuplements, des sondes TRASES de 0.2 m de long ont été utilisées pour suivre quatre profils de sol à des profondeurs de 0.15, 0.3, 0.5, 0.7 et 0.8 m. Dans chaque peuplement, les données ont été enregistrées toutes les 4 heures pendant les 2 années de l'expérimentation, à l'exception du peuplement de 32 ans (non automatisé) pour lequel les mesures étaient effectuées une fois par semaine.

Dans tous les peuplements, des mesures manuelles de profondeur de nappe ont été réalisées une fois par semaine grâce à des tubes préalablement installés dans le sol (0 à 2 m). De plus, le peuplement de 10 ans était équipé d'un piézomètre automatique (PDCR 830,

Campbell scientific LTD, Logan Utah, USA), mesurant en continu les variations de profondeur de nappes toutes les 30 min.

Après avoir calculé le stock d'eau du sol de 0 à 0.8 m de profondeur ( $\theta$ , kg m<sup>-2</sup>), le déficit hydrique du sol ( $\delta_M$ ) de chaque peuplement a pu être calculé comme suit:

$$(33) \quad \delta_M = \frac{\theta_{\max} - \theta_t}{\theta_{\max} - \theta_{\min}}$$

où  $\theta_{\max}$ ,  $\theta_{\min}$  et  $\theta_t$  sont respectivement le stock d'eau maximal, minimal et à l'instant  $t$  de 0 à 0.8 m de profondeur. Dans un souci de clarté, deux niveaux de stress hydrique du sol ont été établis et seront employés tout au long de ce mémoire: "sol humide" correspondant à un  $\delta_M < 0.5$  et "sol sec" correspondant à un  $\delta_M > 0.6$ .

### 6.3.3 Flux de sève et surface d'aubier

La transpiration des arbres a été estimée à partir de mesures de flux de sève effectuées sur 6 arbres dans le peuplement de 10 ans et sur 7 arbres dans les trois autres peuplements de la chronoséquence. La densité de flux de sève xylémienne a été mesurée par la méthode de dissipation thermique dans le bois, à l'aide de capteurs confectionnés au laboratoire selon le principe décrit par Granier (1985, 1987). Un capteur est constitué de deux sondes cylindriques de 20 mm de long et 2 mm de diamètre, renfermant un enroulement chauffant de constantan. L'une est chauffée par une alimentation régulée (intensité de 0.140A) et l'autre reste à la température du bois. Un thermocouple cuivre-constantan est placé à mi-longueur de chaque sonde, permettant de mesurer l'écart de température entre les deux sondes. Les capteurs ont été installés à 1 m sous la couronne des arbres (1 à 18 m au dessus du sol) pour minimiser la variabilité azimutale de densité de flux de sève (Loustau et al. 1998), et sur le côté Est du tronc pour les abriter de la pluie. Les capteurs ont été protégés du rayonnement et de la pluie en les recouvrant d'une mousse aluminisée. Dans les trois plus jeunes peuplements, les données ont été enregistrées toutes les 10 secondes et moyennées toutes les 30 minutes, du mois d'avril 2001 au mois de janvier 2003. Le peuplement de 91 ans n'ayant été recruté qu'en février 2002, les mesures de flux de sève n'ont débuté qu'en mars 2002. Les mesures de différences de température entre les sondes ont été enregistrées à l'aide de centrales d'acquisition de données (model 21X, Campbell Scientific, Ltd., Shepshed, UK) et de multiplexeurs (model AM416, Campbell Scientific, Ltd., Shepshed, UK). Les valeurs

originales du coefficient de calibration de Granier (1985) ont été utilisées pour calculer le flux de sève,  $Q_s$  ( $\text{m}^3 \text{H}_2\text{O m}^{-2} \text{aubier h}^{-1}$ ).

Pour les arbres équipés de capteur dont les deux sondes étaient installées sur un même plan horizontal, aucun gradient naturel de température entre les sondes n'a été observé. Cependant, en présence d'insertion de branches ou lorsque le diamètre du tronc était trop petit, les sondes ont dûes être installées verticalement l'une par rapport à l'autre. Dans ce dernier cas, lorsque l'alimentation de la sonde chaude était débranchée, lors de périodes de 3 ou 4 jours au cours de l'expérimentation, un gradient naturel de température a été mesuré  $dT_n$ . Ce gradient naturel de température, couramment observé dans la littérature (Do and Rocheteau 2002a, b; Lundblad et al. 2001), induit un biais dans les données. Dans cette étude, les données brutes ont donc été corrigées pour compenser l'effet du gradient naturel de température. Après avoir testé l'ensemble des variables micrométéorologiques, une relation linéaire propre à chaque capteur a été retenue entre le  $dT_n$  et la température de l'air uniquement.

Pour extrapoler les mesures de flux de sève effectuées uniquement sur la partie périphérique du tronc à l'ensemble de l'arbre, les données ont dûes être corrigées pour le profil radial de flux de sève. Pour cela, des capteurs mobiles, construits sur le même principe que les capteurs classiques, mais d'une longueur de 140 mm, ont été mis au point au laboratoire afin de pouvoir accéder à la densité de flux de sève jusqu'au centre de l'arbre. Les deux sondes du capteur ont été placées, simultanément, et avec une extrême précision, à la même profondeur dans le xylème et déplacées tous les deux ou trois jours de 20 mm (6 profondeurs au maximum). Un profil de densité de flux de sève était donc obtenu en environ deux semaines. Au total, 7 arbres de dimensions différentes ont été échantillonnés, trois dans le peuplement de 10 ans et deux pour chacun des deux peuplements de 32 et 54 ans. Les mesures ont été effectuées sur sol humide et ont été répétées en 2001 et 2002.

La profondeur et la surface d'aubier, à la base du houppier, ont été obtenues en prélevant une carotte sur un échantillon de 30 arbres par peuplement, puis par observation devant une source lumineuse. La profondeur d'aubier à la base du tronc ayant une grande variabilité en fonction de la circonférence, quatre carottes par arbre ont été prélevées (4 azimuts) afin de calculer la surface d'aubier. Des données déjà existantes (Porte et al. 2002) et Bert (données non publiées) ont également été compilées avec celles que nous avons obtenues.

### 6.3.4 Potentiel hydrique foliaire

Durant les deux années de mesures de flux de sève, des cinétiques journalières de mesures de potentiels hydriques foliaires ont été réalisées sur les quatre peuplements de la chronoséquence. Le potentiel hydrique a été mesuré à l'aide de deux chambres à pression, de type Scholander, que nous avons spécialement conçues pour accueillir des aiguilles de Pin. Les deux chambres et leur manomètre respectif ont été inter-calibrés avant et après l'expérimentation. Grâce à des échafaudages permettant l'accès au houppier, trois arbres par peuplement ont pu être échantillonnés *in situ*, les mesures ayant été réalisées dans les deux minutes suivant la cueillette. Six campagnes de mesures ont été réalisées lors de journées ensoleillées (exemptes de tout nuage), dont trois campagnes sur sol humide (juin, juillet 2001 et juin 2002) et trois sur sol sec (septembre 2001 et août, septembre 2002). Une campagne de mesures consistait à suivre l'évolution du potentiel hydrique (effectuées toutes les 5 minutes) dans chaque peuplement depuis le petit matin (avant le lever du jour) jusqu'au soir. Toutefois, compte tenu de la distance entre les sites expérimentaux, seuls les deux peuplements adjacents de 10 et 54 ans ont pu être échantillonnés le même jour. Dans les deux autres, les mesures ont été réalisées les deux journées suivantes.

### 6.3.5 Mesure de la conductance stomatique *in situ*

Les mesures de conductance stomatique ont été effectuées lors de journées ensoleillées à l'aide de poromètres (Li-1600, Li-Cor Inc., Lincoln, NE) sur des aiguilles d'un an, de plein soleil, prélevées dans la partie supérieure du houppier. La mesure de  $g_s$ , réalisée sur aiguilles détachées, a toujours été réalisée dans les 5 min qui ont suivi le prélèvement, en haut de la canopée, en conservant les mêmes conditions d'éclairement de l'aiguille. Au préalable, plusieurs expérimentations menées dans le laboratoire ont permis de constater que les mesures de  $g_s$  ne sont pas affectées par le détachement de l'aiguille, lorsque celles-ci sont réalisées dans un laps de temps assez court (moins de 5 min). Immédiatement après l'obtention de la valeur de  $g_s$ , le diamètre de chaque aiguille,  $d_n$ , contenue dans la chambre a été mesuré avec un pied à coulisse électronique. La surface foliaire,  $S_n$ , a ensuite été calculée comme suit:

$$(34) \quad S_n = \left(1 + \frac{\pi}{2}\right) l_n d_n$$

où  $l_n$  est la longueur d'aiguille dans la chambre, considérée égale au diamètre de la chambre.

### 6.3.6 Mesures des échanges gazeux en laboratoire

Toutes les mesures d'échanges gazeux foliaires sur rameau détaché ont été effectuées à l'aide d'un analyseur de gaz à infrarouge (IRGA), en système de mesure ouvert, comprenant une chambre climatisée (WALZ Compact minicuvette system, Germany). La température à l'intérieur de la cuvette a été régulée par un élément Peltier et l'humidité de l'air contrôlée par un générateur de point de rosée. La composition de l'air en CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, et O<sub>2</sub> a été contrôlée par un mélangeur à débitmètre massique (Gas mixing unit GMA-2, Walz, Germany). La lumière provenant de deux sources identiques (lampes halogènes 150W) a été transmise dans la cuvette à l'aide de deux faisceaux de 200 fibres optiques. Après avoir recoupé le rameau sous eau, l'obtention des courbes de réponses au CO<sub>2</sub> ( $A-C_i$ ) à différentes températures (première expérimentation en 2000) et celle des courbes de réponse au CO<sub>2</sub> et à la lumière ( $A-Q$ ) (seconde expérimentation en 2003) ont toujours été réalisées au laboratoire, lors d'une même journée de mesures. Les différents paramètres écophysologiques ( $A$ ,  $E$ ,  $g_s$  et  $C_i$ ) ont été calculés sur la base des équations données par Farquhar and von Caemmerer (1982). A la fin de chaque série de mesures d'échanges gazeux, la longueur de l'aiguille ( $l_n$ ), le diamètre ( $d_n$ ) et l'épaisseur ( $t_n$ ) ont été mesurés sur les 6 aiguilles contenues dans la chambre, à l'aide d'un pied à coulisse électronique. Seul le diamètre de l'aiguille a été mesuré lors des mesures précédentes de conductance stomatique au poromètre, en raison des difficultés rencontrées au sommet d'un échafaudage. Au laboratoire, la surface foliaire totale a donc été calculée de façon plus précise, selon l'équation suivante :

$$(35) \quad S_n = \left[ \left( \frac{2t_n + d_n}{4} \right) \pi + d_n \right] l_n$$

Lors de la seconde expérimentation, des mesures de potentiel hydrique foliaire ont été menées parallèlement aux mesures d'échanges gazeux, en début de matinée et en fin d'après midi, afin de contrôler le bon état hydrique du rameau.

### 6.3.7 Teneur en éléments minéraux

Chaque année au mois de janvier, des aiguilles ont été prélevées à l'aide de tir au fusil sur 10 arbres, choisis au hasard dans chaque peuplement. Ces échantillons et ceux ayant servi aux échanges gazeux en laboratoire, ont été utilisés pour déterminer la teneur en azote, en phosphore, en potassium et en chlorophylle. De la même façon, la surface massique ( $\sigma$ , m<sup>2</sup> kg<sup>-1</sup>)



<sup>1</sup>) de chaque échantillon a été calculée comme étant le rapport surface/poids sec de l'échantillon.

La teneur en azote, phosphore a été mesurée par colorimétrie après minéralisation à chaud par acide sulfurique, à l'aide d'un auto-analyseur Technicon (O'Neill and Webb 1970) sur la partie centrale des feuilles qui se trouvaient dans la chambre de mesures :

Le dosage de l'azote est réalisé en milieu alcalin où l'azote ammoniacal réagit avec le salicylate de sodium et le chlore pour former un complexe coloré. Ce dernier est alors mesuré à 660 nm.

Le phosphore est dosé en milieu acide, les ortho-phosphates réagissent avec le molybdène d'ammonium pour former l'acide phosphomolibdique. Ce dernier est réduit en bleu de molybdène par l'acide ascorbique. Le bleu de molybdène est alors mesuré à 660 nm.

Le potassium est dosé par spectrophotométrie en émission de flamme après minéralisation à chaud par acide sulfurique, et mesurée à 766.7 nm.

Les teneurs en chlorophylle ont été déterminées selon la méthode de (Inskeep and Bloom 1985).

### 6.3.8 Composition isotopique du carbone du bois

Deux expérimentations portant sur la composition isotopique du carbone dans la cellulose des cernes ont été conjointement menées. Pour la première d'entre elle, l'échantillonnage comprenait quatre prélèvements de carottes de bois à la base du tronc (les 4 azimuts à 1.3 m). Ils ont été effectués à l'aide d'une tarière de Pressler sur les arbres ayant servis aux mesures de flux de sève, soit 6 arbres dans le peuplement de 10 ans et 7 arbres dans les trois autres peuplements de la chronoséquence. Ensuite, sur chaque carotte, les cernes de l'année 2001 et 2002 (période de mesures des flux de sève) ont été isolés, puis regroupés par arbre. Un échantillon comprenait donc quatre morceaux de bois, correspondant aux 4 azimuts de l'arbre, soit en totalité 54 échantillons sur la chronoséquence  $((6+3\times 7)\times 2\text{années})$ .

La deuxième expérimentation, visant à généraliser les résultats à l'ensemble du massif landais, a porté sur un échantillon de 50 peuplements localisés en Landes humides, et 20 peuplements en Landes mésophiles. Dix arbres par peuplement ont été carottés à la base du tronc, durant les mois de janvier-février 2003. A partir de ces carottes, plusieurs types d'échantillons ont été réalisés lors de la séparation des cernes:

(i) séparation en fonction du niveau de pluviométrie de l'année : une année très sèche (1989,  $P_i=668$  mm), une année très humide (1994,  $P_i=1170$  mm) et enfin un lot de 4 années de pluviométrie moyenne et homogène (1995-1998,  $P_i=1068 \pm 47$  mm);

(ii) de plus, les cernes des années extrêmes (1989 et 1994) ont été séparés en bois initial d'une part (correspondant au bois mis en place au printemps) et en bois final d'autre part (correspondant au bois mis en place en été, lors de la période de stress hydrique).

Pour l'ensemble des échantillons des deux expérimentations, la cellulose du bois a été extraite au laboratoire selon la méthode élaborée par (Lambrot and Porte 2000). Le principe de cette extraction consiste à éliminer de l'échantillon la lignine, l'hémicellulose, les pectines, les tannins ou autres molécules phénoliques, tout en ne conservant que la cellulose. Puis 3 mg de chaque échantillon ont été pesés et conditionnés en capsule d'étain pour l'envoi au laboratoire de l'INRA de Laon au sein duquel ils ont été analysés par spectrométrie de masse (FISONS Isochrom, Manchester, UK).

## CHAPITRE 2

---

Delzon S., Sartore M., Granier A. & Loustau D. 2004 - Radial profiles of sap flow with increasing tree size in maritime pine. *Tree Physiology* (in press).



## Radial profiles of sap flow with increasing tree size in maritime pine

### Summary

We investigated the radial variation of sap flow within sapwood below the live crown in relation to tree size in 10, 32 and 54 year-old maritime pine stands (*Pinus pinaster Ait.*). Radial variations were determined using two thermal dissipation sensors (Granier 1985), one used to measure sap flux density in the outer 20 mm of the xylem,  $Q_{s,ref}$ , and the second moved radially across the sapwood to measure sap flux density at multiple depths by 20 mm increment,  $Q_{s,i}$ . For all tree sizes, sap flow ratios ( $R_i = Q_{s,i} \cdot Q_{s,ref}^{-1}$ ) declined with increasing sapwood depth, but this decrease was steeper in trees with large diameter. Correction factors ( $C$ ) were calculated with the aim of extrapolating  $Q_{s,ref}$  to estimate the whole-tree sap flux density. A negative linear relationship was established between stem diameter and  $C$ , the latter ranging from 0.6 to 1.0. We calculated that neglecting these radial corrections in 10, 32, 54 and 91 year-old trees would lead to overestimation of stand transpiration by 4, 14, 26 and 47%, respectively. This result demonstrates the need to account for the differential radial profiles of sap flow in relation to tree size when comparing tree transpiration and hydraulic properties among trees of different size.

*Keywords: correction factor, heat dissipation method, sap flux density, tree size effect, Pinus pinaster Ait..*

## Introduction

The measurement of sap flow is widely used in ecophysiological field studies to estimate tree transpiration and investigate physiological and environmental controls on water use (Köstner et al. 1992, Swanson 1994, Čermák et al. 1995, Granier et al. 1996a, Granier and Breda 1996, Oren et al. 1996, Köstner et al. 1998, Oren et al. 1998, Wullschleger et al. 1998). Meinzer et al. (2001) proposed that inaccuracies in the scaling up of transpiration to whole-tree and stand levels occur because of uncertainty in the hydroactive xylem area and the radial variation in sap flux density, particularly in large trees with thick sapwood (Hatton et al. 1995). Sap flux density is not uniform across the sapwood area because the conducting properties vary widely during wood ageing and therefore with depth in the stem (Miller et al. 1980, Edwards and Booker 1984, Čermák et al. 1992, Granier et al. 1994, Phillips et al. 1996, Jimenez et al. 2000, Nadezhdina et al. 2002). The assumption of a uniform profile of sap flux density may therefore lead to large bias when estimating whole-tree sap flow from measurements made using a single sensor in the outer part of the xylem sapwood. Most methods used for sap flow measurements, including the heat pulse (Swanson 1967, Cohen et al. 1985), stem segment heat balance (Čermák et al. 1984, Cienciala et al. 1992, Jimenez et al. 1996) or heat dissipation methods (Granier 1985, Loustau et al. 1990, Granier and Loustau 1994, Loustau et al. 1996, Loustau et al. 1998, Meinzer et al. 2001) sample only a small portion of the radial profile in the sapwood.

Several attempts have been made to assess the radial variability in sap flow across the sapwood. One approach involved positioning several sensors at different depths into the sapwood, using either the stem segment heat balance method (Čermák et al. 1982, Čermák et al. 1992), heat pulse method (Edwards and Booker 1984, Edwards and Warwick 1984, Hatton et al. 1990, Pausch et al. 2000, Wullschleger and King 2000) or thermal dissipation method (Granier et al. 1994, Phillips et al. 1996, Lu et al. 2000, James et al. 2002). A second approach was proposed to assess the radial pattern of sap flow with a single sensor (Meiresonne et al. 1999, Nadezhdina et al. 2002). Alternatively, a single sensor can be placed successively at different depths, an approach that has been applied successfully with the heat pulse methods (Dye et al. 1991, Zang et al. 1996, Wullschleger and Norby 2001). Several methods have been used to integrate the sap flow values measured at different

depths over the sapwood area. Hatton et al. (1990) established a method based on an area-weighted average of sap flux density with increasing depth, and further improvements were incorporated by Pausch et al. (2000). Lu et al. (2000) proposed an integrative solution to estimate the whole-tree sap flow from outer sap flow measurements (0-20 mm depth) based on an exponential or linear relationship between sap flow and depth.

Our objectives were (1) to determine the variation of sap flow along the stem radius of maritime pine trees (*Pinus pinaster* Ait.) using the thermal dissipation method, (2) to examine the size-related change in the radial profile of sap flow, (3) to propose a method for scaling sap flow from single outer measurements to the whole-tree and (4) to quantify the error occurring when it is assumed that sap flow is uniform with sapwood depth. Our investigation was based on measurements of sap flow in a chronosequence of maritime pine stands located in Southwest France. This experiment allowed us to characterise the variability in the radial profile of sap flow over a wide range of stem diameters.

## **Materials and methods**

### ***Stand description and sapwood measurements***

Studies were carried out in four even-aged and monospecific maritime pine stands located 20 km Southwest of Bordeaux in the “Les Landes de Gascogne” forest in south-western France. The climate of this region is temperate maritime with cool, wet winters and warm, dry summers. The mean annual temperature is 13°C (1950-2000) and mean annual precipitation is 977 mm (1970-2000). The four stands were 10, 32, 54 and 91 years old and the characteristics of the trees in 2001 are shown in Table 1: Diameter at 1.3 m (DBH) was obtained for each tree in the chronosequence from circumference measurements and top height ( $h$ ) was measured in each stand on ~100 trees stratified according to tree basal area. Plant area index (PAI) was measured with an optical system (DEMON, Csiro, Canberra, Australia) and tree height was measured with a Haglof hypsometer (Vertex type II, Forestor Instrument AB, Taby, Sweden) on a sample of 100 trees in each stand.

In addition, diameter under the live crown ( $d_{LC}$ ) was obtained from circumference measurements on 30 trees per stand chosen randomly. For these trees, one wood core was

extracted from stems 0.5 m below the live crown with an increment borer. We then separated the hydro-active part of the xylem (sapwood, which is more translucent) and measured the radii of heartwood and total wood. Assuming that the ratio of heartwood radius / total radius under the bark was equal in all directions, the cross-sectional sapwood area,  $A_{S,LC}$ , was calculated as the difference between the total wood and heartwood areas (under bark).

**Table 1.** Stand characteristics of the maritime pine chronosequence (reference year 2001). Values are means, standard errors are in parenthesis and sample sizes for biometric and radial profile measurements are described in the last two lines of the Table. Plant area index (PAI) was measured using an optical method (DEMON).

	Stand age (year)			
	10	32	54	91
Top height, $h$ (m)	8.46 ( $\pm$ 0.08)	20.21 ( $\pm$ 0.11)	26.65 ( $\pm$ 0.11)	28.36 ( $\pm$ 0.26)
DBH (m)	0.14 ( $\pm$ 0.0001)	0.30 ( $\pm$ 0.0001)	0.44 ( $\pm$ 0.0003)	0.51 ( $\pm$ 0.0004)
Tree basal area, $g$ ( $m^2$ tree $^{-1}$ )	0.016 ( $\pm$ 0.0002)	0.072 ( $\pm$ 0.0005)	0.153 ( $\pm$ 0.002)	0.213 ( $\pm$ 0.003)
Density (trees ha $^{-1}$ )	1180	500	250	155
Stand basal area, $G$ ( $m^2$ ha $^{-1}$ )	19.23	36.00	38.22	32.96
Plant area index, PAI ( $m^2$ m $^{-2}$ ) (1)	3.41	3.04	2.51	1.85
Biometric measurements (tree)	637	1921	485	463
Radial profile measurements (tree)	3	2	2	no

(1) Understorey not accounted for; DBH: diameter at breast height; PAI ( $m^2_{\text{plant}} m^{-2}_{\text{ground}}$ ) was estimated from measurements of total light interception using an optical method (DEMON).

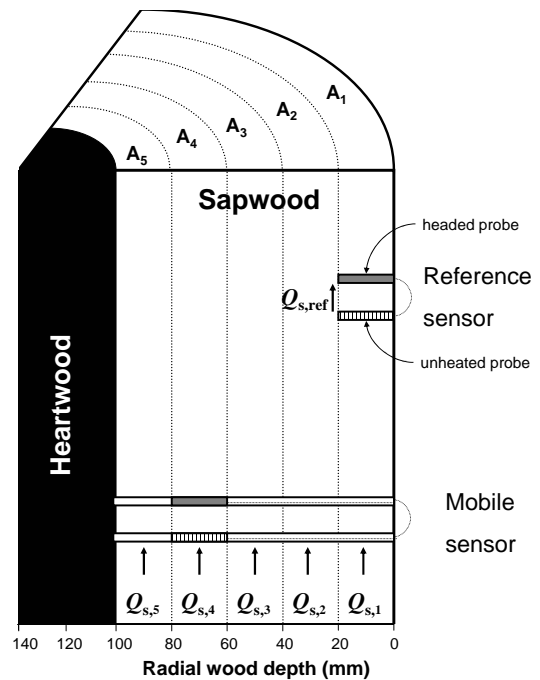


### *Sap flow measurements*

We used the original design of the thermal dissipation method (Granier 1985, 1987), i.e., a sensor (reference sensor) composed of a pair of probes of 1.5 mm in diameter and 20 mm in length containing a copper-constantan (Cu-Cn) thermocouple and surrounded by a glass-coated constantan wire. The Cu-Cn thermocouples of the two probes were connected at the Cn lead, so that the voltage measured across the Cu leads represents the temperature difference ( $\Delta T$ ) between the probes. In addition, a new mobile sensor was designed for measuring sap flux rates at greater sapwood depths. This sensor was identical to the reference sensor, except that it was located at the end of 140 mm long needles. The thermocouple and the glass-coated constantan wire were inserted inside the needle to its tip. The probes were installed in the stem in previously inserted aluminium tubes, placed with 130 mm vertical separation. The upper probe was heated continuously with a constant power of 0.140 A, while the lower one was not heated and measured the wood temperature. Sensors were covered with an aluminium sheet to prevent exposure to rain and direct sunlight. The original equation relating the difference in temperature between probes to the sap flux density ( $Q_s$ ,  $\text{m}^3 \text{H}_2\text{O m}^{-2} \text{sapwood h}^{-1}$ ) was applied (Granier 1985).

Maritime pine trees do not have continuous functional xylem across the entire radius at the base of the stem. Sap flow, measured by thermal dissipation, is underestimated when part of the probe is not in contact with conducting xylem (Clearwater et al. 1999). Furthermore, maritime pine trees in south-western France are characterised by a large variability in sap flow in relation to azimuth at the base of the stem, due to the anisotropic distribution of sapwood hydraulic properties. Therefore, all sap flow measurements were performed at the base of the live crown as recommended by Loustau et al. (1998). A 20 m boom cherry picker was used to install sensors just below the live crown, and subsequently a ladder was used to provide access to the probes.

In each tree, we used two sensors, the reference sensor at a fixed location in the outer 20 mm of the sapwood and the mobile sensor to sample the sap flow at different depths along the sapwood radius (Figure 1). The mobile sensor was placed in the stem at one meter below the reference sensor at the same azimuth. The sap flux density was measured at different radial depths by moving inwards the two probes of the mobile sensor simultaneously by 20 mm increments. The mobile sensor was inserted at three to four depths in the stem of 10 year-old trees (0-20, 20-40, 40-60, 60-80 mm depth) and at five to six depths in larger trees (0-20, 20-40, 40-60, 60-80 mm depth) and at five to six depths in larger trees. At each depth, measurements were carried out during 48 or 72 hours to allow a correct determination of the maximum temperature gradient when flow was zero. The determination of a complete radial profile lasted 14-21 days according to tree sapwood thickness.



**Figure 1.** Schematic diagram of the location of the reference and mobile sensors and corresponding sapwood areas ( $A_{1-5}$ ). The two probes (heated and unheated) of the mobile sensor were moved inward in 20-mm steps at 48 hour intervals. Sap flux density,  $Q_{s,1-5}$ , corresponds to measurements made by the mobile sensor and  $Q_{s,ref}$  to the fixed reference sensor.

Radial profiles of sap flow were determined on three trees in the 10 year-old stand and two trees in the 32 and 54 year-old stands (Table 2) during two measurement periods, September-October 2001 and September-November 2002. Additionally, we compared radial profiles at two azimuths (East and North) in the same stem section of the largest 54 year-old tree. To avoid the risk of thermal interactions between adjacent sensors, sap flow was measured successively on each side. Data were taken every 10 s and 30 min averages stored with a Campbell CR21X-datalogger and AM416-multiplexer (Campbell Scientific

Inc., Logan, Utah, USA). At the end of the experiment, wood cores were extracted from the bark to the centre of each stem and sapwood and heartwood thicknesses were measured.

**Table 2.** Characteristics of the seven trees used for the radial sap flow measurements.

	Tree age (year)							
	10			32		54		
Top height, $h$ (m)	9.4	10.4	10.0	20.4	21.3	26.8	30.1	
DBH, (m)	0.15	0.16	0.20	0.28	0.32	0.42	0.53	
Measurement height (m)	1.5	1.5	2.0	12	10	13.5	15.5	
$d_{LC}$ (m)	0.14	0.15	0.17	0.15	0.21	0.27	0.34	
Sapwood depth (mm)	52	50	74	55	60	82	88	
Heartwood radius (mm)	9	11	4	4	19	20	74	

DBH: diameter at breast height;  $d_{LC}$ : diameter under the live crown (at measurement height).

Local micrometeorological conditions were measured at the top of the canopy in each stand and soil volumetric water content was measured using two TDR- and FDR-techniques at four locations in each stand (for details, see Delzon et al. 2004). Maximum values of vapour pressure deficit ( $D_{max}$ ) and photosynthetic active radiation (PAR) were approx. 2652 and 2183 Pa and 1319 and 1287  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  in September-October 2001 and October-November 2002, respectively. All measurements were carried out under no limiting soil water availability (soil water content 0-0.8 m > 85 kg m<sup>-2</sup>, corresponding to a soil moisture deficit of 40% (Granier and Loustau 1994)) to avoid heterogeneous water availability and differences in tree water status.

#### **Wood water content and density**

The relative wood water content ( $W_c$ ) and wood density ( $D_w$ ) were determined for 5.2 mm diameter wood cores extracted just below the live crown from the eastern side of 10

additional trees in the 10 year-old stand, and from two opposite sides (East and North) of seven additional trees in the 54 year-old stand. The cores were extracted in the morning, placed immediately in sealed plastic tubes, and placed in an ice-chest before being transported to the laboratory where all samples were stored at 4 °C. Dimensions of bark, sapwood and heartwood were determined, and 20-mm long samples were cut from each core and the lengths and diameters measured with callipers to the nearest 0.01 mm. The fresh mass ( $M_F$ ) of each sample was measured with a balance with a resolution of 0.01 mg (Model AG245, Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland). Following these measurements, the samples were immersed in distilled water during 72 hours to obtain the saturated mass of the wood ( $M_S$ ). Then, dry mass ( $M_D$ ) was determined after drying at 80 °C until constant weight achieved. The relative water content,  $W_c$ , was calculated as follows:

$$W_c = \frac{M_F - M_D}{M_S - M_D} \quad (1)$$

The wood density ( $D_W$ ) was obtained by dividing sample dry mass ( $M_D$ ) by sample volume ( $V$ ).

### ***Correction factors***

To extrapolate the sap flux density from the fixed reference sensor to the entire sapwood area below the live crown, we calculated a correction coefficient ( $C$ ) accounting for both the radial sap flow profile and the area of the sapwood annulus sampled at each depth. First, we calculated the sum of sap flux density for both reference ( $\sum Q_{s,ref}$ ) and mobile ( $\sum Q_{s,i}$ ) sensors during the measurement period (48 hours) at each position. Then, we calculated a sap flux density ratio ( $R_i$ ) at each depth from the ratio of the sum of the sap flux density measured by the mobile sensor ( $\sum Q_{s,i}$ ) to that of the fixed reference sensor ( $\sum Q_{s,ref}$ ), such that:

$$R_i = \frac{\sum_0^{48} Q_{s,i}}{\sum_0^{48} Q_{s,ref}} \quad (2)$$

where  $i$  is the number of positions measured in the xylem.

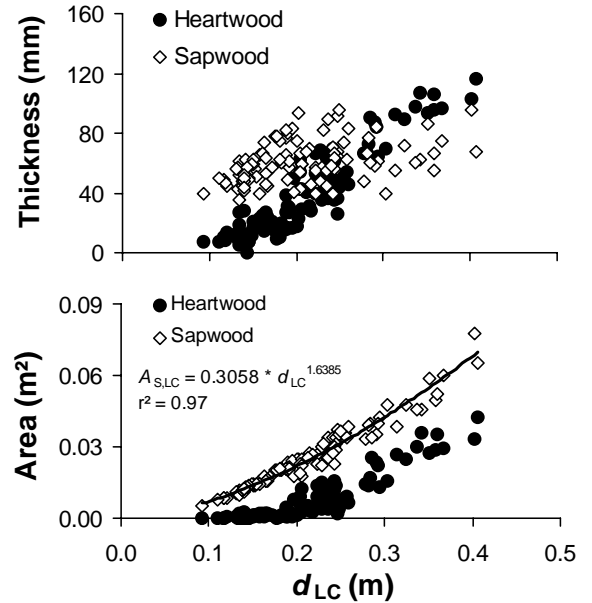
The values of  $R_i$  were then normalized by the value of the sap flow ratio at the first depth ( $R_1$ , 0-20 mm) giving a range of values between 0 and 1. The correction factor was calculated from the sap flow ratio multiplied by an area-weighted average, corresponding to the cross-sectional sapwood area ( $A_i$ ) sampled at each sensor position,  $i$ , divided by the entire cross-conducting area ( $A$ ) (Figure 1). Such that:

$$C = \sum_{i=1}^n R_i \cdot \frac{A_i}{A} \quad (3)$$

## Results and discussion

### *Relationship between sapwood and tree size*

The heartwood radius below the live crown increased with increasing stem diameter and ranged from 0 to 120 mm. Bark thickness varied between 4 and 20 mm, and increased as stem diameter increased (data not shown). Conversely, sapwood thickness ranged from 35 - 95 mm, increasing slightly for  $d_{LC} < 0.18$  m (Figure 2a). Moreover, variability of sapwood thickness rose with increasing stem diameter showing no more correlation for  $d_{LC} > 0.18$  m as for *Picea abies* where large variability in sapwood depth was found amongst trees of the same diameter (Kravka et al. 1999).



**Figure 2.** Relationship between stem diameter below the live crown,  $d_{LC}$  (m), and sapwood and heartwood thickness (mm) (a) and sapwood area,  $A_{S,LC}$  (m<sup>2</sup>), and heartwood area,  $A_{E,LC}$  (m<sup>2</sup>) (b) as measured on a sample of 100 trees across the chronosequence.

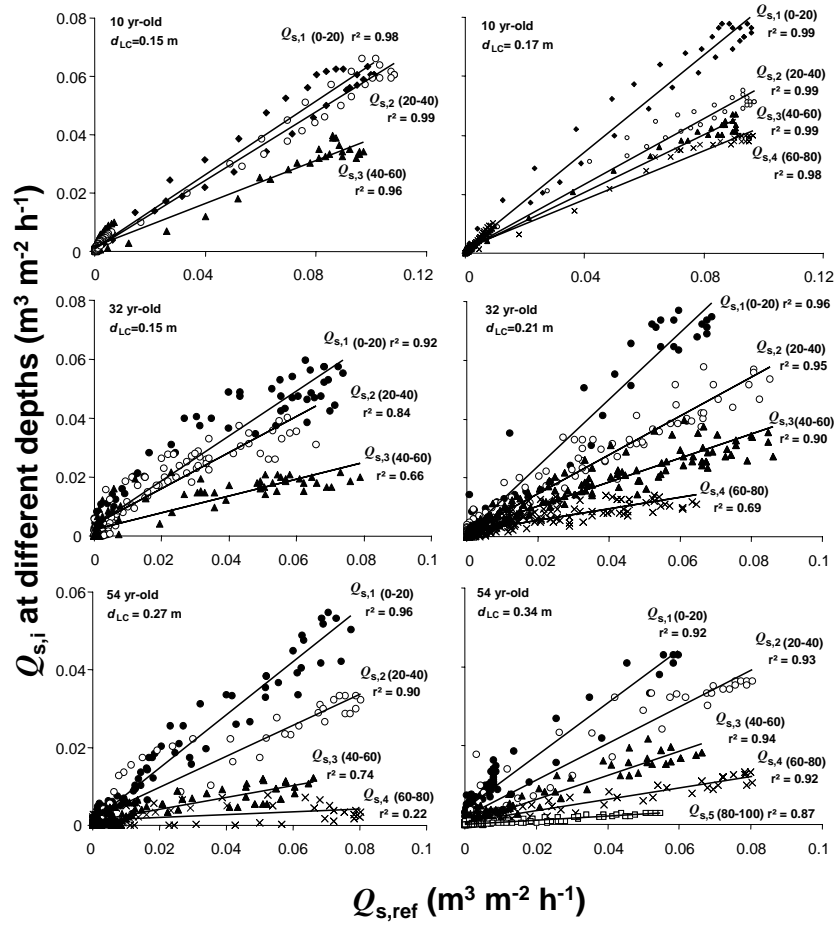
Sapwood area,  $A_{S,LC}$ , ranged from 0.005 to 0.08 m<sup>2</sup> and increased as a power function of the diameter below the live crown,  $d_{LC}$ , (Figure 2b) according to:

$$A_{S,LC} = k \cdot d_{LC}^b \quad (4)$$

where  $k$  and  $b$  are coefficients determined by nonlinear regression. This power relationship explained 97 % of the observed variation in sapwood area. For the two younger stands heartwood cross sectional area was insignificant, whereas heartwood area in the older stands extended from 0.0015 to 0.042 m<sup>2</sup>, according to stem size.

#### *Change in the radial profile of sap flow with tree size*

In most cases, sap flow measured at different depths was linearly related to the flow measured at the reference location and the intercept was not significantly different from zero, as illustrated in Figure 3. The variance explained by the linear regression ( $r^2$ ) decreased with depth in the sapwood, similar to the relationship in mango trees (Lu et al. 2000). In a limited number of cases, the relationship showed a hysteresis, i.e., the sap flow ratio was not fully constant with time throughout the day, especially when sap flow rates were low, in the morning and evening. To deal with the time lags, we calculated the sap flow ratio as the sum of two or three days of measurements at the same depth. However, if the sap flow ratio was calculated only at a given time in the day, the estimate of the correction factor may be inaccurate, e.g., when short term measurements of radial profile were carried out moving the sensor along the stem radius every 5 minutes. Nadezhdina et al. (2002) also reported that the sap flow ratio changed with time and therefore errors could occur during scaling up to the whole tree when using data obtained from a single sensor in the outer sapwood, even if the radial profile corrections had been applied.



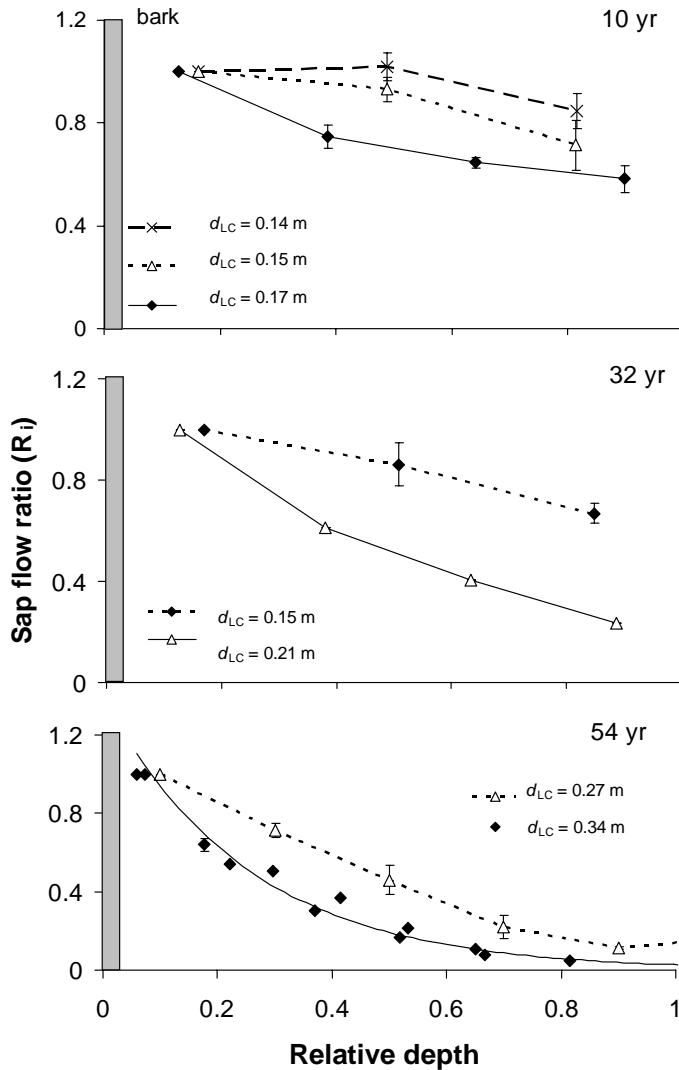
**Figure 3.** Relationship between half hourly values of sap flux density at various depths,  $Q_{s,i}$ , and  $Q_{s,ref}$  at the outer 20 mm (reference sensor), ( $r^2$  values of the regressions are indicated on the graph). Each graph represents a full day of measurements.

Average radial profile in the sap flux ratio ( $R_i$ ) measured on the eastern side of each tree was highly dependent on the depth in the sapwood, i.e.,  $R_i$  decreasing with increasing sapwood depth (Figure 4). Sap flux density was higher in the outer part of the xylem for all tree ages, and no decrease at the outermost location of the profile was observed, except for the smallest tree where sap flux density was maximum at a depth of 30 mm. Sap flux density has often been reported to vary across the sapwood, being maximum at a depth of 10 to 20 mm from the cambium and decreasing toward the heartwood (Edwards and Booker 1984, Dye et al. 1991, Čermák and Nadezhdina 1998, Lu et al. 2000, Pausch et al. 2000, James et al. 2002, Nadezhdina et al. 2002) or declining along the entire xylem radius

(Granier et al. 1994, Becker 1996, Phillips et al. 1996, Schafer et al. 2000, Wullschleger and King 2000, James et al. 2002). In this study, the probe was too long (20 mm) to detect any change in sap flow properties in the outermost sapwood. This could be examined further by reducing the probe length to 10 mm (James et al. 2002).

Radial profiles of sap flow changed with tree size (Figure 4). For smaller trees (10 year-old), the sap flow ratio at a depth of 20-40 mm ( $R_2$ ) was close to the value of sap flow ratio in the outermost measurement ( $R_1$ ), and practically the whole cross-sectional area of xylem was conducting sapwood. The value of  $R$  decreased toward the centre of the stem, but did not decrease to less than 60 % of value in the outermost measurement. In contrast, for large trees,  $R$  decreased dramatically with increasing sapwood depth, falling to 20 % of the value in the outermost measurement at the sapwood-heartwood boundary. These results were similar to those of Phillips et al. (1996) for loblolly pine, where a 59 % reduction in daily sap flux density from outer to 20-40 mm depth in sapwood was observed. Similarly, in oak Čermák and Nadezhdina (1998) found that the decline in sap flow with increasing depth in the sapwood was larger for large trees than small trees. The sap flow ratio was zero in the heartwood (only in the largest tree) as observed by Čermák et al. (1992), Čermák and Nadezhdina (1998), James et al. (2002), Nadezhdina et al. (2002). We did not observe zero flow in smaller trees because the heartwood was absent or negligible and so the entire measuring part of the probe was never fully inside the heartwood. It is noteworthy that we could not demonstrate a relationship between the shape of the radial profile of sap flow and the number of annual rings.





**Figure 4.** Sap flow ratio ( $R_i$ ) measured in the sapwood of each sample tree per stand as a function of depth in the stems. Sap flow ratio was expressed in relation to the relative depth in the xylem from bark to the centre of the tree. Values for a given profile have measured at different dates (data are means  $\pm$  standard errors,  $n=2-5$ ). Each profile had been measured on the eastern side of each tree, except for the bottom panel (54 year old stand) where full diamonds represent sap flow ratio measured on two different sides (East and North) of the stem for the biggest tree.

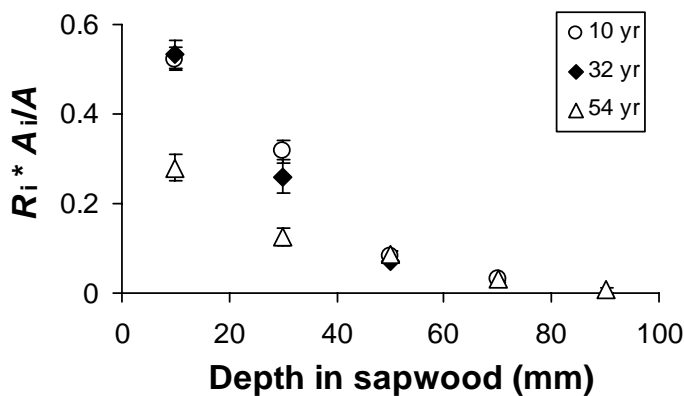
### *Azimuth variability*

Radial profiles of sap flow were measured below the live crown on two sides in the largest tree. For both the East and North azimuths, the sap flow ratio showed a similar pattern with increasing depth in the sapwood (Figure 4, bottom panel, full diamonds) and the correction factors were similar,  $C=0.614$  (East) and  $C= 0.640$  (North). Other studies have shown that azimuthal variability in radial profiles of sap flow is large at the base of the stem, so several measurements around the stem are required for accurate estimates of whole-tree transpiration (Miller et al. 1980, Lu et al. 2000, James et al. 2002). Nevertheless, Loustau et al. (1998) found very low variability of sap flow measured below the live crown with

regards to azimuth, in contrast to a high variability measured at the base of the stem. Therefore, our results also support the theory that variability in radial profiles of sap flow with regards to azimuth, may be neglected when estimating whole-tree sap flow, providing that sap flow measurements are made below the live crown.

### Correction factors

The variation of the area-weighted sap flow ratio ( $R_i \cdot \frac{A_i}{A}$ ) with increasing depth in sapwood for all trees in each stand are shown in Figure 5. Both the larger area of conducting sapwood and the higher sap flow rate close to the bark explain the greater contribution of the outer xylem to the whole-tree sap flux density. Conversely, sap flow in the innermost sapwood annuli (greater than 60 mm depth) contributed little to whole-tree sap flux density, as also observed by Dye et al. (1991), Lu et al. (2000) and James et al. (2002). The outer 20 mm annulus of sapwood accounted for 55, 42 and 53 % of the total tree sap flow for the 10, 32 and 54 year-old stands, respectively. So, for all tree size classes, measurement of sap flow ratio across the outer 60 mm of sapwood is sufficient to estimate more than 90% of the whole-tree transpiration.



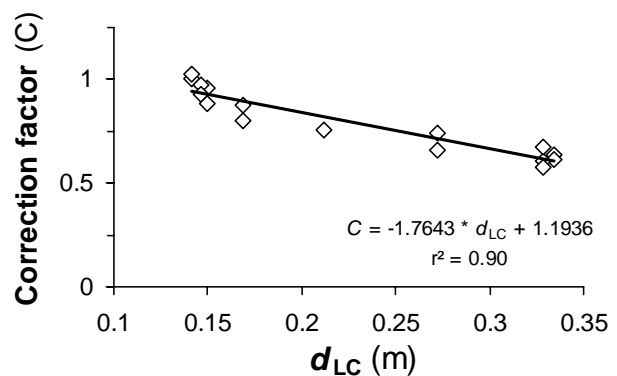
**Figure 5.** Radial profile of area-weighted sap flow ratio, ( $R_i \cdot \frac{A_i}{A}$ ), with increasing depth in sapwood. Points are mean values of all trees per stand and bars shown standard errors.

To extrapolate whole-tree sap flux density from continuous sap flow measurements at a single position (0-20 mm depth) below the live crown, a correction factor ( $C$ ) was determined for each tree at several dates (Figure 6). The factor  $C$  ranged from 0.6 to 1.0 for the large and small trees, respectively. For applying the correction to tree and stand sap flux

density estimates, we established a linear regression between the correction factor and the diameter below the live crown,  $d_{LC}$ , giving  $C = -1.7643 \cdot d_{LC} + 1.1936$ ,  $r^2=0.90$ . No significant relationship was found between  $C$  and sapwood thickness (data not shown). These values of  $C$  are similar to those derived using the heat pulse methodology in previous studies. Zang et al. (1996), used movable heat pulse sensors and estimated correction factors between 0.56 and 1.02 for two *E. globulus* trees, but did not report the tree diameter or sapwood thickness. Köstner et al. (1996) used a correction factor depending on sapwood thickness, based on experiments by Granier et al. (1996b), and the average value was 0.86. Only Wullschleger and King (2000) carried out replicates of radial profile measurements of sap flow as in this study. They estimated the fraction of functional sapwood in water transport for 20 yellow-poplar trees giving an index similar to our correction factor. Their values varied over a large range between 0.49 and 0.96, but they did not find clear relationships with sapwood thickness or stem diameter. In such forest stands, stems of yellow poplar are cleared of lateral branches up to a considerable height, and so measurements carried out at the base of the crown could have reduced the observed variation in the correction factor and revealed clearer links with tree dimensions.

We have calculated the error introduced when ignoring sap flow profile pattern, i.e., assuming a uniform sap flow density along the sapwood radius as follows. Using Equation 4, we calculated a weighted sapwood area for each stand from the sum of sapwood areas corrected for  $C$  in each tree. We then estimated stand transpiration, multiplying this weighted stand sapwood area by the average sap flux density measured continuously on seven trees per stand. We did not scale using basal area distribution because we found no relation between sap

flux density and tree dimensions within each stand (Delzon unpublished data).



**Figure 6.** Relationship between the correction factor,  $C$ , and diameter measured below the live crown,  $d_{LC}$ , for each tree at several dates and azimuthal directions.

Neglecting the radial correction in the 10-, 32-, 54- and 91 year-old trees, would have led to overestimation of stand transpiration by 4, 14, 26 and 47%, respectively. These overestimates were slightly larger than the values obtained by Irvine et al. (2002) (17 % for a 50 year-old *Pinus ponderosa* stand).

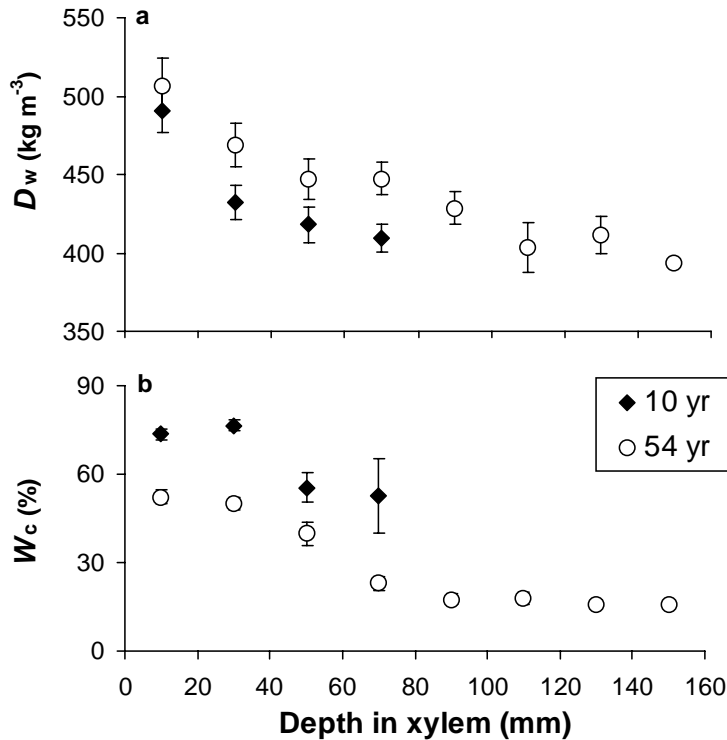
These results demonstrate that radial variation in sap flux density is an important source of error in the scaling process for trees with a wide sapwood. The assumption of a constant radial profile of sap flow (Granier and Loustau 1994, Loustau et al. 1996, Martin et al. 1997) can introduce systematic bias into estimates of both tree and stand water use, particularly in older coniferous stands.

Several replicate measurements were carried out on the same sample trees at different dates (n=2-5 in 2001 and 2002) and resulted in similar values of sap flow ratio (Figure 4, mean values with standard errors) and correction factors (Figure 6). Therefore, even though we did not investigate the whole range of environmental conditions, we concluded that the correction factor was not affected by meteorological changes and this method could replace the use of permanent sensors at multiple sapwood depths. As measurements were only carried out on maritime pine, it is difficult to know if the correction factor could be applied to other species, however the method could be used.

#### ***Variation of wood properties within the stem***

Profiles of wood density with xylem depth in the two stands followed similar patterns (Figure 7a), showing a large decrease with increasing depth in the sapwood ( $D_w$  ranged between 500 and 400 kg m<sup>-3</sup>) and low constant values in the heartwood (decreasing from 0 to 50 mm depth for the 10 year-old stand and from 0 and 80 mm depth, but not beyond, for the 54 year-old stand). Values were close to those previously published for loblolly pine (Megraw 1985), and the decline was similar to that observed by Phillips et al. (1996). The decrease in wood density may be attributed to changes in ring width occurring during the tree's life cycle, i.e., larger rings with a lower density occur in the stem centre compared to thinner rings in the outermost part of the sapwood. Moreover, the first 12 growth rings of

maritime pine trees in the stem centre are composed of juvenile wood which has a lower density than that of adult wood (Dumail and Castera 1997).



**Figure 7.** Radial patterns of mean wood density,  $D_w$  (a), and relative water content,  $W_c$  (b), as function of depth in tree stems of two maritime pine stands aged 10 (n=10) and 54 yr (n=7). Bars are standard errors.

Values of relative water content decreased clearly with increasing xylem depth for trees in the 54 year-old stand, whilst in the young stand the water content at a depth of 30 mm was higher than at 10 mm and both of them were higher than  $W_c$  deeper than 50 mm (Figure 7b). For old trees, relative water content in the heartwood did not vary with depth ( $W_c=0.17\%$ ) and values were lower than those in sapwood (average  $W_c=0.42\%$ ). Previous studies also found a decrease in water content with depth in sapwood (Waring and Running 1978, Phillips et al. 1996). Moreover, in coniferous trees, the water content in heartwood is usually lower than that for sapwood and invariant with diameter class (Bamber and Fukazawa 1985, Kravka et al. 1999). Panshin and Zeeuw (1980) reported that relative water content was less variable in heartwood than in sapwood, and concluded that there is little water movement within the heartwood. It is noteworthy that the profiles of relative water content paralleled the radial profile of sap flow. Čermák and Nadezhdina (1998) also

reported that the radial pattern of sap flow was related to xylem water content for two coniferous trees (*Pinus pinea* and *Pinus sylvestris*), but not for several other species e.g. poplar. Nevertheless, to our knowledge, no study has yet shown a cause-and-effect relationship between the radial pattern of sap flow and relative water content (Wullschleger and King 2000).

The decline in sap flow was greater for old (large) trees, even when the change in sapwood thickness with age was small, ranging between 50 and 90 mm. Phillips et al. (1996) and James et al. (2003) showed that the radial profile in sap flow was strongly correlated with the specific conductivity of the xylem. In a previous study, we highlighted that whole-tree hydraulic conductivity decreases with increasing tree size, and this may explain the greater decline with xylem depth in sap flow in large trees compared with small trees (Delzon et al. 2004). Moreover, Wullschleger and King (2000) speculated that sap flow would decline with increasing sapwood depth, but not because of age-related effects on hydraulic conductivity *per se*. They suggested that the old xylem that conducted water to the first branches when the tree was young no longer participates in the transport process to foliage once the older branches have become shaded or have died.

## **Conclusion**

The results allowed us to establish a simple method for scaling sap flow measurements to estimate sap flux density on sapwood cross sectional area basis using a correction factor,  $C$ . The value of  $C$  (1.0-0.6) was linearly related to stem diameter (142-335 mm) and can be used to predict transpiration for maritime pine over a large range of tree sizes.

We have confirmed the need to account for variations in radial profiles of sap flow and have shown that ignoring the profile within the sapwood introduces bias into sap flux density calculations and thus estimates of transpiration and stand water use. This bias increased with increasing stem diameter from 5% for the young stands to 47% for oldest stand we measured. Thus, this precludes uncorrected single probe measurements to be used when estimating sap flux density in stands with different stem sizes or tree age.

Our approach used a new sensor based on the heat dissipation technique (located at the tip of a 140 mm long needle), which was mobile and allowed us to characterise sap flux density with increasing depth in sapwood. This enabled us to determine radial profiles based on the ratios of sap flow at different depths (mobile sensor) to the flow at the outermost location (reference sensor located at a depth of 20 mm). We recommend that measurements of radial profile should be integrated over at least one entire day, if such data are being used to scale sap flow from a single location to the whole-tree.

## Acknowledgments

This work was supported by the EC Environment and Climate Research Programme CARBO-AGE project (contract ENV4-CT97-0577), and the senior author's doctoral fellowship by INRA and the French public institute ADEME. We thank Alexandre Bosc, Annabel Porté and Mark Bakker for multiple discussions and Andy Kowalski and David Whitehead for their help with the English.

## References

- Bamber, R.K. and K. Fukazawa. 1985. Sapwood and heartwood: a review. *Forestry Abstracts*. 46:567-580.
- Becker, P. 1996. Sap flow in Bornean heath and dipterocarp forest trees during wet and dry periods. *Tree Physiol*. 16:295-299.
- Čermák, J., E. Cienciala, J. Kucera, A. Lindroth and E. Bednarova. 1995. Individual variation of sap flow rate in large pine and spruce trees and stand transpiration : A pilot study at the central Nopex site. *J. Hydrol*. 168:17-27.
- Čermák, J., E. Cienciala, J. Kucera and J.E. Hallgren. 1992. Radial velocity profiles of water flow in trunks of Norway spruce and oak and the response of spruce to severing. *Tree Physiol*. 10:367-380.
- Čermák, J., J. Jenik, J. Kucera and V. Zidek. 1984. Xylem water flow in a crack willow tree (*Salix fragilis L.*) in relation to diurnal changes of environment. *Oecologia (Berlin)*. 64:145-151.

- Čermák, J. and N. Nadezhdina. 1998. Sapwood as the scaling parameter - defining according to xylem water content or radial pattern of sap flow? *Ann. For. Sci.* 55:509-521.
- Čermák, J., J. Ulehla, J. Kucera and M. Penka. 1982. Sap flow rate and transpiration dynamics in the full-grown oak (*Quercus robur L.*) in floodplain forest exposed to seasonal floods as related to potential evapotranspiration and tree dimensions. *Biol. Plantarum.* 24:446-460.
- Cienciala, E., A. Lindroth, J. Čermák, J.E. Hallgren and J. Kucera. 1992. Assessment of transpiration estimates for *Picea abies* trees during a growing season. *Trees-Struct. Funct.* 6:121-127.
- Clearwater, M.J., F.C. Meinzer, J.L. Andrade, G. Goldstein and N.M. Holbrook. 1999. Potential errors in measurement of nonuniform sap flow using heat dissipation probes. *Tree Physiol.* 19:681-687.
- Cohen, Y., F.M. Kelliher and T.A. Black. 1985. Determination of sap flow on Douglas-fir trees using the heat-pulse technique. *Plant Cell Environ.* 4:391-397.
- Delzon S., M. Sartore, R. Burlett, R. Dewar and D. Loustau. 2004. Hydraulic responses to height growth in maritime pine trees. *Plant Cell Environ.* (in press).
- Dumail, J.F. and P. Castera. 1997. Transverse shrinkage in maritime pine juvenile wood. *Wood Sci. Technol.* 31:251-264.
- Dye, P.Y., B.W. Olbrich and A.G. Poulter. 1991. The influence of growth rings in *Pinus patula* on heat pulse velocity and sap flow measurement. *J. Exp. Bot.* 42:867-870.
- Edwards, W.R.N. and R.E. Booker. 1984. Radial variation in the axial conductivity of *Populus* and its significance in heat pulse velocity measurement. *J. Exp. Bot.* 35:551-561.
- Edwards, W.R.N. and N.W.M. Warwick. 1984. Transpiration from a kiwifruit vine as estimated by the heat pulse technique and the Penman-Monteith equation. *New Zeal J. Agr. Res.* 27:537-543.
- Granier, A. 1985. A new method of sap flow measurement in tree stems. [French] Une nouvelle methode pour la mesure du flux de seve brute dans le tronc des arbres. *Ann. For. Sci.* 42:193-200.



- Granier, A. 1987. Sap flow measurement in Douglas fir stems using a new thermal method. *Ann. For. Sci.* 44:1-14.
- Granier, A., T. Anfodillo, M. Sabatti, H. Cochard, E. Dreyer, M. Tomasi, R. Valentini and N. Breda. 1994. Axial and radial water flow in the trunks of oak trees: a quantitative and qualitative analysis. *Tree Physiol.* 14:1383-1396.
- Granier, A., P. Biron, N. Breda, J.Y. Pontailler and B. Saugier. 1996a. Transpiration of trees and forest stands: short and long-term monitoring using sapflow methods. *Global Change Biol.* 2:265-274.
- Granier, A., P. Biron, B. Köstner, L.W. Gay and Najjar G. 1996b. Comparison of xylem sap flow and water-vapour flux at the stand scale and derivation of canopy conductance for Scots pine. *Theor. and Appl. Climatol.* 53:115-122.
- Granier, A. and N. Breda. 1996. Modelling canopy conductance and stand transpiration of an oak forest from sap flow measurements. *Ann. For. Sci.* 53:537-546.
- Granier, A. and D. Loustau. 1994. Measuring and modelling the transpiration of a maritime pine canopy from sap-flow data. *Agr. Forest Meteorol.* 71:61-81.
- Hatton, T.J., E.A. Catchpole and R.A. Vertessy. 1990. Integration of sapflow velocity to estimate plant water use. *Tree Physiol.* 6:201-209.
- Hatton, T.J., S.J. Moore and P.H. Reece. 1995. Estimating stand transpiration in a *Eucalyptus populnea* woodland with the heat pulse method: measurement errors and sampling strategies. *Tree Physiol.* 15:219-227.
- Irvine, J., B.E. Law, P.M. Anthoni and F.C. Meinzer. 2002. Water limitations to carbon exchange in old-growth and young ponderosa pine stands. *Tree Physiol.* 22:189-196.
- James, S.A., M.J. Clearwater, F.C. Meinzer and G. Goldstein. 2002. Heat dissipation sensors of variable length for the measurement of sap flow in trees with deep sapwood. *Tree Physiol.* 22:277-283.
- James, S.A., F.C. Meinzer, G. Goldstein, D. Woodruff, T. Jones, T. Restom, M. Mejia, M. Clearwater and P. Campanello. 2003. Axial and radial water transport and internal water storage in tropical forest canopy trees. *Oecologia.* 134:37-45.

- Jimenez, M.S., J. Čermák, J. Kucera and D. Morales. 1996. Laurel forests in Tenerife, Canary Islands: the annual course of sap flow in *Laurus* trees and stand. *J. Hydrol.* 183:307-321.
- Jimenez, M.S., N. Nadezhdina, J. Čermák and D. Morales. 2000. Radial variation in sap flow in five laurel forest tree species in tenerife, Canary Island. *Tree Physiol.* 20:1149-1156.
- Köstner, B., P. Biron, R. Siegwolf and A. Granier. 1996. Estimates of water vapor flux and canopy conductance of Scots pine at the tree level utilizing different xylem sap flow methods. *Theor. and Appl. Climatol.* 53:105-113.
- Köstner, B., A. Granier and J. Čermák. 1998. Sapflow measurements in forest stands - methods and uncertainties. *Ann. For. Sci.* 55:13-27.
- Köstner, B., E.-D. Schulze, F.M. Kelliher, D.Y. Hollinger, J.N. Byers, J.E. Hunt, T.M. McSeveny, R. Meserth and P.L. Weir. 1992. Transpiration and canopy conductance in a pristine broad-leaved forest of *Nothofagus*: an analysis of xylem sap flow and eddy correlation measurements. *Oecologia.* 91:350-359.
- Kravka, M., T. Krejzar and J. Čermák. 1999. Water content in stem wood of large pine and spruce trees in natural forests in central Sweden. *Agr. Forest Meteorol.* 98/99:555-562.
- Loustau, D., P. Berbigier, P. Roumagnac, C. Arruda-Pacheco, J.S. David, M.I. Ferreira, J.S. Pereira and R. Tavares. 1996. Transpiration of a 64 year-old maritime pine stand in Portugal. 1. Seasonal course of water flux through maritime pine. *Oecologia.* 107:33-42.
- Loustau, D., J.C. Domec and A. Bosc. 1998. Interpreting the variations in xylem sap flux density within the trunk of maritime pine (*Pinus pinaster Ait.*): application of a model for calculating water flows at tree and stand levels. *Ann. For. Sci.* 55:29-46.
- Loustau, D., A. Granier and F. El-Hadj Moussa. 1990. Seasonal variations in sap flow in a maritime pine stand. [in French]. Evolution saisonniere du flux de seve dans un peuplement de pins maritimes. *Ann. For. Sci.* 47:599-618.

- Lu, P., W.J. Muller and E.K. Chacko. 2000. Spatial variations in xylem sap flux density in the trunk of orchard-grown, mature mango trees under changing soil water conditions. *Tree Physiol.* 20:683-692.
- Martin, T.A., K.J. Brown, J. Čermák, R. Ceulemans, J. Kucera, F.C. Meinzer, J.S. Rombold, D.G. Sprugel and T.M. Hinckley. 1997. Crown conductance and tree and stand transpiration in a second-growth *Abies amabilis* forest. *Can. J. Forest Res.* 27:797-808.
- Megraw, R.A. 1985. Wood quality factors in loblolly pine. The influence of tree age, position in tree, and cultural practice on wood specific gravity, fiber length, and fibril angle. Tappi Press, Atlanta, GA, 88 p.
- Meinzer, F.C., G. Goldstein and J.L. Andrade. 2001. Regulation of water flux through tropical forest canopy trees: do universal rules apply. *Tree Physiol.* 21:19-26.
- Meiresonne, L., N. Nadezhdina, J. Čermák, J.v. Slycken and R. Ceulemans. 1999. Transpiration of a poplar stand: model calibration and validation by soil water and sap flow measurements. Modelling of transport processes in soils at various scales in time and space. International Workshop of EurAgEng's Field of Interest on Soil and Water, Leuven, Belgium, pp 406-415.
- Miller, D.R., C.A. Vavrina and T.W. Christensen. 1980. Measurement of sap flow and transpiration in ring-porous oaks using a heat pulse velocity technique. *Forest Sci.* 26:485-494.
- Nadezhdina, N., J. Čermák and R. Ceulemans. 2002. Radial patterns of sap flow in woody stems of dominant and understory species: scaling errors associated with positioning of sensors. *Tree Physiol.* 22:907-918.
- Oren, R., N. Phillips, G. Katul, B.E. Ewers and D.E. Pataki. 1998. Scaling xylem sap flux and soil water balance and calculating variance: a method for partitioning water flux in forests. *Ann. For. Sci.* 55:191-216.
- Oren, R., R. Zimmermann and J. Terborgh. 1996. Transpiration in upper Amazonia floodplain and upland forests in response to drought-breaking rains. *Ecology.* 77:968-973.

- Panshin, A.J. and C.d. Zeeuw. 1980. Textbook of wood technology, 4rd Edn. McGraw-Hill Book Co. New York, 772 p.
- Pausch, R.C., E.E. Grote and T.E. Dawson. 2000. Estimating water use by sugar maple trees: considerations when using heat-pulse methods in trees with deep functional sapwood. *Tree Physiol.* 20:217-227.
- Phillips, N., R. Oren and R. Zimmermann. 1996. Radial patterns of xylem sap flow in non-, diffuse- and ring-porous tree species. *Plant Cell Environ.* 19:983-990.
- Schafer, K.V.R., R. Oren and J.D. Tenhunen. 2000. The effect of tree height on crown level stomatal conductance. *Plant Cell Environ.* 23:365-375.
- Swanson, R.H. 1994. Significant historical developments in thermal methods for measuring sap flow in trees. *Agri. Forest Meteorol.* 72:113-132.
- Swanson, R.T. 1967. Improving tree transpiration estimates based on heat pulse velocity measurements. *In Proc. 14th IUFRO Congress, Munich*, pp 252-263.
- Waring, R.H. and S.W. Running. 1978. Sapwood water storage: its contribution to transpiration and effect upon water conductance through the stems of old-growth Douglas-fir. *Plant Cell Environ.* 1:131-40.
- Wullschleger, S.D. and A.W. King. 2000. Radial variation in sap velocity as a function of stem diameter and sapwood thickness in yellow-poplar trees. *Tree Physiol.* 20:511-518.
- Wullschleger, S.D., F.C. Meinzer and R.A. Vertessy. 1998. A review of whole-plant water use studies in trees. *Tree Physiol.* 18:499-512.
- Wullschleger, S.D. and R.J. Norby. 2001. Sap velocity and canopy transpiration in a sweetgum stand exposed to free-air CO<sub>2</sub> enrichment (FACE). *New Phytol.* 150:489-498.
- Zang, D., C.L. Beadle and D.A. White. 1996. Variation of sapflow velocity in *Eucalyptus globulus* with position in sapwood and use of a correction coefficient. *Tree Physiol.* 16:697-703.

## CHAPITRE 3

---

Delzon S., Sartore M., Burlett R., Dewar R. & Loustau D. 2004 -  
Hydraulic responses to height growth in maritime pine trees.  
Plant, Cell & Environment (in press).



# Hydraulic responses to height growth in maritime pine trees

## ABSTRACT

As trees grow taller, decreased xylem path conductance imposes a major constraint on plant water and carbon balance, and is thus a key factor underlying forest productivity decline with age. We studied the responses of stomatal conductance, leaf area : sapwood area ratio ( $A_L : A_S$ ) and soil-leaf water potential gradient ( $\Delta\Psi_{S-L}$ ) to height growth in maritime pine trees. Extensive measurements of *in situ* sap flow, stomatal conductance and (non-gravitational) needle water potential ( $\tilde{\Psi}_L = \Psi_L - \rho_w gh$ ) were made during two years in a chronosequence of four even-aged stands, under both wet and dry soil conditions.

Under wet soil conditions,  $\tilde{\Psi}_L$  was systematically lower in taller trees on account of differences in gravitational potential. In contrast, under dry soil conditions, our measurements clearly showed that  $\tilde{\Psi}_L$  was maintained above a minimum threshold value of -2.0 MPa independently of tree height, thus limiting the range of compensatory change in  $\Delta\Psi_{S-L}$ . Although a decrease in the  $A_L : A_S$  ratio occurred with tree height, this compensation was not sufficient to prevent a decline in leaf-specific hydraulic conductance,  $K_L$  (50% lower in 30 m trees than in 10m trees). An associated decline in stomatal conductance with tree height thus occurred to maintain a balance between water supply and demand.

Both the increased investment in non-productive versus productive tissues ( $A_S : A_L$ ) and stomatal closure may have contributed to the observed decrease in tree growth efficiency with increasing tree height (by a factor of three from smallest to tallest trees), although other growth-limiting responses (*e.g.* soil nutrient sequestration, increased respiratory costs) cannot be excluded.

*Key-words:* hydraulic conductance; *Pinus pinaster*; stomatal regulation; tree height; water potential.

## INTRODUCTION

In their review of various hypotheses to explain the decline in above-ground forest productivity with height growth, Ryan & Yoder (1997) concluded that the reduced ability of tall trees to transport water to their crowns plays a key role. As xylem path conductance decreases with tree height, the requirement that trees maintain a balance between water supply and demand may lead to a reduction in stomatal conductance ( $g_s$ ), resulting in reduced CO<sub>2</sub> uptake and photosynthesis.

For tree species that are susceptible to catastrophic xylem cavitation, or some other dysfunction, if their foliage water potential falls below a critical threshold, height-related stomatal closure may be crucial to plant survival. Several gas exchange studies have found reductions in stomatal or crown conductance with increasing tree size and age (Bond & Kavanagh 1999; Hubbard, Bond & Ryan 1999; Saliendra, Sperry & Comstock 1995; Salleo *et al.* 2000), in association with decreasing hydraulic conductance (Hubbard *et al.* 1999; Ryan *et al.* 2000; Schafer, Oren & Tenhunen 2000; Yoder *et al.* 1994).

However, adaptations other than stomatal closure may also contribute to maintaining plant water balance under height growth. These include (a) the production of xylem vessels with increased permeability (Pothier, Margolis & Waring 1989), (b) a decrease in transpiring leaf area relative to xylem conductive area (McDowell *et al.* 2002a; Vanninen *et al.* 1996), (c) an increase in the fine root-foliage ratio (Magnani, Mencuccini & Grace 2000; Sperry *et al.* 1998), (d) an increase in the maximum water potential gradient between soil and leaf (Hacke *et al.* 2000) and (e) increased water storage in the stem (Phillips *et al.* 2003b). For many species these mechanisms are insufficient to offset the direct reduction in xylem hydraulic conductance due to height growth (McDowell *et al.* 2002b; Mencuccini & Grace 1996a; Mencuccini & Grace 1996b; Mencuccini & Magnani 2000).

Therefore, quantifying these hydraulic responses to height growth is a prerequisite to understanding and predicting water balance and growth throughout the life cycle of trees. The objective of this study was to quantify changes in stomatal conductance ( $g_s$ ), leaf area : sapwood area ratio ( $A_L : A_S$ ) and soil-to-leaf water potential gradient ( $\Delta\Psi_{S-L}$ ) under height growth, for maritime pine trees growing in South-West France. We aimed to overcome some of the limitations of previous experimental studies, by combining independent measurements of gas exchange (sap flow, porometer, <sup>13</sup>C discrimination), of needle water potential, and of foliage and sapwood areas performed *in situ* on individual trees within a chronosequence of



four ‘ideal’ forest stands (monospecific, even-aged, uniform soil characteristics, flat topography) over two contrasting growing seasons (wet and dry).

A simple hydraulic model provides a useful framework for studying combined changes in  $g_s$ ,  $A_L : A_S$  and  $\Delta\Psi_{S-L}$  under height growth. When needle temperature is equal to air temperature (a good approximation for many conifers), and water storage is ignored, the balance between water demand and supply can be expressed by:

$$E_L = g_s D = K_L \Delta\Psi_{S-L} \quad (1)$$

where  $E_L$  is tree transpiration rate per unit leaf area,  $g_s$  is stomatal conductance per unit leaf area,  $D$  is the air water vapour saturation deficit,  $K_L$  is the leaf-specific hydraulic conductance between the soil and leaves, and  $\Delta\Psi_{S-L}$  is the soil-to-leaf total water potential gradient.  $K_L$  may be expressed in terms of physical properties of the conducting system (Whitehead 1998; Whitehead, Edwards & Jarvis 1984):

$$K_L = k_s \frac{A_S}{A_L} \frac{1}{h} \quad (2)$$

where  $k_s$  is sapwood-specific hydraulic conductivity,  $h$  is tree height (strictly speaking, soil-to-leaf transport path length), and  $A_S$  and  $A_L$  are sapwood area and leaf area, respectively. Combining Eqns 1 and 2 then gives:

$$g_s \frac{A_L}{A_S} \frac{1}{\Delta\Psi_{S-L}} = \frac{k_s}{D} \frac{1}{h} \quad (3)$$

where our three factors of interest appear on the left-hand side. We see that, for given values of  $D$  and  $k_s$  the possible combined responses of  $g_s$ ,  $A_L : A_S$  and  $\Delta\Psi_{S-L}$  to height growth fall between two extremes. With no change in either  $A_L : A_S$  or  $\Delta\Psi_{S-L}$ ,  $g_s$  must decline in inverse proportion to height. In contrast, with no change in  $g_s$ , an increase in  $A_S : A_L$  and/or  $\Delta\Psi_{S-L}$  must occur whose multiplicative effect is proportional to height.

Our specific objectives were:

- (1) to determine whether hydraulic homeostasis occurs in maritime pine trees, such that needle water potential is maintained above a critical threshold;
- (2) to quantify the role of variations in  $g_s$ ,  $A_L : A_S$  and  $\Delta\Psi_{S-L}$  in maintaining water balance under height growth (Eqn 3).

**Table 1.** Stand characteristics of the maritime pine chronosequence in 2001.

	10 yr	n	32 yr	n	54 yr	n	91 yr	n
Top height, $h$ (m)	8.46 ( $\pm$ 0.08)	126	20.21 ( $\pm$ 0.11)	118	26.65 ( $\pm$ 0.11)	129	28.36 ( $\pm$ 0.26)	70
Diameter at 1.3 m, $d$ (mm)	142.5 ( $\pm$ 0.1)	637	298.8 ( $\pm$ 0.1)	1921	436.7 ( $\pm$ 0.3)	485	513.2 ( $\pm$ 0.4)	463
Basal area, $g$ (m <sup>2</sup> tree <sup>-1</sup> )	0.016 ( $\pm$ 0.0002)	637	0.072 ( $\pm$ 0.0005)	1921	0.153 ( $\pm$ 0.002)	485	0.213 ( $\pm$ 0.003)	463
Sapwood area at 1.3 m, $A_S$ (m <sup>2</sup> tree <sup>-1</sup> )	0.013 ( $\pm$ 0.0001)	637	0.042 ( $\pm$ 0.0003)	1921	0.082 ( $\pm$ 0.001)	485	0.130 ( $\pm$ 0.002)	463
Sapwood area under the living crown, $A_{S,LC}$ (m <sup>2</sup> tree <sup>-1</sup> )	0.011 ( $\pm$ 0.0001)	637	0.017 ( $\pm$ 0.0001)	1921	0.025 ( $\pm$ 0.0003)	485	0.036 ( $\pm$ 0.0006)	463
Tree leaf area, $A_L$ (m <sup>2</sup> tree <sup>-1</sup> )	48.54 ( $\pm$ 0.47)	637	90.26 ( $\pm$ 0.66)	1921	142.73 ( $\pm$ 2.11)	485	226.61 ( $\pm$ 4.69)	463
Stand density (tree ha <sup>-1</sup> )	1180		500		250		155	
Stand basal area, $G$ (m <sup>2</sup> ha <sup>-1</sup> )	19.23 ( $\pm$ 0.21)		36.00 ( $\pm$ 0.26)		38.22 ( $\pm$ 0.50)		32.96 ( $\pm$ 0.52)	
Stand sapwood area (m <sup>2</sup> ha <sup>-1</sup> )	15.54 ( $\pm$ 0.17)		20.84 ( $\pm$ 0.17)		20.39 ( $\pm$ 0.32)		20.21 ( $\pm$ 0.33)	
Plant area index, PAI (m <sup>2</sup> m <sup>-2</sup> )	3.41		3.04		2.51		1.85	
Leaf area index, LAI (m <sup>2</sup> m <sup>-2</sup> )	2.86		2.26		1.78		1.76	

Values are mean  $\pm$  standard error. PAI (m<sup>2</sup><sub>plant</sub> m<sup>-2</sup><sub>ground</sub>) was estimated from measurements of total light interception using an optical method (DEMON). LAI (m<sup>2</sup><sub>leaf</sub> m<sup>-2</sup><sub>ground</sub>) =  $A_L$  \* stand density (tree m<sup>-2</sup><sub>ground</sub>) / 2.

## MATERIALS AND METHODS

### Site description

We studied a chronosequence of maritime pine stands (*Pinus pinaster* Ait.) in the *Landes de Gascogne* Forest, South-West France. The regional climate is maritime (mean annual temperature of 13°C, mean annual precipitation of 977 mm) with marked drought in late summer (August - September). Four study sites (Hermitage L, Bray, Hermitage M, Baudes) were selected within even-aged, monospecific stands of maritime pine with an understorey consisting mainly of *Molinia coerulea* (L.) Moench. Tree age in 2002 was 10, 32, 54 and 91 yr, respectively. Stands were selected to minimize genetic variability (Landes provenance) and management differences. Each site had a podzolic sandy humic soil with a cemented B<sub>h</sub> horizon limiting the root depth to -0.8 m. The sites had extremely low soil phosphorus and nitrogen levels, and an average pH-H<sub>2</sub>O of 4.0. Scaffolding was erected at the centre of each site for canopy measurements (height range 12 to 30 m).

Precipitation, air temperature, humidity and radiation were similar among stands (data not shown). In all stands, significant water stress occurred at the end of summer 2001 and throughout summer 2002. In the Results below, wet and dry soil conditions are defined as soil water deficit < 0.50 and > 0.65, respectively. Outlier data for the 32 year-old stand in spring-summer 2002, reflecting atypically severe soil water stress induced by adjacent agricultural groundwater extraction, were excluded from statistical analyses.

### Sapwood area, leaf area and biomass of trees

The stand characteristics of the chronosequence in 2001, summarized in Table 1, were obtained as follows. Estimates of diameter at 1.3 m ( $d$ ) in 2001 for each tree in the chronosequence were obtained from circumference measurements. For each stand, top height ( $h$ ) was measured on ~100 trees stratified according to tree basal area, and diameter under the live crown ( $d_{LC}$ ) was obtained from circumference measurements on 30 trees chosen randomly. For each of the latter, sapwood area at 1.3 m ( $A_S$ ) and under the live crown ( $A_{S,LC}$ ) were estimated as follows. First, the ratio of heartwood radius to total stem radius was measured on fresh wood cores extracted in three azimuth directions at 1.3 m and one azimuth direction under the living crown. The hydroactive part of the xylem was distinguished by transparency under diffuse light.  $A_S$  and  $A_{S,LC}$  were then calculated as total wood area under bark minus heartwood area, at 1.3 m and under the live crown, respectively. The two youngest stands had negligible heartwood area under the live crown. In the two

oldest sites, the heartwood radius ranged from 20 to 120 mm according tree size. These measurements served to establish, for each stand, statistical relationships between  $d_{LC}$  and  $d$  ( $r^2 = 0.95-0.98$ ), between  $A_S$  and  $d$  ( $r^2 = 0.84-0.94$ ), and between  $A_{S,LC}$  and  $d_{LC}$  for the entire chronosequence ( $r^2 = 0.97$ , Delzon *et al.* submitted). These relationships were then used to derive  $A_S$  and  $A_{S,LC}$  in all trees for which  $d$  was measured.

Tree leaf area ( $A_L$ ) was estimated from an allometric relationship with  $d_{LC}$  and specific leaf area ( $\sigma$ ), as described in Table 2. We also estimated above-ground annual tree biomass increment per unit leaf area (*i.e.* tree growth efficiency,  $\Delta W_a$ ) from an allometric relationship between  $W_a$ ,  $d$  and tree age (Table 2). These relationships were established from previous data (Porté *et al.* 2000; Porté *et al.* 2002) complemented by more recent data from two other stands aged 10 and 50 yr (Trichet and Bert, unpublished).

**Table 2.** Allometric models derived from data of Porté *et al.* (2000, 2002) complemented by data from two other stands aged 10 and 52 yr (Trichet and Bert, unpublished).  $A_L$  ( $m^2 \text{ tree}^{-1}$ ) = tree leaf area,  $d_{LC}$  (cm) = diameter under the live crown,  $\sigma$  ( $m^2 \text{ kg}^{-1}$ ) = specific leaf area (Table 3),  $W_a$  ( $\text{kg tree}^{-1}$ ) = above-ground tree biomass,  $d$  (m) = diameter at 1.3 m,  $y$  (yr) = tree age.

Variables estimated	Model	parameters values		Degree of freedom
		mean	asymptotic std error	
$A_L$	$a_1 \cdot d_{LC}^{a_2} \cdot \sigma$	$a_1 = 0.0433$	0.008	102
		$a_2 = 2.043$	0.059	
$W_a$	$b_1 \cdot d^{b_2} \cdot y^{b_3}$	$b_1 = 0.076$	0.0216	86
		$b_2 = 2.031$	0.0716	
		$b_3 = 0.347$	0.0389	

### Xylem sap flow measurements

Sap flow in six representative trees in the youngest stand, and in seven trees in each of the older stands, was measured using a constant heating radial flowmeter (Granier 1985; Granier 1987) during April 2001 - January 2003 in the 3 youngest stands, and during March 2002 - January 2003 in the 91 year-old stand. Sensors were installed on the east side of the stems

1 m below the live crown, because at this height azimuthal variation in the sap flux density of maritime pine is small (Loustau, Domec & Bosc 1998). Data were recorded every 10 s and averaged every 30 min with dataloggers (model 21X, Campbell Scientific, Ltd., Shepshed, UK) and multiplexers (model AM416, Campbell Scientific, Ltd., Shepshed, UK). The calibration coefficient of (Granier 1985) was used to calculate the sap flux density,  $J_s$  ( $\text{kg m}^{-2} \text{h}^{-1}$ ).

Where possible, the two probes within each sensor were inserted in the same horizontal plane, the temperature difference between the probes with heating turned off then being negligible ( $< 0.01\text{mV}$ ). When tree stems were too small or branch insertions were present, the probes were inserted one above the other. In this configuration, a vertical temperature gradient correction must be applied (Do & Rocheteau 2002a; Do & Rocheteau 2002b; Lundblad, Lagergren & Lindroth 2001). Several times during the experiment, we measured the temperature gradient ( $dT$ ) between such probes with heating turned off for 3-4 days. Among the variables tested (radiation, air humidity, wind speed and temperature), the most satisfactory statistical correlation for  $dT$  was found with temperature alone. Such a relationship was established for each tree, allowing continuous correction of  $dT$  without which the mean daily sap flux densities in the 10, 32, 54 and 91 year-old trees would have been over-estimated by 3, 6, 6 and 5% respectively.

In two or three trees in each stand, additional mobile sensors were inserted deeper into the sapwood to measure the radial profile of sap flux density. In all trees, sap flux density declined with increasing depth within the sapwood, the relative decline being greater in larger diameter trees and zero within the heartwood (Delzon *et al.* 2004), as found in previous studies (Čermák *et al.* 1990; Čermák & Nadezhdina 1998; Granier *et al.* 1994; Phillips, Oren & Zimmermann 1996; Schafer *et al.* 2000). These results enabled sap flux density measurements made in the outer 20 mm to be scaled to the entire sapwood using a correction factor ( $C$ ) that depended on  $d_{LC}$  ( $C = -1.17643 d_{LC} + 1.1936$  with  $r^2=0.90$ , Delzon *et al.* 2004).

### Leaf-level measurements

The non-gravitational component of needle water potential ( $\tilde{\Psi}_L = \Psi_L - \rho_w gh$ ) and stomatal conductance ( $g_s$ ) were measured in each stand during 6 clear days spanning both growing seasons (June, July and September 2001; June, August and September 2002). Measurements were made on several whorls of three trees in each stand. Only the 10 and 54 year-old

(adjacent) stands could be measured on the same day; the other two stands were measured one or two days later.  $\tilde{\Psi}_L$  was estimated as the negative of the balance pressure applied using pressure chambers on fully-expanded needles in the upper crown, every 10 minutes from pre-dawn ( $\tilde{\Psi}_p$ ) until sunset (a total of 2006 such measurements during the experiment).

Stomatal conductance ( $g_s$ ) was measured every 10 minutes with null-balance porometers (Li-1600, Li-Cor Inc., Lincoln, NE) equipped with a cylindrical chamber, from morning (as soon as foliage was completely dry) until 17h00. One year-old needles were removed and gas exchange measurements were completed within 3 min. Previous work on maritime pine in our laboratory has shown that the gas exchange of detached needles is the same as that of attached needles for at least 5 min following detachment. Immediately following the porometer measurements, the length ( $l_n$ ) and diameter ( $d_n$ ) of the chamber needles were measured with an electronic calliper, and the total surface area of each needle was estimated as  $(1 + \pi/2)l_n d_n$ .

### $^{13}\text{C} : ^{12}\text{C}$

Carbon discrimination from annual ring cellulose provided an independent measure of height-related changes in  $g_s$  per unit of photosynthesis. From the base of each tree on which sap flow measurements were conducted, cores were taken at the end of the study period and the ratio  $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$  determined. For each tree, sampling consisted of four cores taken from four azimuthal directions, from which the annual rings for 2001 and 2002 were extracted and pooled by year. Cellulose was extracted by the method described by Lambrot & Porté (2000). Cellulose  $\delta^{13}\text{C}$  was analysed with an isotope ratio mass spectrometer (FISONS Isochrom, Manchester, UK) at INRA, Laon (France).

### Needle nitrogen content

In January 2001 and 2002, 100 needles in the upper crown of 10 trees per stand were harvested and kept cool during transfer to the laboratory. One needle from each tree was frozen at  $-20^\circ\text{C}$  and chlorophyll *a* and *b* content were analyzed colorimetrically using a spectrophotometer (JENWAY 6405UV/Vis. Felsted, Dunmow Essex, UK) (Inskeep & Bloom 1985). The remaining needles were dried at  $70^\circ\text{C}$  for 72 hours, mineralised with hot sulphuric acid and assayed colorimetrically for concentrations of N and P using a Technicon auto-analyser (O'Neill & Webb 1970). Specific needle area ( $\sigma$ ) was calculated as the ratio of needle area (estimated as above) to dry weight.

## Meteorological measurements

In each stand, micrometeorological data were collected every 10 s at 2 m above the canopy and averaged every 30 min. These data included wind speed ( $u$ , m s<sup>-1</sup>), air temperature ( $T_a$ , °C), air humidity ( $H_r$ , Pa), net radiation ( $R_n$ , W m<sup>-2</sup>), global radiation ( $R$ , W m<sup>-2</sup>), photosynthetically active radiation ( $PAR$ , μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), atmospheric pressure ( $P$ , atm), and precipitation ( $P_i$ , mm). All sensors were cross-calibrated before installation.

Soil volumetric water content was measured using two techniques, an FDR water content reflectometer system (CS615 water content reflectometer, Campbell Scientific, Ltd., Shepshed, UK), and a TDR-TRASE system (TRASE 6050X1, Soil moisture, Santa Barbara, USA). In each of the two older sites (54 and 91 yr), four soil moisture depth profiles were monitored using stainless steel CS615 probes inserted horizontally at depths of 0.15, 0.3, 0.6, 0.9 and 1.3 m. At each of the two younger sites, four profiles were monitored using TRASE probes installed vertically and horizontally at depths of 0.1, 0.15, 0.3, 0.5, 0.7, 0.8 m. Data were collected every 4 hours, except at the 32 year-old site where they were collected on a weekly basis. A cross-comparison of the two techniques was carried out at one site and showed close agreement. The soil water deficit ( $\delta_M$ ) was calculated as :

$$\delta_M = \frac{M_{\max} - M}{M_{\max} - M_{\min}} \quad (4)$$

where  $M_{\max}$ ,  $M_{\min}$  and  $M$  are the maximal, minimal and actual soil water contents (0-0.8 m depth), respectively.

## DATA ANALYSIS

### Transpiration and canopy conductance

Tree transpiration rate per unit leaf area ( $E_L$ ) was calculated from the measured sap flux density in the outer 20 mm ( $J_s$ ) as:

$$E_L = J_s \cdot \frac{A_{S,LC}}{A_L} \cdot C \quad (5)$$

where  $A_{S,LC}$  is the sapwood cross-sectional area under the live crown,  $A_L$  is the tree leaf area and  $C$  is the correction factor for the radial profile of sap flux density. Because sap flux density was measured under the live crown, we assumed that the lag between measured sap

flux density and transpiration was negligible during the experiment. Indeed, the correlation between  $E_L$  and current values of  $D$  and potential evapotranspiration (PET) was consistently greater than that between  $E_L$  and previous values of  $D$  and PET, regardless of the lag time (30-180 min), suggesting that crown capacitance did not strongly affect  $E_L$  (Phillips *et al.* 1997; Phillips & Oren 1998; Schulze *et al.* 1985). Stand transpiration ( $E$ ) was calculated from the mean sap flux density ( $\bar{J}s$ ) of six or seven trees per stand, multiplied by a weighted sapwood area for each stand (calculated as the sum over all trees of  $A_{S,LC} \cdot C$  for each tree).

Because needle temperature was not measured, canopy conductance for water vapour,  $g_c$  ( $\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ), was estimated by inversion of the Penman-Monteith equation using transpiration and microclimate measurements, as follows:

$$g_c = \frac{g_a \cdot E \cdot \gamma}{s \cdot Rn_a + \rho \cdot c_p \cdot D \cdot g_a - E \cdot (s + \gamma)} \quad (6)$$

where  $E$  ( $\text{W m}^{-2}$ ) is the stand transpiration,  $\gamma$  ( $\text{J kg}^{-1}$ ) is the psychometric constant,  $s$  ( $\text{Pa K}^{-1}$ ) is the slope of the saturation vapour pressure – temperature curve,  $Rn_a$  ( $\text{W m}^{-2}$ ) is the net radiation absorbed by the canopy,  $\rho$  ( $\text{kg m}^{-3}$ ) is the density of dry air,  $c_p$  ( $\text{J K}^{-1} \text{kg}^{-1}$ ) is the specific heat of air,  $D$  (Pa) is the vapour pressure deficit, and  $g_a$  ( $\text{m s}^{-1}$ ) is the aerodynamic conductance. The latter was estimated from wind speed as:

$$g_a = \frac{k^2 \cdot u}{\ln[(z - d_0)/z_0]} \quad (7)$$

where  $z_0$  is the surface roughness ( $\approx 0.1 h$ ),  $h$  is the mean tree height,  $d_0$  is the zero plane displacement ( $\approx 0.75 h$ ),  $k$  is the von Karman constant, and  $u$  ( $\text{m s}^{-1}$ ) is the wind speed at height  $z_0$ . In this study,  $g_c$  was calculated after excluding data from periods of rainfall or  $D < 100$  Pa.

### Leaf-specific hydraulic conductance

Whole-tree leaf-specific hydraulic conductance,  $K_L$ , ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}_{\text{leaf}} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$ ) was calculated for three trees per stand from linear regressions between tree transpiration rate per unit leaf area ( $E_L$ ) and the non-gravitational component of needle water potential ( $\tilde{\Psi}_L = \Psi_L - \rho_w gh$ ) on the same tree, according to:



$$K_L = \frac{E_L}{\Delta\tilde{\Psi}_{P-L}} \quad (8)$$

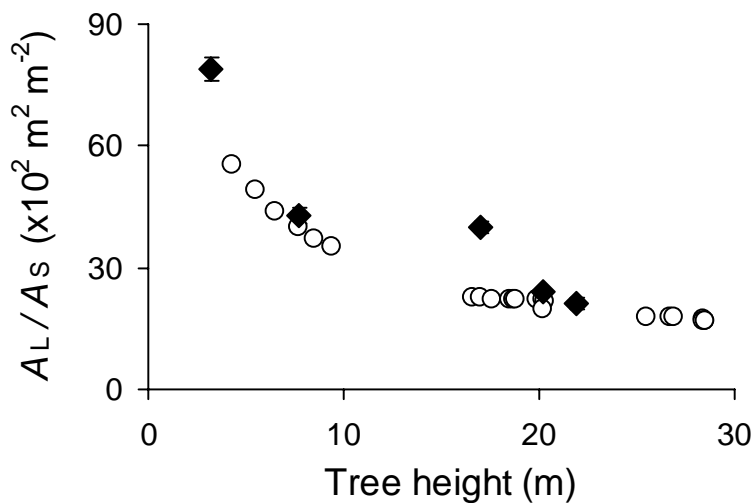
Here  $\Delta\tilde{\Psi}_{P-L} = \tilde{\Psi}_P - \tilde{\Psi}_L$  (MPa) is the difference between the measured predawn and current water potentials. No gravitational correction term  $\rho_w g h$  is required in Eqn 8. From Eqn 1 the predawn zero-flow condition ( $E_L = 0$ ) is  $\Psi_S = \Psi_P$  which implies  $\Delta\Psi_{S-L} = \Delta\Psi_{P-L}$ ; then, because  $\Delta\Psi_{P-L} = \Delta\tilde{\Psi}_{P-L}$  at a given height, Eqn 1 implies Eqn 8.

We used an ANOVA to test for a stand effect on water potential and needle mineral content, and a repeated-measures ANOVA to test for a height effect on leaf-specific hydraulic conductance (SAS procedure GLM, Version 8.1, SAS Institute, Cary, NC). Nonlinear curve fits were performed with SAS procedure NLIN.

## RESULTS

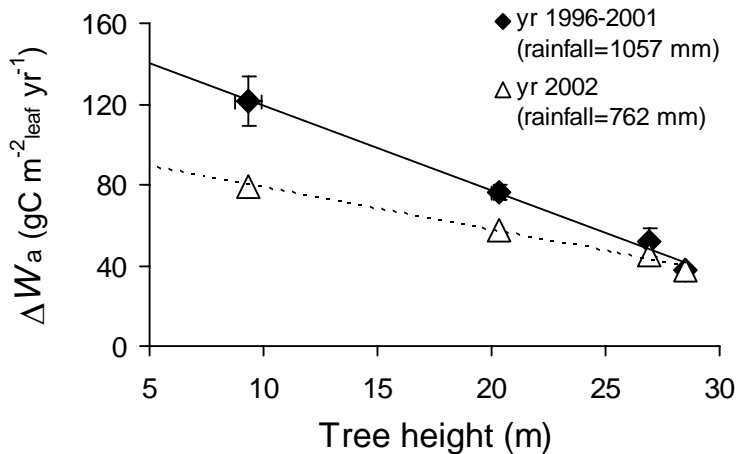
### Tree above ground increment

The leaf area : sapwood area ratio was significantly lower in tall trees (Fig. 1), being on average 7900, 3500 and 1700  $\text{m}^2 \text{m}^{-2}$  for heights of 3, 10 and 28 m, respectively. Although tree leaf area ( $A_L$ ) increased markedly with tree height (Table 1), the increase in sapwood area at stem base ( $A_S$ ) was proportionately greater (despite an associated large increase in heartwood area), resulting in a large decrease in  $A_L : A_S$ . In contrast, the ratio  $A_L : A_{S,LC}$  varied little with tree age or height (data not shown).



**Figure 1.** Height-related changes in leaf area : sapwood area ratio ( $A_L : A_S$ ). Full diamonds: mean values of  $A_L : A_S$  measured directly in biomass campaigns (Porté *et al.* 2000, 2002, complemented with data from two other stands aged of 10 and 50 yr); bars indicate standard errors. Open circles: mean values of  $A_L : A_S$  estimated from allometric relationships using diameter measurements on all trees since 1996 in our chronosequence of four maritime pine stands.

Above-ground annual tree biomass increment per unit leaf area (*i.e.* tree growth efficiency) decreased by a factor of three between the smallest and tallest trees (Fig. 2). The height-related decline in tree growth efficiency was less rapid in 2002, when a prolonged period of water stress occurred. Figure 2 suggests a larger growth response to changes in soil water content for small trees than for tall trees.



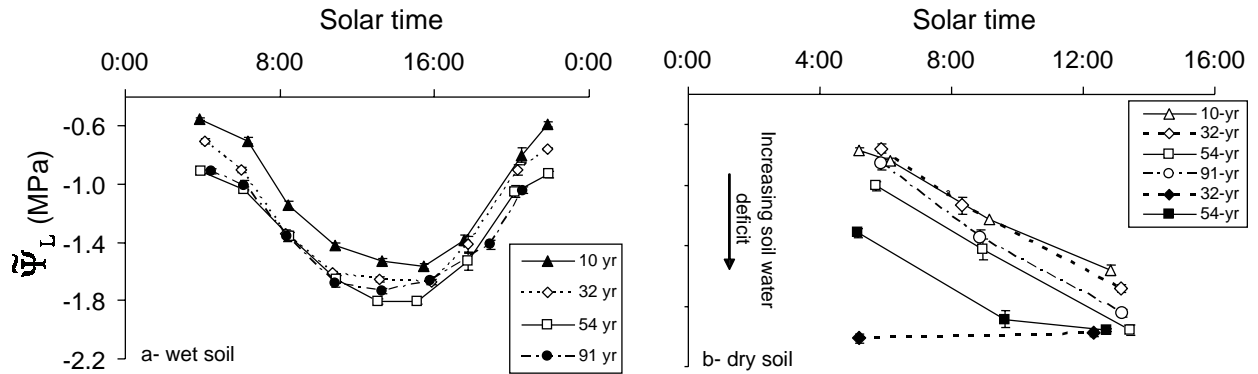
**Figure 2.** Variation of mean above-ground annual tree biomass increment per unit leaf area (tree growth efficiency,  $\Delta W_a$ , gC m<sup>-2</sup> yr<sup>-1</sup>) with tree height for the four stands of our chronosequence. Full diamonds: average over all trees in each stand for wet years (1996 to 2001); open triangles: values for the dry year 2002 only.

### Needle water potential

Figure 3 shows the diurnal course of the non-gravitational component of needle water potential ( $\tilde{\Psi}_L = \Psi_L - \rho_w gh$ ) in the chronosequence stands under wet (a,  $\delta_M < 0.5$ ) and dry (b,  $\delta_M > 0.65$ ) soil conditions. In all stands, on wet soil  $\tilde{\Psi}_L$  decreased to a minimum value ( $\tilde{\Psi}_m$ ) around 13-14h then increased until the end of measurement period (ca. 22h).  $\tilde{\Psi}_L$  was systematically lower in taller trees by an amount equal to the corresponding gravitational potential difference (Fig. 3a). Predawn water potential ( $\tilde{\Psi}_p$ ) varied by 0.36 MPa between the tallest and smallest trees, while the corresponding variation in  $\tilde{\Psi}_m$  was less significant (0.28 MPa) (Table 3). The maximum soil-to-leaf total water potential gradient,  $\Delta\Psi_{S-L,max}$  ( $= \tilde{\Psi}_p - \tilde{\Psi}_m$ ), was therefore smaller for tall trees.

In contrast, our data obtained on dry soil indicate the existence of a common minimum threshold value for  $\tilde{\Psi}_L$  of approximately -2.0 MPa, independent of tree height (Fig. 3b). On the driest day in the 32-yr-old stand ( $\delta_M > 0.85$ ),  $\tilde{\Psi}_p$  was equal to the threshold value and remained there throughout the day as transpiration had ceased. Our results also

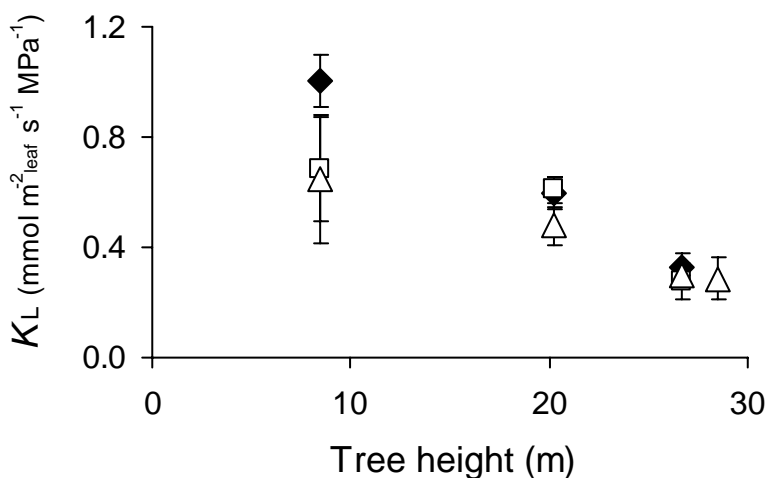
indicate that, on dry soil,  $\tilde{\Psi}_p$  was lower and the diurnal minimum  $\tilde{\Psi}_L$  was reached sooner than on wet soil. In summary,  $\Delta\Psi_{s-L}$  varied less with tree height under dry soil conditions due to the threshold constraint.



**Figure 3.** Diurnal course of the mean non-gravitational component of needle water potential ( $\tilde{\Psi}_L = \Psi_L - \rho_w gh$ ) during clear days on (a) wet soil ( $\delta_M < 0.5$ ) and (b) dry soil ( $\delta_M > 0.65$ ) in 2001 and 2002, for each stand in the maritime pine chronosequence. Data obtained on the day of highest measured soil water deficit ( $\delta_M > 0.85$ ) at the 32 and 54 year-old stands are presented in filled symbols.

### Leaf-specific hydraulic conductance

Whole-tree leaf-specific hydraulic conductance,  $K_L$ , was measured concurrently only under wet soil conditions.  $K_L$  decreased linearly with increasing tree height, being 50% lower in tall trees (28 m) than in small trees (8 m) (Fig. 4). Height, rather than age, affected hydraulic conductance, as evidenced by the two oldest stands (54 and 91 yr) with similar heights (27 and 28 m) and  $K_L$  values.



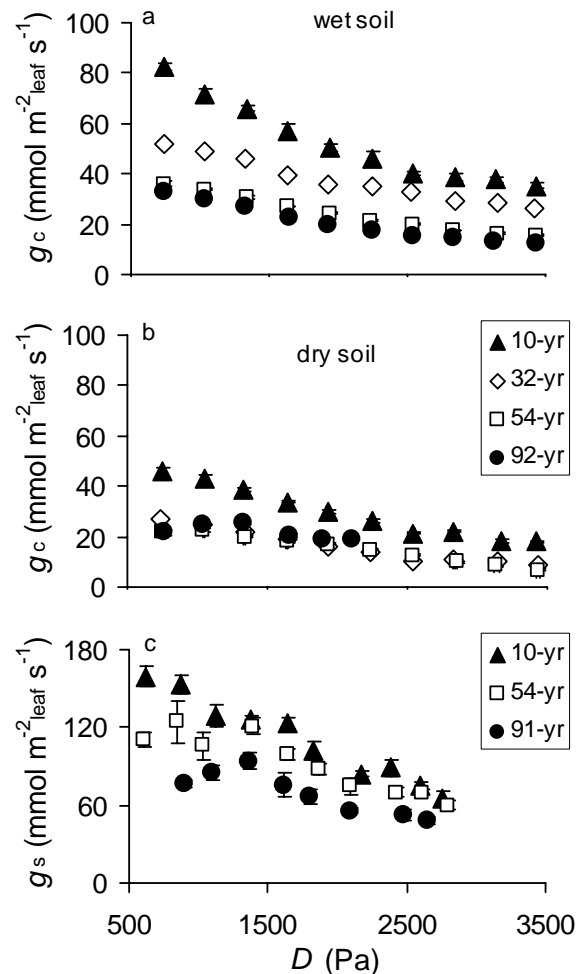
**Figure 4.** Variation of leaf-specific hydraulic conductance ( $K_L$ ) with tree height, determined during three days on wet soil for each stand in 2001 and 2002. Each point is the average of three trees per stand; bars indicate standard errors. Repeated-measures ANOVA showed a significant effect of height ( $F = 11.87$ ,  $p < 0.0108$ ).

### Crown and stomatal conductance

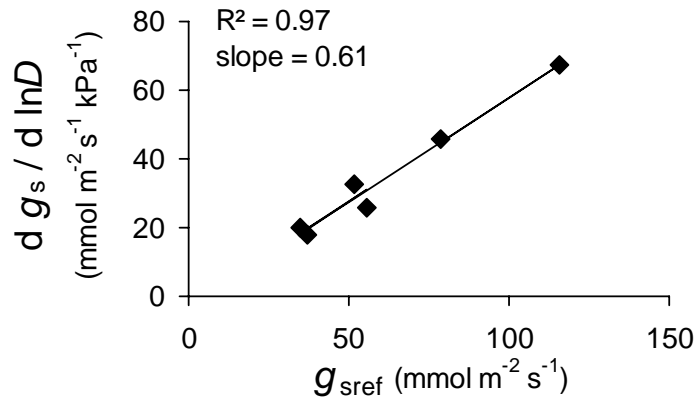
We compared the stomatal conductance between stands in terms of its response to vapour pressure deficit ( $D$ ), and found a consistent pattern with height and  $D$ , independent of the measurement method. Mean values of crown conductance per unit of leaf area ( $g_c$ ) for all days to April 2001 until December 2002 are presented in Fig. 5a and 5b for wet and dry soil, respectively.  $g_c$  was systematically lower for taller trees over a wide range of  $D$  (maximum  $g_c$  at  $D = 1000$  Pa, 10 yr:  $160 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ; 32 yr:  $110 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ; 54 yr:  $65 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ; 91 yr:  $60 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). In each stand,  $g_c$  was lower on dry soil than on wet soil, and the variation in  $g_c$  between stands was less marked on dry soil. Transpiration per unit of leaf area decreased with tree height (Table 3, mean values of  $E_L$  for 6-7 trees per stand at PAR  $> 800$  and  $D = 1500$  Pa for clear days on wet soil).  $E_L$  for 8 m trees was three times that of 28 m trees, the latter being similar to 27 m trees.

These data were consistent with porometer measurements of stomatal conductance (Fig. 5c). For sunlit needles in the upper crown under saturating irradiance, and  $D = 1000$  Pa,  $g_s$  for 8 m trees was approximately 40% higher than for 28 m trees. Stomatal conductance sensitivity to vapour pressure deficit ( $m =$

$d g_s / d \ln D$ ) was higher in smaller trees, increasing linearly with  $g_{sref}$  ( $g_s$  at  $D = 1000$  Pa) under saturating light conditions (Fig. 6). The slope  $m/g_{sref}$  ( $\approx 0.6$ ) is similar to that reported for mesic adapted species (Oren *et al.* 1999).



**Figure 5.** Mean values of canopy conductance ( $g_c$ ), determined from sap flow measured on 6-7 trees per site, versus air saturation deficit ( $D$ ), on (a) wet and (b) dry soil. Data measured between April 2001 and December 2002. (c) Mean values of light-saturated stomatal conductance ( $g_s$ ) versus air saturation deficit ( $D$ ) for 1-year-old needles for three stand ages. All  $g_s$  measurements were made *in situ* on three trees per stand on wet soil (2002), using a steady-state null balance porometer.



**Figure 6.** Sensitivity of mean stomatal conductance to air pressure deficit ( $D$ ) as a function of canopy stomatal conductance at  $D = 1000$  Pa ( $g_{sref}$ ), for each stand in each of 2001 and 2002. Data not shown for the 32-yr-old stand in 2002 (outlier due to extreme soil water stress) or the 91-yr-old stand in 2001 (no measurement).

## $\delta^{13}C$

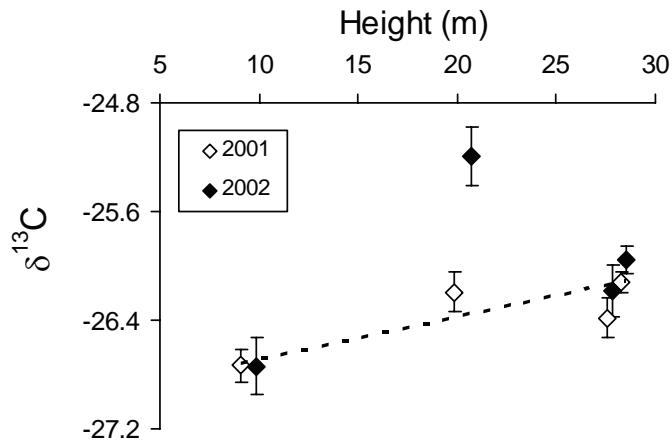
$\delta^{13}C$  of annual ring cellulose increased similarly with tree height in each year (Fig. 7). The outlier datum reflects the severe and prolonged soil water deficit at the 32 year-old stand in 2002.

## DISCUSSION

### Hydraulic homeostasis occurs in maritime pine trees

Our results indicate that hydraulic homeostasis occurs, such that the non-gravitational component of needle water potential ( $\tilde{\Psi}_L$ ) is maintained above a common minimum threshold (-2.0 MPa) independently of tree age and height. This was especially evident under dry soil conditions. At similar values of  $D$ ,  $\tilde{\Psi}_L$  varied between stands within the bounds defined by  $\tilde{\Psi}_p = \Psi_s - \rho_w gh$  and the threshold value (-2.0 MPa). The latter is close to the cavitation threshold of -2.2 MPa (Cochard, unpublished data) previously observed in even-aged stands of maritime pine growing in Portugal (Loustau *et al.* 1996; Loustau, Granier & El-Hadj Moussa 1990). Similar homeostatic behaviour has been reported for Ponderosa pine ( $\Psi_{min} = -2.0$  MPa) (Hubbard *et al.* 1999; Ryan *et al.* 2000; Yoder *et al.* 1994), Red alder ( $\Psi_{min} = -1.1$  MPa) and Western hemlock ( $\Psi_{min} = -2.1$  MPa) (Bond & Kavanagh 1999), European oaks (Cochard, Breda & Granier 1996) and Water birch (Saliendra *et al.* 1995), but not for Lodgepole pine (Yoder *et al.* 1994), Douglas-fir (McDowell *et al.* 2002b; Phillips

*et al.* 2002) or *Saligna eucalyptus* (Barnard & Ryan 2003). As our study underlines, homeostatic behaviour (if it exists) will not be observed unless air and soil humidities are sufficiently low.



**Figure 7.** Mean values of  $\delta^{13}\text{C}$  in annual ring cellulose as a function of tree height. Each point is the average of 6-7 trees per stand for which water flux measurements were made in 2001 (open diamond) and 2002 (full diamond); bars indicate standard errors. Dotted line: linear regression for all data excluding the datum of the 32-yr-old stand in 2002 (outlier due to extreme drought stress).

Maritime pine shows a considerable degree of stomatal control, maintaining trees above the threshold  $\tilde{\Psi}_L$  and thus following a conservative strategy (Jones and Sutherland 1991). This strategy may be especially beneficial for evergreen species with their considerable investment in long-lived foliage, for which water-stress related foliage loss would represent an important cost to the tree. Sperry *et al.* (2002) suggested that trees growing in sand (as in this study) have a much narrower margin of safety than those in finer loam soil, because of the more sensitive  $K(\Psi)$  water characteristic for sand.

### Multiple hydraulic responses to height growth

The decrease in leaf-specific hydraulic conductance ( $K_L$ ) with increasing tree height is a commonly observed phenomenon (Hubbard *et al.* 1999; McDowell *et al.* 2002b; Mencuccini & Grace 1996b; Phillips, Bond & Ryan 2001; Ryan *et al.* 2000), although it may not be universal (Phillips *et al.* 2002). In our study, the 50% lower value of  $K_L$  in 28 m trees compared with 8 m trees may reflect numerous underlying factors, including increased water path length (Mencuccini & Grace 1996a; Mencuccini & Grace 1996b), changes in root/shoot ratio and architecture, and decreased sapwood permeability of stem, petiole or root with age. Tree age itself had little effect on  $K_L$ , as shown in Fig. 4 by the data for 27 m (54 yr-old) and 28 m (91 yr-old) trees.

The decrease in  $K_L$  with height implies that adjustments in  $A_L : A_S$  (decrease) and  $\Delta\Psi_{S-L}$  (increase) were insufficient to offset the increased path length and gravitational

potential of tall trees. A decrease in  $A_L : A_S$  with tree height appears to be a response common to many species (Bond & Ryan 2000; McDowell *et al.* 2002a; Mencuccini & Grace 1996b; Mencuccini & Magnani 2000; Ryan *et al.* 2000; Schafer *et al.* 2000). In contrast, hydraulic homeostasis limits the degree to which  $\Delta\Psi_{S-L}$  can increase.

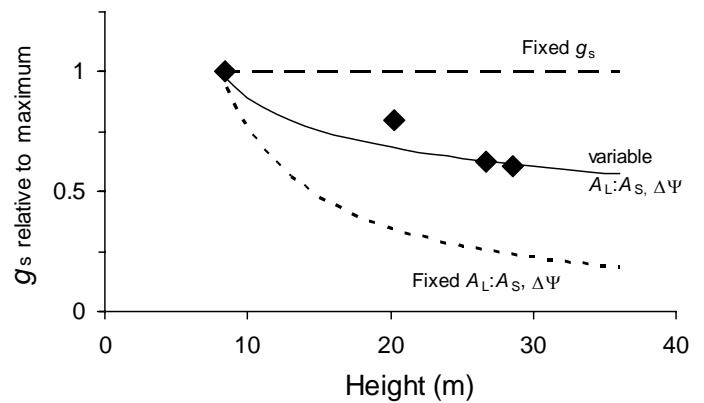
From studies of Douglas-fir (McDowell *et al.* 2002b; Phillips *et al.* 2002) and *Saligna eucalyptus* (Barnard & Ryan 2003), it has been suggested that decreases in both  $A_L : A_S$  and the threshold foliage potential can completely compensate for increased tree height. In these studies, the authors put forward the hypothesis of a decrease in minimum water potential as trees grow taller. However, because needle water potential in these studies was measured in unstressed conditions, the diurnal minimum water potential may not have attained its threshold value. Under such conditions, full adjustment of  $\Delta\Psi_{S-L}$  can occur.

In our study, adjustment of  $\Delta\Psi_{S-L}$  was limited by the threshold value of  $\tilde{\Psi}_L$ , and the decrease in  $A_L : A_S$  was insufficient to offset the decline in  $K_L$  with increasing tree height. Consequently, an associated decline in stomatal conductance with tree height occurred to maintain a balance between water supply and demand. Both canopy (sap flow) and stomatal (porometer) conductance decreased dramatically with height, results corroborated by carbon discrimination measurements which integrate stomatal behaviour over time (Farquhar, Ehleringer & Hubick 1989). A similar decrease in stomatal conductance has been observed in various tree species, including European beech (Schafer *et al.* 2000), Ponderosa pine (Hubbard *et al.* 1999; Irvine *et al.* 2002; Ryan *et al.* 2000; Yoder *et al.* 1994) or lodgepole pine (Yoder *et al.* 1994) but not, for example, in Douglas-fir (McDowell *et al.* 2002b) or *Saligna eucalyptus* (Barnard & Ryan 2003).

In some studies sap flow measurements were used to estimate the crown conductance of individual trees ( $g_c = E_L / D$ ), in contrast to other studies (Hubbard *et al.* 1999; McDowell *et al.* 2002b; Yoder *et al.* 1994) in which leaf gas exchange measurements were made on 1 year-old needles. McDowell *et al.* (2002b) failed to find a consistent pattern for height-related changes in stomatal conductance and foliar  $\delta^{13}\text{C}$ , suggesting that selective cuvette measurements of  $g_s$  are inadequate for revealing trends with height. Our study supports this suggestion; we found that crown conductance estimated from whole stands was a more robust method for this purpose than leaf-level measurements made on selected days. Our data are also self-consistent in highlighting the relatively limited response of taller trees to air and soil drying, in terms of either growth efficiency (Fig. 2), crown conductance (Fig. 5a-b) or stomatal conductance (Fig. 5c, 6).

To quantify the relative role of compensations *via* leaf area : sapwood area ratio and stomatal conductance, measured values of canopy conductance ( $g_c$ ) were compared with various theoretical estimates of  $g_s$  (Fig. 8). First,  $g_s$  was predicted from Eqn 3 as a function of mid-crown height using measured values of  $A_L : A_S$  (Fig. 1) and maximum  $\Delta\Psi_{S-L}$  (Table 3) for each stand, and the values so obtained were normalised to that for the smallest stand (Fig. 8, solid line). This prediction was in reasonably good agreement with  $g_c$  measured on wet soil at  $800 < D < 1200$  kPa and  $PAR > 1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Fig. 8, symbols), suggesting that sapwood-specific hydraulic conductivity ( $k_S$ ) did not change significantly with tree height, in contrast to Pothier *et al.* (1989). These results fall between the two theoretical extremes (fixed  $g_s$ , or fixed  $A_L : A_S$  and  $\Delta\Psi_{S-L}$ ) evoked in the Introduction (Fig. 8, dashed lines). Our measurements indicate that  $g_s$  and  $A_L : A_S$  decreased by 38% and 55%, respectively, over the range 8 m to 28 m in tree height. Similar results have been shown for *Fagus*

*sylvatica L.* by Schafer *et al.* (2000), where a height-related decrease in stomatal conductance was accompanied by a decrease in  $A_L : A_S$ . Indeed this pattern occurs in tree species generally, although in one recent study of *Quercus garryana*  $A_L : A_S$  increased with tree height (Phillips *et al.* 2003a).



**Figure 8.** Diamonds : mean canopy conductance per unit leaf area ( $g_c$ ) measured at reference vapour pressure deficit ( $800 < D < 1200$  kPa), radiation ( $PAR > 1200$ ) and on wet soil, as a function of tree height ( $h$ ). Solid line:  $g_s$  predicted from Eqn 3 using measured values of leaf area : sapwood area ratio ( $A_L : A_S$ ) and maximum soil-to-leaf water potential gradient ( $\Delta\Psi_{S-L,max}$ ) in each stand. Lower dashed line:  $g_s$  predicted from Eqn 3 assuming fixed  $A_L : A_S$  and  $\Delta\Psi_{S-L}$ , implying  $g_s \propto 1/h$ . Upper dashed line: hypothetical limit of fixed  $g_s$ , implying from Eqn 3 a decline in  $A_L : A_S$  and/or an increase in  $\Delta\Psi_{S-L}$ .



### **Potential causes of growth decline with age**

We have demonstrated a marked decline in tree growth efficiency with height in maritime pine, as observed elsewhere (Ryan *et al.* 2004, McDowell *et al.* 2002b), although our conclusions as to the underlying causes must remain tentative. Our study suggests that at least part of this decline may be attributed to a decrease in stomatal conductance, implying a reduction in CO<sub>2</sub> diffusion into the leaf (Wong, Cowan & Farquhar 1985). The observed decrease in leaf area : sapwood area ratio, implying an increased investment in non-productive versus productive tissues, may also have contributed to the growth decline. A stomatal effect is consistent with the observed increase in  $\delta^{13}\text{C}$  with height. Although the  $\delta^{13}\text{C}$  increase could also have occurred through an increase in photosynthetic capacity, we observed no differences in either needle nitrogen content or photosynthetic capacity between trees in our chronosequence (A-C<sub>i</sub> and A-PAR curves measured on detached branches in the laboratory; Delzon, unpublished data). However, from this we cannot exclude the possibility that part of the decline in growth efficiency reflected lower soil nutrient availability caused by nutrient sequestration in the biomass and detritus of older stands, which may induce a reduction in total tree needle area even if needle nutrient content remains unaffected.

### **CONCLUSION**

Our extensive chronosequence data clearly demonstrate that for maritime pine both the leaf area : sapwood area ratio and stomatal conductance decrease with height growth, whereas compensatory adjustment in soil-to-leaf water potential gradient is limited by the phenomenon of hydraulic homeostasis, especially evident in dry soil conditions. These data significantly reinforce previous observations of combined stomatal and structural compensations to height growth in other tree species. Further modelling and experimental studies are required to ascertain whether, for maritime pine, the observed height-related decline in tree growth efficiency can be attributed to stomatal closure and greater investment in non-productive tissues alone, or whether other growth-limiting responses (*e.g.* soil nutrient sequestration, increased respiratory costs) are also involved.

### **ACKNOWLEDGMENTS**

This study was funded by the EC Environment and Climate Research Programme CARBO-AGE project (contract ENV4-CT97-0577) and the public institute ADEME. We thank Alexandre Bosc, Annabel Porté and Fédérico Magnani for helpful comments and

discussions. Many thanks to Andy Kowalski, Eric Pradel, Frederic Bernier, Catherine Lambrot, Mark Bakker, Cedric Roy and Emily Le Rouzic for help with field data collection.

## REFERENCES

- Barnard H.R. & Ryan M.G. (2003) A test of the hydraulic limitation hypothesis in fast-growing *Eucalyptus saligna*. *Plant, Cell & Environment* **26**.
- Bond B.J. & Kavanagh K.L. (1999) Stomatal behavior of four woody species in relation to leaf-specific hydraulic conductance and threshold water potential. *Tree Physiology* **19**, 503-510.
- Bond B.J. & Ryan M.G. (2000) Comment on 'Hydraulic limitation of tree height: a critique' by Becker, Meinzer & Wullschleger. *Functional Ecology* **14**, 137-140.
- Čermák J., Ciencala E., Kučera J. & Hallgren J.E. (1990) Radial velocity profiles of water flow in trunks of Norway spruce and oak and the response of spruce to severing. *Tree Physiology* **10**, 367-380.
- Čermák J. & Nadezhdina N. (1998) Sapwood as the scaling parameter - defining according to xylem water content or radial pattern of sap flow? *Annales des Sciences Forestières* **55**, 509-521.
- Cochard H., Breda N. & Granier A. (1996) Whole tree hydraulic conductance and water loss regulation in *Quercus* during drought: evidence for stomatal control of embolism. *Annales des Sciences Forestières* **53**, 197-206.
- Delzon S., Sartore M., Granier A. & Loustau D. (2004) Radial profiles of sap flow with increasing tree size in maritime pine. *Tree Physiology*, in press.
- Do F. & Rocheteau A. (2002a) Influence of natural temperature gradients on measurements of xylem sap flow with thermal dissipation probes. 1. Field observations and possible remedies. *Tree Physiology* **22**, 641-648.
- Do F. & Rocheteau A. (2002b) Influence of natural temperature gradients on measurements of xylem sap flow with thermal dissipation probes. 2. Advantages and calibration of a noncontinuous heating system. *Tree Physiology* **22**, 649-654.
- Farquhar G.D., Ehleringer J.R. & Hubick K.T. (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology & Plant Molecular Biology* **40**, 503-537.

- Granier A. (1985) A new method of sap flow measurement in tree stems. [in French] Une nouvelle méthode pour la mesure du flux de sève brute dans le tronc des arbres. *Annales des Sciences Forestières* **42**, 193-200.
- Granier A. (1987) Sap flow measurement in Douglas fir stems using a new thermal method. *Annales des Sciences Forestières* **44**, 1-14.
- Granier A., Anfodillo T., Sabatti M., Cochard H., Dreyer E., Tomasi M., Valentini R. & Breda N. (1994) Axial and radial water flow in the trunks of oak trees: a quantitative and qualitative analysis. *Tree Physiology* **14**, 1383-1396.
- Hacke U.G., Sperry J.S., Ewers B.E., Ellsworth D.S., Schafer K.V.R. & Oren R. (2000) Influence of soil porosity on water use in *Pinus taeda*. *Oecologia* **124**, 495-505.
- Hubbard R.M., Bond B.J. & Ryan M.G. (1999) Evidence that hydraulic conductance limits photosynthesis in old *Pinus ponderosa* trees. *Tree Physiology* **19**, 165-172.
- Inskeep W.P. & Bloom P.R. (1985) Extinction Coefficients of Chlorophyll a and b in N, N-Dimethylformamide and 80% Acetone. *Plant Physiology* **77**, 483-485.
- Irvine J., Law B.E., Anthoni P.M. & Meinzer F.C. (2002) Water limitations to carbon exchange in old-growth and young ponderosa pine stands. *Tree Physiology* **22**, 189-196.
- Jones H.G. & Sutherland R. (1991) Stomatal control of xylem embolism. *Plant, Cell & Environment* **14**, 607-612.
- Lambrot C. & Porté A. (2000) Amélioration du protocole d'extraction de la cellulose et de l'hollocellulose du bois: vérification de l'absence d'un effet contaminant sur les valeurs de composition isotopique du carbone dans les cernes de bois. *Cahiers Techniques de l'INRA* **45**, 19-26.
- Loustau D., Berbigier P., Roumagnac P., Arruda-Pacheco C., David J.S., Ferreira M.I., Pereira J.S. & Tavares R. (1996) Transpiration of a 64-year-old maritime pine stand in Portugal. 1. Seasonal course of water flux through maritime pine. *Oecologia* **107**, 33-42.
- Loustau D., Domec J.C. & Bosc A. (1998) Interpreting the variations in xylem sap flux density within the trunk of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.): application of a model for calculating water flows at tree and stand levels. *Annales des Sciences Forestières* **55**, 29-46.

- Loustau D., Granier A. & El-Hadj Moussa F. (1990) Seasonal variations in sap flow in a maritime pine stand. [in French] Evolution saisonnière du flux de sève dans un peuplement de pins maritimes. *Annales des Sciences Forestières* **47**, 599-618.
- Lundblad M., Lagergren F. & Lindroth A. (2001) Evaluation of heat balance and heat dissipation methods for sap flow measurements in pine and spruce. *Annals of Forest Science* **58**, 625-638.
- Magnani F., Mencuccini M. & Grace J. (2000) Age-related decline in stand productivity: the role of structural acclimation under hydraulic constraints. *Plant, Cell & Environment* **23**, 251-263.
- McDowell N., Barnard H., Bond B.J., Hinckley T., Hubbard R.M., Ishii H., Kostner B., Magnani F., Marshall J.D., Meinzer F.C., Phillips N., Ryan M.G. & Whitehead D. (2002a) The relationship between tree height and leaf area:sapwood area ratio. *Oecologia* **132**, 12-20.
- McDowell N.G., Phillips N., Lurch C., Bond B.J. & Ryan M.G. (2002b) An investigation of hydraulic limitation and compensation in large, old Douglas-fir trees. *Tree Physiology* **22**, 763-774.
- Mencuccini M. & Grace J. (1996a) Developmental patterns of above-ground hydraulic conductance in a Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) age sequence. *Plant, Cell & Environment* **19**, 939-948.
- Mencuccini M. & Grace J. (1996b) Hydraulic conductance, light interception and needle nutrient concentration in Scots pine stands and their relations with net primary productivity. *Tree Physiology* **16**, 459-468.
- Mencuccini M. & Magnani F. (2000) Comment on 'Hydraulic limitation of tree height: a critique' by Becker, Meinzer & Wullschleger. *Functional Ecology* **14**, 135-137.
- O'Neill J.V. & Webb R.A. (1970) Simultaneous determination of nitrogen, phosphorus and potassium in plant material by automatic methods. *Journal of the Science of Food & Agriculture* **21**, 217-219.
- Oren R., Sperry J.S., Katul G.G., Pataki D.E., Ewers B.E., Phillips N. & Schafer K.V.R. (1999) Survey and synthesis of intra- and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. *Plant, Cell & Environment* **22**, 1515-1526.
- Phillips N., Bond B.J., McDowell N.G. & Ryan M.G. (2002) Canopy and hydraulic conductance in young, mature and old Douglas-fir trees. *Tree Physiology* **22**, 205-211.

- Phillips N., Bond B.J., McDowell N.G., Ryan M.G. & Schauer A. (2003a) Leaf area compounds height-related hydraulic costs of water transport in Oregon White Oak trees. *Functional Ecology* **17**, 832-840.
- Phillips N., Bond B.J. & Ryan M.G. (2001) Gas exchange and hydraulic properties in the crowns of two tree species in a Panamanian moist forest. *Trees* **15**, 123-130.
- Phillips N., Nagchaudhuri A., Oren R. & Katul G. (1997) Time constant for water transport in loblolly pine trees estimated from time series of evaporative demand and stem sapflow. *Trees-Structure & Function* **11**, 412-419.
- Phillips N. & Oren R. (1998) A comparison of daily representations of canopy conductance based on two conditional time-averaging methods and the dependence of daily conductance on environmental factors. *Annals of Forest Science* **55**, 217-235.
- Phillips N., Oren R. & Zimmermann R. (1996) Radial patterns of xylem sap flow in non-, diffuse- and ring-porous tree species. *Plant, Cell & Environment* **19**, 983-990.
- Phillips N.G., Ryan M.G., Bond B.J., McDowell N.G., Hinckley T.M. & Čermák J. (2003b) Reliance on stored water increases with tree size in three species in the Pacific Northwest. *Tree Physiology* **23**, 237-245.
- Porté A., Bosc A., Champion I. & Loustau D. (2000) Estimating the foliage area of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) branches and crowns with application to modelling the foliage area distribution in the crown. *Annals of Forest Science* **57**, 73-86.
- Porté A., Trichet P., Bert D. & Loustau D. (2002) Allometric relationships for branch and tree woody biomass of Maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.). *Forest Ecology & Management* **158**, 71-83.
- Pothier D., Margolis H.A. & Waring R.H. (1989) Patterns of change of saturated sapwood permeability and sapwood conductance with stand development. *Canadian Journal of Forest Research* **19**, 432-439.
- Ryan M.G., Binkley D., Fownes J.H., Giardina C.P. & Senock R.S. (2004) An experimental test of the causes of forest growth decline with stand age. Ecological Monographs, In Press.
- Ryan M.G., Bond B.J., Law B.E., Hubbard R.M., Woodruff D., Cienciala E. & Kučera J. (2000) Transpiration and whole-tree conductance in ponderosa pine trees of different heights. *Oecologia* **124**, 553-560.
- Ryan M.G. & Yoder B.J. (1997) Hydraulic limits to tree height and tree growth: what keeps trees from growing beyond a certain height. *Bioscience* **47**, 235-242.

- Saliendra N.Z., Sperry J.S. & Comstock J.P. (1995) Influence of leaf water status on stomatal response to humidity, hydraulic conductance, and soil drought in *Betula occidentalis*. *Planta* **196**, 357-366.
- Salleo S., Nardini A., Pitt F. & Gullo M.A.I. (2000) Xylem cavitation and hydraulic control of stomatal conductance in laurel (*Laurus nobilis* L.). *Plant, Cell and Environment* **23**, 71-79.
- Schafer K.V.R., Oren R. & Tenhunen J.D. (2000) The effect of tree height on crown level stomatal conductance. *Plant, Cell and Environment* **23**, 365-375.
- Schulze E.D., Čermák J., Matyssek R., Penka M., Zimmermann R., Vasicek F., Gries W. & Kučera J. (1985) Canopy transpiration and water fluxes in the xylem of the trunk of *Larix* and *Picea* trees - a comparison of xylem flow, porometer and cuvette measurements. *Oecologia* **66**, 475-483.
- Sperry J.S., Adler F.R., Campbell G.S. & Comstock J.P. (1998) Limitation of plant water use by rhizosphere and xylem conductance: results from a model. *Plant, Cell & Environment* **21**, 347-359.
- Sperry J.S., Hacke U.G., Oren R. & Comstock J.P. (2002) Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. *Plant, Cell & Environment* **25**, 251-263.
- Vanninen P., Ylitalo H., Sievanen R. & Makela A. (1996) Effects of age and site quality on the distribution of biomass in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Trees* **10**, 231-238.
- Whitehead D. (1998) Regulation of stomatal conductance and transpiration in forest canopies. *Tree Physiology* **18**, 633-644.
- Whitehead D., Edwards W.R.N. & Jarvis P.G. (1984) Conducting sapwood area, foliage area, and permeability in mature trees of *Picea sitchensis* and *Pinus contorta*. *Canadian Journal of Forest Research* **14**, 940-947.
- Wong S.C., Cowan I.R. & Farquhar G.D. (1985) Leaf conductance in relation to rate of CO<sub>2</sub> assimilation. I. Influence of nitrogen nutrition, phosphorus nutrition, photon flux density, and ambient partial pressure of CO<sub>2</sub> during ontogeny. *Plant Physiology* **78**, 821-825.
- Yoder B.J., Ryan M.G., Waring R.H., Schoettle A.W. & Kaufmann M.R. (1994) Evidence of reduced photosynthetic rates in old trees. *Forest Science* **40**, 513-527.

Delzon S. & Loustau D. - Age-related decline in stand water use:  
sap flow and transpiration in a pine forest chronosequence.  
Agricultural and Forest Meteorology (accepted).





# Age-related decline in stand water use: sap flow and transpiration in a pine forest chronosequence

## Abstract

We investigated changes in the pattern of stand water use in a chronosequence of four even-aged maritime pine stands, differing in age (10, 32, 54 and 91 yr old) and growing under similar environmental conditions (elevation and soil characteristics). Extensive sap flow measurements were carried out during a period of two years (2001-2002), using thermal dissipation sensors located 1 m below the live crown and corrected for radial profile of sap flow.

We found profound difference in transpiration among stands. Stand water use declined with stand age from 508 mm per year for the 10 year-old stand to 144 mm per year for the 54 year-old stand in 2001. This age-related decline was driven by (i) a decrease in transpiration per unit of leaf area (55%), due to a decrease in stomatal conductance as trees grow taller and (ii) a significant reduction in LAI (38%).

There was a strong effect of soil moisture deficit on stand transpiration and an interaction with the age effect. A strong decrease in stand transpiration was provoked by the prolonged drought observed in 2002 due to a lower transpiration rate per leaf area but also resulting from a lower leaf area evidenced both by LAI (optical method) and litterfall (litter traps) measurements. The drought effect was greater in the younger stands compared to older stands.

In the 32 year-old stand, simultaneous measurements of sap flow and eddy correlation showed that overstory contributed to half of total ecosystem water loss,  $E_{TR}$ . The total ecosystem water loss estimated for each stand by a water balance approach was not different between stand ages. We suggest therefore that the decline in stand transpiration with stand age affects mainly the partitioning of the total evapotranspiration between trees, understory and soil but not the total evapotranspiration.

**Keywords** Thermal dissipation sensor • Leaf area index • Litterfall • Drought • Ecosystem transpiration

## Introduction

Due to forest management, most European forests are composed of even-age stands and form a spatial mosaic of stands differing in age and density. This spatial distribution of age classes is the major component of forest landscape heterogeneity. The forest age distribution is highly variable due to changes in forest management practices, fires, and storm damage. The effects of age on mass and energy exchange are becoming increasingly considered, in particular in the assessment of the forest carbon balance and hydrology (Kowalski et al. 2003; Law et al. 2001; Law et al. 2003). The age decline in forest net primary production and timber production is well documented and convincingly explained by the hydraulic limitation hypothesis on stomatal conductance and net assimilation (Ryan et al. in press; Yoder et al. 1994). Although this should also affect forest transpiration, the influence and regulatory role that trees play in water movement through forest stands along their life cycle are less documented and understood. We know that the amount of water transpired depends on stand leaf area (Granier et al. 2000; Oren et al. 1999a; Vertessy et al. 1995), and stomatal behaviour (Hogg and Hurdle 1997; Kelliher et al. 1993). But it is not known how decreases in stomatal conductance as trees grow taller, i.e. hydraulic limitation (Ryan and Yoder 1997; Schafer et al. 2000), and water relation traits (e.g. hydraulic lift (Dawson 1996)) influence the stand water balance. Whether the possible change in transpiration with age also affects the latent heat flux of the ecosystem, or is compensated by an opposite change in evaporation from understorey and soil, remains unclear (ref). Clearly, more studies addressing the size- and age-related effects of tree on stand water balance are needed. Examining stand water relations according to age and size is difficult however, since climatic, soil and forest management conditions are rarely similar among stands of different age.

The southwestern European forest of maritime pine offers optimal conditions for addressing the effect of age on forest water relations. It covers 0.9 million hectares and consists of a mosaic of 5 to 100 ha pine stands of different age and established in homogenous soil and management conditions on a flat sandy plateau under maritime conditions. Currently, the rotation length is between 45 to 55 years but older stands are still found (up to 100 yr of age). Hydrological studies based on eddy correlation and sap flow measurements carried out over the last decade (Berbigier et al. 1996; Berbigier et al. 2001; Granier and Loustau 1994; Loustau et al. 1996; Loustau et al. 1998) have provided useful information on the environmental and physiological controls of transpiration of this forest. However, in a previous study on maritime pine trees, Delzon et al. (2004a) evidenced a decline in stomatal conductance as trees grew taller. Indeed, stomatal conductance values of tall (91-yr-old) trees were 60 % lower than those of smaller (10-yr-old) trees. Stomatal closure occurred

to maintain a functional water balance, i.e. homeostasis of needle water potential, to compensate a decrease in leaf-specific hydraulic conductance with increasing tree height. Consequently, we expected a decline in transpiration with stand development. However, the potentially independent effects of the age and size of the trees on stand water use remain virtually unknown, and annual stand water use has never been quantified for a maritime pine forest.

Our main objectives were (i) to compare the stand water use across a chronosequence of four maritime pine stands growing in relative close proximity, (ii) to identify and quantify the physiological and structural causes inducing the eventual changes in transpiration in relation to stand age and (iii) to evaluate the year-to-year variation in relations between age and water use. We based our investigations on sap flow measurements monitored during two consecutive years with contrasting soil water availability, which highlight drought effects.

## Materials and Methods

### Site description

The experiments were carried out in pure, even-aged stands of maritime pine that were 10-, 32-, 54- and 91-yr-old trees in 2002. For clarity in this paper, we always refer to the same stand age both for 2001 and 2002. The chronosequence was located in the "Landes de Gascogne" Forest, southwestern France at about 20 km southwest from Bordeaux. This flat region at an elevation of 20 m has a maritime climate, with a mean annual temperature (1950-2000) of 12.98 °C and precipitation (1970-2000) of 977 mm (Meteo France, Merignac, France). Understory vegetation was very dense and consisted mainly of *Molinia coerulea* (L.) Moench. The soil is a sandy humic podzol with a cemented B<sub>h</sub> horizon limiting the depth of the root zone to -0.8 m with little variation among stands.

In each stand, stem diameter,  $d$ , and height,  $h$ , measurements were carried out for all trees and for a sample of 100 trees, respectively. Both in summer 2001 and 2002, the plant area index (PAI) was measured with an optical method (DEMON, CSIRO, Canberra, Australia). The sapwood cross-sectional area below the live crown ( $A_{S_{lc}}$ , m<sup>2</sup>) and tree leaf area ( $A_L$ , m<sup>2</sup>) were calculated using the following relationships established across the same chronosequence

$$A_{S_{lc}} = 0.3058 \cdot d_{lc}^{1.6385} \quad (1)$$

$$A_L = 0.0433 \cdot d_{lc}^{2.043} \cdot \sigma \quad (2)$$

where  $d_{lc}$  (m) is the stem diameter under the live crown and  $\sigma$  ( $\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$ ) the specific leaf area (Delzon et al. 2004a). For calculating  $A_{Sic}$  and  $A_L$ , Eqn 1 and 2 were applied for each stand using  $d_{lc}$  values estimated for each individual tree from a linear regression established from  $d$  and  $d_{lc}$  values measured on a sample of 30 trees per stand ( $r^2$  ranging from 0.95 and 0.98). Then LAI of each stand was estimated following (Chen and Black 1992) as half the value of needle area per unit ground area.

### Sap flow measurements

Sap flow was determined for the four stands with a constant heating radial flowmeter according to Granier (1985, 1987). The sensors were installed on six trees in the 10 year-old stand and seven trees in the other stands on the eastern side of the stems at 1 m under the live crown, *e.g.* at 1 to 18 m above ground level. The two probes of each sensor were installed in the outer 20 mm of sapwood with 130 mm separation. The upper probe was heated continuously with a constant current of 0.140 A while the lower one was not heated. Sap flow data were collected from April 2001 to January 2003 at the three younger sites and from March 2002 to January 2003 at the 91 year-old stand. Data were recorded every 10 s and averaged every 30 min with dataloggers (model 21X, Campbell Scientific, Ltd., Shepshed, UK) and multiplexers (model AM416, Campbell Scientific, Ltd., Shepshed, UK). Sap flow density,  $J_s$  ( $\text{kg m}^{-2} \text{h}^{-1}$ ) was calculated using the original calibration coefficients of Granier (1985).

Probes were inserted in the same horizontal plan and no temperature gradient correction was applied except when stem diameter was too small or branch insertions were present. In the latter case, the probes were disposed one above the other, and the vertical temperature gradient along the stem was accounted for as follows. The natural temperature gradient was measured in each tree during short periods of 3-4 days when the heating was turned off. Using these data, simple empirical models were determined for each tree based on meteorological variables (Do and Rocheteau 2002a; 2002b; Lundblad et al. 2001). Among the variables tested - radiation, air humidity, wind speed and temperature - the most satisfactory statistical correlation for the natural temperature gradient was found using only the latter. Were such a temperature gradient to be ignored, the mean daily sap flux density in the 10, 32, 54 and 91 year old trees would have been overestimated by 3, 6, 6 and 5%, respectively.

We scaled up the measurements of sap flux density to the entire sapwood cross-sectional area as follows. First, following Loustau et al. (1998), azimuthal variations were assumed to be negligible. Second, the radial profile of sap flux density was accounted for applying a correction

**Table 1:** Meteorological instrumentation of each stand at the tower top

Stand age	Latitude Longitude	Air temperature and humidity	Net radiation	Global radiation	PAR	Atmospheric pressure	Precipitation	Wind speed
		HMP45AC temperature- humidity probe (Vaisala, Helsinki, Finland)	NR Lite FT006 net radiometer (Kipp & Zonen, Delft, Netherlands)	CM 6B pyranometer (Kipp & Zonen, Delft, Netherlands)	LI 190S crystalline silicon cells (LICOR, Lincoln, NE, USA)	PT101B barometer pressure sensor	ARG100 rain gauge (Young, Traverse City, Michigan, USA)	A100R switching anemometer (Vector Instruments, north Wales, UK)
10- and 54-yr*	44°44' N 0° 46' O	May 2001- Dec. 2002	May 2001- Dec. 2002	May 2001- Dec. 2002	Jan. 2002- Dec. 2002	May 2001- Dec. 2002	May 2001- Dec. 2002	May 2001- Dec. 2002
32-yr	44°44' N 0° 46' O	Jan. 2001- Dec. 2002	Jan. 2001- Dec. 2002	Jan. 2001- Dec. 2002	Jan. 2001- Dec. 2002	Jan. 2001- Dec. 2002	Jan. 2001- Dec. 2002	Jan. 2001- Dec. 2002
91-yr	44°37' N 0°34' O	May 2002 - Dec. 2002	May 2002 - Dec. 2002	-	May 2002 - Dec. 2002	-	May 2002 - Dec. 2002	May 2002 - Dec. 2002

\* Measurements of air temperature and humidity carried out during 6 months at the canopy top of the 54-yr-old stand did shown any difference with the meteo station installed 150 far in the centre of the 10-yr-old stand.

**Table 2.** Seasonal average values of mean, minimum and maximum air temperature ( $T_{\text{mean}}$ ,  $T_{\text{min}}$  and  $T_{\text{max}}$ ), maximum vapour pressure deficit ( $D_{\text{max}}$ ) and downward photosynthetic photon flux density (PAR) by stand during the experiment.

Year	Season	Stand age	$T_{\text{mean}}$ ( $T_{\text{min}} - T_{\text{max}}$ ) (°C)	$D_{\text{max}}$ (Pa)	PAR ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )
2001	Spring	10- and 54-yr	15.8 (10.1-21.2)	1446.1	735.5
		32-yr	16.5 (11.5-21.4)	1454.3	780.2
	Summer	10- and 54-yr	19.2 (13.4-25.0)	1742.2	687.9
		32-yr	20.0 (15.2-25.3)	1723.1	734.0
	Autumn	10- and 54-yr	9.9 (5.5-15.0)	739.7	399.7
		32-yr	10.7 (6.7-15.5)	744.6	391.4
2002	Winter	10- and 54-yr	9.1 (5.3-13.9)	669.6	334.6
		32-yr	9.7 (6.1-14.1)	645.7	330.3
	Spring	10- and 54-yr	13.9 (8.3-19.9)	1313.9	655.0
		32-yr	14.6 (9.6-19.8)	1332.7	670.4
		91-yr	14.1 (8.36-20.1)	1401.4	667.0
	Summer	10- and 54-yr	18.5 (13.1-24.4)	1594.6	667.7
32-yr		19.2 (14.5-24.4)	1661.1	721.6	
91-yr		19.1 (13.8-24.9)	1700.5	660.3	
Autumn	10- and 54-yr	11.6 (7.5-17.2)	827.2	338.5	
	32-yr	12.3 (8.8-16.5)	826.8	372.1	
	91-yr	11.6 (8.1-16.2)	745.0	312.7	

factor for individual tree sapwood area,  $C$ , which depended on  $d_{lc}$  ( $C = -1.17643 \cdot d_{lc} + 1.1936$  with  $r^2=0.90$ , (Delzon et al. 2004b)). Neglecting this radial correction would have led to overestimate daily stand transpiration by 4, 14, 26 and 47% in the 10, 32, 54- and 91-year old stands respectively.

In accordance with previous studies on sap flow in maritime pine, we found no relationship between  $J_s$  and tree size within stands (Loustau et al. 1996; Loustau et al. 1990) and the stand transpiration (i.e. stand water use) was consequently calculated as the product of the corrected sapwood area summed over the stand by the mean sap flux density such that:

$$E = \overline{J_s} \cdot S^{-1} \cdot \sum_{i=1}^N (A_{Slc,i} \cdot C_i) \quad (3)$$

with  $\overline{J_s}$  the mean sap flux density under the live crown ( $\text{kg m}^{-2} \text{ sapwood h}^{-1}$ ),  $A_{Slc}$  the sapwood area under the live crown of tree  $i$  ( $\text{m}^{-2} \text{ sapwood tree}^{-1}$ ),  $N$  the number of trees per stand and  $S$  the total stand area ( $\text{m}^2$ ). Transpiration per unit of leaf area,  $E_L$  ( $\text{kg m}^{-2} \text{ leaf h}^{-1}$ ), was calculated dividing  $E$  ( $\text{kg m}^{-2} \text{ ground h}^{-1}$ ) by the leaf area index (LAI,  $\text{m}^2 \text{ m}^{-2}$ ) of each stand.

### Eddy covariance measurements

Latent and sensible heat fluxes were monitored continuously in the 32 year-old stand by the eddy covariance method using a closed path IRGA (LiCor 6262). The system was installed in 1996 in the centre of the stand on a 40-m tall tower, 20-m above the canopy. Water vapour exchange rates were estimated and gap-filled as described by Berbigier et al. (2001) to estimate the total ecosystem water flux ( $E_{TR}$ ;  $\text{mm day}^{-1}$ ).

### Needle water potential

The non-gravitational component of predawn needle water potential ( $\tilde{\Psi}_p = \Psi_p - \rho_w gh$ ) was measured six times during the two years of experiment in each stand. Measurements were carried out on three different whorls of three trees per stand. Needle water potential was measured using pressure chambers on 18 fully expanded needles per stand, chosen in the upper part of the crowns before sunrise.

### **Litterfall measurements**

Litterfall was collected on 1 m x 1 m frames with wire-mesh netting from April 2001 to April 2003 in each stand. Twenty collectors were placed randomly in each stand and litter was collected monthly throughout the summer and every two months the rest of the year. Litter was dried at 65°C and manually sorted into needle and other plant parts and weighed.

### **Meteorological and soil measurements**

Local micrometeorological conditions were measured at the canopy top in each stand, except the 54 year-old stand which was 150 m far from the meteorological station of the 10 year-old stand and where the same set of data was used therefore (Table 1). Data were measured every 10 s and averaged every 30 min. All sensors were inter-calibrated in the laboratory before installation.

Soil volumetric water content was measured using two techniques, a water content reflectometer system (CS615 water content reflectometer, Campbell scientific LTD, Logan Utah, USA), and a TRASE system (TRASE 6050X1, Soil moisture, Goleta, USA). In the 54- and 91-yr-old stands, 20 stainless steel probes CS615, with 300 mm rods, were inserted horizontally into the soil at 0.15, 0.3, 0.6, 0.9 and 1.3 m depths at four locations in each stand. In the 10- and 32-yr-old stands at five and four locations, respectively, 200 mm long TRASE probes were installed horizontally in the soil at 0.15, 0.3, 0.5 and 0.8 m depths. In each stand, data were collected every 4 hours, except in the 32-yr-old stand, where this was once a week. A cross comparison of the two systems gave satisfactory agreement. In each stand, manual readings of groundwater level were made once a week, and in addition in the 10-yr-old stand, groundwater level was monitored every 30 min with a pressure transducer (PDCR 830, Campbell scientific LTD, Logan Utah, USA). Finally, the soil water content,  $\theta$ , was calculated in each stand from 0 to -0.8 m depth, corresponding to the root zone.

### **Statistical analysis**

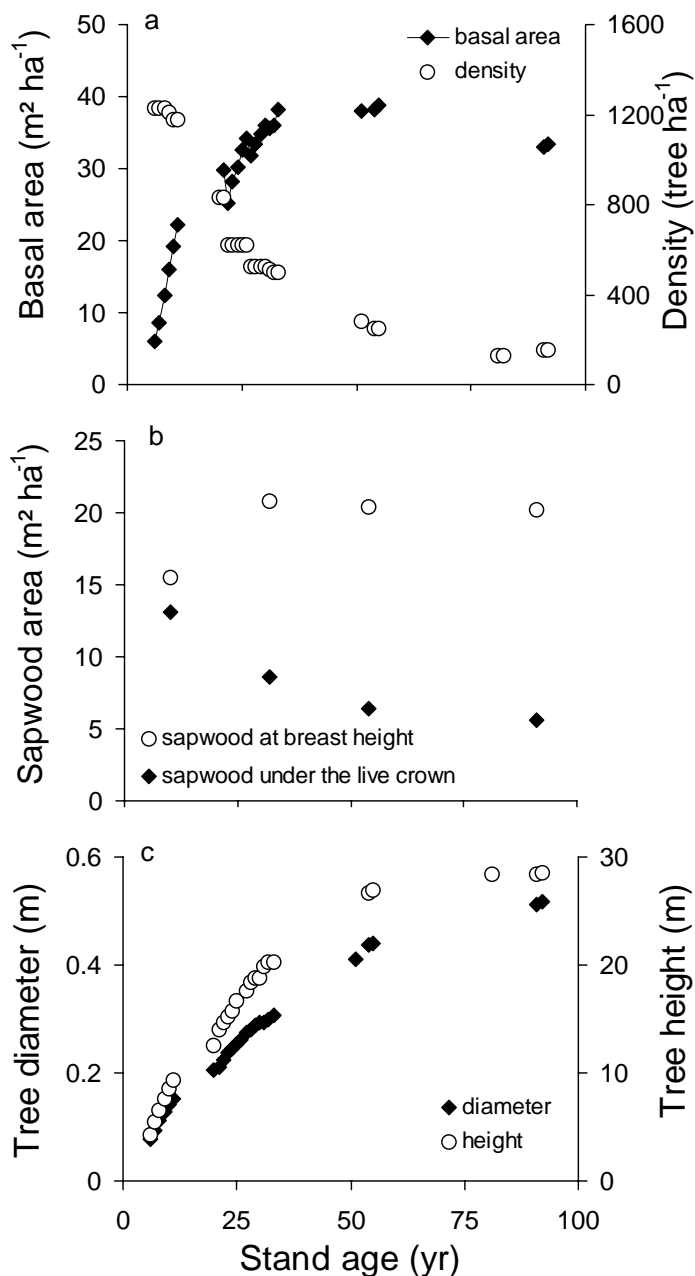
Analysis of variance (ANOVA) was performed to test for between-tree differences in monthly sap flux density and the dependence between  $J_s$  and stem dimension. All statistical analyses were made with SAS procedure GLM, (SAS Version 8.1, SAS Institute, Cary, NC).



## Results

### Stand characteristics

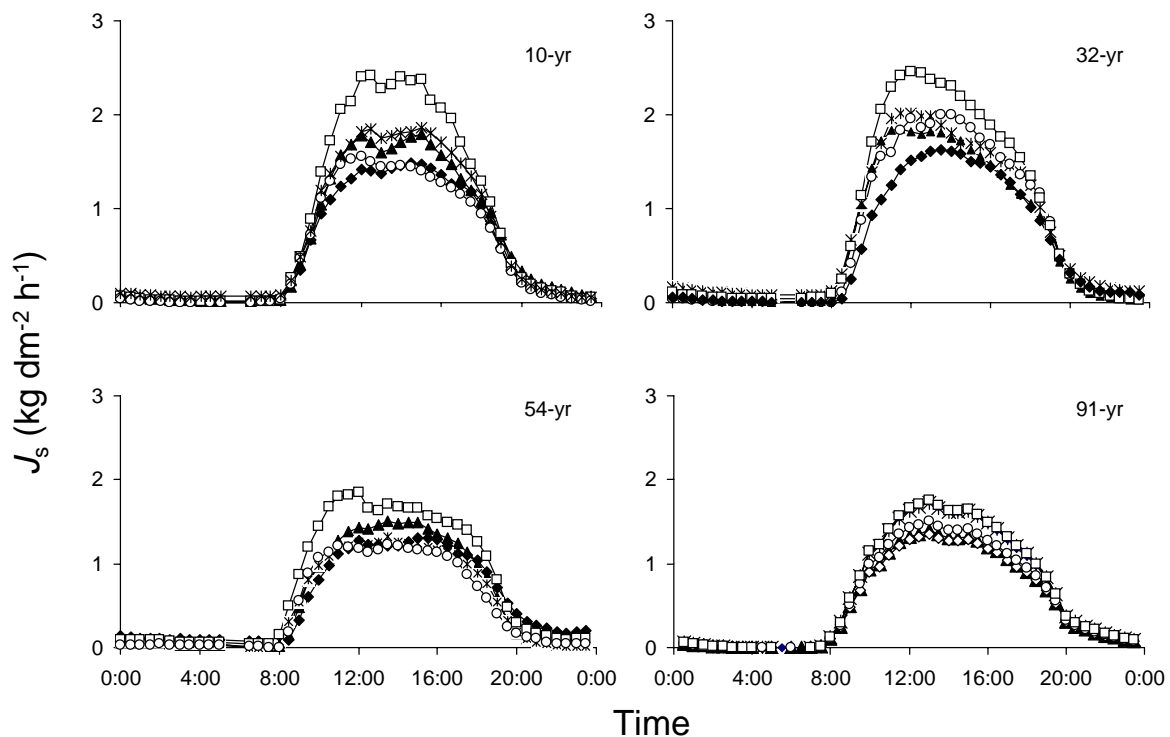
Stand basal area increased until 40 years of age and decreased slowly afterwards (Fig. 1a). Stand sapwood area under the live crown declined with age from  $13.1 \text{ m}^2 \text{ ha}^{-1}$  in the 10-yr-old stand to  $5.6 \text{ m}^2 \text{ ha}^{-1}$  in the 91-yr-old stand while stand sapwood area at breast height showed no trend (Fig. 1b). Due to successive thinnings, stand density decreased throughout the forest rotation cycle to a final value of  $155 \text{ tree ha}^{-1}$  (Fig. 1a). Stem diameter at 1.3 m height ( $d$ ) and tree height ( $h$ ) increased up to 60 yr-old and reached a plateau afterwards (Fig. 1c).



**Figure 1.** Evolution with age of (a) stand basal area and stand density, (b) stand sapwood area at breast height and under the live crown, (c) mean tree diameter at breast height,  $d$ , and mean tree height,  $h$ , for five maritime pine stands in the “Landes de Gascogne” forest. Height and circumference measurements were carried out annually since 1989, 1995, 1998 and 2001 in the 10, 32, 54 and 91 yr-old stand, respectively. Linked points come from the same stand.

### Sap flux density variations

The daily pattern of sap flux density was roughly similar between trees, but the magnitude of the mean sap flux density differed among stands (Fig. 2). As mentioned above we confirmed that within each stand  $J_s$  was independent of stem dimension ( $P>0.05$ ). In addition,  $J_s$  was more variable in younger stands. In 2001, sap flux density per unit sapwood area was lower for the 54-yr-old stand than for the 10- and 32-yr-old stands at least for the period April to August when sap flux density was the highest ( $P>0.05$ , Fig. 3a). Conversely, in 2002, sap flux density was not significantly different between stands except for the 32 year-old stand which exhibited a lower sap flux density together with a higher water soil deficit from June to August (Fig. 3b).

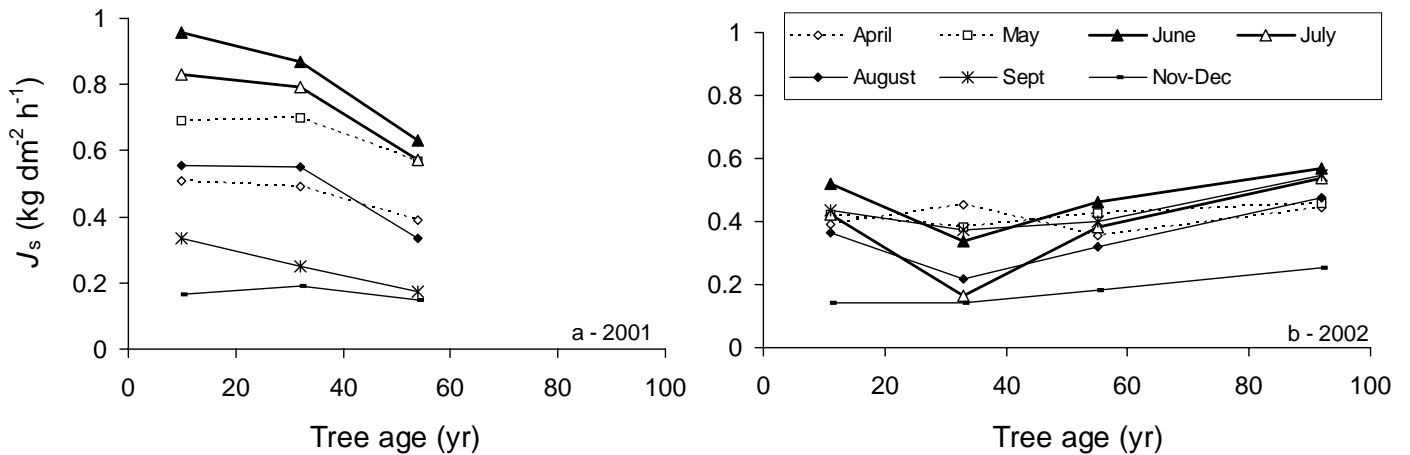


**Figure 2.** Diurnal course of sap flux density,  $J_s$ , of individual trees measured in four stands along the maritime pine chronosequence. The four plots show a typical clear day in spring 2002 with a  $D_{\max}=1342$  Pa and  $PAR_{\max}=1845 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  and under no limiting soil water availability ( $\theta = 150 \text{ kg m}^{-2}$ ).

### Whether and soil water content

During the two years of the experiment, we observed only minor differences in the values of air temperature, relative air humidity and light regime between the stands (Table 2). The highest vapour pressure deficit was found both in June 2001 and July 2002. However, we observed lower

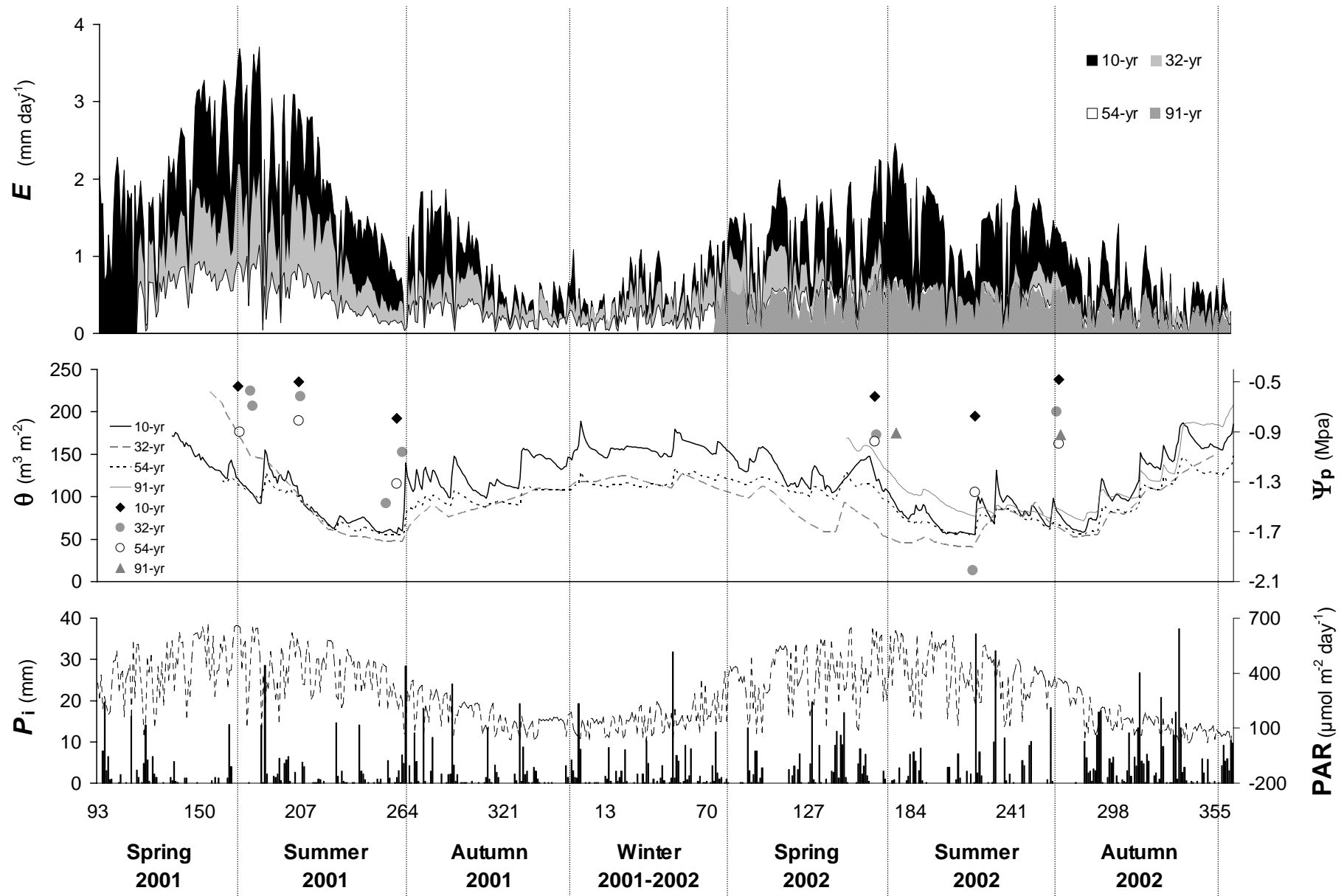
values of maximum vapour pressure deficit (about 100 Pa) in spring and summer 2001 compared to 2002.



**Figure 3.** Evolution of mean monthly sap flux density,  $\overline{J_s}$ , with stand age in 2001 (a) and 2002 (b). Each point corresponds to the mean of all sample trees per stand during one month.

Rainfall in autumn 2000 and winter 2000-2001 cumulated to a value of 905 mm, much higher than the 1950-2000 average (548 mm) and the water table remained close to the ground level. Consequently in 2001, soil water content in spring was high. It decreased in mid-summer below the threshold value corresponding to soil drought expected in this area ( $85 \text{ kg m}^{-2}$ , corresponding to a soil moisture deficit of 40% (Granier and Loustau 1994)). At this time of the year, the onset of soil drought was simultaneous in all stands (Fig. 4, middle panel). By contrast, the rainfall accumulated during fall 2001 and following winter was exceptionally low (289 mm, i.e. 159 mm below the 1950-2000 average) and the water table level stayed below the root zone. Consequently, in early spring 2002,  $\theta$  was lower than in 2001 and differed among stands. In particular, soil water content was markedly lower in the 32 year-old stand during spring and summer 2002, presumably due to agricultural practices next to this site (irrigation and pumping of groundwater). The threshold value for the onset of soil drought and stomatal closure was reached at days of the year 110, 171 and 189 in the 32-yr, 10-yr and 54-yr, and 91-yr-old stands, respectively. Measurements of predawn needle water potential accordingly showed that trees were in water stress both in summer 2001 and 2002 (Fig. 4, middle panel). Moreover, at DOY 219 in mid-summer 2002, predawn needle water potential of the 32 year-old stand was lower than in the other stands, reaching the minimum threshold values of  $-2.0 \text{ MPa}$  (Delzon et al. 2004a), when transpiration rate was zero and  $\theta = 40 \text{ kg m}^{-2}$ .

Figure 4. Seasonal course of tree transpiration,  $E$ , (upper panels), soil water content,  $\theta$ , and (non gravitational) predawn needle water potential,  $\Psi_p$ , (middle panels) and gross rainfall,  $P_i$ , and photosynthetic active radiation, PAR, (bottom panels) of the four even-aged stands of maritime pine over the 2 years of the experiment (2001-2002). Only  $P_i$  and  $D$  at the 10-yr-old stand are shown here for more clearness.



## Stand transpiration

All along the experiment, the annual course of transpiration,  $E$ , was parallel among the stands (Fig. 4, upper panel). The increase in  $E$  at the beginning of the growing season coincided with the period of needle expansion while the summer decline coincided with drought period ( $\theta < 85 \text{ kg m}^{-2}$ ). The highest transpiration rate, ( $E_{\text{max}}=3.8, 2.3$  and  $1.1$  mm per day for the 10-, 32- and 54-yr old stands respectively), occurred in June 2001 due to high vapour pressure deficit and radiation. The annual course of transpiration was dramatically different between the two years of measurements (2001 and 2002). Indeed, transpiration rates remained at very low values throughout spring-summer 2002 in all stands compared to 2001, and it is unlikely that the 100 Pa difference of vapour pressure deficit observed between the two growing seasons can explain these differences.

We then examined the differences in transpiration between stands of different age. From spring 2001 to summer 2002, the transpiration decreased significantly with age between the 10, 32 and 54 year-old stands whereas in summer and fall 2002 only the 10 year-old stand transpired systematically more than the other stands. Transpiration in the 91 year-old stand was measured only since spring 2002, and was equal to that of the 54 year-old stand. The largest difference was observed in spring-summer 2001 when  $E$  of the 10 year-old stand was three times that of the 54 year-old stand. Along the course of spring and summer 2002 when greater soil water stress occurred, the decrease in transpiration was larger at the 10 year-old stand compared to the 54 year-old stand, i.e. the annual change in transpiration was more pronounced for the young stand.

A comparison between total ecosystem water flux ( $E_{\text{TR}}$ ) and stand transpiration ( $E$ ) was made at the 32 year-old stand in 2001-2002 (Fig. 5). Both fluxes reached a maximum at the end of spring and decreased at the same time in September 2001 and remained lower throughout the year 2002. In consequence, annual ecosystem water losses significantly decreased between the two years of experiment and were 543- and 333-mm for 2001 and 2002, respectively. For calculating annual sums of stand transpiration, relationships have been established between  $E$  and  $E_{\text{TR}}$  and we extrapolated stand transpiration at the beginning of year 2001 when sap flow sensors were not yet installed and further extrapolated this result to the 10- and 54-yr-old stands. The annual stand water use illustrated in Figure 6 markedly and gradually declined with stand age both in 2001 and 2002,  $E$  being approximately 70 % lower in the two older stands compared to the youngest stand.

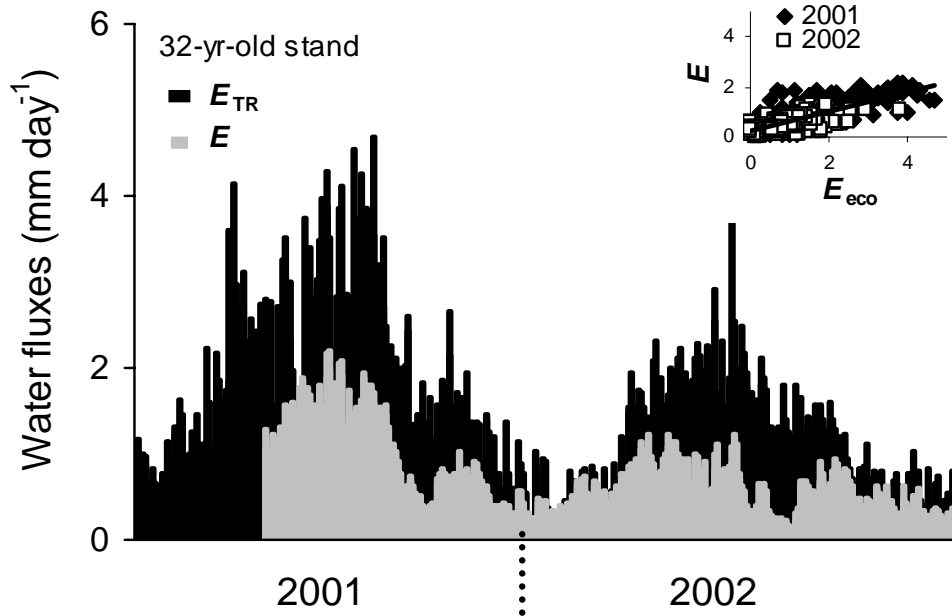


Figure 5. Seasonal course of the daily sums of tree transpiration,  $E$ , measured by sap flow, and total ecosystem evapotranspiration,  $E_{TR}$ , measured by eddy correlation in the 32 year-old stand during the two years of the experiment.

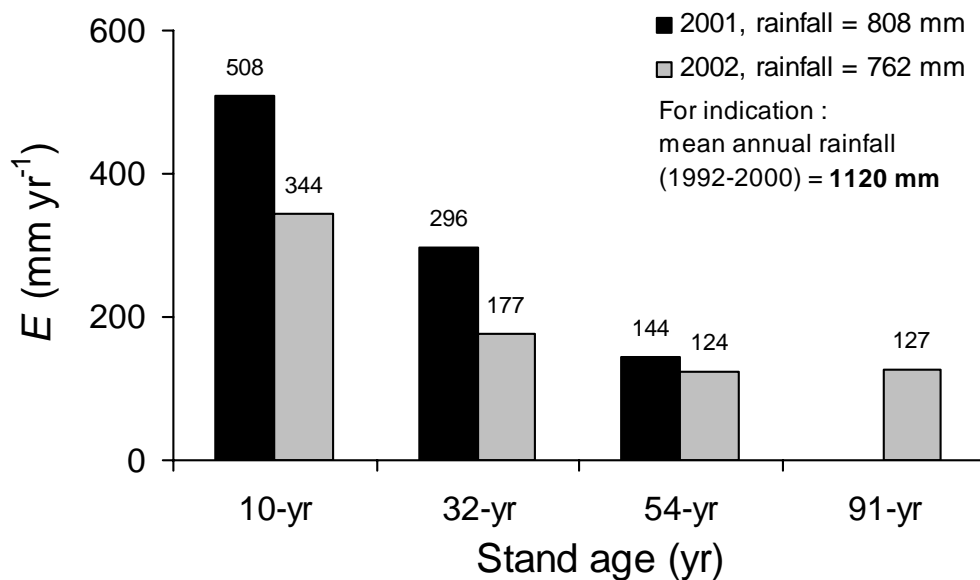
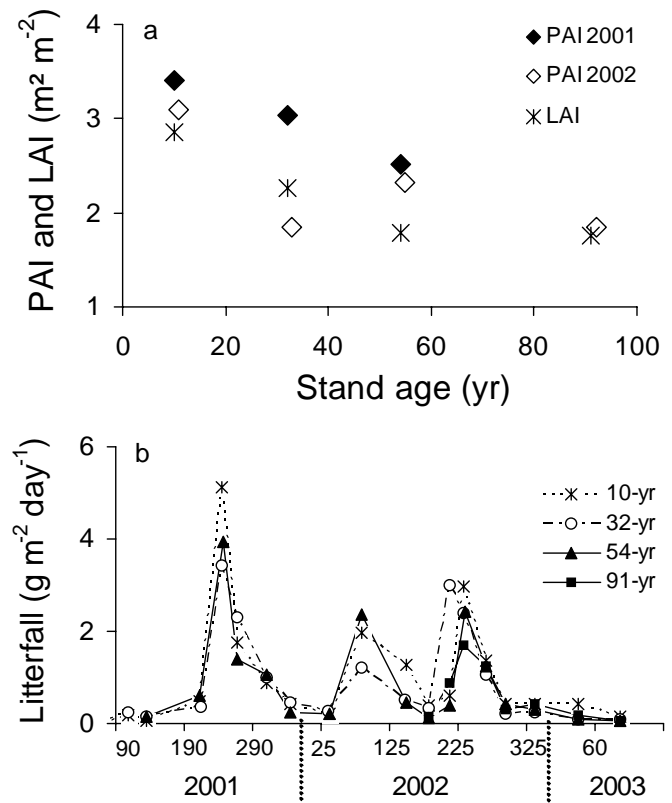


Figure 6. Annual values of the tree water use ( $E$ , mm yr<sup>-1</sup>) for each year (2001-2002) for the four stands.

### Leaf area index

Leaf area index (LAI) decreased with stand age as did plant area index (PAI) measured in summer 2001 and 2002 (Fig. 7a). It is noteworthy that PAI in 2002 was systematically lower than in 2001. Seasonal course of litterfall during both years 2001 and 2002 showed similar patterns for the five stands of the chronosequence (Fig. 7b). Furthermore, as a consequence of higher LAI, annual litterfall was higher for young stands compared to old stands (for 2002, 3.61, 3.12, 2.90 and 2.51 t ha<sup>-1</sup> yr<sup>-1</sup> for the 10-, 32-, 54- and 91-yr, respectively). However, the seasonal evolution of litterfall was different between year 2001 and 2002, showing one high peak in 2001 and two peaks in 2002. Annual litterfall increased by 16, 20 and 5.6 % in 2002 compared to 2001 for the 10-, 32- and 54-yr-old stands respectively. In 2002 for each stand, trees lost a significant quantity of needles in the early season (March), which is unusual and may be due to the precedent severe water stress occurring in September 2001 or other factors. This unusual needle mortality was observed in all sites, corresponded to reductions in LAI of 0.3,

0.46 and 0.65 for the 32-, 54- and 10-yr-old stands, respectively, and was corroborated by inter-annual differences in PAI.



**Figure 7.** (a)- Relationship between plant and leaf area index (PAI and LAI) and stand age across the chronosequence. (b)- Seasonal course of litterfall in the four stands of the chronosequence. PAI (m<sup>2</sup><sub>plant</sub> m<sup>-2</sup><sub>ground</sub>) was estimated from measurements of total light interception using an optical method (DEMON) and LAI (m<sup>2</sup><sub>leaf</sub> m<sup>-2</sup><sub>ground</sub>) =  $A_L$  \* stand density (tree m<sup>-2</sup><sub>ground</sub>) / 2.

## Transpiration per unit leaf area

We observed also a significant decrease in transpiration per unit leaf area,  $E_L$ , with stand age classes,  $E_L$  being systematically lower for old stands (Fig. 8a). Differences between ages were greater at high transpiration rates. Values of  $E_L$  reached a plateau at lower rates for older stands,  $0.08 \text{ kg m}^{-2} \text{ day}^{-1}$  and  $0.05 \text{ kg m}^{-2} \text{ day}^{-1}$  at 32 and 54-yr respectively versus  $0.12 \text{ kg m}^{-2} \text{ day}^{-1}$  in the 10-yr old stand. Not surprisingly, differences of  $E_L$  between stand age classes were lower in 2002 under conditions of greater soil water stress (Fig. 8b).

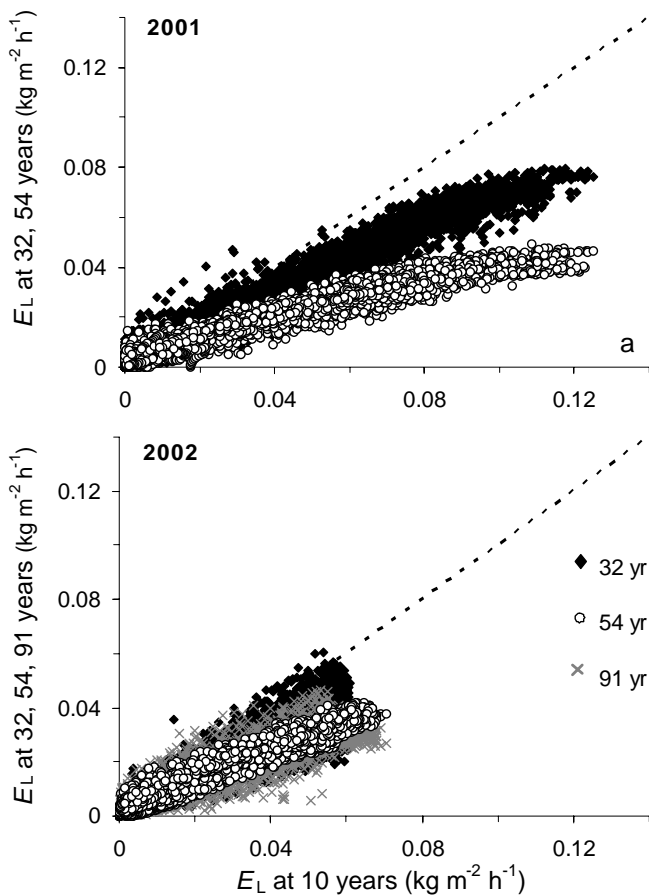


Figure 8. Transpiration per unit leaf area,  $E_L$ , in the 32-, 54- and 91-yr-old stands versus transpiration in the 10 year-old stand under non limited soil water stress ( $\theta > 100 \text{ kg m}^{-3}$ ) in 2001 (a) and 2002 (b).

## Discussion

### Evidence of stand water use decline with age

Our study showed that maritime pine stands of different age had a similar seasonal course of water use. Transpiration rates were slightly lower than those found for a 18-yr-old maritime pine stand ( $E_{\max} = 3.9 \text{ mm day}^{-1}$ ) (Loustau et al. 1990) and for a 64-yr old maritime pine stand in Portugal, where values reached  $2.6 \text{ mm day}^{-1}$ , compared to  $1.1$  for the 54-yr-old stand in the present study



(Loustau et al. 1996). Apart from differences in root depth and soil characteristics, this may be explained by the fact that no correction for radial profile of sap flow was taken into account in these two studies. This may have led to overestimation of whole-tree transpiration, especially in older stands.

Our study evidenced a significant decrease in stand transpiration with age and it is unlikely that the minor differences observed in climatic conditions can explain this pattern. The stand leaf area index decreased markedly with age and thus contributed to the transpiration decrease with stand development. At the extreme, annual water use of the 54 year-old stand ( $144 \text{ mm yr}^{-1}$ ) was about 70 % smaller than that of the younger stand ( $508 \text{ mm yr}^{-1}$ ) in 2001. Declines in stand water use with age have been observed in other species such as *Picea abies* where it decreased by about 40% between 40- and 140-yr-old stands (Alsheimer et al. 1998; Köstner 2001). Vertessy et al. (2001) reported annual transpiration values for 15- and 240-yr-old *Eucalyptus regnans* stands of 733- and 249  $\text{mm yr}^{-1}$ , respectively (66 % decrease). Dunn and Connor (1993) observed a gradual decrease in transpiration with stand development, from  $679 \text{ mm yr}^{-1}$  at age 50 years to  $296 \text{ mm yr}^{-1}$  at age 230 years (56 % decrease) for this species and Roberts et al. (2001) observed the same trend for *Eucalyptus sieberi*. In contrast, transpiration of Siberian *Pinus sylvestris* forests increased between 28- and 64-yr-old stands before declining in older stands (Zimmermann et al. 2000), and no decline was found for *Pinus ponderosa* with increasing age (Irvine et al. 2002). However, in this last study, no difference in transpiration was found between 14- and 250-yr-old stands due to higher LAI at the old stand ( $2.1 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2}$ ) than at the young stand ( $1.0 \text{ m}^2 \text{ m}^{-2}$ ).

### **Tree size-related effect on stand water balance**

The observed age-related decline in stand transpiration can be explained by the fact that old and tall trees (54 and 91 year-old stand) had lower overall rates of transpiration per unit leaf area than young and small trees (10 and 32 yr-old). This is because tall trees have to transport water 20 m height over small trees, increasing hydraulic constraints (decreasing leaf-specific hydraulic conductance). To maintain functional water transport, homeostasis of needle water potential occurs, via stomatal closure and so transpiration decreases as reported previously (Delzon et al. 2004a). So transpiration by small and tall maritime pine trees via stomatal behaviour has an important impact on the water balance of stands of different age. A similar decrease in transpiration per unit of leaf area has been observed in various species with increasing tree height and may explain part of the decline in stand water use observed for European beech (Schafer et al. 2000), Ponderosa pine (Hubbard et al. 1999; Ryan et al. 2000) and Norway spruce (Alsheimer et al. 1998; Köstner 2001;

Köstner et al. 2002). Roberts et al. (2001) evidenced a decline for *Eucalyptus sieberi* stands, with water use per unit of leaf area of 0.71, 0.36 and 0.22 mm m<sup>-2</sup> day<sup>-1</sup> for 14, 45 and 160 yr old trees, respectively.

### **Relative role of factors inducing stand water use decline**

With regards to the relative role of changes in transpiration per unit leaf area (via decreased stomatal conductance) and in stand leaf area with forest age, we expressed transpiration both per unit ground and leaf area and LAI of each stand relative to the values in the 10 year-old stand. We calculated this ratio for each stand under homogeneous conditions of soil water availability between stands (year 2001). Ratios of 32 and 54 to 10 year-old transpiration per leaf area were equal to 0.73 and 0.45 respectively, whereas the respective ratios of transpiration per ground area were 0.58 and 0.28 and the LAI ratios were 0.79 and 0.62. At the extreme, our measurements indicate that  $E_L$  and LAI decreased by 55% and 38%, respectively, from the 10 to 54 year-old stands. In conclusion, the decrease in leaf area index with increasing stand age alone did not explain the decrease in stand water use. The decrease in transpiration per leaf area (via stomatal closure) as tree grows taller was even an more important factor explaining the decline in water use. Law et al. (2001) found different results on Ponderosa pine, concluding that LAI differences were the most likely factor influencing changes in ecosystem water loss.

### **Drought impact on transpiration of different stand ages**

We investigated first the possible causes of the between-year variations in transpiration, water use remaining at low values in all stands during 2002. These differences between years seemed to be caused by two factors. Indeed, in spring 2002, before  $\theta$  reached the threshold value of 0.85 kg m<sup>-2</sup>, it is unlikely that the soil water deficit restricted transpiration compared to 2001 and so the decline may be attributed to the drop in LAI. Later in 2002 (late spring and summer) the lower soil water content may contribute further to the inter-annual difference in transpiration.

In all stands, drought induced a significant reduction in tree leaf area, and thus limited transpiration. Declines in LAI may minimize the impact of drought on stomatal conductance. Lower transpiration rates, which accompany reductions in leaf area, should reduce the drought effect, allowing stomata to remain partially open while maintaining water potentials at a safe margin above critical values (Sperry et al. 1998). The low transpiration per unit of leaf area due to stomatal closure occurring under drought (Fig. 5) also contributed to transpiration's decline. So, under our

experimental conditions, soil drought played a major role on the water balance in maritime pine stands via both a dramatic needle-fall and a lower transpiration per leaf area (i.e. lower stomatal conductance). Therefore it is necessary to take into account intra-annual variability in leaf area index to model water and carbon fluxes.

To understand if drought has similar impact on stand water use of different ages, we compared only the 10- and 54-yr old stands where sap flow was monitored throughout the two years. We excluded the 32 year-old stand from the analysis because of the extreme soil water deficit which occurred at this stand and induced a steeper decrease in water use between 2001 and 2002 compared to the others stands. Indeed, transpiration rates remained at the same values as those of the two older stands during spring-summer (Fig. 4) and annual  $E$  declining by 40% in 2002 (Fig. 5). Our results show that transpiration in the 54-yr-old stand decreased less as a result of drought than in the younger stand, i.e. soil water stress had a greater impact on the rate of transpiration in the younger stand. Three hypotheses may explain this behaviour; (i) the stomata of young trees are more sensitive to drought than those of old trees (Oren et al. 1999b) (ii) leaf area of young trees is more affected by drought than that of old trees (iii) a hydraulic lift can occur limiting soil water deficit. Delzon et al. (2004a) demonstrated that stomatal closure was steeper for small (10 yr) than tall maritime pine trees (54 and 91 yr) with increasing water stress and so differences in transpiration per unit of leaf area between tree sizes decreases under limited soil water availability. These results support the first hypothesis. On the other hand, similar courses of soil water content during night-time and day-time between stands (data not shown) suggested that no hydraulic lift occurred (Dawson 1996). Indeed, for all tree ages, root systems extend no further than 0.8 m depth as limited by a cemented layer, so trees do not have access to ground water under drought periods. So, hypothesis 3 did not apply in our chronosequence, because trees of different age or size have the same amount of available water and hydraulic lift can not explain the lower decrease in water use under drought for old stands. Old stands have significantly lower tree density than young stands and we know that thinning has a positive effect on tree water stress (Medhurst et al. 2002) with a more pronounced needle fall in high density stands (Aussenac and Granier 1988; Cutini 1996). On the other hand, we think that cavitation risk, inducing needle fall, could be more important under water stress for tall trees (old stands) as they reach critical water potential sooner due to greater gravitational potential. However, we can not accept or reject the second hypothesis without further investigation focusing on intra-annual variations of LAI to determine whether leaf area of young trees decreases more due to higher needle loss and/or lower needle expansion in response to water stress.

### Overstory contribution to total ecosystem water loss

At the 32 year-old stand, we were able to quantify the contribution of trees to the total ecosystem evapotranspiration from simultaneous measurements of forest evapotranspiration ( $E_{TR}$ ) and overstory transpiration ( $E$ ), estimated by eddy-correlation and sap flow techniques, respectively. The water loss from the overstory accounted for approximately half of the total transpiration, overstory/ecosystem transpiration ratios being 0.55 and 0.53 for years 2001 and 2002, respectively. Similar results were found for a Siberian pine forest, where tree transpiration was also about 50% of the ecosystem water loss (Kelliher et al. 1998; Zimmermann et al. 2000).

Does the contribution of overstory transpiration to ecosystem water fluxes remain constant throughout our chronosequence? To estimate total ecosystem evaporation in all stands, we used a water balance approach, such that:

$$P_i - \Delta\theta = E_{TR} + R \quad (4)$$

where  $P_i$  is the rainfall,  $\Delta\theta$  the change in soil water storage,  $E_{TR}$  the total water loss of the ecosystem (soil evaporation plus transpiration and interception by both the overstory and the understory) and  $R$  the drainage. Values of  $E_{TR}$  were calculated for each stand as the residual of Eqn 4 only for a period of low and homogeneous soil water content (summer 2001 only) to assume negligible drainage in the root zone. Values of  $E_{TR}$  were 134, 150 and 137 mm for the 10-, 32- and 54-yr-old stands, respectively (Eddy correlation measurements at the 32 year-old stand during the same period gave similar values, water fluxes were of order 130 mm). So, no age-related change in  $E_{TR}$  was found throughout the chronosequence, even though overstory transpiration decreased significantly from 106 to 25 mm between the 10- and 54-yr-old stands at the same time, i.e. overstory contribution to the total ecosystem evapotranspiration decreased with stand age. Consequently, compensating effects of other components of  $E_{TR}$  as understory, soil evaporation should occur in the old stands. Moreover, there was some evidence in our chronosequence that the understory, constituted only of gramineous species, became an increasingly important component of the forest water balance as the forest aged. We observed an increase in understory leaf area in relation with increasing light availability as the stand aged (20% increase from 32 to 54 yr, Delzon, unpublished data). Loustau and Cochard (1991) found high understory transpiration and an important relative contribution (1/3 of stand transpiration) to total evapotranspiration for a 18-yr-old maritime pine stand. In consequence, we suggest that an increase in understory transpiration may compensate the decrease in overstory transpiration as stands become older. In coniferous forests, the understory has been found to counterbalance the decrease in stand transpiration with increasing

age for *Pinus nigra* (Mencuccini and Grace 1996) and *Picea abies* (Köstner 2001) because forest management practices induced more available energy below the stand canopy and as a consequence a higher development of understory leaf area (Kelliher et al. 1990; Whitehead et al. 1994).

## Conclusion

Our extensive measurements of sap flow evidenced a marked decline in stand transpiration with age in maritime pine forests due to decreases in both stomatal conductance and leaf area. This study showed the impact of intra-annual variation of LAI on water use and the need to understand the processes inducing needle fall. The quantification of age-related changes in overstory transpiration in this study will be very useful to better estimate regional-scale water fluxes. In addition, our findings suggest that total ecosystem water loss remains constant in aging forests due to an increase in understorey leaf area, thus boosting understorey transpiration. However, further investigation is required to quantify the contribution of each ecosystem component to the total ecosystem water loss.

**Acknowledgements** This study was funded by the EC Environment and Climate Research Programme CARBO-AGE project (contract ENV4-CT97-0577) and the public institute ADEME. We thank Paul Berbigier and Jean Marc Bonnefond for supplying Eddy correlation and weather data of the 32 year-old site. We appreciate valuable critiques of this manuscript provided by Annabel Porté and Mark Bakker. Many thanks to Frederic Bernier and Michel Sartore for their able assistance in the field.

## References

- Alsheimer M, Kostner B, Falge E, Tenhunen JD (1998) Temporal and spatial variation in transpiration of Norway spruce stands within a forested catchment of the Fichtelgebirge, Germany. *Annales des Sciences Forestières* 55: 103-123.
- Aussenac G, Granier A (1988) Effects of thinning on water stress and growth in Douglas-fir. *Canadian Journal of Forest Research* 18: 100-105.
- Berbigier P, Bonnefond JM, Loustau D, Ferreira MI, David JS, Pereira JS (1996) Transpiration of a 64-year old maritime pine stand in Portugal. 2. Evapotranspiration and canopy stomatal conductance measured by an eddy covariance technique. *Oecologia* 107: 43-52.

- Berbigier P, Bonnefond JM, Mellmann P (2001) CO<sub>2</sub> and water vapour fluxes for 2 years above Euroflux forest site. *Agricultural and Forest Meteorology* 108: 183-197.
- Chen JM, Black TA (1992) Defining leaf area index for non-flat leaves. *Plant Cell and Environment* 15: 421-429.
- Cutini A (1996) The influence of drought and thinning on leaf area index estimates from canopy transmittance method. *Annales des Sciences Forestières* 53: 595-603.
- Dawson TE (1996) Determining water use by trees and forests from isotopic, energy balance and transpiration analyses: the roles of tree size and hydraulic lift. *Tree Physiology* 16: 263-272.
- Delzon S, Sartore M, Burlett R, Dewar R, Loustau D (2004a) Hydraulic responses to height growth in maritime pine trees. *Plant, Cell & Environment* (in press).
- Delzon S, Sartore M, Granier A, Loustau D (2004b) Radial profiles of sap flow with increasing tree size in maritime pine. *Tree Physiology* (in press).
- Do F, Rocheteau A (2002a) Influence of natural temperature gradients on measurements of xylem sap flow with thermal dissipation probes. I. Field observations and possible remedies. *Tree Physiology* 22: 641-648.
- Do F, Rocheteau A (2002b) Influence of natural temperature gradients on measurements of xylem sap flow with thermal dissipation probes. II. Advantages and calibration of a noncontinuous heating system. *Tree Physiology* 22: 649-654.
- Dunn GM, Connor DJ (1993) An analysis of sap flow in mountain ash (*Eucalyptus regnans*) forests of different age. *Tree Physiology* 13: 321-336.
- Granier A (1985) A new method of sap flow measurement in tree stems. [French] Une nouvelle méthode pour la mesure du flux de sève brute dans le tronc des arbres. *Annales des Sciences Forestières* 42: 193-200.
- Granier A (1987) Sap flow measurement in Douglas fir stems using a new thermal method. *Annales des Sciences Forestières* 44: 1-14.
- Granier A, Loustau D (1994) Measuring and modelling the transpiration of a maritime pine canopy from sap-flow data. *Agricultural & Forest Meteorology* 71: 61-81.
- Granier A, Loustau D, Breda N (2000) A generic model of forest canopy conductance dependent on climate, soil water availability and leaf area index. *Annals of Forest Science* 57: 755-765.
- Hogg EH, Hurdle PA (1997) Sap flow in trembling aspen: implications for stomatal responses to vapor pressure deficit. *Tree Physiology* 17: 501-509.
- Hubbard RM, Bond BJ, Ryan MG (1999) Evidence that hydraulic conductance limits photosynthesis in old *Pinus ponderosa* trees. *Tree Physiology* 19: 165-172.

- Irvine J, Law BE, Anthoni PM, Meinzer FC (2002) Water limitations to carbon exchange in old-growth and young ponderosa pine stands. *Tree Physiology* 22: 189-196.
- Kelliher FM, Leuning R, Schulze ED (1993) Evaporation and canopy characteristics of coniferous forests and grasslands. *Oecologia* 95: 153-163.
- Kelliher FM et al. (1998) Evaporation from a central Siberian pine forest. *Journal of Hydrology (Amsterdam)* 205: 279-96.
- Kelliher FM, Whitehead D, McAneney KJ, Judd MJ (1990) Partitioning evapotranspiration into tree and understorey components in two young *Pinus radiata* D. Don stands. *Agricultural and Forest Meteorology* 50: 211-227.
- Köstner B (2001) Evaporation and transpiration from forest in Central Europe - relevance of patch-level studies for spatial scaling. *Meteorology and Atmospheric Physics* 76: 69-82.
- Köstner B, Falge E, Tenhunen JD (2002) Age-related effects on leaf area/sapwood area relationships, canopy transpiration and carbon gain of Norway spruce stands (*Picea abies*) in the Fichtelgebirge, Germany. *Tree Physiology* 22: 567-574.
- Kowalski S, Sartore M, Burlett R, Berbigier P, Loustau D (2003) The annual carbon budget of a French pine forest (*Pinus pinaster*) following harvest. *Global Change Biology* 9: 1051-1065.
- Law BE et al. (2001) Carbon dioxide and water vapor exchange by young and old ponderosa pine ecosystems during a dry summer. *Tree Physiology* 21: 299-308.
- Law BE, Sun OJ, Campbell J, Tuyl Sv, Thornton PE (2003) Changes in carbon storage and fluxes in a chronosequence of ponderosa pine. *Global Change Biology* 9: 510-524.
- Loustau D et al. (1996) Transpiration of a 64-year-old maritime pine stand in Portugal. 1. Seasonal course of water flux through maritime pine. *Oecologia* 107: 33-42.
- Loustau D, Cochard H (1991) Use of a portable transpiration chamber for estimating evapotranspiration in the *Molinia caerulea* understorey of a maritime pine stand. [French] Utilisation d'une chambre de transpiration portable pour l'estimation de l'évapotranspiration d'un sous-bois de pin maritime à molinie (*Molinia caerulea* (L) Moench). *Annales des Sciences Forestières* 48: 29-45.
- Loustau D, Domec JC, Bosc A (1998) Interpreting the variations in xylem sap flux density within the trunk of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.): application of a model for calculating water flows at tree and stand levels. *Annales des Sciences Forestières* 55: 29-46.
- Loustau D, Granier A, El-Hadj Moussa F (1990) Seasonal variations in sap flow in a maritime pine stand. [French] Evolution saisonnière du flux de sève dans un peuplement de pins maritimes. *Annales des Sciences Forestières* 47: 599-618.

- Lundblad M, Lagergren F, Lindroth A (2001) Evaluation of heat balance and heat dissipation methods for sapflow measurements in pine and spruce. *Annals of Forest Science* 58: 625-638.
- Medhurst JL, Battaglia M, Beadle CL (2002) Measured and predicted changes in tree and stand water use following high-intensity thinning of an 8-year-old *Eucalyptus nitens* plantation. *Tree Physiology* 22: 775-784.
- Mencuccini M, Grace J (1996) Hydraulic conductance, light interception and needle nutrient concentration in Scots pine stands and their relations with net primary productivity. *Tree Physiology* 16: 459-468.
- Oren R, Phillips N, Ewers BE, Pataki DE, Megonigal JP (1999a) Sap-flux-scaled transpiration responses to light, vapor pressure deficit, and leaf area reduction in a flooded *Taxodium distichum* forest. *Tree Physiology* 19: 337-347.
- Oren R et al. (1999b) Survey and synthesis of intra- and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. *Plant, Cell & Environment* 22: 1515-1526.
- Roberts S, Vertessy R, Grayson R (2001) Transpiration from *Eucalyptus sieberi* (L. Johnson) forests of different age. *Forest Ecology and Management* 143: 153-161.
- Ryan MG, Binkley D, Fownes JH, Giardina CP, Senock RS (2004) An experimental test of the causes of forest growth decline with stand age. *Ecological Monographs* (in press).
- Ryan MG et al. (2000) Transpiration and whole-tree conductance in ponderosa pine trees of different heights. *Oecologia* 124: 553-560.
- Ryan MG, Yoder BJ (1997) Hydraulic limits to tree height and tree growth: what keeps trees from growing beyond a certain height. *Bioscience* 47: 235-242.
- Schafer KVR, Oren R, Tenhunen JD (2000) The effect of tree height on crown level stomatal conductance. *Plant, Cell and Environment* 23: 365-375.
- Sperry JS, Adler FR, Campbell GS, Comstock JP (1998) Limitation of plant water use by rhizosphere and xylem conductance: results from a model. *Plant, Cell & Environment* 21: 347-359.
- Vertessy RA, Benyon RG, O'Sullivan SK, Gribben PR (1995) Relationship between stem diameter, sapwood area, leaf area and transpiration in a young mountain ash forest. *Tree Physiology* 15: 559-568.
- Vertessy RA, Watson FGR, O'Sullivan SK (2001) Factors determining relations between stand age and catchment water balance in mountain ash forests. *Forest Ecology and Management* 143: 13-26.



- Whitehead D, Kelliher FM, Lane PM, Pollock DS (1994) Seasonal partitioning of evaporation between trees and understorey in a widely spaced *Pinus radiata* stand. *Journal of Applied Ecology* 31: 528-542.
- Yoder BJ, Ryan MG, Waring RH, Schoettle AW, Kaufmann MR (1994) Evidence of reduced photosynthetic rates in old trees. *Forest Science* 40: 513-527.
- Zimmermann R et al. (2000) Canopy transpiration in a chronosequence of Central Siberian pine forests. *Global Change Biology* 6: 25-37.



## CHAPITRE 5

---

Medlyn, B. E., Loustau D. & Delzon S. (2002) - Temperature response of parameters of a biochemically based model of photosynthesis. I. Seasonal changes in mature maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.).

Plant, Cell & Environment 25(9): 1155-1165.



# Temperature response of parameters of a biochemically based model of photosynthesis. I. Seasonal changes in mature maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.)

B. E. MEDLYN<sup>1,2,\*</sup>, D. LOUSTAU<sup>1</sup> & S. DELZON<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'Ecophysiologie et Nutrition, Station de Recherches Forestières, INRA Pierroton, Gazinet Cedex 33611, France and <sup>2</sup>School of Biological, Earth and Environmental Science, University of New South Wales, UNSW Sydney 2052, Australia

## ABSTRACT

Responses of plant processes to temperature may vary according to the time scale on which they are measured. In this study, both short-term and seasonal responses of photosynthesis to temperature were examined. A field study of seasonal changes in the temperature response of photosynthesis was conducted on two provenances, French and Moroccan, of mature maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.). Measurements were made every 2 months over a 1-year period and used to parameterize a mechanistic model of photosynthesis. Temperature responses of maximum Rubisco activity,  $V_{\text{cmax}}$ , and potential electron transport rate,  $J_{\text{max}}$ , were obtained for each measurement period, as was the response of stomatal conductance,  $g_s$ , to water vapour pressure deficit (VPD). Absolute values of  $V_{\text{cmax}}$  and  $J_{\text{max}}$  at 25 °C were related to needle nitrogen content,  $N_{\text{area}}$ ,  $N_{\text{area}}$ , and thus  $V_{\text{cmax}}$  and  $J_{\text{max}}$ , were negatively correlated with the mean minimum temperature in the month preceding measurements. The ratio of  $J_{\text{max}} : V_{\text{cmax}}$  at 25 °C varied between 1 and 1.7 but did not show any seasonal trend. Nor was there any seasonal trend in the relative temperature response of  $V_{\text{cmax}}$ , which had an activation energy  $H_a$  of approximately 57 kJ mol<sup>-1</sup> throughout the experiment. The activation energy of  $J_{\text{max}}$  was also close to constant throughout the experiment, averaging 39 kJ mol<sup>-1</sup>. For the French provenance, the optimal temperature of  $J_{\text{max}}$  was positively correlated with the maximum temperature of the previous day, but no such correlation was found for the Moroccan provenance. The response of  $g_s$  to VPD also varied seasonally, with much stronger stomatal closure in winter months. Taken together, these results implied a translational shift downwards of the photosynthetic temperature response curve with increasing  $T_{\text{prev}}$ , and a shift in the temperature optimum of photosynthesis of 5–10 °C between summer and winter. These results illustrate that the short-term temperature response of photosynthesis varies significantly on a seasonal basis.

**Key-words:** acclimation; maritime pine; model parameters; photosynthesis; ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase; ribulose-1,5-bisphosphate regeneration; stomatal conductance; temperature.

## INTRODUCTION

With the predicted greenhouse-induced rise in global surface temperature possibly already under way (IPCC 2001), the effects of increasing temperature on plant growth and ecosystem function have become a major area of concern (e.g. Gunderson, Norby & Wullschlegel 2000; Rustad *et al.* 2001). Temperature effects on individual plant processes have been extensively studied (e.g. Long & Woodward 1988). The results of these individual-process studies may be integrated using process-based computer models to predict effects of increasing temperature on overall forest ecosystem function (e.g. McMurtrie & Wang 1993; Kellomäki, Vaisanen & Kolstrom 1997; Grant & Nalder 2000; Medlyn *et al.* 2000). For most such models, photosynthesis is the driving process, being the mechanism by which plants take up carbon and thus a key determinant of the rate of plant growth. Photosynthetic response to temperature is therefore an important part of the models.

Unfortunately, many current models of the response of plant growth to temperature effectively ignore much of what is known about effects of temperature on photosynthesis. This odd state of affairs arises because many models use the biochemically based photosynthesis model of Farquhar, von Caemmerer & Berry (1980), a mechanistic model that can realistically describe photosynthetic responses to environmental variables. However, this model is not straightforward to parameterize, and there have been very few studies that have fully parameterized the temperature responses of the model (Leuning 1997). Hence, although it is well-known that photosynthetic temperature responses can (a) change in response to environmental conditions and (b) differ among species (Berry & Björkman 1980), the lack of parameters means that these differences are commonly overlooked in modelling studies. In this work we aimed to rectify this problem by studying seasonal variation of the temperature dependence of model param-

Correspondence: Belinda E. Medlyn, School of Biological, Earth and Environmental Science, University of New South Wales, UNSW Sydney 2052, Australia. Fax: +61 (0)29385 1558; e-mail: B.Medlyn@unsw.edu.au

eters. The study was carried out on mature maritime pine trees growing near Bordeaux, SW France. Several other studies have shown seasonal shifts in the photosynthetic temperature response in field-grown evergreen species (Strain, Higginbotham & Mulroy 1976; Slatyer & Morrow 1977; Guehl 1985), so we anticipated a similar seasonal shift in mature maritime pine. In the companion article (Medlyn *et al.* 2002) these results are included in a review of existing experimental data, which addresses the problem of species differences in the temperature dependence of model parameters.

Our primary aim was to quantify the seasonal variation in parameters of the Farquhar *et al.* (1980) photosynthesis model. A second aim was to use these parameters to identify the processes driving any seasonal variation in the temperature response of photosynthesis. Several alternative hypotheses have been proposed for the mechanisms causing changes in this temperature response. The Farquhar *et al.* (1980) model is mechanistic, i.e. it describes explicitly the biochemical processes in the leaf. Alternative hypotheses can thus be framed in terms of the model, and model parameters used to test these hypotheses.

Hypotheses proposed for the seasonal variation in the photosynthetic temperature response are generally couched in terms of acclimation to temperature: that the temperature response shifts to reflect the ambient seasonal temperature (e.g. Strain *et al.* 1976; Slatyer & Morrow 1977; Battaglia, Beadle & Loughhead 1996). Other factors could potentially influence the seasonal variation, such as changes in incident radiation or foliar phenology, but for consistency with previous reports we focus here on mechanisms related to temperature acclimation. Berry & Björkman (1980), in their review of the temperature dependence of photosynthesis, suggested that acclimation to cold and warm temperatures involved different mechanisms. At low temperatures, the activity of temperature-limited enzymes such as ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase (Rubisco) and Fru-P2 phosphatase may limit photosynthesis (Berry & Björkman 1980), so acclimation to low temperature may involve an increase in the capacity of these enzymes. At high temperature, by contrast, acclimation may involve changes in the heat stability of the electron transport apparatus (Armond, Schreiber & Björkman 1978). Acclimation of the response of stomatal conductance to temperature would also affect photosynthesis through changes in intercellular CO<sub>2</sub> concentration. An alternative hypothesis was proposed by Hikosaka (1997), who suggested that acclimatory responses represent an optimal allocation of nitrogen such that the two major limiting process to photosynthesis, Rubisco activity and ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP) regeneration, are colimiting at the growth temperature. A further hypothesis, put forward by Makino, Nakano & Mae (1994), is that the cell-wall conductance to CO<sub>2</sub> increases with growth temperature.

These hypotheses can be framed in terms of the Farquhar *et al.* (1980) model of photosynthesis as follows. The model calculates the photosynthetic rate as the minimum of two possible limitations, Rubisco activity (represented by

the parameter  $V_{\text{cmax}}$ ) and electron transport or RuBP regeneration (represented by the parameter  $J_{\text{max}}$ ). Both limitations depend on the intercellular CO<sub>2</sub> concentration, which is determined by stomatal conductance,  $g_s$ . Both parameters  $J_{\text{max}}$  and  $V_{\text{cmax}}$  are generally strongly correlated with foliar nitrogen content (e.g. Field 1983). Thus, acclimation to low temperature by an increase in enzyme capacity would be evidenced by an increase in the absolute value, but not the relative temperature response, of Rubisco activity  $V_{\text{cmax}}$ . Acclimation to high temperature involving a change in the thermal stability of the electron transport machinery would be indicated by a change in the temperature response, and particularly the temperature optimum of the potential electron transport rate  $J_{\text{max}}$ . If acclimation of stomatal conductance occurred, a change in the temperature dependence of  $g_s$  but not that of  $V_{\text{cmax}}$  or  $J_{\text{max}}$ , would be seen. If Hikosaka's (1997) proposal that acclimation involved a shift in the balance between Rubisco activity and electron transport were true, one would expect to see a change in the ratio of  $J_{\text{max}}$  to  $V_{\text{cmax}}$ . Finally, because an increase in cell wall conductance would result in an increase in the rate of CO<sub>2</sub>-limited photosynthesis for no increased investment in Rubisco, the hypothesis of Makino *et al.* (1994) could be evidenced by a change in the rate of Rubisco activity (and hence,  $V_{\text{cmax}}$ ) per unit leaf nitrogen content.

We fitted the Farquhar *et al.* (1980) model to photosynthetic measurements made every 2 months over the course of a year, and used the above outline to investigate each of the above hypotheses of the mechanism of seasonal variation in the photosynthetic temperature response. We studied two provenances, one local and one from Morocco. In line with the idea that species that are exposed to the widest range of growth conditions in their native environment acclimate most strongly to changes in environmental conditions (Berry & Björkman 1980), we predicted that the Moroccan provenance would show more seasonal variation in the temperature response than the local provenance.

## MATERIALS AND METHODS

### Site

The study was carried out on mature maritime pine trees (*Pinus pinaster* Ait.) growing near Bordeaux, south-west France (56°37' N, 3°38' E). Measurements were made approximately every 2 months between July 1999 and October 2000. Details of measurements are given in Table 1. Measurements commenced in 'Le Pavillon', a stand of 29-year-old trees. Unfortunately, this stand was destroyed in the December 1999 windstorm, so measurements were continued in a neighbouring stand 'St Albans' of 18-year-old trees. Both sites are flat and have a sandy, well-drained substrate. Both stands were genetic trials. The first stand was established to study the phenotypical expression of various characters (Guyon & Kremer 1982), whereas the second consists of hybrid trees resulting from

Measurement	Date	$T_{av30}$ (°C)	Stand	Needle age (months)
July 1999	29/6–8/7/99	18.3	Pavillon	9
September 1999	24/8–1/9/99	21.0	Pavillon	11
November 1999	16/11–25/11/99	13.6	Pavillon	2
January 2000	25/1–1/2/00	6.7	St Albans	4
March 2000	27/3–3/4/00	10.1	St Albans	6
June 2000	7/6–14/6/00	18.9	St Albans	8
October 2000	17/10–26/10/00	13.3	St Albans	0.5

**Table 1.** Details of measurements made.  $T_{av30}$  is the mean temperature in the 30 d prior to measurements

the first, established with the aim of comparing the performances of the hybrids (Harfouche & Kremer 2000). Only non-hybridized trees were used for this study. The two stands had similar leaf area indices of 2–3 m<sup>2</sup> m<sup>-2</sup> (B.E.M., personal observation) and comparable needle nitrogen concentrations (see later).

The two provenances chosen for study were Landes, originating locally, and Tamjout, originating in the mountains of Morocco. The local climate has mean winter minimum temperatures of 1 °C, with regular frosts, and mean summer maxima of 25 °C, with extremes up to 38 °C. The climate in the region of origin of the Moroccan provenance is drier, with similar winter temperatures, but higher summer temperatures.

### Gas exchange measurements

At each measurement date, branches were taken from three trees of each of the two provenances. All trees used were in the interior of the stand. Branches with a southerly orientation were cut from the third whorl just after sunrise, and were brought back to the laboratory to be re-cut under water. One branch was taken each day; the measurement period thus lasted up to 10 d. Measurements were made on needles from the youngest fully expanded age class at each time point. Needle expansion is completed at the end of September (Bosc 1999) so that October measurements were made on newly expanded needles, whereas the August measurements were made on needles that were almost one year old.

Measurements were made with an open path gas analyser (Walz Compact Minicuvette system; Walz, Effeltrich, Germany). Six needles (three fascicles) were placed across the measurement cuvette. Measurements were made at five temperature/dewpoint combinations as follows: 15/1, 20/10, 25/14, 30/17, 35/20 °C. Measurements were made in random order. It would have been desirable to maintain a constant vapour pressure deficit (VPD) across temperatures, but this was not possible owing to the problem of condensation at high temperatures. Variations in VPD were minimized by regulating the temperature of the laboratory between approximately 15 and 25 °C in order to avoid condensation.

At each temperature, photosynthesis was measured at the following CO<sub>2</sub> concentrations: 1500, 1100, 350, 200, 100, 50, 0 μmol mol<sup>-1</sup>. On changing temperature, between 30 and

60 min were required for the system to equilibrate. During this time the CO<sub>2</sub> concentration was maintained at 350 μmol mol<sup>-1</sup> to avoid stomatal closure. During measurements, the needles were illuminated from both sides with light sources (Fiber illuminator FL-400, Special Fiberoptics 400-F; Walz, Germany) providing 1400 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Needle temperature was measured with a thermocouple held against the needle with wire. A typical set of  $A-C_i$  curves thus obtained is shown in Fig. 1.

After completion of the measurements, the measured needles were removed. Needle length ( $l$ ) and diameter ( $d$ ) were measured in order to estimate the total photosynthetic surface area, calculated as  $(1 + \pi/2)ld$ . Note that all rates given in this paper are expressed per unit total needle area because, with bidirectional illumination, all needle surfaces were light-saturated. One needle from each fascicle was frozen and later assayed for chlorophyll  $a$  and  $b$  content, determined colorimetrically using a spectrophotometer (Inskeep & Bloom 1985). The second needle from each fascicle was dried at 70 °C for 72 h, mineralized with hot sulphuric acid and assayed colorimetrically for concentrations of N and P using the Technicon auto-analyser (O'Neill & Webb 1970).

### Theory

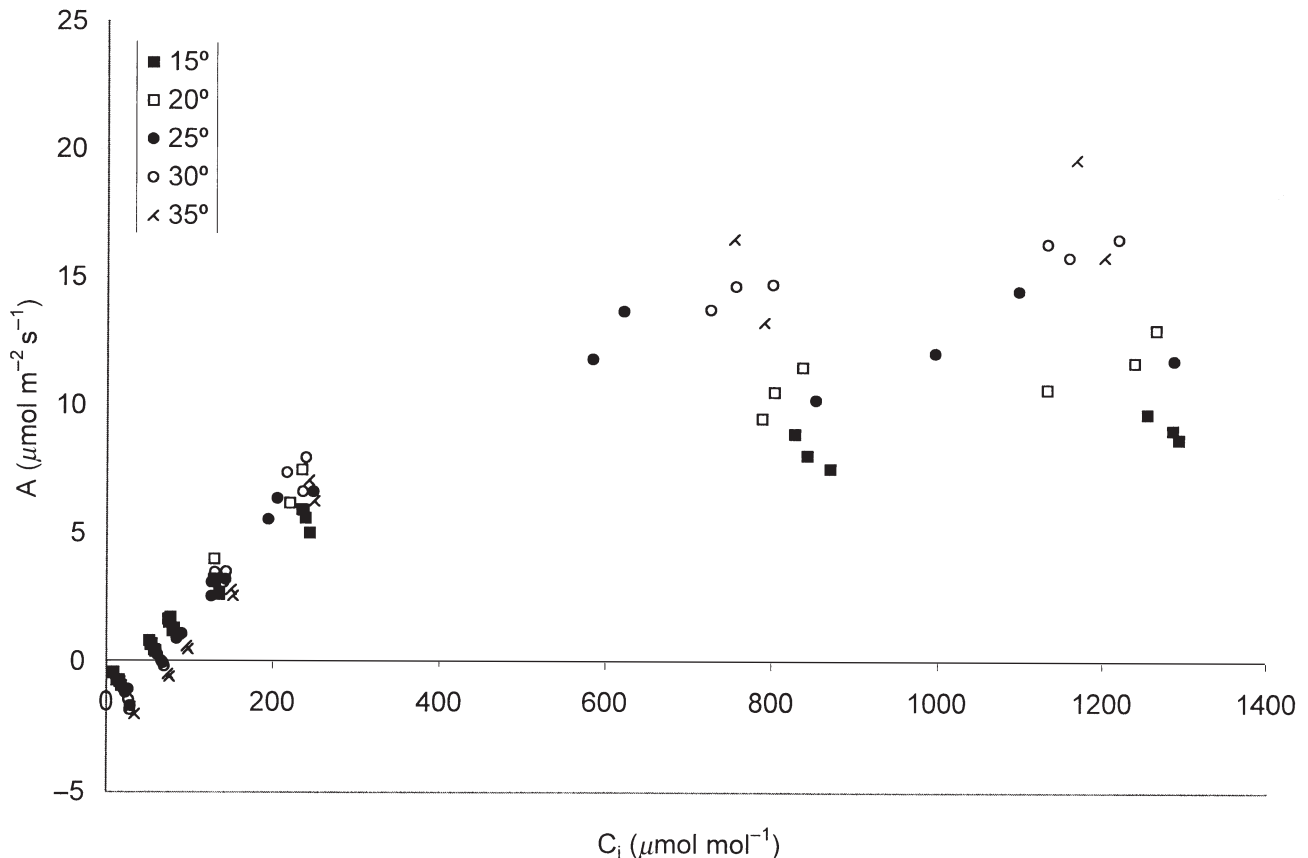
Data were fitted to the Farquhar *et al.* (1980) model as described in the companion paper (Medlyn *et al.* 2002), giving responses of the model parameters  $J_{max}$  and  $V_{cmax}$  to leaf temperature. The temperature response of  $V_{cmax}$  was fitted using an Arrhenius equation:

$$V_{cmax}(T_k) = V_{cmax}(25) \exp\left[\frac{E_a(T_k - 25)}{298RT_k}\right] \quad (1)$$

where  $V_{cmax}(25)$  is the value of  $V_{cmax}$  at 25 °C,  $E_a$  is the activation energy of  $V_{cmax}$ ,  $R$  is the gas constant (8.314 J mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>) and  $T_k$  is leaf temperature in K. The temperature response of  $J_{max}$  was fitted using a peaked function:

$$J_{max}(T_k) = J_{max}(T_{opt}) \frac{H_d \exp\left[\frac{H_a(T_k - T_{opt})}{(T_k RT_{opt})}\right]}{H_d - H_a \left(1 - \exp\left[\frac{H_d(T_k - T_{opt})}{(T_k RT_{opt})}\right]\right)}, \quad (2)$$

which has parameters  $J_{max}(T_{opt})$ ,  $H_a$ ,  $H_d$ , and  $T_{opt}$ . The full four-parameter equation was over-parameterized and sig-



**Figure 1.** Typical set of  $A-C_i$  curves obtained at five different temperatures from three replicate branches. Measurements made on local provenance in August 1999.

nificant values of  $H_d$  could not be obtained. Hence, following Dreyer *et al.* (2001), the parameter  $H_d$  was assumed constant and equal to  $200 \text{ kJ mol}^{-1}$ .

Additionally, changes in stomatal conductance were quantified as follows. Stomatal conductance has been shown to respond more slowly to environmental conditions than photosynthesis (Jones 1992), and time constraints meant that it was not possible to measure the true equilibrium value of  $g_s$  for each temperature. Thus, as an indicator of the equilibrium value for each temperature, we took the value of  $g_s$  obtained at the last point on each  $\text{CO}_2$  response curve. In general, stomatal conductance had stabilized by this point. For each month and for each provenance we then fitted a straight line regression to the response curve of  $g_s$  to VPD. Although temperature and VPD were highly correlated,  $g_s$  was more strongly related to VPD, as has been found elsewhere (Jones 1992).

Meteorological data were obtained from the 'Le Bray' field site (Berbigier, Bonnefond & Mellmann 2001), about 1 km distant. The mean temperature during the 30 d prior to each measurement set ( $T_{\text{av}30}$ ) was calculated and is shown in Table 1. Mean daily minimum and maximum temperatures over the 30, 14, 7, 3 and 1 d prior to each measurement were also calculated and tested as indices of growth temperature.

## RESULTS

### Leaf chemistry

In the local provenance, there was a considerable variation in needle nitrogen content ( $N_{\text{area}}$ ) over the course of the study.  $N_{\text{area}}$  increased from the time of needle expansion (October) over winter and then declined from March onwards. This pattern resulted in a negative correlation between  $N_{\text{area}}$  and several measures of ambient temperature. The strongest correlation was found with the mean minimum temperature of the 30 d prior to measurements ( $T_{\text{mn}30}$ ) (Fig. 2). In the Moroccan provenance, however, the decline in needle nitrogen content did not begin until August, resulting in a weak and non-significant correlation between  $N_{\text{area}}$  and ambient temperature. Needle nitrogen per unit mass was significantly higher in the Moroccan provenance throughout the study, but when nitrogen was expressed on a surface area basis, there was only a significant difference between provenances in June 2000 ( $P < 0.05$ , Student's *t*-test).

### Photosynthetic parameters at 25 °C

Values of the parameters  $V_{\text{cmax}}$  and  $J_{\text{max}}$  at 25 °C are given in Tables 2 and 3. There were no significant differences



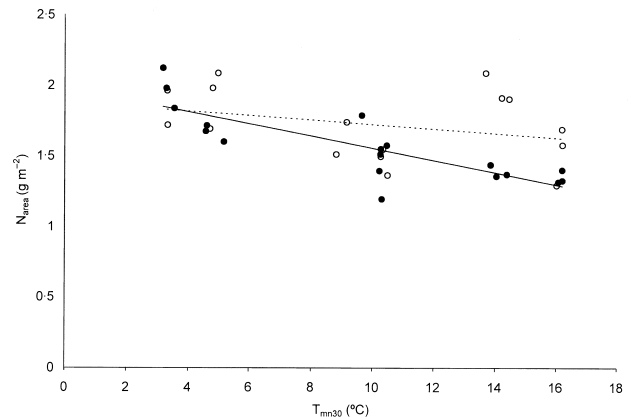
**Table 2.** Parameters of temperature response of  $V_{\text{cmax}}$  (Eqn 1). The parameter  $V_{\text{cmax}}(25)$  gives the estimated value of  $V_{\text{cmax}}$  at 25 °C, expressed per unit total needle surface area. The standard deviation of  $V_{\text{cmax}}(25)$  and the standard error of  $E_a$  are given in parentheses.  $n$  = number of data points used in regression

	$V_{\text{cmax}}(25)$ ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	$E_a$ ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )	$r^2$	$n$
<b>Local</b>				
July 1999	51.2 (9.5)	47.2 (11.2)	0.80	10
September 1999	34.7 (2.0)	62.2 (2.8)	0.99	14
November 1999	61.3 (3.8)	61.0 (4.8)	0.96	14
January 2000	60.0 (14.8)	68.2 (5.9)	0.96	16
March 2000	55.8 (8.0)	63.7 (3.0)	0.98	15
June 2000	59.9 (0.7)	48.4 (3.4)	0.96	15
October 2000	41.4 (5.7)	47.0 (5.9)	0.89	15
<b>Moroccan</b>				
July 1999	35.1 (3.9)	93.8 (15.1)	0.93	10
September 1999	39.4 (2.9)	55.5 (3.7)	0.98	13
November 1999	59.7 (3.5)	55.2 (3.0)	0.98	15
January 2000	58.5 (5.5)	54.4 (4.7)	0.95	13
March 2000	60.4 (15.7)	76.6 (4.3)	0.98	16
June 2000	78.5 (12.6)	51.6 (3.4)	0.97	15
October 2000	50.6 (7.4)	58.6 (2.2)	0.99	10

between the provenances for any month ( $P > 0.05$ , Student's  $t$ -test). Values of both  $V_{\text{cmax}}(25)$  and  $J_{\text{max}}(25)$  varied by a factor of two throughout the year. For the local provenance, both parameters were correlated with ambient temperature. The index of ambient temperature giving the strongest correlation was  $T_{\text{mn}30}$ , the mean daily minimum temperature over the 30 d prior to the measurement (Fig. 3), although strong correlations were also found with the average and mean maximum temperatures over the 30 and 3 d prior to measurement. The correlation between the parameters and ambient temperature may have been medi-

**Table 3.** Parameters of temperature response of  $J_{\text{max}}$  (Eqn 2). The parameters  $J_{\text{max}}(25)$  and  $J_{\text{max}}(T_{\text{opt}})$  give the estimated values of  $J_{\text{max}}$  at 25 °C and at the optimal temperature  $T_{\text{opt}}$ , respectively, expressed per unit total needle surface area. Standard deviations of parameters  $J_{\text{max}}(25)$  and  $J_{\text{max}}(T_{\text{opt}})$ , and standard errors of parameters  $H_a$  and  $T_{\text{opt}}$ , are given in parentheses.  $n$  = number of data points used in regression

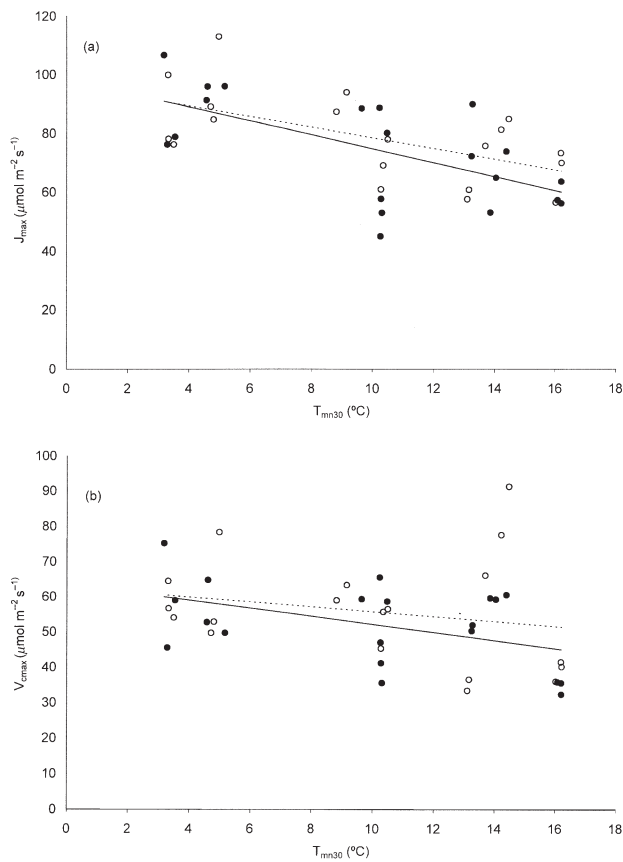
Provenance	Date	$J_{\text{max}}(25)$ ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	$J_{\text{max}}(T_{\text{opt}})$ ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	$H_a$ ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )	$T_{\text{opt}}$ (°C)	$r^2$	$n$
<b>Local</b>							
	July 1999	81.2 (12.5)	113.5 (17.5)	43.0 (29.8)	34.9 (6.5)	0.92	10
	September 1999	59.2 (4.0)	83.7 (5.6)	34.5 (9.1)	36.7 (8.5)	0.97	14
	November 1999	85.9 (4.9)	107.2 (6.1)	31.4 (16.8)	34.1 (2.6)	0.87	14
	January 2000	87.3 (16.8)	112.0 (21.6)	40.0 (6.2)	33.5 (0.4)	0.99	16
	March 2000	94.5 (2.7)	131.9 (3.7)	44.5 (18.7)	34.7 (2.6)	0.90	15
	June 2000	64.1 (10.4)	95.1 (15.5)	44.5 (17.2)	35.9 (6.4)	0.95	15
	October 2000	52.0 (6.4)	62.6 (7.7)	34.0 (17.3)	32.7 (1.5)	0.83	15
<b>Moroccan</b>							
	July 1999	59.3 (2.3)	126.5 (4.8)	56.8 (11.1)	39.8 (14.0)	1.00	10
	September 1999	66.8 (8.9)	89.8 (12.0)	32.5 (12.9)	35.9 (6.4)	0.97	13
	November 1999	86.6 (8.0)	119.3 (11.0)	34.1 (11.6)	36.2 (7.8)	0.96	15
	January 2000	84.8 (13.1)	108.3 (16.7)	35.9 (18.3)	33.9 (2.4)	0.91	13
	March 2000	95.7 (15.2)	139.5 (22.1)	51.8 (14.5)	34.6 (1.6)	0.96	16
	June 2000	80.8 (4.6)	107.3 (6.1)	39.4 (10.7)	34.3 (2.3)	0.97	15
	October 2000	65.2 (5.8)	93.4 (8.3)	40.8 (13.7)	35.8 (4.0)	0.98	10



**Figure 2.** Needle nitrogen content per unit area,  $N_{\text{area}}$ , as a function of the mean minimum temperature over the 30 d prior to measurement,  $T_{\text{mn}30}$ . Fitted regression lines are shown. Open symbols and broken line: Moroccan provenance. Closed symbols and solid line: local provenance. Equations for regression lines: Moroccan provenance:  $N_{\text{area}} = 1.91 - 0.016T_{\text{mn}30}$ ,  $r^2 = 0.10$ ,  $P > 0.1$ . Local provenance:  $N_{\text{area}} = 1.99 - 0.043T_{\text{mn}30}$ ,  $r^2 = 0.67$ ,  $P < 0.001$ .

ated by changes in nitrogen content, as both  $V_{\text{cmax}}(25)$  and  $J_{\text{max}}(25)$  were correlated with needle nitrogen (Fig. 4). The relationships between  $V_{\text{cmax}}(25)$  and  $J_{\text{max}}(25)$  and needle nitrogen content were not significantly different between the Moroccan provenance and the local provenance ( $P > 0.1$ ,  $F$ -test). However, for the Moroccan provenance, only  $J_{\text{max}}(25)$  was significantly correlated with ambient temperature (Fig. 3).

In Fig. 5, the relationships between Rubisco activity and needle nitrogen content are compared for warm and cool times of year (average temperature above or below 18°, respectively). Regression lines for the two times of year are not significantly different ( $P > 0.1$ ,  $F$ -test).



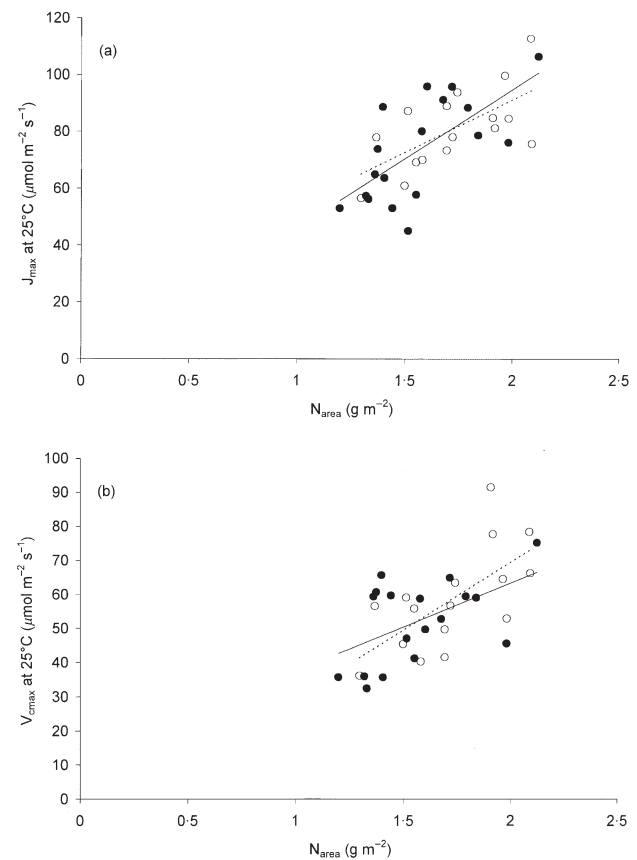
**Figure 3.** (a) The potential electron transport rate  $J_{\max}$  and (b) the maximum rate of Rubisco activity  $V_{\text{cmax}}$ , at 25 °C, as a function of the mean minimum temperature over the 30 d prior to measurement. Symbols as for Fig. 2. Equations for regression lines: local provenance:  $J_{\max} = 98.6 - 2.37T_{\text{mn}30}$ ,  $r^2 = 0.39$ ,  $P = 0.003$ ;  $V_{\text{cmax}} = 63.7 - 1.14T_{\text{mn}30}$ ,  $r^2 = 0.20$ ,  $P = 0.047$ . Moroccan provenance:  $J_{\max} = 96.8 - 1.82T_{\text{mn}30}$ ,  $r^2 = 0.34$ ,  $P = 0.009$ ;  $V_{\text{cmax}} = 62.8 - 0.69T_{\text{mn}30}$ ,  $r^2 = 0.04$ ,  $P > 0.1$ .

The ratio of the two parameters ( $J_{\max}(25):V_{\text{cmax}}(25)$ ) varied from 1 to 1.7 over the course of the experiment (Fig. 6). This variation could not be explained by ambient temperature, nitrogen content or needle age.

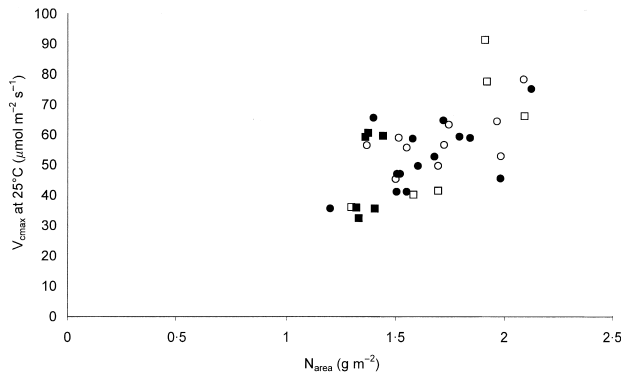
### Temperature response of $J_{\max}$ and $V_{\text{cmax}}$

For  $V_{\text{cmax}}$ , an Arrhenius relationship described the temperature response well, with model  $r^2$  ranging from 0.92 to 0.99. The estimated parameters of this response are given in Table 2. The activation energy parameter  $E_a$  ranged from 47 to 75 kJ mol<sup>-1</sup>, with similar values for both provenances. There were weak and non-significant correlations of  $E_a$  with all measures of ambient temperature ( $r^2$  ranging from 0.2 to 0.4 for the local provenance and less than 0.1 for the Moroccan provenance). This limited variability in  $E_a$  suggests that, although the absolute amount of enzyme present may have varied throughout the year, the underlying temperature response of the enzyme activity did not change.

To describe the temperature response of  $J_{\max}$ , a peaked function was necessary. The estimated parameters of the function are given in Table 3. The function explained more than 90% of variability in most measurement periods, except in November 1999 and October 2000, when the optimal temperatures appeared to differ among the newly expanded needles. As for  $V_{\text{cmax}}$ , the activation energy,  $H_a$ , did not differ between provenances. There was no seasonal trend. Values ranged from 31 to 51 kJ mol<sup>-1</sup> with an average value of 39 kJ mol<sup>-1</sup>. The optimum temperature for  $J_{\max}$ ,  $T_{\text{opt}}$ , varied between 32.7 and 39.8 °C, with no clear difference between the two provenances. For the local provenance,  $T_{\text{opt}}$  was correlated with most measures of ambient temperature; the strongest correlation was with  $T_{\text{mx}1}$ , the maximum temperature on the previous day (Fig. 7a). However, for the Moroccan provenance, there was only a weak and non-significant correlation between  $T_{\text{opt}}$  and ambient temperature (Fig. 7b). For both provenances, the slope of the regression equations was low (0.1–0.2), indicating that the optimal temperature of photosynthesis increased much more slowly than the ambient temperature.



**Figure 4.** (a) The potential electron transport rate  $J_{\max}$  and (b) the maximum rate of Rubisco activity  $V_{\text{cmax}}$ , as a function of needle nitrogen content. Symbols as for Fig. 2. Equations for regression lines: local provenance:  $J_{\max} = 48.7N_{\text{area}} - 2.5$ ,  $r^2 = 0.45$ ,  $P = 0.002$ ;  $V_{\text{cmax}} = 25.8N_{\text{area}} + 11.7$ ,  $r^2 = 0.27$ ,  $P = 0.027$ . Moroccan provenance:  $J_{\max} = 37.4N_{\text{area}} + 16.5$ ,  $r^2 = 0.43$ ,  $P = 0.006$ ;  $V_{\text{cmax}} = 40.1N_{\text{area}} - 10.6$ ,  $r^2 = 0.44$ ,  $P = 0.005$ .



**Figure 5.** The maximum rate of Rubisco activity  $V_{\text{cmax}}$  as a function of needle nitrogen content. Different symbols indicate different seasons and provenances. Open symbols: Moroccan provenance. Filled symbols: local provenance. Circles: warmer months ( $T_{\text{av}} > 18^\circ\text{C}$ ). Squares: cooler months ( $T_{\text{av}} < 18^\circ\text{C}$ ).

### Stomatal conductance

There was a clear change in the response of stomatal conductance to vapour pressure deficit over the course of the year. Table 4 shows the regression equations and correlation coefficient ( $r$ ) between  $g_s$  and VPD. In summer (July 1999 and June 2000)  $r$  is close to zero or positive, indicating no stomatal closure, whereas in winter there was a strong negative response of  $g_s$  to VPD.

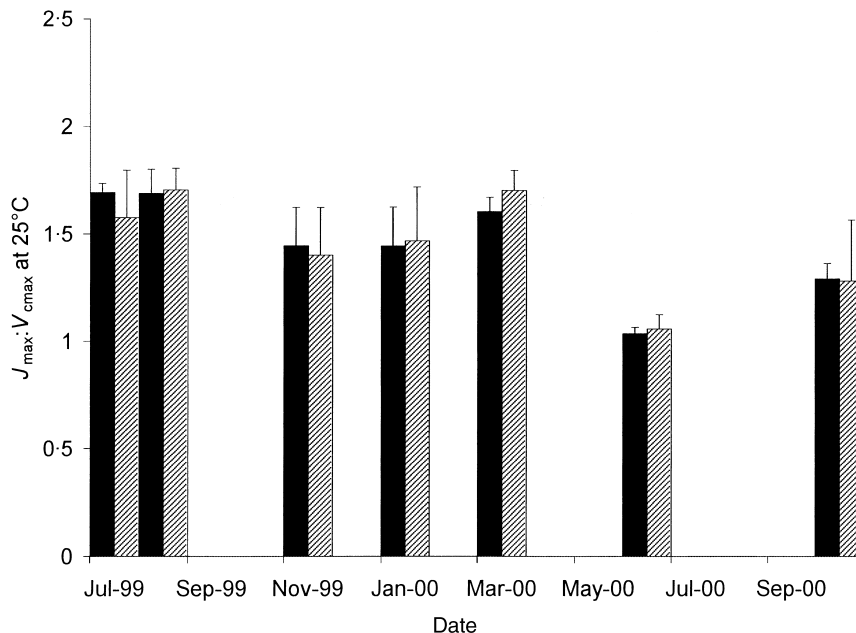
### Implied temperature response of photosynthesis

To summarize the impact on photosynthesis of all the changes described above, the Farquhar *et al.* (1980) model

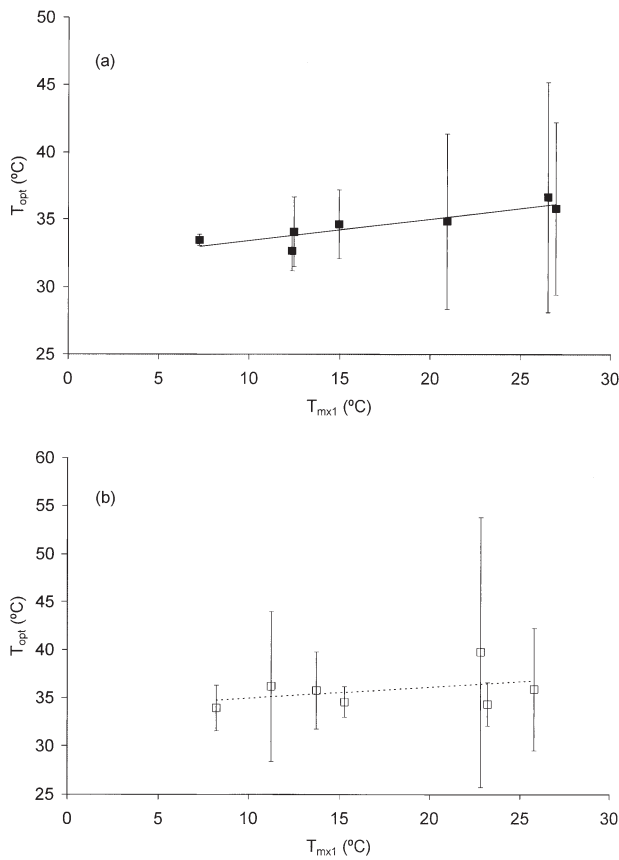
was implemented in MathCAD (MathSoft Engineering & Education, Inc., Cambridge, MA, USA), using the equations given by Medlyn *et al.* (2002) and incorporating the parameters in Tables 2–4. The model was used to generate temperature responses of needle photosynthesis at an atmospheric  $\text{CO}_2$  concentration of  $350 \mu\text{mol mol}^{-1}$ . Responses were also generated under the assumption that  $g_s$  did not vary with temperature, assuming values of 60 and  $70 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  for local and Moroccan provenances, respectively.

In both provenances, the optimal temperature of light-saturated photosynthesis (incident radiation =  $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) increased by 7–8°C between the winter and summer months. This shift in  $T_{\text{opt}}$  was caused by the altered  $g_s$  response, because modelled temperature responses with  $g_s$  held constant showed no change in  $T_{\text{opt}}$  between seasons. At light saturation, photosynthesis was limited by Rubisco activity at most temperatures, and there was no seasonal change in the optimal temperature of Rubisco-limited photosynthesis.

Modelled temperature response curves for photosynthesis at an incident radiation of  $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  ( $A_{500}$ ) are illustrated in Fig. 8. At this radiation level, photosynthesis is generally limited by RuBP-regeneration. As with the higher radiation level, the optimal temperature of photosynthesis increased between the winter and summer months in both provenances. The shift was more pronounced in the local provenance (increase in  $T_{\text{opt}}$  of 8°C) than in the Moroccan provenance (increase of 4°C). In the Moroccan provenance, the shift in  $T_{\text{opt}}$  was largely caused by the altered  $g_s$  response. In the local provenance, however, even with  $g_s$  held constant, there was an increase of 4°C in  $T_{\text{opt}}$  between winter and summer months. This increase was caused by the increase in the optimal temperature for  $J_{\text{max}}$  (Fig. 7).



**Figure 6.** Ratio of  $J_{\text{max}} : V_{\text{cmax}}$  at  $25^\circ\text{C}$  during each measurement period (geometric average). Solid bars, local provenance; striped bars, Moroccan provenance. Error bars show standard deviations.

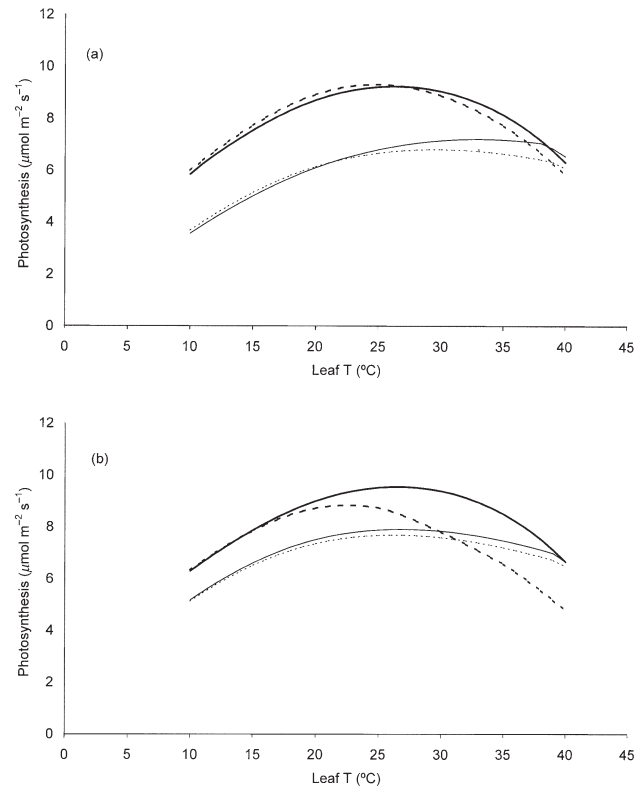


**Figure 7.** Relationship between the optimal temperature of  $J_{max}$  ( $T_{opt}$ ) and the maximum temperature on the day prior to measurement ( $T_{mx1}$ ) for (a) local provenance and (b) Moroccan provenance. Error bars show parameter standard errors. Regression equations: local provenance:  $T_{opt} = 31.8 + 0.16T_{mx1}$ ,  $r^2 = 0.79$ . Moroccan provenance:  $T_{opt} = 33.8 + 0.11T_{mx1}$ ,  $r^2 = 0.16$ .

Figure 8 also illustrates that, for any given temperature, needle photosynthesis was higher in the winter months than in summer months. This pattern was observed in both provenances.

## DISCUSSION

Many current models of forest  $CO_2$  exchange, particularly those employing the Farquhar *et al.* (1980) photosynthesis



**Figure 8.** Modelled temperature response of photosynthesis at an atmospheric  $CO_2$  concentration of  $350 \mu mol mol^{-1}$  and incident radiation of  $500 \mu mol m^{-2} s^{-1}$ . (a) Local provenance; (b) Moroccan provenance. Thin lines: August (summer); Heavy lines: January (winter). Solid lines assume measured  $g_s$  response to VPD and dashed lines assume constant  $g_s$ .

model, assume that the temperature response of photosynthesis is constant (e.g. Thornley & Cannell 1996; Williams *et al.* 1996; Kellomäki *et al.* 1997; Baldocchi & Meyers 1998; Grant & Nalder 2000; Medlyn *et al.* 2000). This study shows that this assumption is unwarranted. For two provenances of maritime pine, a clear seasonal change in the temperature response curve of photosynthesis was observed (Fig. 8). There was both a shift in temperature optimum and a translational (vertical) shift of the curve. Several changes in the underlying processes combined to bring about this seasonal variation.

One mechanism appeared to be a shift in the temperature optimum of electron transport rate (Fig. 7). Such a shift

Month	Local	$r$	Moroccan	$r$
July 1999	$g_s = 53 + 1.37D$	0.15	$g_s = 54 + 0.66D$	0.37
September 1999	$g_s = 50 + 0.88D$	0.46	$g_s = 75 + 0.11D$	0.04
November 1999	$g_s = 58 - 0.32D$	-0.28	$g_s = 70 + 0.07D$	0.08
January 2000	$g_s = 74 - 0.76D$	-0.62	$g_s = 73 - 1.23D$	-0.72
March 2000	$g_s = 82 - 0.91D$	-0.49	$g_s = 100 - 0.94D$	-0.50
June 2000	$g_s = 61 - 0.05D$	-0.05	$g_s = 73 - 0.05D$	-0.03
October 2000	$g_s = 87 - 1.39D$	-0.61	$g_s = 102 - 1.27D$	-0.53

**Table 4.** Equations between stomatal conductance ( $mmol m^{-2} s^{-1}$ ) and VPD (kPa) for each measurement month, for local and Moroccan provenances.  $r$  denotes the correlation coefficient of the equation. The stomatal conductance values used were the final points on each  $A-C_i$  curve (see text for further details)

is generally ascribed to changing heat stability of the photosynthetic apparatus and has been clearly demonstrated for desert shrubs using *in vitro* methods (Armond *et al.* 1978). The shift found here for the local provenance was not, however, statistically significant. Gas exchange measurements were not possible above 35 °C owing to stomatal closure in response to high VPD, resulting in large standard errors on the parameter  $T_{opt}$ . Other methods of measuring  $J_{max}$  that do not suffer from this problem, such as chlorophyll fluorescence (Niinemets, Oja & Kull 1999) would be required to confirm the trend identified here.

In accordance with the hypothesis that acclimation to low temperatures involves an increase in the capacity of temperature-limited enzymes such as Rubisco (Berry & Björkman 1980), we found that Rubisco activity  $V_{cmax}$  decreased significantly with increasing ambient temperature. The Rubisco activity was also strongly correlated with foliar nitrogen content, which varied with ambient temperature. It was not clear therefore whether the change in Rubisco activity was part of a process of temperature acclimation (Berry & Björkman 1980), or a phenological phenomenon, whereby nitrogen is stored in needles over winter and retranslocated over summer to build new needles. Manipulative experimental studies would be required to distinguish between phenological and acclimatory processes.

Importantly, we also found a distinct seasonal change in the stomatal response to VPD, which explained a considerable proportion of the seasonal change in photosynthetic temperature response. Many previous studies have considered only the overall response of photosynthesis, making it difficult to assess the role of stomatal conductance (Berry & Björkman 1980). However, those studies in which the contribution of stomatal conductance was calculated have generally agreed that it can be a major factor in seasonal variation (e.g. Ferrar, Slatyer & Vranjic 1989; Ellsworth 2000).

Two other proposed hypotheses related to temperature acclimation were not supported by the results of this study. Hikosaka (1997) put forward the hypothesis that temperature acclimation is a result of a re-allocation of nitrogen between electron transport and carboxylation processes in order to ensure both sets of processes are colimiting at ambient conditions. Under this hypothesis, it is predicted that the ratio of  $J_{max}$  to  $V_{cmax}$  at a given temperature should be lower for plants experiencing low temperatures. In this study, no seasonal shift in this ratio was observed. Other studies investigating acclimation to growth temperature have similarly failed to find any evidence of such a shift (Ferrar *et al.* 1989; Bunce 2000).

A change in cell-wall conductance to CO<sub>2</sub> has also been implicated in plant acclimation to ambient temperature. Makino *et al.* (1994) formulated this hypothesis after finding that CO<sub>2</sub>-limited photosynthesis per unit Rubisco varied with growth temperature. Leaf Rubisco content as a fraction of leaf nitrogen was unchanged with growth temperature. In contrast, we found in the current study that Rubisco activity (estimated from CO<sub>2</sub>-limited photosynthe-

sis) as a function of leaf nitrogen content was not affected by the ambient temperature (Fig. 5). Thus, although we did not directly measure cell-wall conductance, we find it unlikely that this conductance was involved in the seasonal changes we observed.

Differences between the two provenances were found. We had hypothesized that the Moroccan provenance, adapted to more extreme temperatures, would show more seasonal variation than the local provenance. The results of the study do not appear to support this hypothesis; smaller seasonal shifts in the photosynthetic temperature response curves were found for the Moroccan than the local provenance. It was interesting that, at most times of year, photosynthetic rates in the Moroccan provenance were higher than in the local provenance. In the Bordeaux area, growth rates of the Moroccan provenance are well below those of the local provenance. The physiological reasons for this difference are not well known but may be related to drought avoidance behaviour in the Moroccan provenance (Guyon & Kremer 1982).

The shift in the optimal temperature of photosynthesis,  $T_{opt,A}$ , observed in this study has also been observed in most other studies of seasonal temperature acclimation in field-grown evergreen trees (Neilson, Ludlow & Jarvis 1972; Strain *et al.* 1976; Slatyer & Morrow 1977; Guehl 1985; Battaglia *et al.* 1996). Some found more dramatic shifts in  $T_{opt,A}$  than that observed here (e.g. Strain *et al.* 1976) but most observed that the change in  $T_{opt,A}$  was less than the seasonal change in mean daily temperature (Battaglia *et al.* 1996). In most cases there was a good correlation between  $T_{opt,A}$  and mean daily temperature, although Neilson *et al.* (1972) found  $T_{opt,A}$  of *Picea sitchensis* in Scotland was lowest in May and highest in October. In contrast to the shift in  $T_{opt,A}$ , the translational shift in the photosynthesis–temperature response observed here does not correspond with results from other studies. Strain *et al.* (1976) and Slatyer & Morrow (1977) found that the maximal rate of photosynthesis was higher in summer than winter, in direct contrast to the current study, whereas others found no change in the maximal rate of photosynthesis (Guehl 1985; Battaglia *et al.* 1996). Here, seasonal differences in the maximal rate of photosynthesis could be explained by changes in foliar nitrogen content (Figs 2 & 4). Unfortunately, previous studies give no information on seasonal changes in foliar nutrition, making it difficult to assess why they differ from our results.

Our work differs from these previous studies in that we analysed photosynthetic temperature responses in terms of the parameters  $J_{max}$  and  $V_{cmax}$  of the Farquhar *et al.* (1980) photosynthesis model, giving insights into the mechanisms underlying photosynthetic temperature acclimation. To our knowledge, only one other study has examined seasonal changes in the temperature response of  $J_{max}$  and  $V_{cmax}$  (Ellsworth & Klimas, submitted). Their study, on *Pinus taeda*, confirms the results presented here: absolute values of  $V_{cmax}$  and  $J_{max}$  were lower in summer than winter, and the optimum temperature of  $J_{max}$  increased with ambient temperature.

## Recommendations for modelling

The study has two major implications for the modelling of the photosynthetic temperature response in forest canopy models. Firstly, it is clear that this response varies seasonally. The seasonal variation could be captured in models as follows: (i) values of  $J_{\max}$  and  $V_{\text{cmax}}$  at 25 °C should vary seasonally, either as a function of ambient temperature (Fig. 3) or of foliar nitrogen content, where seasonal values are known (Fig. 4); (ii) the temperature optimum of  $J_{\max}$  should be a function of ambient temperature (Fig. 7); (iii) the response of stomatal conductance to VPD should vary as a function of time of year (Table 4).

A second implication is that modelling of forest responses to increasing temperatures should take potential acclimation of the photosynthetic temperature response into account. Although the results of this study do not unequivocally show that temperature acclimation occurs in mature trees, because a number of other factors such as phenological development or acclimation to changes in incident radiation may have been involved, acclimation to ambient temperature is the most often proposed explanation for the observed seasonal variation in the photosynthetic temperature response (Strain *et al.* 1976; Slatyer & Morrow 1977; Battaglia *et al.* 1996). Based on this study, acclimation to temperature in field-grown trees may involve changes in values of  $J_{\max}$  and  $V_{\text{cmax}}$  at 25 °C, the optimum temperature of  $J_{\max}$ , and stomatal sensitivity to VPD. In the companion article (Medlyn *et al.* 2002) we address this question further by examining photosynthetic temperature responses from trees growing in different climates.

## ACKNOWLEDGMENTS

B.M. was supported by a postdoctoral fellowship from l'Institut National de la Recherche Agronomique. We most gratefully thank 'les écureuils', Arnaud Lardit and Laurent Salera, for the unenviable task of climbing tall trees in all weathers. We also thank Catherine Lambrot for performing the nutrient analyses and Paul Berbigier for supplying the weather data.

## REFERENCES

- Armond P.A., Schreiber U. & Björkman O. (1978) Photosynthetic acclimation to temperature in the desert shrub, *Larrea divaricata*. II. Light-harvesting efficiency and electron transport. *Plant Physiology* **61**, 411–415.
- Baldocchi D. & Meyers T. (1998) On using eco-physiological, micrometeorological and biogeochemical theory to evaluate carbon dioxide, water vapor and trace gas fluxes over vegetation: a perspective. *Agricultural and Forest Meteorology* **90**, 1–25.
- Battaglia M., Beadle C. & Loughhead S. (1996) Photosynthetic temperature responses of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus nitens*. *Tree Physiology* **16**, 81–89.
- Berbigier P., Bonnefond J. & Mellmann P. (2001) Two-year measurements of CO<sub>2</sub> and water vapour fluxes above a maritime pine forest near Bordeaux (France): the 'Le Bray' Euroflux site. *Agricultural and Forest Meteorology* **108**, 183–197.
- Berry J. & Björkman O. (1980) Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* **31**, 491–543.
- Bosc A. (1999) *Etude expérimentale du fonctionnement hydrique et carboné des organes aériens du Pin maritime (Pinus pinaster Ait.)*. PhD Thesis, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, France.
- Bunce J.A. (2000) Acclimation of photosynthesis to temperature in eight cool and warm climate herbaceous C<sub>3</sub> species: temperature dependence of parameters of a biochemical photosynthesis model. *Photosynthesis Research* **63**, 59–67.
- Dreyer E., Le Roux X., Montpied P., Daudet F.A. & Masson F. (2001) Temperature response of leaf photosynthetic capacity in seedlings from seven temperate forest tree species. *Tree Physiology* **21**, 223–232.
- Ellsworth D.S. (2000) Seasonal CO<sub>2</sub> assimilation and stomatal limitation in a *Pinus taeda* canopy. *Tree Physiology* **20**, 435–445.
- Farquhar G.D., von Caemmerer S. & Berry J.A. (1980) A biochemical model of photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation on leaves of C<sub>3</sub> species. *Planta* **149**, 78–90.
- Ferrar P.J., Slatyer R.O. & Vranjic J.A. (1989) Photosynthetic temperature acclimation in *Eucalyptus* species from diverse habitats, and a comparison with *Nerium oleander*. *Australian Journal of Plant Physiology* **16**, 199–217.
- Field C.B. (1983) Allocating leaf nitrogen for the maximization of carbon gain: leaf age as a control on the allocation program. *Oecologia* **56**, 341–347.
- Grant R.F. & Nalder I.A. (2000) Climate change effects on net carbon exchange of a boreal aspen-hazelnut forest: estimates from the ecosystem model ecosys. *Global Change Biology* **6**, 183–200.
- Guehl J.M. (1985) Comparative study of the winter photosynthetic potential of three evergreen conifers of the temperate zone (*Pseudotsuga menziesii* Mirb., *Abies alba* Mill. and *Picea excelsa* Link.). *Annales des Sciences Forestières* **42**, 23–38.
- Gunderson C.A., Norby R.J. & Wullschlegel S.D. (2000) Acclimation of photosynthesis and respiration to simulated climatic warming in northern and southern populations of *Acer saccharum*: laboratory and field evidence. *Tree Physiology* **20**, 87–95.
- Guyon J.P. & Kremer A. (1982) Phenotypic stability of height growth, daily changes in sap pressure and transpiration in maritime pine (*Pinus pinaster*). *Canadian Journal of Forest Research* **12**, 936–946.
- Harfouche A. & Kremer A. (2000) Provenance hybridization in a diallel mating scheme of maritime pine (*Pinus pinaster*). I. Means and variance components. *Canadian Journal of Forest Research* **30**, 1–9.
- Hikosaka K. (1997) Modelling optimal temperature acclimation of the photosynthetic apparatus in C<sub>3</sub> plants with respect to nitrogen use. *Annals of Botany* **80**, 721–730.
- Inskeep W.P. & Bloom P.R. (1985) Extraction coefficients of chlorophyll *a* and *b* in N-dimethylformamide and 80% acetone. *Plant Physiology* **77**, 483–485.
- IPCC (2001) *Climate Change 2001: The Scientific Basis. Intergovernmental Panel on Climate Change Working Group I Third Assessment Report*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Jones H.G. (1992) *Plants and Microclimate*, 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Kellomäki S., Vaisanen H. & Kolstrom T. (1997) Model computations on the effects of elevating temperature and atmospheric CO<sub>2</sub> on the regeneration of Scots pine at the timber line in Finland. *Climatic Change* **37**, 683–708.
- Leuning R. (1997) Scaling to a common temperature improves the

- correlation between the photosynthesis parameters  $J_{\max}$  and  $V_{\max}$ . *Journal of Experimental Botany* **48**, 345–347.
- Long S.P. & Woodward F.I. (1988) *Plants and Temperature*. Society for Experimental Biology, Cambridge, UK.
- Makino A., Nakano H. & Mae T. (1994) Effects of growth temperature on the responses of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, electron transport components, and sucrose synthesis enzymes to leaf nitrogen in rice, and their relationships to photosynthesis. *Plant Physiology* **105**, 1231–1238.
- McMurtrie R.E. & Wang Y.P. (1993) Mathematical models of the photosynthetic response of tree stands to rising CO<sub>2</sub> concentration and temperatures. *Plant, Cell and Environment* **16**, 1–13.
- Medlyn B.E., Dreyer E., Ellsworth D.S., et al. (2002) Temperature response of parameters of a biochemically-based model of photosynthesis. II. A review of experimental data. *Plant, Cell and Environment* **25**, 1167–1179.
- Medlyn B.E., McMurtrie R.E., Dewar R.C. & Jeffreys M. (2000) Soil processes dominate long-term response of net primary productivity of forests to increased temperature and atmospheric CO<sub>2</sub> concentration. *Canadian Journal of Forest Research* **30**, 873–888.
- Neilson R.E., Ludlow M.M. & Jarvis P.G. (1972) Photosynthesis in Sitka spruce (*Picea sitchensis* (Bong.) Carr.) II. Response to temperature. *Journal of Applied Ecology* **9**, 721–745.
- Niinemets U., Oja V. & Kull O. (1999) Shape of leaf photosynthetic electron transport versus temperature response curve is not constant along canopy light gradients in temperate deciduous trees. *Plant, Cell and Environment* **22**, 1497–1513.
- O'Neill J.V. & Webb R.A. (1970) Simultaneous determination of nitrogen, phosphorus and potassium in plant material by automatic methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **21**, 217–219.
- Rustad L.E., Campbell J., Marion G.M., Norby R.J., Mitchell M.J., Hartley A.E., Cornelissen J.H.C. & Gurevitch J. (2001) A meta-analysis of the response of soil respiration, net N mineralization, and aboveground plant growth to experimental ecosystem warming. *Oecologia* **126**, 543–562.
- Slatyer R.O. & Morrow P.A. (1977) Altitudinal variation in the photosynthetic characteristics of snow gum *Eucalyptus pauciflora* Sieb. ex Spreng. I. Seasonal changes under field conditions in the Snowy Mountains area of South-eastern Australia. *Australian Journal of Botany* **25**, 1–20.
- Strain B.R., Higginbotham K.O. & Mulroy J.C. (1976) Temperature preconditioning and photosynthetic capacity of *Pinus taeda* L. *Photosynthetica* **10**, 47–53.
- Thornley J.H.M. & Cannell M.G.R. (1996) Temperate forest responses to carbon dioxide, temperature and nitrogen: a model analysis. *Plant, Cell and Environment* **19**, 1331–1348.
- Williams M., Rastetter E.B., Fernandes D.N., Goulden M.L., Wofsy S.C., Shaver G.R., Melillo J.M., Munger J.W., Fan S.M. & Nadelhoffer K.J. (1996) Modelling the soil–plant–atmosphere continuum in a *Quercus–Acer* stand at Harvard forest: The regulation of stomatal conductance by light, nitrogen and soil/plant hydraulic properties. *Plant, Cell and Environment* **19**, 911–927.

Received 8 November 2001; received in revised form 28 March 2002; accepted for publication 2 April 2002





## CHAPITRE 6

---

Delzon S., Bosc A., Cantet L. & Loustau D. - Variation of the photosynthetic capacity across a chronosequence of maritime Pine correlates with needle phosphorus concentration.

Annals of Forest Science (submitted).



## Variation of photosynthetic capacity across a chronosequence of maritime Pine correlates with needle phosphorus concentration

### Abstract

We determined the changes in needle photosynthetic capacity across a chronosequence of four maritime pine stands aged 10-, 32-, 54- and 91-yr. The maximal carboxylation capacity  $V_{\text{cmax}}$ , maximal electron transport rate,  $J_{\text{max}}$ , quantum use efficiency,  $\alpha$  and respiration rate,  $R_d$ , were determined for 24 shoots collected in May 2003 from gas-exchange measured using a climate control system in the laboratory.

Leaf photosynthetic capacity as expressed by  $V_{\text{cmax}}$  at a reference temperature of 25°C was higher in the 32-yr-old stand and declined at older stands. The phosphorus concentration per unit needle area explained the between-stand differences in photosynthetic capacity whereas no relation was found with foliar nitrogen. Photosynthetic capacity was not correlated to the aboveground productivity and growth of trees in the younger stands but paralleled the decline in growth efficiency at older stands. As shown by the change observed in carbon isotope discrimination, this growth efficiency decline was accompanied by a concurrent decline in stomatal conductance, a conclusion corroborated by a companion paper investigating hydraulic and water relations changes across the same chronosequence (Delzon et al., 2004, *Plant Cell & Environment*, in press). Our results support the hypothesis that the age-related decline in forest is associated with the decline in availability of the most limiting resources, these being water and phosphorus in the maritime Pine chronosequence investigated.

*Keywords: forest aging, maximum carboxylation rate, maximum electron transport rate, carbon discrimination;*

## Introduction

In even-aged forests, growth and biomass accumulation decline after reaching a peak relatively early in a stand's life (Gower et al. 1996; Ryan et al. 1997; Ryan et al. in press). The primary cause of decrease in forest net primary production with increasing stand age is the decline in foliar photosynthesis (Bond 2000; Ryan and Yoder 1997). Both photosynthesis and stomatal conductance are reduced with tree age (Hubbard et al. 1999; Kolb and Stone 2000; Kull and Koppel 1987; Yoder et al. 1994). Reduced photosynthesis may be caused by changes in (i) diffusive limitation via decrease in stomatal conductance and internal CO<sub>2</sub> concentration and (ii) a biochemical and photochemical limitation via the RubisCO activity and photochemistry respectively. The former has been increasingly demonstrated to be linked to the decline in hydraulic transfer capacity accompanying the increase in height and architectural complexity with tree development (Bond and Ryan 2000; Ryan and Yoder 1997). Indeed, when trees grow taller, height may reduce the ability of tall trees to transport water to the top of the canopy due to a combination of factors including gravity and a longer and more ramified water path-length. Stomatal adjustment must occur therefore to maintain homeostasis of minimum needle water potential (Saliendra et al. 1995; Schafer et al. 2000) and keep the water transport away from the cavitation threshold.

In the literature, few studies of woody plants have investigated rigorously the variations in photosynthetic capacity with age and few if any studies were designed to isolate the variation caused by age from other sources of variation, such as size and environment. Well-controlled experiments to separate these effects are needed.

Foliar nutrient concentration might be lower in older and taller trees (Gower et al. 1996; Niinemets 1997; Schoettle 1994) and might limit the activity of photosynthetic enzymes but see e.g. (Mencuccini and Grace 1996). This hypothesis has been rarely investigated in detail in the literature, and most often only nitrogen was considered as a

potential limitation of tree photosynthesis whereas other nutrients such as phosphorus may limit tree growth and forest productivity depending on the type of soil.

To examine the possible changes in photosynthetic capacity independently of diffusive limitations, we characterized the parameters controlling the photosynthetic capacity of maritime pine needles across a chronosequence composed of four stands aged of 10-, 32-, 54- and 91-yr respectively. Maximal carboxylation capacity, maximal electron transport rate and apparent quantum use efficiency were determined from gas exchange measurements in the laboratory and this was complemented by carbon isotope discrimination measurements in the cellulose of annual rings of the sampled trees and ancillary determinations of foliar nutrient concentrations. This study was part of the French contribution to the European CARBO-AGE project, in which the hydraulic and stomatal conductance limitations on tree growth were investigated (Delzon et al. 2004).

## Materials and methods

### *Chronosequence description*

Studies were carried out in four monospecific, even-aged maritime pine stands located 20 km Southwest of Bordeaux in the “Landes de Gascogne” forest in south-western France. Trees were grown as even aged stands (aged 10, 32, 54 and 91 year-old in 2002) from seeds originating from the same geographical provenance. The stands, located in a 20 km wide area, experience similar environmental conditions (altitude, climate and soil characteristics) and management practices. The climate is temperate maritime with cool wet winters and warm dry summers. Mean annual temperature (1949-1998) is 12.9 °C, and mean annual precipitation is 953 mm. The soil is a sandy hydromorphic humic podzol with a cemented B<sub>h</sub> horizon limiting the root zone depth to -0.8 m, low soil phosphorus and nitrogen levels and mean pH of 4.0. Characteristics of the sampled trees as measured in December 2002 are presented in Table 1.

**Table 1.** Characteristics of the sampled trees in each maritime pine stand. Tree leaf area was calculated using an allometric relationship from diameter under the live crown (Delzon et al. 2004).

Stand age	Diameter (mm)	Height (m)	Leaf area (m <sup>2</sup> )
10 yr	149	10.2	66
	145	10.4	63
	131	9.3	54
32 yr	166	20.4	124
	146	19.9	94
	191	19.9	158
54 yr	213	28.1	172
	242	27.0	200
	223	27.2	162
91 yr	283	27.7	159
	273	27.7	226
	261	26.9	214

### *Gas exchange measurements*

Measurements were carried out during May-June 2003 on a total of 24 branches, *i.e.* two branches per tree and three trees per stand. Six series of measurements were carried out, with each series, a randomised block, including one branch taken from each stand. Each branch was cut in the early morning, wrapped in a wet cloth, then brought back to the laboratory and re-cut under water. Branches were chosen in the upper part of the canopy (whorl 2000, southern exposure) accessed by a scaffolding. Measurements were carried out using three one-year-old fascicles (six needles) positioned across the minicuvette and kept hydraulically connected to the branch during gas exchange measurements. The branch was kept covered with a humid cloth during the measurements.

Gas exchange measurements were made in the laboratory inside an air-conditioned room, using an open gas exchange system, with a controlled environment minicuvette (Compact Minicuvette System CMS 400, Walz, Effeltrich, Germany). The protocol used was similar to Porté and Loustau (1998) and Medlyn et al. (2002) except for the following points. Air temperature was set at 25°C as controlled with a Peltier element, dewpoint was fixed at 19°C with a dew-point generator, and air composition ([O<sub>2</sub>], [CO<sub>2</sub>], [N<sub>2</sub>]) was controlled by mass flow meters (Gas Mixing Unit GMA-2, Walz). The upper and lower sides of the cuvette were each illuminated by a bundle of 200 optic fibers arranged uniformly and connected to a metal halide lamp (Fiber Illuminator FL-440, Special Fiberoptics 400-F, Walz, Effeltrich, Germany). The required range of irradiances was obtained by an electronic regulator and neutral filters controlling light intensity sent to the two upper and lower sides of the cuvette through a bundle of 200 optic fibers. Incident PAR onto the needle surface was monitored in the cuvette with a PAR sensor (LI-190, LI-Cor, Inc., Lincoln, NE) and needles were positioned so that spatial variation of the illumination received by the upper and lower surfaces was less than 5% of the average. Differential [CO<sub>2</sub>] and [H<sub>2</sub>O] concentrations

between the measuring and reference circuits were measured by a Binos 100 IRGA differential analyser calibrated with gas standards and cross-checked against a Licor 6262. Environmental parameters which were continuously measured in the chamber included air temperature ( $T_a$ ), relative humidity (RH), and absolute CO<sub>2</sub> concentration ( $C_a$ ) (Analyser IRGA Li-800, Li-Cor, Lincoln Nebraska, U.S.A.). The needle temperature was not measured with the constructor thermocouple because of problems with direct heating of the thermocouple by incident light, and because the spherical shape of the thermocouple prevents close contact between needle surface and thermocouple. Instead, the needle temperature was estimated from light intensity and cuvette temperature using an energy balance calculation parameterised using a heated needle replica in the form of an aluminium 2 mm diameter half-cylinder of known emissivity, whose temperature was measured with an internal Cu-Cn thermocouple embedded in resin. The average aerodynamic conductance of the needle replica over a range of locations in the cuvette was estimated to be 3000 mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. It is worth noting that the difference between needle and air temperature during subsequent measurements attained +0.8 °C on average. Assimilation ( $A$ , μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), transpiration ( $E$ , mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), stomatal conductance ( $g_s$ , mmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) and the internal CO<sub>2</sub> concentration ( $C_i$ , μmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup>) were calculated according to Farquhar and von Caemmerer (1982).

To determine the photosynthetic parameters, the response curves of assimilation rate to air CO<sub>2</sub> concentration ( $A-C_i$ ) and radiation ( $A-Q$ ) were obtained as follows. Before measurements, needles were acclimated in the chamber for 90 mn at a CO<sub>2</sub> concentration of 360 μmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> and incident photosynthetic flux density (PPFD) of 900 μmol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Needle water potential was controlled each 30 mn throughout the measurements, the branch being recut as necessary to keep the needle water potential above -0.3 MPa. The first measurement was made at CO<sub>2</sub> concentration of 350 μmol mol<sup>-1</sup> and PPFD of 1500 μmol m<sup>-2</sup>



$s^{-1}$  respectively followed by a full  $A-C_i$  response curve and a light response curve. The air  $CO_2$  concentrations used to generate  $A-C_i$  curves were decreased from 1500 to 800, 350, 200, 100, 50 and 0  $\mu mol\ mol^{-1}$  while  $O_2$  concentration was switched between 2% and 21% at each  $CO_2$  value except for the first four series where the 2% concentration was applied only from 0 to 350  $\mu mol\ CO_2\ mol^{-1}$ . For the  $A-Q$  curves, the air  $CO_2$  concentration was kept constant at 1100  $\mu mol\ mol^{-1}$  and  $Q$  was sequentially lowered from 1500 to 900, 490, 270, 150, 100, 50 and 30  $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ . To make respiration measurements, needles were kept in the dark with a  $T_{dp}$  of 5  $^{\circ}C$  and values were recorded at the end of the night.

The maximum rate of carboxylation ( $V_{cmax}$ ,  $\mu mol\ CO_2\ m^{-2}\ s^{-1}$ ), the maximum rate of electron transport ( $J_{max}$ ,  $\mu mol\ e^{-}\ m^{-2}\ s^{-1}$ ), the quantum use efficiency ( $\alpha$ ,  $\mu mol\ e^{-}\ m^{-2}\ s^{-1}$ ) and the rate of triose phosphate utilisation (TPU) were each estimated altogether from the observed data by minimizing the sum of squares between the observed values and those predicted according to the Farquhar model of leaf photosynthesis (Farquhar et al. 1980), including the phosphate utilisation rate as proposed by von Caemmerer (2000). Needle temperature fluctuations observed during measurements were accounted for using the equations of activation and deactivation energy, with values published by Medlyn et al. (2002), so that the photosynthetic parameters fitted were given at a reference leaf temperature of 25 $^{\circ}C$ .

### ***Nutrient content analysis***

Immediately after the gas exchange measurements, needle length ( $l$ ), diameter ( $d$ ) and thickness ( $t$ ) were measured with an electronic calliper on the six needles sampled, and the total photosynthetic surface area was calculated as  $((2t + d)/4 * \pi + d)*l$ . Needles were dried subsequently at 65 $^{\circ}C$  for 72 h, weighed and the specific leaf area (SLA,  $m^2\ kg^{-1}$ ) was calculated as the ratio of needle area to dry weight. Needles were re-dried at 70 $^{\circ}C$ ,

mineralised with hot sulphuric acid and assayed colorimetrically for concentrations of nitrogen and phosphorus using the Technicon auto-analyser (O'Neill and Webb 1970). Nitrogen and phosphorus concentrations are expressed either on a mass basis (%;  $N_m$ ,  $P_m$ ) or on an leaf area basis ( $\text{g m}^{-2}$ ;  $N_a$ ,  $P_a$ ).

### ***Carbon discrimination***

During February 2003, we took cores at the base of the trunk of 10 trees per stand, including the three trees that were used for gas exchange measurements during spring 2003. For each tree, sampling consisted of four cores taken from four azimuth directions, from which annual rings of 2001 and 2002 were extracted and pooled by year. Cellulose was extracted by the method described by Lambrot and Porte (2000) and the ratio  $^{13}\text{C}:^{12}\text{C}$  determined. Cellulose  $\delta^{13}\text{C}$  was analysed with an isotope ratio mass spectrometer at INRA of Laon (France) and  $\delta^{13}\text{C}$  was converted to discrimination ( $\Delta$  in ‰) by assuming a  $^{13}\text{C}$  composition of air of -8.00 ‰ relative to PDB (Farquhar et al. 1989).

### ***Statistical analysis***

Effects of site on the photosynthetic parameters ( $V_{\text{cmax}}$ ,  $J_{\text{max}}$ ,  $\alpha$ ,  $R_d$ ), nutrient concentrations ( $N_m$ ,  $P_m$ ,  $N_a$ ,  $P_a$ ) and specific leaf area (SLA) were evaluated by ANOVA with two factors (site and date of the series as pseudo-block) and their interaction, using the SAS software package (SAS 8.01, SAS Institute Inc., Cary, NC). We used the Type III error, and have calculated *a posteriori* the second order probability  $\beta=0.1$  for the comparison of multiple means as proposed by Pearson et Hartley (1951). This means that as far as we accept the null hypothesis (no effect of site) our conclusion may be wrong in 10% of cases. For each date, the Student-Newman-Keuls test (GLM/SNK) was used to compare parameters between tree age at  $P<0.05$ .

## Results

### *Photosynthetic parameters*

Leaf photosynthetic capacities did not differ significantly between stands, except at the 32-yr-old stand (Table 2).  $V_{\text{cmax}}$  ( $J_{\text{max}}$ ) reached its maximum value of  $50.4 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  ( $147.2 \mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) in the 32-yr-old trees, which was significantly greater than the values of the other three age classes. No significant interaction with date of measurements (series) was found and the series effect itself was significant only for  $R_d$ , the respiration rate at  $25^\circ\text{C}$  for which the overall mean decreased from 1.2 to  $0.7 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  throughout the experiment. No difference were found between stands ( $P < 0.05$ ; Table 2) either in the efficiency of light conversion ( $\alpha$ ) and dark respiration ( $R_d$ ). The triose phosphate utilisation rate, TPU, could be estimated only for 5 shoots collected in the 10-, 54- or 91-yr-old stands. Values were close to  $5.5 \mu\text{mol TP m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  with no difference among stands and TPU was never limiting under  $\text{CO}_2$  and  $\text{O}_2$  concentrations encountered in field conditions. We observed a close linear relationship ( $r^2=0.90$ ) between  $J_{\text{max}}$  and  $V_{\text{cmax}}$  (Fig. 1). The  $J_{\text{max}} / V_{\text{cmax}}$  ratio was about  $2.5 \text{ mol mol}^{-1}$  in the 10-, 54- and 91-yr-old stands and reached a higher value of 2.9 in the 32-yr-old stand.

**Table 2.** Mean values of photosynthetic parameters,  $V_{\text{cmax}}$ ,  $J_{\text{max}}$ ,  $\alpha$  and  $R_d$  for each stand ( $n=6$ ). Values in parenthesis are SE. For each parameter, means followed by the same letter are not significantly different ( $P < 0.05$ ).

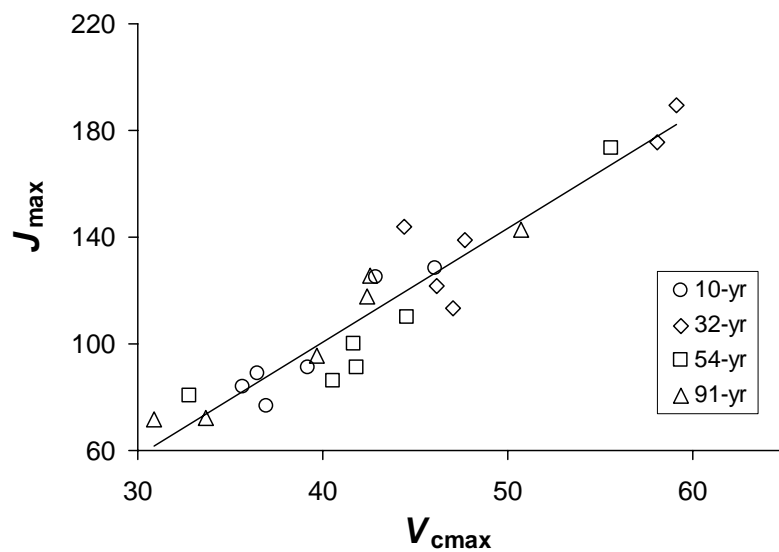
Stand age	10 yr	32 yr	54 yr	91 yr
$V_{\text{cmax}}$ ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	39.5 (1.7) a	50.4 (2.6) b	42.8 (3.02) a	40.0 (2.9) a
$J_{\text{max}}$ ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	98.8 (9.0) a	147.2 (12.2) b	106.9 (14.0) a	104.3 (12.0) a
$\alpha$	0.21 (0.013) a	0.21 (0.014) a	0.18 (0.019) a	0.18 (0.013) a
$R_d$ ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )	0.42 (0.02) a	0.45 (0.03) a	0.72 (0.03) a	0.62 (0.02) a

***Specific leaf area and mineral concentrations***

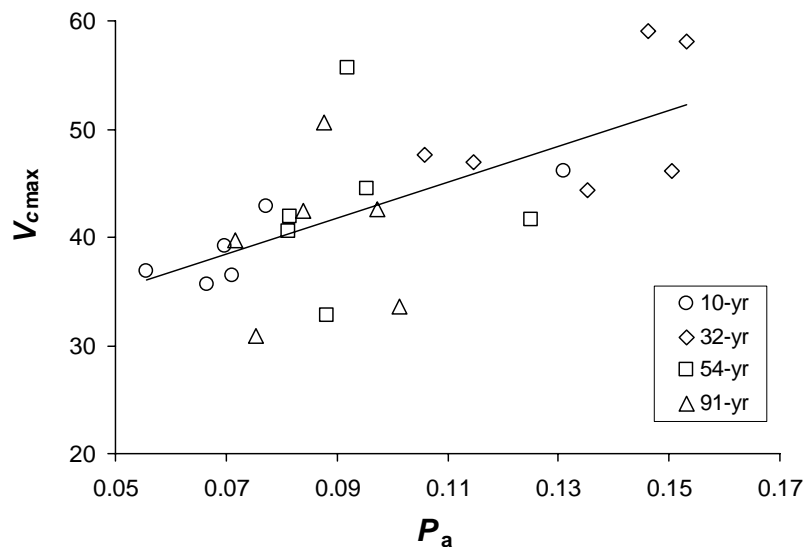
The needle area to mass ratios were significantly influenced by tree age and decreased exponentially with increasing age (Table 3) from 6.2- to 5.2 kg m<sup>-2</sup>. This trend was confirmed by other independent measurements carried out across the same stands both in January 2002 and 2003 (data not shown). Leaf nitrogen concentration on a mass basis ( $N_m$ ) did not vary significantly across the chronosequence. By contrast, leaf nitrogen concentration on an area basis ( $N_a$ ) increased with tree age from 1.70 to 2.51 g m<sup>-2</sup> as a result of the change in the needle area to mass ratio. The leaf phosphorus concentration on a mass basis ( $P_m$ ) differed significantly between tree ages, following the same pattern as photosynthetic parameters, i.e. the highest  $P_m$  being measured at the 32-yr-old stand. This pattern held true when phosphorus concentration was expressed on an area basis ( $P_a$ ). Approximately half of the variance in the  $V_{cmax}$  was explained by the phosphorus concentration expressed on area basis (Fig. 2), whereas N concentrations showed no relationship with photosynthetic parameters (data not shown).

**Table 3:** Mean values of needle nitrogen and phosphorus concentrations, both on a mass ( $N_m$ ;  $P_m$ ) and area ( $N_a$ ;  $P_a$ ) basis and specific leaf area (SLA) in the four maritime pine stands of different age (n=6). Values in parenthesis are SE. For each variable, means followed by the same letter are not significantly different (P<0.05).

Stand age	10 yr	32 yr	54 yr	91 yr
$N_m$ (%)	1.02 (0.05) b	1.18 (0.03) ab	1.17 (0.10) ab	1.27 (0.04) a
$P_m$ (%)	0.046 (0.004) b	0.076 (0.003) a	0.051 (0.005) b	0.044 (0.003) b
SLA (m <sup>2</sup> kg)	6.06 (0.3) a	5.68 (0.16) ab	5.27 (0.14) b	5.12 (0.22) b
$N_a$ (g m <sup>-2</sup> )	1.70 (0.13) b	2.08 (0.076) ab	2.23 (0.21) a	2.51 (0.12) a
$P_a$ (g m <sup>-2</sup> )	0.079 (0.011) b	0.134 (0.008) a	0.094 (0.007) b	0.086 (0.005) b



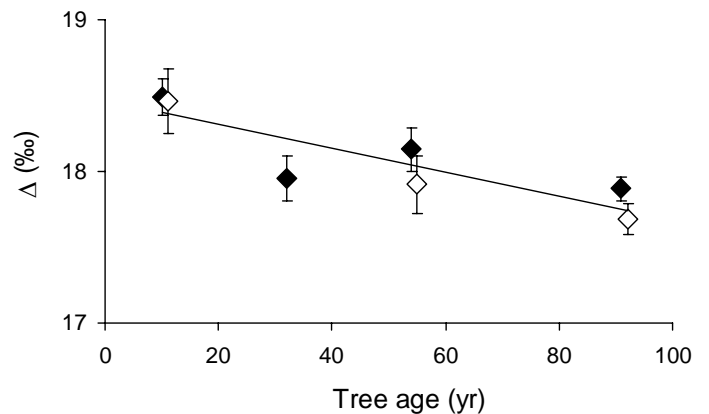
**Figure 1.** Relationship between maximum electron transport rate ( $J_{\max}$ ,  $\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) and maximum carboxylation rate ( $V_{\text{cmax}}$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). The linear regression is  $J_{\max} = 4.2871 V_{\text{cmax}} - 70.811$  ( $r^2=0.90$ ). Values were compiled for the four stands of different age.



**Figure 2.** Relationship between maximum carboxylation rate ( $V_{\text{cmax}}$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) and phosphorus concentration on a leaf area basis ( $P_a$ ,  $\text{g m}^{-2}$ ). The linear regression is  $V_{\text{cmax}} = 166.55 P_a + 26.81$  ( $r^2=0.41$ ). Values were compiled for the four stands of different age.

### ***Carbon isotope discrimination***

The  $\Delta$  of annual ring cellulose decreased across the chronosequence (Fig. 3), independently of the year (2001-2002). The  $\Delta$  values differed significantly between stands both in 2001 and 2002 ( $P < 0.01$ ). There was no relationship between  $\Delta$  and maximum carboxylation rates or electron transport rates. The value of  $\Delta$  for the 32-yr-old stand was not represented on Figure 4 because of the higher soil water deficit and the longer drought period occurring in 2002 at this site (see Delzon et al. (2004).



**Figure 3.** Mean values of wood carbon discrimination ( $\Delta$ ) of 10 trees per stand for both 2001 (full diamond) and 2002 (open diamond). Value of the 32-yr-old stand in 2002 was not plotted here because of the higher soil water stress occurring at this site.

### **Discussion**

The measured growth efficiency (i.e. aboveground biomass increment per unit of leaf area) of the four stands in the studied chronosequence declined asymptotically with increasing age from 120 to 40  $\text{gC m}^{-2}_{\text{leaf}} \text{yr}^{-1}$  between the 10 and 91-yr-old stands (Delzon et al. 2004). No variable studied in the present study follows a similar pattern except the needle area to mass ratio, and the carbon isotope discrimination which declines continuously with age according to a linear trend.

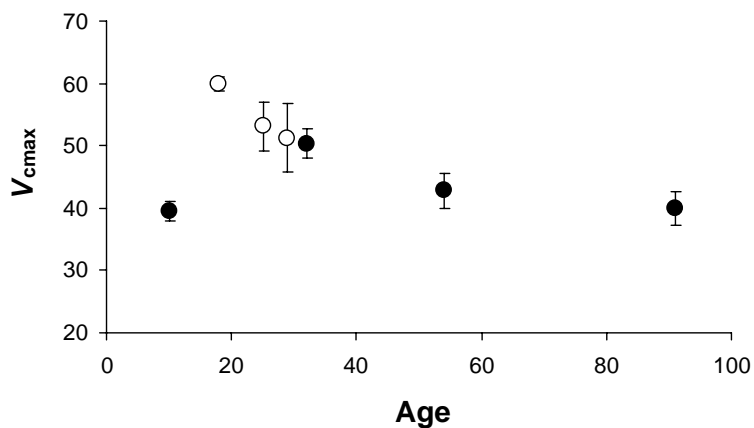
Photosynthetic values reported here are close to those found in previous studies of a 25-yr-old stand of the same species, for which  $V_{\text{cmax}}$  was  $49.3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  for one year old needles sampled at the top of the canopy (Porte and Loustau 1998). Medlyn et al. (2002)

reported a range of  $V_{\text{cmax}}$  between 35 and 60 for a 18-yr-old stand throughout the year. In our study, photosynthetic parameters were measured only at the canopy top and we assumed that they were representative of the whole crown. Indeed, Porte and Loustau (1998) found that crown height did not influence  $V_{\text{cmax}}$  and  $J_{\text{max}}$  in maritime pine trees. The lack of an effect of shoot light regime on photosynthetic parameters was due to the weak attenuation of light with canopy depth. With the range of LAI observed in this chronosequence, it is unlikely that the photosynthetic parameters vary strongly within tree crowns, and so the parameters as measured may be considered as spatially representative of entire crowns. Although Medlyn et al. (2002) showed that the  $V_{\text{cmax}}$  and  $J_{\text{max}}$  values may change by  $16 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  and  $32 \mu\text{mol e}^- \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  respectively on a seasonal basis, we did not detect any time effect over the course of our experiment.

We found a significant difference in photosynthetic capacity between the 32-yr-old stand, the Bray site, and the other stands of the chronosequence. This higher value at age 32-yr is confirmed by data measured previously in three stands among which two do not belong to the chronosequence (Medlyn et al. 2002; Porté and Loustau 1998). In accordance with the hypothesis that  $V_{\text{cmax}}$  is affected at these levels of P concentration in maritime pine (Ben Brahim et al. 1996; Loustau et al. 1999), the between-stand difference in  $V_{\text{cmax}}$  is well correlated to needle P concentration measured across sites ( $R^2=0.82$ ,  $n=4$ ). This conclusion holds true for the additional data issued from Porté and Loustau (1998) and Medlyn et al. (2002) where needle  $P_a$  was in the range  $0.11 - 0.13 \text{ g P m}^{-2}$  ( $R^2=0.75$   $n=7$ ). Although we cannot exclude the possibility that the higher P concentration at the 32-yr-old stand was due to higher initial P fertilisation at this site, our results suggest that in our stands P nutrition is a limiting factor explaining a part of the decline in tree productivity with age.

The decline in photosynthetic capacity is not linked to the decline in the growth and aboveground productivity across the chronosequence. The photosynthetic capacity change

during the young stage is opposite to the early decline in aboveground growth efficiency. Only the drop in stomatal conductance observed in this stage by Delzon et al. (2004) and confirmed by isotope discrimination contributes, therefore, to the early change in growth efficiency until 18-24 yr. At later stages, we observed a 25% decrease in  $V_{\text{cmax}}$  between the 32-yr and 91-yr-old stands, the tree growth efficiency decreasing two-fold over the same age range (Delzon et al. 2004).



**Figure 4.** Mean values of maximum carboxylation rate,  $V_{\text{cmax}}$  ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) versus stand age. Full circles are mean values obtained in this study and open circles are from Porté and Loustau 1998 and Medlyn et al. 2002. Bars are standard errors.

Apart from a study of Douglas-fir (McDowell et al. 2002) showing that  $V_{\text{cmax}}$  reached maximal values at intermediate age (i.e. 27.5, 47.9 and 38.9  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  for the 15-, 32- and 60-m trees, respectively), most previous studies suggest that  $V_{\text{cmax}}$  and  $J_{\text{max}}$  do not correlate with the age decline in forest productivity. For example, (Barnard and Ryan 2003) found that *Eucalyptus saligna* trees of 1- and 5-years had  $V_{\text{cmax}}$  values of 76 and 85  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , respectively. (Phillips et al. 2003) detected no difference in either  $V_{\text{cmax}}$  or  $J_{\text{max}}$  between 10- and 25-m height oak trees. Likewise, no significant change was found for Ponderosa pine (Hubbard et al. 1999; Yoder et al. 1994). However, in a study of 10- and 50-yr-old Ponderosa pine stands (Law et al. 2003) that  $V_{\text{cmax}}$  decreased by 35 % from the young to the old stand. However, it must be mentioned that at large with present and past results obtained on maritime pine, none of these  $V_{\text{cmax}}$  determinations were made under constant temperature and



humidity conditions and saturating light. Discrepancies in the measurement protocol might therefore cause large bias when comparing data from different authors.

Because the stands aged of 18-32 years had a higher initial fertilisation in P than the other stands, we cannot distinguish the effects of P nutrition from a possible age effect. The change in needle phosphorus concentration correlates well with the variation in  $V_{\text{cmax}}$  observed between stands, consistent with previous studies on the impact of phosphorus starvation on photosynthesis in this species (Loustau et al. 1999). Therefore, P nutrition is likely to be the main cause of differences in photosynthetic capacity observed between maritime pine stands. However, we cannot exclude the possibility that the sequestration of P in unavailable forms in soil, soil organic matter and biomass may explain an age effect on leaf P level, photosynthesis and tree growth and productivity. Results from fertilisation experiments in this area have shown a 42-yr-old stand responding positively to late fertilisation in phosphorus, demonstrating that P is still limiting at this age even for stands that have received as much as 250 kg P ha<sup>-1</sup> during site preparation (Trichet, unpublished results). A positive response of tree growth to thinning in old growth stands of Douglas-fir and Ponderosa pine provides additional support to the hypothesis that the availability of resources, rather than an inherent decadency with age, limits tree growth in old stands (Latham and Tappeiner 2002; Martin and Jokela 2004; Sayer et al. 2004).

Leaf nitrogen concentration on an area basis appeared to increase slightly throughout the chronosequence and did not play a role in the photosynthetic decline in maritime pine trees. We found that most of the variation in  $N_a$  across the chronosequence was due to differences in needle thickness (SLA) rather than differences in nitrogen concentration ( $N_m$ ). Because leaf nitrogen concentration is closely correlated with photosynthetic capacity and its measurement was less time-consuming than  $A-C_i$  curves, many studies have investigated age-related change in  $N_a$ . Leaf N on a mass basis shows no general trend in response to tree height

or age (Niinemets 2002); in some studies, it was lower in older trees (Gower et al. 1996; Niinemets 1997; Schoettle 1994) while it remained constant with increasing tree age in others (Hubbard et al. 1999; Mencuccini and Grace 1996; Yoder et al. 1994). The leaf mass to area ratio is known to increase as trees become older and taller (Niinemets 2002), which increases the nitrogen concentration on an area basis (Rijkers et al. 2000; Schoettle 1994), as observed in our study.

The carbon discrimination data obtained in this study corroborated previous observations that stomatal conductance is affected by age in this chronosequence (Delzon et al. 2004). However the concurrent decline in  $V_{\text{cmax}}$  and stomatal conductance after 18-yr makes it difficult to interpret the carbon isotope discrimination changes across the chronosequence studied. The lower value of  $\Delta$  in the 32-yr-old stand can be explained by the higher values of photosynthetic capacity and intermediate values of stomatal conductance measured in the trees of this stand. Indeed, our data suggested that at a given stomatal conductance greater rate of assimilation occurred, inducing lower  $C_i$ , and decreasing  $\Delta$ .

## **Conclusion**

Photosynthetic capacity peaks at around 18 - 32 yr, whereas mean canopy  $C_i$  decreases linearly with age from younger to older trees. The present results, together with those obtained previously (Delzon et al. 2004) show that the decrease in stomatal conductance with increasing tree height is the main factor causing the growth efficiency to decline in stands younger than 18-yr-old.

We conclude that both stomatal and nutritional limitations are plausible explanations of the age-related decline in stand productivity per unit leaf area in maritime pine stands but their respective contributions may change between young and old stages. Stomatal conductance limits growth and productivity in the early stages whereas P limitation operates

in later stages. Our results do not support the hypothesis of an age-related reduction in photosynthesis capacity before 18-32 yr in maritime pine stands. Phosphorus nutrition in older trees is poorly documented in the literature. The role of phosphorus limitation as a more general cause of the decline in forest production with age therefore merits further study. Our results support the general hypothesis that the age-related decline in forest aboveground production is associated with decline in the availability of the most limiting resources, these being water and phosphorus in the case of the maritime Pine chronosequence investigated here.

## **Acknowledgments**

We thank Michel Sartore and Catherine Lambrot for their technical assistance. This research was jointly supported by the European CARBO-AGE project (contract ENV4-CT97-0577) and the French project CARBOFOR (*Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable, Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation de la Pêche et des affaires rurales*, programs *GICC* and *GIP-Ecofor*). During his Ph.D. thesis work the senior author fellowship was supported by INRA and ADEME.

## **Bibliography**

- Barnard, H.R. and M.G. Ryan, 2003. A test of the hydraulic limitation hypothesis in fast-growing *Eucalyptus saligna*. *Plant, Cell & Environment*. 26: 1-11.
- Ben Brahim, M., D. Loustau, J.P. Gaudillere and E. Saur, 1996. Effects of phosphate deficiency on photosynthesis and accumulation of starch and soluble sugars in 1-year-old seedlings of maritime pine (*Pinus pinaster Ait*). *Annales des Sciences Forestieres*. 53: 801-810.

- Bond, B.J., 2000. Age-related changes in photosynthesis of woody plants. *Trends in Plant Science*. 5: 349-353.
- Bond, B.J. and M.G. Ryan, 2000. Comment on 'Hydraulic limitation of tree height: a critique' by Becker, Meinzer & Wullschleger. *Functional Ecology*. 14: 137-140.
- Delzon, S., M. Sartore, R. Burrell, R. Dewar and D. Loustau, 2004. Hydraulic responses to height growth in maritime pine trees. *Plant, Cell & Environment* (in press).
- Farquhar, G.D., S.v. Caemmerer and J.A. Berry, 1980. A biochemical model of photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation in leaves of C<sub>3</sub> species. *Planta*. 149: 78-90.
- Farquhar, G.D., J.R. Ehleringer and K.T. Hubick, 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology & Plant Molecular Biology*. 40: 503-537.
- Farquhar, G.D. and S. von Caemmerer, 1982. Modelling of photosynthetic response to environmental conditions. *In Encyclopedia of plant physiology*. New series. Physiological plant ecology. II. Water relations and carbon assimilation Eds. O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond and H. Ziegler. Springer-Verlag, Berlin Germany, pp. 549-587.
- Gower, S.T., R.E. McMurtrie and D. Murty, 1996. Aboveground net primary production decline with stand age: potential causes. *Trends in Ecology & Evolution*. 11: 378-382.
- Hubbard, R.M., B.J. Bond and M.G. Ryan, 1999. Evidence that hydraulic conductance limits photosynthesis in old *Pinus ponderosa* trees. *Tree Physiology*. 19: 165-172.
- Kolb, T.E. and J.E. Stone, 2000. Differences in leaf gas exchange and water relations among species and tree sizes in an Arizona pine-oak forest. *Tree Physiology*. 20: 1-12.
- Kull, O. and A. Koppel, 1987. Net photosynthetic response to light intensity of shoots from different crown positions and age in *Picea abies* (L.) Karst. *Scandinavian Journal of Forest Research*. 2: 157-166.
- Lambrot, C. and A. Porte, 2000. Amélioration du protocole d'extraction de la cellulose et de l'hollocellulose du bois: vérification de l'absence d'un effet contaminant sur les valeurs de composition isotopique du carbone dans les cernes de bois. *Cahiers Techniques de l'INRA*. 45: 19-26.
- Latham, P. and J. Tappeiner, 2002. Response of old-growth conifers to reduction in stand density in western Oregon forests. *Tree Physiology*. 22: 137-146.
- Law, B.E., O.J. Sun, J. Campbell, S.v. Tuyl and P.E. Thornton, 2003. Changes in carbon storage and fluxes in a chronosequence of ponderosa pine. *Global Change Biology*. 9: 510-524.

- Loustau, D., M. Ben-Brahim, J.P. Gaudillere and E. Dreyer, 1999. Photosynthetic responses to phosphorus nutrition in two-year-old maritime pine seedlings. *Tree Physiology*. 19: 707-715.
- Martin, T.A. and E.J. Jokela, 2004. Stand development and production dynamics of loblolly pine under a range of cultural treatments in north-central Florida USA. *Forest Ecology and Management*. 192: 39-58.
- McDowell, N.G., N. Phillips, C. Lunch, B.J. Bond and M.G. Ryan, 2002. An investigation of hydraulic limitation and compensation in large, old Douglas-fir trees. *Tree Physiology*. 22: 763-774.
- Medlyn, B.E., D. Loustau and S. Delzon, 2002. Temperature response of parameters of a biochemically based model of photosynthesis. I. Seasonal changes in mature maritime pine (*Pinus pinaster Ait.*). *Plant, Cell & Environment*. 25: 1155-1165.
- Mencuccini, M. and J. Grace, 1996. Hydraulic conductance, light interception and needle nutrient concentration in Scots pine stands and their relations with net primary productivity. *Tree Physiology*. 16: 459-468.
- Niinemets, U., 1997. Distribution patterns of foliar carbon and nitrogen as affected by tree dimensions and relative light conditions in the canopy of *Picea abies*. *Trees: Structure and Function*. 11: 144-154.
- Niinemets, U., 2002. Stomatal conductance alone does not explain the decline in foliar photosynthetic rates with increasing tree age and size in *Picea abies* and *Pinus sylvestris*. *Tree Physiology*. 22: 515-535.
- O'Neill, J.V. and R.A. Webb, 1970. Simultaneous determination of nitrogen, phosphorus and potassium in plant material by automatic methods. *Journal of the Science of Food & Agriculture*. 21: 217-219.
- Phillips, N., B.J. Bond, N.G. McDowell, M.G. Ryan and A.J. Schauer, 2003. Leaf area compounds height-related hydraulic costs of water transport in Oregon White Oak trees. *Functional Ecology*. 17: 832-840.
- Porté, A. and D. Loustau, 1998. Variability of the photosynthetic characteristics of mature needles within the crown of a 25-year-old *Pinus pinaster*. *Tree Physiology*. 18: 223-232.
- Rijkers, T., T.L. Pons and F. Bongers, 2000. The effect of tree height and light availability on photosynthetic leaf traits of four neotropical species differing in shade tolerance. *Functional Ecology*. 14: 77-68.

- Ryan, M.G., D. Binkley and J.H. Fownes, 1997. Age-related decline in forest productivity: pattern and process. *Advances in Ecological Research*. 27: 213-262.
- Ryan, M.G., D. Binkley, J.H. Fownes, C.P. Giardina and R.S. Senock, 2004. An experimental test of the causes of forest growth decline with stand age. *Ecological Monographs* (in press).
- Ryan, M.G. and B.J. Yoder, 1997. Hydraulic limits to tree height and tree growth: what keeps trees from growing beyond a certain height. *Bioscience*. 47: 235-242.
- Saliendra, N.Z., J.S. Sperry and J.P. Comstock, 1995. Influence of leaf water status on stomatal response to humidity, hydraulic conductance, and soil drought in *Betula occidentalis*. *Planta*. 196: 357-366.
- Sayer, M.A.S., J.C.G. Goelz, J.L. Chambers, Z. Tang, T.J. Dean, J.D. Haywood and D.J. Leduc, 2004. Long-term trends in loblolly pine productivity and stand characteristics in response to thinning and fertilization in the West Gulf region. *Forest Ecology and Management*. 192: 71-96.
- Schafer, K.V.R., R. Oren and J.D. Tenhunen, 2000. The effect of tree height on crown level stomatal conductance. *Plant, Cell and Environment*. 23: 365-375.
- Schoettle, A.W., 1994. Influence of tree size on shoot structure and physiology of *Pinus contorta* and *Pinus aristata*. *Tree Physiology*. 14: 1055-1068.
- von Caemmerer, S., 2000. Biochemical Models of Leaf Photosynthesis. *In Techniques in Plant Sciences Series Number 2*. Csiro Publishing. 165 p.
- Yoder, B.J., M.G. Ryan, R.H. Waring, A.W. Schoettle and M.R. Kaufmann, 1994. Evidence of reduced photosynthetic rates in old trees. *Forest Science*. 40: 513-527.

## CHAPITRE 7

---

### Synthèse





## CHAPITRE 7

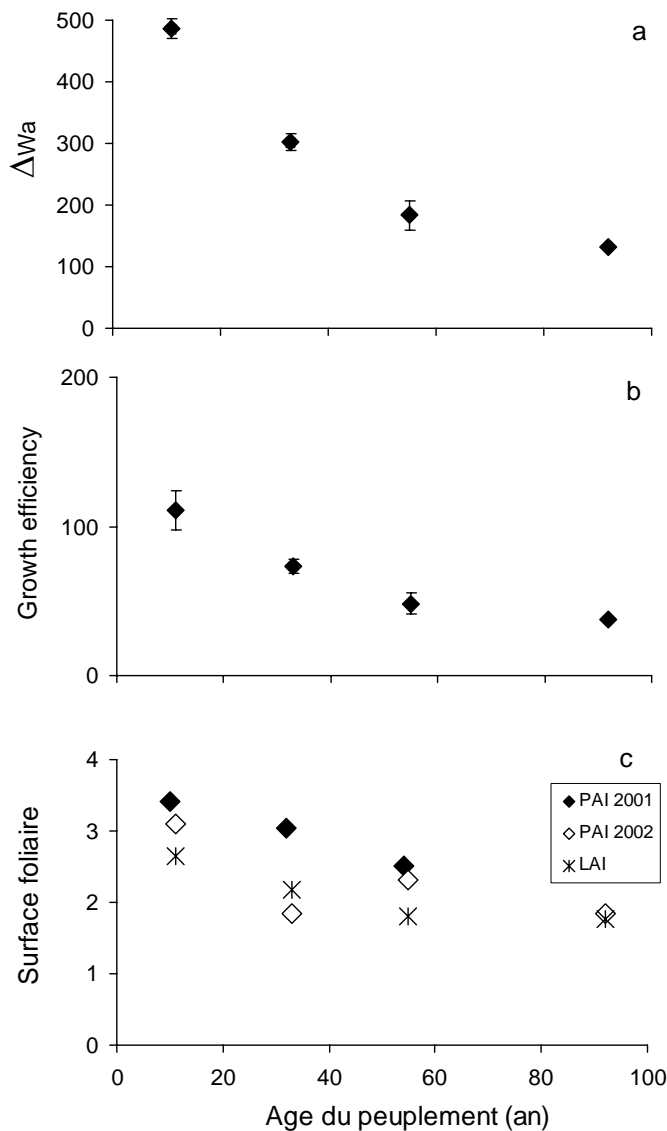
### SOMMAIRE

<b>1. DECLIN DE NPP ET DE GPP .....</b>	<b>1</b>
<b>2. L'HOMEOSTASIE HYDRIQUE FONCTIONNELLE DU PIN MARITIME .....</b>	<b>7</b>
2.1 Conductance hydraulique et potentiel hydrique foliaire .....	7
2.2 Mécanismes à l'origine de l'équilibre hydrique fonctionnel .....	9
2.2.1 Ajustements hydrauliques .....	9
2.2.2 La régulation stomatique .....	11
2.3 Extension à une chronoséquence de 70 peuplements.....	15
<b>3. IMPACT SUR LA TRANSPIRATION DU PEUPEMENT .....</b>	<b>19</b>
3.1 Méthodologie .....	19
3.2 Evolution de la transpiration sur une révolution forestière .....	19
3.3 Intéraction âge – déficit hydrique du sol.....	20
3.4 Evapotranspiration totale du peuplement.....	21
<b>4. TEST DE L'HYPOTHESE DE LIMITATION BIOCHIMIQUE .....</b>	<b>23</b>
<b>5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>28</b>
<b>6. BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>31</b>



## 1. DECLIN DE NPP ET DE GPP

Nous observons une décroissance marquée et continue de l'accroissement en biomasse aérienne ( $\Delta W_a$ ) avec l'âge du peuplement, tout le long de la chronoséquence (Figure 24a). L'accroissement est de  $487 \text{ gC m}^{-2} \text{ an}^{-1}$  pour le peuplement de 10 ans et de seulement  $132 \text{ gC m}^{-2} \text{ an}^{-1}$  pour le peuplement de 91 ans, soit une diminution de 72 %. Cette décroissance est du même ordre de grandeur que celle observée à partir des tables de production (voir introduction).



**Figure 24.** Evolution de l'accroissement en biomasse aérienne par unité de surface de sol ( $\Delta W_a$ ,  $\text{gC m}^{-2}_{\text{sol}} \text{ an}^{-1}$ ) (a), par unité de surface de feuille, (Growth efficiency,  $\text{gC m}^{-2}_{\text{leaf}} \text{ an}^{-1}$ ) (b), de l'indice foliaire ( $\text{m}^2_{\text{leaf}} \text{ m}^{-2}_{\text{sol}}$ ) (c) en fonction de l'âge du peuplement. L'indice foliaire (LAI) a été estimé à l'aide de relations allométriques et le PAI a été mesuré, *in situ*, avec une méthode optique (DEMON, CSIRO, Canberra, Australia). Pour les deux graphiques du haut, les points représentent la moyenne des accroissements obtenus pour cinq années de mesures de circonférence, à l'exception du peuplement de 91 ans où seulement deux années de mesures étaient disponibles. Les barres représentent les erreurs standards.

La productivité primaire nette aérienne, (aNPP, part de NPP alloué au compartiment aérien), a été calculée comme étant la somme de l'accroissement en biomasse aérienne et de la chute de litière, comprenant les aiguilles, le bois et les cônes (Tableau 3). La quantité de chute

de litière est moindre chez les peuplements âgés, en raison du plus faible indice foliaire (Figure 24c). La diminution de aNPP entre les jeunes et les vieux peuplements n'est pas aussi marquée que celle de  $\Delta W_a$ , du fait de la moindre diminution de LAI proportionnellement à  $\Delta W_a$ . aNPP diminue de 60 % entre les peuplements de 10 et 90 ans. La diminution de aNPP du Pin maritime est proche de celles estimées chez *Pinus contorta* et *Pinus sylvestris* (voir Tableau 1, introduction). Il convient de souligner que dans chaque peuplement, la chute de litière foliaire représente environ 42 % du LAI total du peuplement, ce qui indique que la durée de vie moyenne des cohortes d'aiguilles (2.5 années) semble indépendante de l'âge du peuplement.

**Tableau 3.** Valeurs de aNPP estimées à partir de l'accroissement en biomasse aérienne et de la chute de litière pour les 4 peuplements de la chronoséquence lors de l'année 2001. Le coefficient d'absorption ( $kPAR = 1 - \exp(-k_c * LAI)$ ) de la lumière a été calculé suivant la loi de Beer-Lambert avec un coefficient d'extinction constant avec l'âge (Berbigier and Bonnefond 1995).

Age	$\Delta W_a$ (gC m <sup>-2</sup> an <sup>-1</sup> )	Litière (aiguille) (gC m <sup>-2</sup> an <sup>-1</sup> )	Litière (autres) (gC m <sup>-2</sup> an <sup>-1</sup> )	aNPP (gC m <sup>-2</sup> an <sup>-1</sup> )	kPAR
10	453.8	180.4	38.7	672.9	0.65
32	257.0	156.0	34.1	447.2	0.58
54	160.0	145.2	33.8	339.1	0.51
91	132.7	125.6	16.2	274.5	0.51

A partir de ces résultats, nous allons maintenant discuter de la pertinence des hypothèses énoncées dans les objectifs.

### **Hypothèse H1 : maintien du NPP ?**

Au vu de l'importance des diminutions de aNPP, il paraît peu probable que NPP reste constant avec l'âge du peuplement. En effet, cela impliquerait que la différence de  $\Delta W_a$  observée entre 10 et 91 ans (350 gC m<sup>-2</sup> an<sup>-1</sup>), soit compensée par une allocation de cet ordre de grandeur vers le système racinaire. Or, des recherches, réalisées au sein du laboratoire et portant sur l'étude du système racinaire dans deux peuplements de Pin maritime âgés de 5 et 52 ans, ne vont pas dans ce sens. En effet, après avoir effectué des analyses de tige et de biomasses de la partie aérienne (Porte et al. 2000; Porte et al. 2002), l'expérimentation a consisté à digitaliser en 3 dimensions, 24 systèmes racines dans chaque peuplement. Le "root/shoot ratio" a été

analysé en calculant un coefficient, le RPC (root partitioning coefficient) qui est égal au rapport des volumes racine / (racine+tige). Le RPC est égal à 25 % dans le peuplement de 5 ans et à 16 % seulement dans le peuplement âgé (Danjon et al. 2004). Ce constat indique que, pour un taux constant de turnover des racines fines et des feuilles avec l'âge, la fraction de NPP allouée au système racinaire devrait diminuer. Ce résultat est incompatible avec le déclin de productivité aérienne observé, sous l'hypothèse de NPP constant, et réfute l'hypothèse *HI*. Le NPP semble donc diminuer avec le développement du peuplement et son déclin pourrait même être accentué par rapport au déclin de aNPP en raison d'une possible réduction de l'allocation au système racinaire.

Des résultats similaires à ceux de notre étude ont été observés dans une chronoséquence de *Pinus contorta*, où le déclin de aNPP était d'environ 50 %. Une diminution de l'allocation vers la partie souterraine a été constatée dans les peuplements âgés, prouvant qu'elle n'était pas la cause directe de ce déclin (Smith and Resh 1999). Lors d'une étude récente dans des peuplements d'Eucalyptus, Ryan et al. (2004) ont mis également en évidence une diminution de l'allocation vers la partie souterraine au cours du développement de peuplements d'Eucalyptus. Il est toutefois intéressant de noter que dans cette étude, la fraction de GPP allouée aux racines est plus importante dans le peuplement âgé et aggrave donc le déclin de aNPP initialement dû au déclin de productivité primaire brute. Toutefois, d'autres études ont observé une augmentation avec l'âge du rapport de biomasse "racine fine/feuille" chez plusieurs espèces (Gower et al. 1996a; Ryan and Waring 1992; Vanninen et al. 1996). Grier et al. (1981) ont mis en évidence, chez un conifère (*Abies amabilis*), que la production de racines était supérieure dans un peuplement de 180 ans par rapport à un peuplement de 23 ans (respectivement 920 et 590 gC m<sup>-2</sup> an<sup>-1</sup>). Cette tendance était associée à une diminution de aNPP de 200 gC m<sup>-2</sup> an<sup>-1</sup> chez le peuplement âgé, alors que le NPP total ne différait pas entre les deux peuplements. Lors d'une étude récente, Magnani et al. (2000) ont montré que l'augmentation de l'allocation dans les racines fines pourrait contribuer, pour une grande part, au déclin de production primaire nette aérienne chez le Pin sylvestre. Les auteurs ont avancé l'hypothèse que ce changement d'allocation est cohérent avec la théorie d'homéostasie hydrique, qui prévoit que l'augmentation des contraintes hydrauliques induit une allocation préférentielle vers les racines fines, semblable à l'augmentation communément observée de l'allocation vers l'appareil conducteur d'eau (changement du rapport surface foliaire/surface d'aubier). Par ailleurs, les mycorhizes peuvent utiliser jusqu'à 20 % de l'assimilation (Soderstrom 1991), mais ce coût en carbone pourrait être largement compensé par l'augmentation de l'assimilation induite par la symbiose. Les modifications potentielles de

l'allocation aux symbiotes, au cours de la vie de l'arbre, sont totalement méconnues. Hormis chez *Abies amabilis*, où aucune différence de production de mycorhizes n'a été trouvée entre deux peuplements de 23 et 180 ans (Vogt et al. 1982). Nous n'avons pas étudié ici la composante mycorhizienne, mais nous n'écartons pas le fait que celle-ci puisse jouer un rôle dans le déclin de productivité du Pin maritime. En effet, l'association des racines de Pin maritime à un champignon hydrophile induit une meilleure conductivité hydraulique du système racinaire (Bogeat-Triboulot et al. 2002). Cette augmentation de la capacité d'absorption des racines, liée à la symbiose, est accompagnée d'une allocation de biomasse en faveur des feuilles.

Les études recensées, ci-dessus, ne convergent pas vers une tendance générale, l'allocation du carbone vers les racines variant en fonction du type de forêts et du climat (Raich and Nadelhoffer 1989). Force est de constater que le déclin de production observé sur les différents types de peuplements forestiers n'est pas dépendant des changements d'allocation au système racinaire. Nous restons toutefois prudents et suggérons qu'une étude du système racinaire, incluant les racines fines dans notre chronoséquence, soit menée pour confirmer ces premiers résultats.

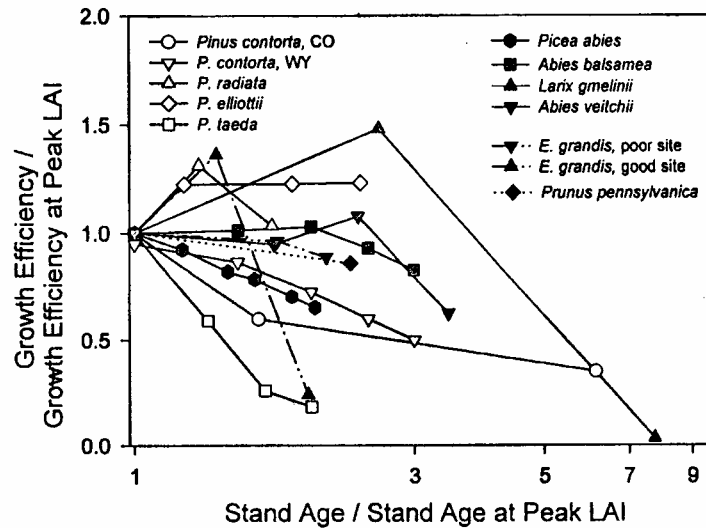
### **H2 : maintien du GPP et H3i : déclin du LAI ?**

Les données de PAI et de LAI, présentées dans la Figure 24c, suivent une tendance similaire, diminuant respectivement de 40 % et de 38 % entre 10 et 91 ans. Le déclin observé de surface foliaire, d'une part, confirme l'hypothèse *H3i* et d'autre part, implique une diminution de la photosynthèse de la canopée (rejet de l'hypothèse *H2*), si le taux d'assimilation par unité de surface foliaire n'augmente pas (nous verrons dans le paragraphe suivant que ce n'est pas le cas). En effet, dans notre chronoséquence, la diminution de la surface foliaire induit une réduction de l'interception de la lumière de 22 %. Ryan and Waring (1992) ont montré qu'une diminution de 25 % du LAI provoque une réduction de l'absorption de la lumière de 9 %, si le coefficient d'extinction de la lumière reste constant. Le déclin de LAI est, en partie, le résultat d'une gestion forestière intensive (succession d'éclaircies), à l'origine de la diminution de la densité (1100 tiges/ha à 10 ans et 250 tiges/ha à 91 ans). Nous discuterons ultérieurement d'une possible réduction liée à une diminution de la disponibilité en nutriments dans le sol au cours du développement du peuplement (Gower et al. 1995) et à une augmentation des contraintes hydrauliques (Magnani et al. 2000).

La diminution de LAI explique t'elle la totalité du déclin de productivité observé ?

Pour nous affranchir des variations de LAI, la productivité a été calculée par unité de surface foliaire (Growth efficiency), en divisant l'accroissement en biomasse aérienne par la surface foliaire. Si la productivité par unité de surface foliaire diminue avec l'âge du peuplement, alors la réduction de croissance excède la réduction de surface foliaire. La Figure 24b, montre une décroissance de celle-ci de 65 % avec l'âge du peuplement, démontrant ainsi que la réduction de surface foliaire n'explique pas que partiellement le déclin de productivité. Ce résultat prouve également que l'assimilation foliaire est réduite chez les peuplements âgés, confirmant bien le rejet de l'hypothèse *H2*.

Le travail de synthèse de Ryan et al. (1997) a montré que pour 10 chronoséquences, sur 12 étudiées, la productivité par unité de surface foliaire diminue chez les peuplements âgés par rapport au moment où l'indice foliaire est maximal (exception faite de *Pinus elliotti* et *Pinus radiata*) (Figure 25). Kaufmann and Ryan (1986) ont étudié des arbres individuellement et ont mis en évidence un déclin de productivité aérienne par unité de surface foliaire, avec l'âge, chez différentes espèces (*Pinus contorta*, *Picea engelmannii* et *Abies lasiocarpa*). Des trois espèces, *Pinus contorta* a la productivité par unité de surface foliaire la plus élevée lors de son jeune âge, mais possède le déclin le plus accentué chez les individus âgés. Yoder et al. (1994) ont trouvé la même tendance chez *Pinus contorta* et *Pinus ponderosa*, en étudiant des arbres voisins et d'âge différent. Plus récemment, McDowell et al. (2002b) ont mis en évidence une diminution de "Growth efficiency" de 53 % dans une chronoséquence de trois peuplements de Douglas (20, 40 et 450 ans), en étudiant un échantillon de cinq arbres par peuplement. Cette diminution de l'assimilation foliaire semble donc contribuer au déclin de productivité dans la majeure partie des écosystèmes forestiers.



**Figure 25.** Evolution de la "Growth efficiency" relative par rapport à la "growth efficiency" au maximum d'indice foliaire, en fonction de l'âge mis à l'échelle par l'âge au maximum de surface foliaire. Ce graphique illustre des résultats obtenus sur 12 chronoséquences. Growth efficiency correspond ici à la production de bois exprimée par unité de surface foliaire. D'après Ryan et al. (1997).

Nous avons donc mis en évidence que les diminutions de NPP et GPP, avec l'âge du peuplement, sont des composantes du déclin de productivité aérienne, sans pour autant écarter de possibles contributions de l'augmentation de la respiration et de l'allocation vers les racines fines. Dans la suite de ce travail, nous nous concentrerons sur les possibles causes du déclin de GPP avec l'âge, autres que le déclin de LAI. En effet, nous avons montré qu'une partie de ce déclin est attribuée à une cause structurale (déclin de LAI), alors que le déclin de Growth efficiency est induit par des causes fonctionnelles. Plusieurs mécanismes peuvent alors être à l'origine de ce déclin : une diminution de la conductance stomatique (limitation hydraulique, *H3ii(a)*) et/ou une réduction des capacités photosynthétiques avec l'âge de l'arbre (limitation biochimique, *H3ii(b)*). A la lumière des résultats obtenus dans nos travaux présentés dans les 5 articles composant les chapitres précédents, nous allons maintenant discuter de ces deux hypothèses.



## 2. L'HOMÉOSTASIE HYDRIQUE FONCTIONNELLE DU PIN MARITIME

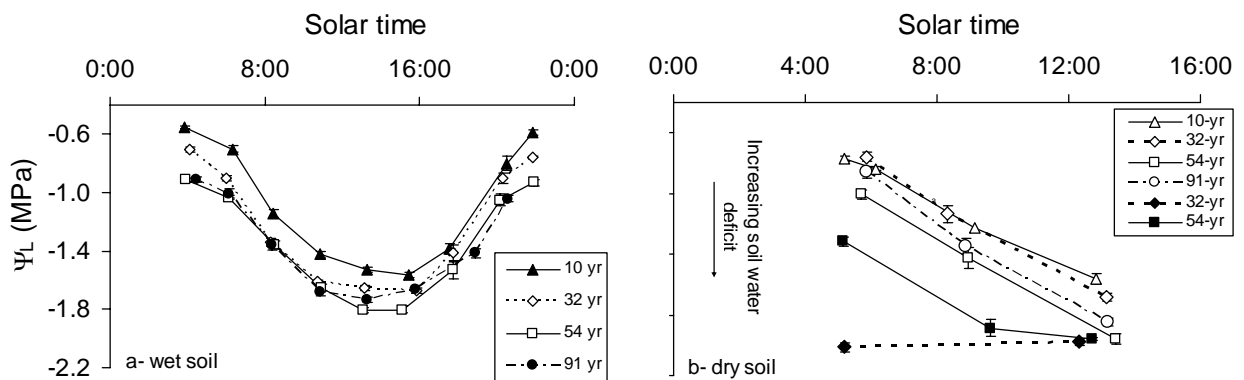
Dans sa synthèse bibliographique sur les relations hydriques chez les plantes, Passioura (1982) a remarqué que la conductance hydraulique de la plante entière était souvent variable, alors que le potentiel hydrique foliaire restait constant pour une large gamme de transpiration. Loustau et al. (1990) et Whitehead et al. (1983) ont par la suite constaté, respectivement chez *Pinus pinaster* (18 ans) et *Pinus radiata* (jeunes plants) et sous différents déficits de pression de vapeur de l'air, que le potentiel hydrique minimum était conservé, indépendamment du taux de transpiration. Dans cette étude, nous avons vérifié si cette homéostasie hydrique était conservée au cours de la croissance et du développement du Pin maritime.

### 2.1 Conductance hydraulique et potentiel hydrique foliaire

L'hypothèse de limitation hydraulique prédit, en tout premier lieu, une diminution de la conductance hydraulique spécifique foliaire ( $K_L$ ) lorsque l'arbre s'approche de sa hauteur maximale. Pour tester cette hypothèse, il est primordial de comparer entre eux des arbres de taille différente, de même provenance, isolés et vivant dans le même environnement, ou bien des peuplements équiens d'âge différent localisés dans un environnement similaire (chronoséquence).

Le suivi de la transpiration des arbres par mesures de flux de sève, couplées à des cinétiques journalières de potentiel hydrique, a permis d'estimer la conductance hydraulique spécifique foliaire ( $K_L$ ). Les résultats mettent clairement en évidence une diminution de celle-ci avec l'augmentation de la hauteur de l'arbre (chapitre III). La valeur de  $K_L$  des grands arbres (28 m) est égale à 37 % de celle des arbres de 8 m. Cette diminution de  $K_L$  a également été observée chez d'autres espèces, comme *Pseudotsuga menziesii* (McDowell et al. 2002b), *Pinus sylvestris* (Mencuccini and Grace 1996b) et *Eucalyptus saligna* (Barnard and Ryan 2003). En règle générale et toutes espèces confondues, la conductance hydraulique spécifique foliaire est négativement reliée à la hauteur de la plante (Mencuccini 2003). Cette diminution peut être attribuée à l'augmentation de la longueur du trajet de l'eau entre le sol et les feuilles (Mencuccini and Grace 1996a, b), à un changement de l'architecture de l'arbre et/ou à une diminution de la perméabilité du xylème (Pothier et al. 1989b).

Par ailleurs, les mesures de potentiel hydrique foliaire montrent d'une part, une évolution journalière synchrone entre les arbres d'âge différent et d'autre part, l'existence d'un seuil minimal critique (-2 MPa), indépendant de l'âge et de la hauteur de l'arbre (Figure 26 et chapitre III). Ce potentiel critique a été mis en évidence uniquement sous fortes contraintes hydriques (sècheresse de l'air et du sol) et s'avère proche du seuil de cavitation mesuré sur Pin maritime par Cochard (-2.2 MPa, données non publiées). Sur sol humide, la différence de potentiel gravitationnel liée à la hauteur de l'arbre provoque une différence systématique de potentiel hydrique entre les arbres de hauteur différente (Figure 26a). Lors de telles journées, le potentiel hydrique minimum mesuré ( $\Psi_{Lm}$ ) ne correspond pas au potentiel critique ( $\Psi_{Lc}$ ).



**Figure 26.** Cinétiques journalières de potentiel hydrique foliaire ( $\Psi_L$ ) mesurées sur sol humide (a) et sur sol sec (b), lors de 9 campagnes de mesures menées dans chaque peuplement. Les points représentent les moyennes de plusieurs journées de mesures et les barres correspondent aux erreurs standards.

Pour maintenir un flux d'eau élevé, avec une conductivité plus faible, un des mécanismes de compensation consiste à augmenter la différence de potentiel entre le sol et les feuilles ( $\Delta\Psi_{S-L}$ ). Or, le seuil critique de potentiel hydrique étant identique entre les arbres de hauteur différente,  $\Delta\Psi_{S-L}$  est contraint et demeure constant. Dans la littérature, certains auteurs ont montré que les grands arbres atteignent des valeurs de potentiel hydrique plus négatives et supposent que ces derniers pourraient supporter des tensions xylémiennes supérieures. Or, ces conclusions s'appuient sur des données acquises sans stress hydrique (Barnard and Ryan 2003; McDowell et al. 2002b; Phillips et al. 2002), lorsque le potentiel minimum de la journée n'est pas forcément égal au potentiel critique. Augmenter la différence de potentiel sol-feuille (mécanisme de compensation) serait coûteux pour l'arbre car : (i) soit il augmente le risque de cavitation et réduit ainsi la capacité de l'appareil conducteur à transporter l'eau (Tyree and Sperry 1988); (ii) soit il implique la fabrication de trachéides plus résistants à la cavitation, ou la mise en place d'un réseau vasculaire plus

ramifié optimisant la conductance hydraulique et protégeant de la cavitation. Toutefois, si les trachéides embolisées sont re-remplies pendant la nuit (Holbrook et al. 2001), alors la redondance des vaisseaux, chez les arbres de grand diamètre, donne un réel bénéfice à faible coût. Un futur objectif serait de quantifier l'importance de la structure du xylème en terme de coût de carbone et de profit net de carbone, via les échanges gazeux.

## 2.2 Mécanismes à l'origine de l'équilibre hydrique fonctionnel

Afin de maintenir un équilibre hydrique fonctionnel, des mécanismes dits de compensation (voir introduction générale) doivent intervenir pour compenser l'effet de la hauteur (Becker et al. 2000). Notre approche se différencie de celle originalement proposée par Ryan and Yoder (1997), dans la mesure où nous considérons ici la régulation stomatique comme un phénomène de compensation sur lequel l'arbre peut jouer pour maintenir une homéostasie hydraulique, au même titre que les changements structuraux ( $A_L : A_S$ , allocation vers les racines,  $\Delta\Psi$  et  $k_s$ ).

### 2.2.1 Ajustements hydrauliques

Pour conserver une intégrité hydraulique, l'allocation de carbone peut être modifiée au cours de la vie de l'arbre, favorisant la surface transpirante ou la surface conductrice. Dans notre chronoséquence, nous avons effectivement constaté une diminution prononcée du rapport surface foliaire/surface d'aubier (55 %) avec l'augmentation de la hauteur de l'arbre (chapitre III). Cependant, ce changement de structure ne compense pas entièrement l'effet de la hauteur sur la conductance hydraulique ( $K_L$ ), qui comme nous venons de le voir, diminue significativement chez les grands arbres. Cette diminution de  $A_L : A_S$ , lors de la croissance en hauteur de l'arbre, est observée chez un grand nombre d'espèces (McDowell et al. 2002a). Celle-ci est attribuée à l'augmentation des contraintes hydrauliques (Becker et al. 2000; McDowell et al. 2002b; Meinzer et al. 1997; Schafer et al. 2000). Toutefois, à notre connaissance, trois espèces (*Picea abies*, *Picea balsamea* (Köstner et al. 2002) et *Quercus garryana* (Phillips et al. 2003)) se distinguent, en présentant une augmentation de  $A_L : A_S$ , qui reste inexpiquée.

Un deuxième mécanisme pouvant compenser l'augmentation de hauteur est la perméabilité du bois d'aubier. Elle n'a pas été mesurée dans cette étude, mais l'utilisation d'un modèle hydraulique simple (chapitre III) suggère que la conductivité hydraulique spécifique du xylème,  $k_s$ , ne change pas avec l'augmentation de la hauteur de l'arbre. Peu d'informations sont disponibles sur les changements à long terme des propriétés fonctionnelles du xylème. La perméabilité du bois d'aubier peut augmenter avec l'âge de l'arbre, grâce à l'augmentation du diamètre et de la longueur des trachéides (Pothier et al. 1989a; Pothier et al. 1989b). Néanmoins, la perméabilité de l'aubier peut diminuer sous l'effet d'un plus grand nombre de cernes de croissance ou d'une plus grande quantité de bois final dans l'aubier (Dye et al. 1991). Par ailleurs, chez les espèces où  $k_s$  est connue pour augmenter parallèlement à la hauteur de l'arbre, ce mécanisme reste insuffisant pour empêcher la chute de la conductivité hydraulique (Mencuccini and Magnani 2000).

Les changements des propriétés hydrauliques des arbres avec l'âge sont confirmés dans de nombreuses études. L'amplitude de ces changements peut dépasser 100 %, en réponse à divers facteurs, montrant la plasticité du système hydraulique et le potentiel d'acclimatation des arbres (Mencuccini 2003). Or, les acclimatations à long terme du système conducteur d'eau en réponse aux contraintes hydrauliques a un coût pour l'arbre. L'augmentation de l'allocation vers les tissus transporteurs d'eau, afin de compenser la croissance en hauteur de l'arbre, a un impact important sur l'adaptation et l'acclimatation des arbres au cours de leur vie. Ainsi, l'accroissement de la biomasse d'aubier peut induire une augmentation des coûts respiratoires pour un même taux d'assimilation. Si cette réallocation est effectuée au détriment de la surface foliaire, elle aura également un effet direct sur l'assimilation de la couronne et de la canopée, réduisant inévitablement les assimilats disponibles pour la croissance et pour l'allocation (Magnani et al. 2000). A l'échelle de l'arbre, on pourrait effectivement se poser la question de savoir si la diminution de  $A_L : A_S$  est due à une augmentation de  $A_S$  ou à une diminution de  $A_L$ . Dans chacun des deux cas, le coût et le gain en carbone de l'arbre vont être affectés et la croissance pourrait l'être négativement. L'augmentation de l'allocation pour la production de bois de xylème fonctionnel se fait-elle aux dépens d'une expansion de la surface foliaire ? Si oui, et dans une perspective évolutive, ne serait-il pas avantageux, pour un arbre, de maintenir plus de feuilles même si la capacité du transport hydraulique n'est pas optimale ? Un rapport  $A_L : A_S$  élevé aurait comme avantage d'augmenter la photosynthèse de la couronne par rapport à la respiration de la biomasse d'aubier, pour une conductance stomatique constante. Cependant, si  $g_s$  diminue dans des

proportions égales à l'augmentation de surface foliaire, le gain de carbone (la croissance) de l'arbre resterait inchangé ou pourrait même diminuer en raison du coût de respiration élevé associé à l'augmentation de la surface de feuille. Néanmoins, conserver ses feuilles au cours du développement du peuplement, aurait un intérêt pour l'arbre pour gérer plus efficacement les nutriments, particulièrement dans un milieu pauvre comme celui des Landes de Gascogne.

### 2.2.2 La régulation stomatique

La fermeture stomatique est le quatrième mécanisme susceptible d'intervenir pour compenser l'augmentation de hauteur. Trois techniques de mesures indépendantes ont été utilisées pour quantifier la conductance stomatique ( $g_s$ ) dans les 4 peuplements de la chronoséquence (chapitre III). A partir de ces résultats, l'analyse de la conductance stomatique d'arbres de hauteur différente nous a permis de conclure à une fermeture stomatique plus marquée chez les arbres de grande taille (chapitre III). La conductance stomatique, réduite de façon importante chez les grands arbres (- 38 %), maintient le potentiel foliaire au dessus du potentiel hydrique minimum. Ces résultats sont en accord avec des études portant sur les flux d'eau en forêt, qui ont également mis en évidence une diminution de la transpiration et de la conductance de la canopée chez les arbres de grandes tailles ou les peuplements âgés (Ryan et al. 2000; Schafer et al. 2000).

La conductance de couronne ( $g_c$ ), estimée par mesures de flux de sève, est plus faible que la conductance stomatique ( $g_s$ ), mesurée au poromètre sur les aiguilles de la partie supérieure du houppier. Cette différence est probablement induite par la stratification de la lumière à l'intérieur du houppier, car  $g_c$  intègre la totalité du feuillage de l'arbre (feuille d'ombre et de lumière). Par contre, la diminution avec l'âge de la conductance stomatique des aiguilles du haut du houppier est proportionnellement plus faible que la diminution de la conductance stomatique de l'ensemble des aiguilles de la couronne. Cet état de fait nous incite à penser que le feuillage non mesuré dans la partie inférieure du houppier aurait une conductance stomatique plus basse chez les grands arbres, alors même que celui-ci semble recevoir plus de lumière en raison du plus faible LAI.

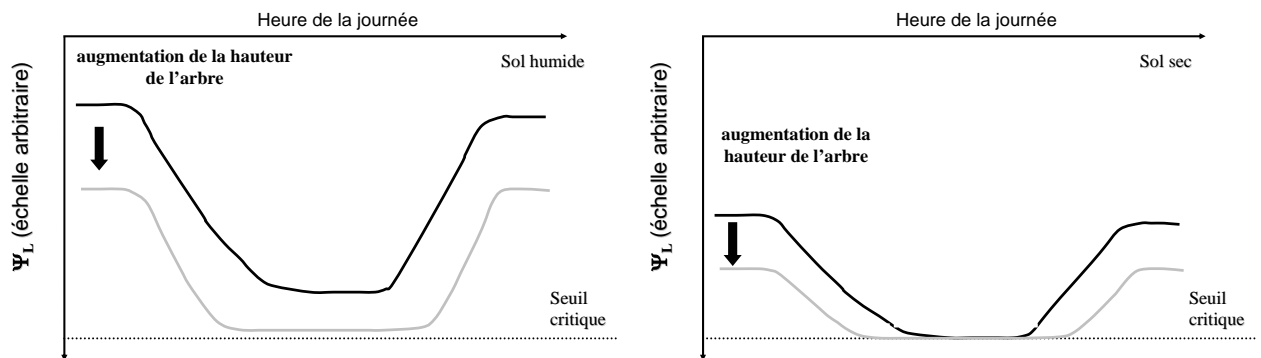
Les ajustements hydrauliques et physiologiques mis en place par l'arbre pour compenser l'effet de la hauteur affectent le bilan de carbone de l'arbre. Chez les grands arbres, la faible conductance stomatique et la surface foliaire réduite diminue l'interception de la lumière et l'efficacité de conversion. Ces réductions sont donc à l'origine d'une partie du

déclin de productivité observée. L'utilisation du formalisme d'Oren et al. (1999), nous a permis de mettre en évidence une sensibilité de la conductance stomatique relativement plus faible chez les grands arbres (chapitre III). Ce phénomène a été démontré dans un premier temps chez des espèces non ligneuses (Comstock and Ehleringer 1993; Morison and Gifford 1983). Plus récemment, Oren et al. (1999) ont montré qu'il est cohérent avec le rôle des stomates dans la régulation de la transpiration et du potentiel hydrique foliaire. Les échanges gazeux et donc l'assimilation du carbone devraient être plus stables sur la gamme de déficit de pression de vapeur de l'air rencontrée par rapport aux arbres de petite taille.

La diminution de conductance stomatique observée lors de notre étude peut être induite par plusieurs facteurs : (i) les valeurs systématiquement plus négatives de potentiel hydrique rencontrées chez les grands arbres sur sol humide, (ii) l'atteinte du seuil minimal critique plus tôt au cours de la journée ou de la saison sur sol sec et (iii) une conductance hydraulique plus faible chez les grands arbres. Pour cela, le fonctionnement stomatique doit être coordonné par le statut hydrique des feuilles et par les propriétés hydrauliques du système vasculaire.

Nous savons que les arbres ferment leurs stomates pour réguler la transpiration afin d'éviter des dommages dans les cellules et les tissus. Plusieurs études ont mis en évidence que les stomates, sous des conditions d'éclairement saturant, répondaient à des facteurs tels que l'humidité de l'air, la teneur en eau du sol et la transpiration. A l'évidence, la réponse des stomates à l'humidité est en fait un feedback négatif de la transpiration, par l'intermédiaire du statut hydrique des cellules associées à l'appareil stomatique (Dewar 1995; Franks et al. 1997). La plupart des espèces arborescentes ont un seuil de potentiel hydrique caractéristique de la fermeture stomatique. Or, ce concept de seuil de potentiel hydrique implique que les stomates répondent à de subtiles variations de statut hydrique foliaire, et que le signal mésophyllien qui déclenche la réponse des cellules de garde est lié d'une façon ou d'une autre au potentiel hydrique xylémien. D'autre part, des études récentes ont révélé une corrélation entre le fonctionnement stomatique et la conductivité hydraulique de l'arbre (Comstock 2002; Meinzer et al. 1997; Meinzer et al. 1999; Meinzer and Grantz 1990; Mencuccini and Grace 1996a; Saliendra et al. 1995; Sperry 2000). Cette corrélation entre les propriétés de la phase vapeur et celles de la phase liquide peut être curviligne (Meinzer et al. 1995; Mencuccini and Comstock 1999) ou linéaire (Hubbard et al. 2001), dans le cas où le comportement de la plante est isohydrique, i.e. le potentiel hydrique est maintenu constant en dépit des changements de la conductance hydraulique. Sperry (2000) conclut même que la décroissance

de la conductivité hydraulique de l'arbre amplifie les effets du stress hydrique sur les feuilles et augmente la sensibilité de la conductance stomatique à la sécheresse. Néanmoins, le rôle du signal hydraulique dans le contrôle du fonctionnement stomatique reste toujours soumis à controverses. Quel est le mécanisme couplant  $g_s$  à  $K_L$  ? Les stomates pourraient répondre à un changement de  $\Psi_L$  causé par la modification de  $K_L$ . Dans ce cas, la régulation stomatique de  $\Psi_L$  proviendrait d'un feedback négatif entre le potentiel hydrique foliaire et la conductance stomatique. Saliendra et al. (1995) et Fuchs and Livingston (1996), ont observé que l'effet feedback entre  $g_s$  et  $\Psi_L$  pouvait expliquer le maintien de  $\Psi_L$  à des valeurs constantes lors de déficit hydrique de sol. De plus, cette réponse stomatique a été observée sans changement de statut hydrique de la feuille entière, mais lors de variations de potentiel hydrique foliaire liées aux variations de transpiration (Comstock and Mencuccini 1998).



**Figure 27.** Evolution théorique de potentiel hydrique foliaire en fonction de la hauteur de l'arbre au cours d'une journée bien ensoleillée (courbe noire = arbre de petite taille ; courbe claire = arbre de grande taille). Sur sol humide, le potentiel hydrique est systématiquement inférieur chez les grands arbres. Sur sol sec, le seuil critique minimise les différences de potentiel entre les arbres de hauteur différente.

Dans notre étude, en l'absence de stress édaphique, la conductance stomatique est constamment inférieure chez les grands arbres et le potentiel hydrique n'atteint jamais le seuil critique de -2 MPa (Figure 26). Sous de telles conditions, la régulation stomatique limite la transpiration, évitant tout dysfonctionnement irréversible de l'appareil vasculaire. Le Pin maritime semble donc suivre une stratégie conservatrice (Jones and Sutherland 1991), en maintenant une marge de sécurité importante, i.e. le potentiel induisant la fermeture stomatique est supérieur au seuil critique susceptible de provoquer de la cavitation xylémienne. Cette stratégie est particulièrement bénéfique chez les espèces sempervirentes ayant un investissement considérable dans la durée de vie de leur feuillage et de leur appareil conducteur de sève, et pour lesquelles la chute de feuilles, lors de stress hydrique, représente un coût important.

Sous forte contrainte hydrique édaphique, si le seuil critique de potentiel hydrique est le signal induisant la fermeture stomatique, alors comme le décrit la Figure 27a, cette dernière devrait se produire plus tôt au cours de la journée pour les grands arbres. Or, malgré notre large jeu de données, une fermeture stomatique plus précoce n'a pas été décelée chez les grands individus lors de stress hydriques marqués. La régulation stomatique ne semble donc pas affectée par le potentiel hydrique d'induction de l'embolie. Lors de périodes de sécheresses, le stress hydrique contraint le potentiel hydrique foliaire à diminuer jusqu'au seuil critique, identique entre les arbres de taille différente, minimisant ainsi les différences de potentiel entre les âges (Figure 27b). Ce phénomène est cohérent avec les faibles différences de conductance stomatique et de transpiration observées pendant ces mêmes périodes (chapitre III et IV). Chez les grands arbres, la chute de potentiel hydrique, induite par le potentiel gravitationnel et/ou la chute de conductance hydraulique, pourrait bien être à l'origine de la baisse de  $g_s$  et de la transpiration, via un feedback entre  $g_s$  et  $\Psi_L$ . La réponse des stomates à la chute de conductance hydraulique préviendrait une diminution disproportionnée de  $\Psi_L$ .

De nombreuses études ont mis en évidence une corrélation entre la conductance stomatique et le fonctionnement hydraulique de l'arbre. Cependant, aucun lien de cause à effet entre ces deux composantes n'a été clairement démontré. Plusieurs variables peuvent être à l'origine de la fermeture stomatique : des variables hydriques telles le potentiel hydrique du sol, la conductance hydraulique du sol, la conductance hydraulique des différents organes et le potentiel hydrique, mais également des variables mécaniques dans la plante. Pour une meilleure compréhension de ce phénomène, des expérimentations seront nécessaires pour découpler le potentiel hydrostatique du xylème et le potentiel hydrique foliaire. Certains auteurs émettent l'hypothèse d'un signal hydraulique provenant de cavitation précoce dans le xylème (Salleo et al. 2000). Par ailleurs, pour s'affranchir des effets de la hauteur (potentiel gravitationnel), il serait intéressant de manipuler la structure hydraulique de l'arbre, par exemple en greffant des branches provenant de hauteur différente à la base du tronc.

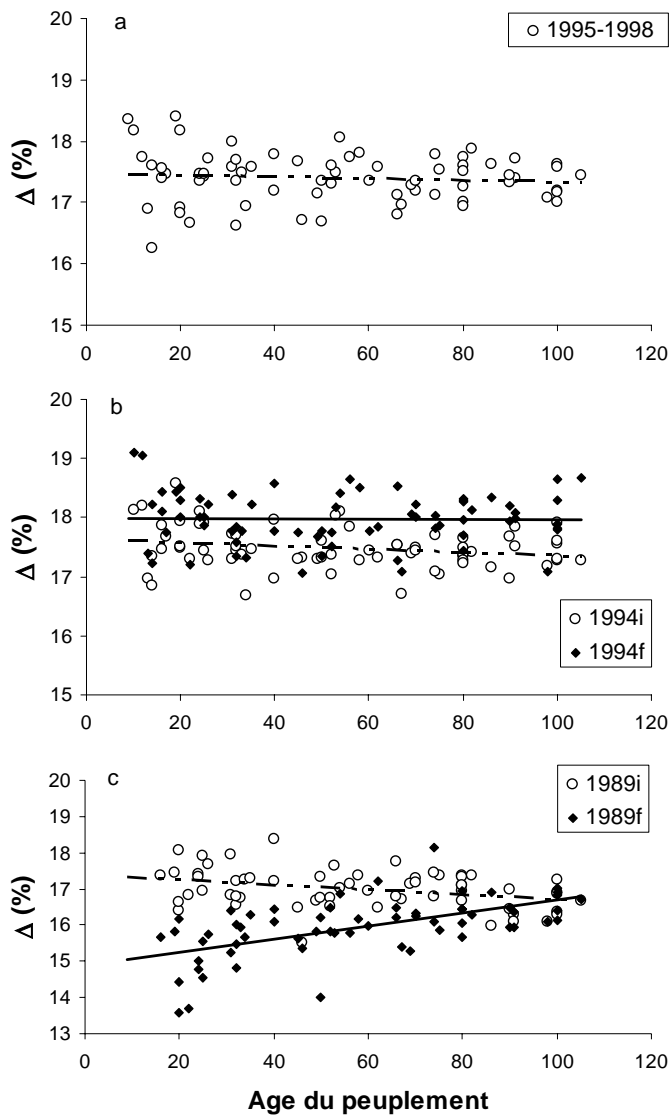
**Lors de son développement, le Pin maritime voit sa conductance hydraulique diminuer en lien avec l'augmentation du trajet de l'eau entre le sol et les feuilles. Pour maintenir une homéostasie hydrique fonctionnelle, la croissance en hauteur conduit, à une réduction de la conductance stomatique qui limite la cavitation xylémienne, et à une augmentation de leur surface conductrice par rapport à leur surface transpirante ( $A_S$  :**



$A_L$ ), qui minimise l'effet de la hauteur sur  $K_L$ . Cette réduction de  $g_s$  a également été observée avec l'augmentation de la hauteur de l'arbre chez *Pinus ponderosa* (Hubbard et al. 1999; Ryan et al. 2000), *Quercus garryana* (Phillips et al. 2003), *Fagus sylvatica* (Schafer et al. 2000), *Pinus sylvestris* (Mencuccini and Grace 1996a) et peut-être chez *Pseudotsuga menziesii* (McDowell et al. 2002b). Par ailleurs, le coût en carbone de l'ajustement hydraulique (diminution de  $A_L : A_S$ ) va également entraîner une diminution de la productivité. De ce point de vue, l'augmentation de hauteur est donc un désavantage pour l'arbre, accentuant le stress hydrique foliaire et limitant le GPP. Nos résultats confirment que la contrainte hydraulique paraît être la cause d'une diminution de photosynthèse (hypothèse  $H_{ii}(a)$ ) dans de nombreux écosystèmes forestiers.

### 2.3 Extension à une chronoséquence de 70 peuplements

Peu d'informations sont disponibles sur les changements de l'efficacité d'utilisation de l'eau (WUE) au cours du développement de l'arbre. La majorité des études sur cet indicateur s'est intéressée aux effets du stress hydrique. Il a été montré sur des plants de Pin maritime en pot que, lors d'un stress hydrique, la réduction de croissance est accompagnée d'une augmentation de WUE (Guehl et al. 1995). La limitation hydraulique que nous avons mise en évidence chez le Pin maritime se traduit par une chute de conductance stomatique. Son effet sur les stomates est comparable à celui d'un stress hydrique. Les arbres âgés, soumis à une limitation hydraulique du fait de leur grande dimension, devraient moins discriminer le  $^{13}\text{C}$ , et la cellulose du bois devrait donc présenter de plus faible valeur de  $\Delta$  (e.g., (Farquhar et al. 1989).



**Figure 28.** Variations de la discrimination isotopique,  $\Delta$ , de la cellulose des cernes en fonction de l'âge du peuplement. Ces analyses ont été réalisées sur, a) les cernes de quatre années de pluviométrie homogène (1995-1998,  $P_1=1068 \pm 47$  mm), b) les cernes d'une année humide (1994,  $P_1=1170$  mm) et c) les cernes d'une année sèche (1989,  $P_1=668$  mm). Pour les années extrêmes, les cernes ont été séparés en bois initial (noté i) et bois final (noté f).

L'analyse de  $\Delta$  pour 4 années d'humidité moyenne (1995-1998) montre une variabilité plus importante chez les jeunes peuplements.  $\Delta$  oscille entre 16.2 et 18.4 ‰ contrairement aux peuplements âgés qui ont une faible variance (Figure 28a). Les valeurs de discrimination sont similaires entre l'année 1994 (bois initial et bois final confondus) et le pool d'années 1995-1998. Il en est de même pour le bois initial des années 1994 et 1989. La discrimination dans le bois initial semble donc moins affectée par le niveau de pluviométrie de l'année (environ 17.5 ‰), contrairement à celle du bois final qui montre des résultats très différenciés entre ces deux années extrêmes. Porté and Loustau (2001) ont effectivement montré que le bois initial

est influencé par les conditions climatiques de l'année précédente, alors que le bois final reflète bien les conditions de l'année en cours.

Nos résultats ne montrent un effet de l'âge sur la discrimination du carbone et l'efficacité d'utilisation de l'eau, que pour le bois final de l'année sèche (1989f) (Figure 28). Aucune différence n'est visible entre la phase juvénile et la phase mature, comme c'est le cas chez *Fagus sylvatica* (Duquesnay et al. 1998) ou encore avec l'augmentation de la taille de l'arbre en réponse à une plus faible conductivité hydraulique (Hubbard et al. 1999; Panek 1996). Lors de l'année 1989, où l'été fût extrêmement sec (Figure 28c), nous observons de plus fortes différences de  $\Delta$  entre le bois initial et final chez les individus de petite taille, alors que cette différence est quasi nulle chez les grands arbres. Ces résultats sont cohérents avec les mesures de flux d'eau (chapitre III et IV), qui ont mis en évidence une plus forte sensibilité de la transpiration chez les arbres de petite taille alors que les grands arbres conservent un taux de transpiration quasi constant.

Néanmoins, dans les cernes mis en place au cours des années où le déficit hydrique du sol est nul ou faible (1994 et 1995-98), la discrimination isotopique du carbone est identique quelle que soit l'âge ou la hauteur de l'arbre. En apparence, ce résultat est contradictoire avec les mesures d'échanges gazeux, de flux de sève et de discrimination effectuées sur notre chronoséquence de quatre peuplements, qui montrent une différence de conductance stomatique liée à la hauteur de l'arbre, quelles que soient les conditions de déficit en eau du sol. L'évolution simultanée de la conductance stomatique et des capacités photosynthétiques pourraient être à l'origine de ce maintien de  $A/g$  et donc de WUE (Miller et al. 2001). Par ailleurs, la discrimination isotopique de la cellulose des cernes annuels représente une valeur de  $A/g$  intégrée sur l'année, et pondérée par l'assimilation nette. Ce signal complexe ne reflète donc pas un fonctionnement stomatique et biochimique à l'échelle instantanée. Prenons l'exemple de périodes de sécheresse extrême, où les stomates restent presque totalement fermés durant la journée empêchant toute assimilation de  $\text{CO}_2$  : dans ce cas précis, l'analyse de la composition isotopique du bois n'est pas représentative temporellement car, durant cette période, le carbone assimilé, qui possède des valeurs de  $\Delta$  très faible, représentera une quantité faible de la cellulose du cerne. De plus, les processus post assimilation affectent la composition isotopique du carbone (Damesin and Lelarge 2003; Ghashghaie et al. 2001). Enfin, Helle and Schleser (2004) ont montré que les variations intra-annuelles de  $\Delta$  dans les cernes ne pouvaient pas être expliquées par les fluctuations simultanées de l'assimilation, mais par des processus post assimilation complexes. Le trajet, entre le houppier de l'arbre

(zone d'assimilation) et la base du tronc (niveau de mesure), est plus long chez les arbres de grande dimension, augmentant ainsi l'impact éventuel de ces processus, par rapport aux arbres de petite taille. Il serait intéressant d'analyser la composition isotopique du carbone des aiguilles, qui reflète un fonctionnement de l'arbre sur une période de temps plus court (de l'ordre de deux ou trois mois).

### **3. IMPACT SUR LA TRANSPIRATION DU PEUPELEMENT**

#### **3.1 Méthodologie**

La détermination du flux de sève brute dans le tronc de l'arbre s'est révélée une méthode bien appropriée à l'analyse comparative des relations hydriques de la plante. L'utilisation du flux mètre radial de Granier a posé la question de l'intégration spatiale de cette mesure et a conduit à l'étude des profils radiaux de densité de flux de sève chez des individus de dimension différente (chapitre II). Les valeurs les plus élevées sont rencontrées dans les cernes les plus jeunes (20 premiers mm de l'aubier), et celles-ci diminuent en s'approchant du centre de l'arbre, pour atteindre zéro dans le bois de cœur. La taille de l'arbre influence également le profil radial de flux de sève, qui diminue plus rapidement chez les arbres à gros diamètre. Pour chaque arbre échantillonné, un facteur de correction (*C*) a été établi permettant de passer de la densité de flux de sève, mesurée uniquement sur la partie périphérique du tronc, au flux d'eau traversant l'arbre entier. De plus, cette étude a permis d'établir une relation linéaire entre le facteur de correction et le diamètre du tronc sous la couronne, permettant ainsi d'estimer la transpiration à l'échelle du peuplement. Nous avons montré que l'estimation de la transpiration, à l'aide d'un seul capteur positionné à la périphérie du tronc, engendre une surestimation de 4, 14, 26 et 47 % respectivement pour les peuplements de 10, 32, 54 et 91 ans. Ces résultats sont confortés par une étude récente, dans laquelle la transpiration journalière d'arbres adultes, mesurée en un seul point, est surestimée de 67 % en moyenne pour plusieurs espèces de pins (Ford et al. 2004).

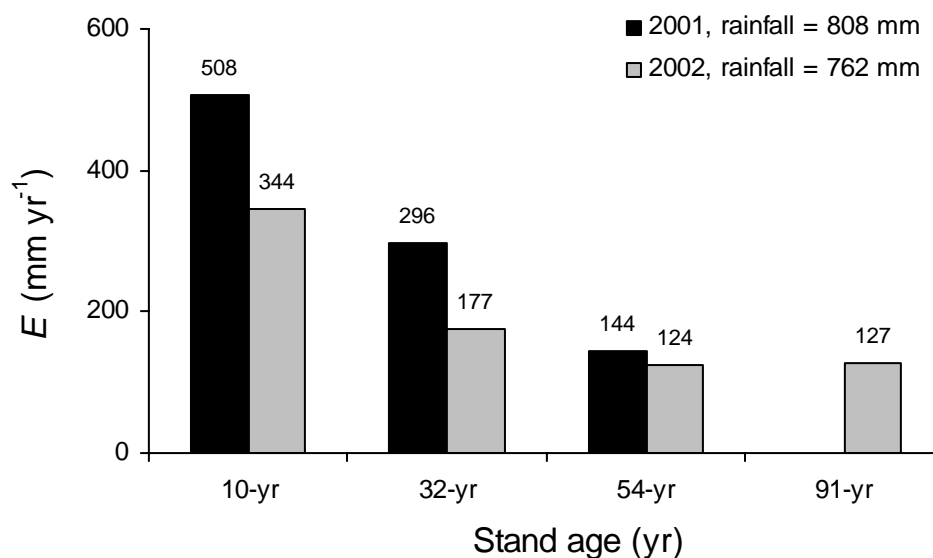
#### **3.2 Evolution de la transpiration sur une révolution forestière**

La transpiration annuelle de chaque peuplement de la chronoséquence a été estimée à partir des mesures de flux de sève, réalisées en continu lors de deux années consécutives (chapitre IV). Nous avons décomposé l'impact de l'effet de l'âge sur le bilan hydrique du peuplement. La transpiration est réduite d'environ 70 % entre le peuplement de 10 ans et les deux peuplements âgés (Figure 29), en raison de la diminution de l'indice foliaire (38 %) et de la transpiration par unité de surface foliaire (55 %). Les effets de l'âge sur la transpiration du peuplement ont déjà été abordés lors d'études précédentes sur d'autres espèces et celles-ci ont abouti à la même conclusion. Dans les études que nous avons recensées, la chute de

transpiration varie entre 40 et 66 % (Alsheimer et al. 1998; Dunn and Connor 1993; Köstner 2001; Vertessy et al. 2001; Zimmermann et al. 2000), à l'exception de celle de Irvine et al. (2002) qui ne met pas en évidence de diminution de la transpiration chez le *Pinus ponderosa*, en raison d'une augmentation inhabituelle du LAI avec l'âge.

### 3.3 Intéraction âge – déficit hydrique du sol

Nous avons mis à profit la sécheresse marquée de 2002, pour étudier l'impact du stress hydrique sur la transpiration en fonction de l'âge du peuplement. La transpiration est plus sensible au stress hydrique chez les jeunes peuplements, qui diminue de 40 % pour le peuplement de 10 ans, alors qu'elle se maintient à une valeur similaire chez le peuplement de 54 ans (Figure 29). Cette différence de régulation entre les peuplements d'âge différent est tout d'abord attribuée à une sensibilité stomatique plus forte chez les jeunes peuplements (paragraphe précédent). Elle peut également être la conséquence d'une chute de feuilles plus importante en réponse au stress hydrique. Cette diminution de la sensibilité stomatique avec l'augmentation de la taille de l'arbre va à l'encontre des conclusions de Sperry, qui avance que la perte de conductivité hydraulique induit une plus grande sensibilité stomatique à l'échelle du rameau. Nous avons écarté l'hypothèse d'un "hydraulic lift" (Dawson 1996), les arbres ayant la même profondeur d'enracinement, quels que soit leur âge, en raison d'une couche d'aliou indurée limitant l'expansion des racines en profondeur.



**Figure 29.** Transpiration annuelle,  $E$ , des quatre peuplements de la chronoséquence, mesurée par flux de sève en 2001 et 2002, deux années relativement sèches (la moyenne annuelle des précipitations de 1992 – 2000 est égale à 1120 mm).

### 3.4 Evapotranspiration totale du peuplement

L'évapotranspiration totale (arbre, sous-bois, sol) ne semble pas être modifiée avec l'âge du peuplement (chapitre IV) : les différences de transpiration des arbres étant compensées par celle du sous-bois. En Lande humide, le LAI du sous-bois est d'autant plus élevé que la forêt est âgée (données non publiées). L'indice foliaire du peuplement diminuant, le rayonnement disponible pour la strate herbacée augmente (Kelliher et al. 1990; Whitehead et al. 1994). La molinie, espèce dominante du sous-bois en Landes humides, s'adapte à l'apparition de trouées en augmentant rapidement sa surface foliaire (Delzon 2000). Loustau and Cochard (1991) ont montré que le sous-bois représente jusqu'à un tiers de la transpiration d'un peuplement de Pin maritime de 19 ans. Nous montrons que durant la période estivale, la diminution de la transpiration de la strate arborescente est compensée par l'augmentation de la transpiration du sous-bois. Des mesures de flux d'eau de l'écosystème entier sur la chronoséquence, par la méthode des corrélations turbulentes, permettraient de vérifier cette première approximation. Dans la littérature, plusieurs études ont abouti à la même conclusion, particulièrement dans les écosystèmes où les arbres ont un faible indice foliaire. En effet, la diminution de la transpiration de la strate arborescente laisse plus d'eau et d'énergie disponibles pour le sous-bois et pour l'évaporation, entraînant une homogénéisation de l'évapotranspiration de l'écosystème au cours de la révolution forestière (Köstner 2001; Mencuccini and Grace 1996b; Roberts 1983).

Dans le contexte pédoclimatique considéré, la réduction de la transpiration des arbres avec l'âge et sa compensation par le sous-bois ne conduisent donc pas à une atténuation du déficit hydrique du sol pendant la saison de croissance. L'effet de réduction de la transpiration des arbres en termes d'économie d'eau (sur le bilan hydrique) est peu important. Sous la condition que le réservoir d'eau utilisé par les arbres ne soit pas sollicité par le sous-étage (autre contexte pédoclimatique avec une profondeur d'enracinement non limitée), la réduction de transpiration conduirait à une éluviation au moins partielle du déficit hydrique pluviométrique. Il serait donc intéressant, pour améliorer la production, de favoriser l'enracinement profond des arbres, par exemple en fragmentant la couche d'aliés lors de la plantation, pour que les strates arborescentes et herbacées ne soient pas en compétition pour la ressource en eau.

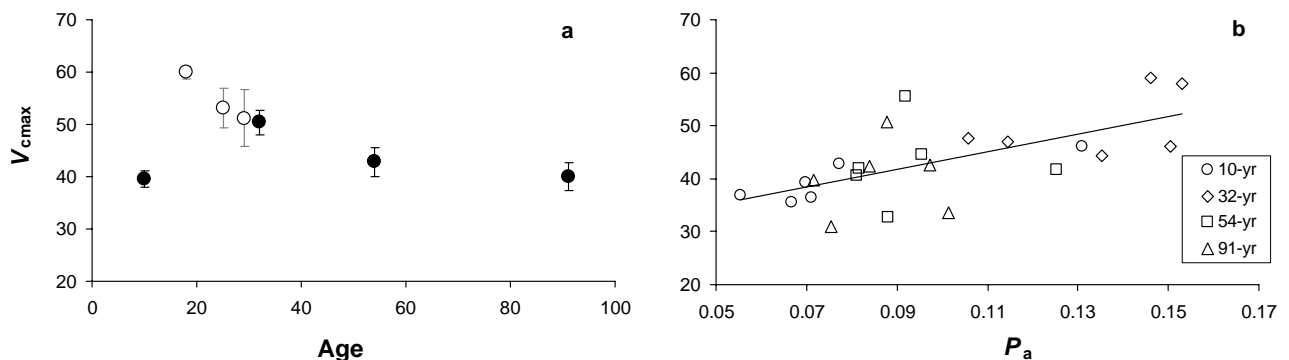
Cette quantification de la transpiration de la canopée et du bilan hydrique de l'écosystème entier, pour différentes classes d'âge, a une importance particulière pour l'intégration spatiale du bilan hydrique à l'échelle du bassin versant ou de la région (Landes de Gascogne) où, pour

mémoire, la forêt de Pin maritime représente environ 80% de la surface et probablement plus en termes d'évapotranspiration. Les variations de conductance stomatique et de transpiration avec la taille et l'âge des arbres devront être intégrées dans les modèles de flux d'eau et de carbone à l'échelle de l'écosystème. Ces résultats montrent également que des modifications de la distribution des classes d'âge des forêts, via le raccourcissement de la durée de révolution, le changement d'utilisation des terres ou l'augmentation du rythme des perturbations, peuvent affecter les flux d'eau et de carbone à l'échelle du paysage.



## 4. TEST DE L'HYPOTHESE DE LIMITATION BIOCHIMIQUE

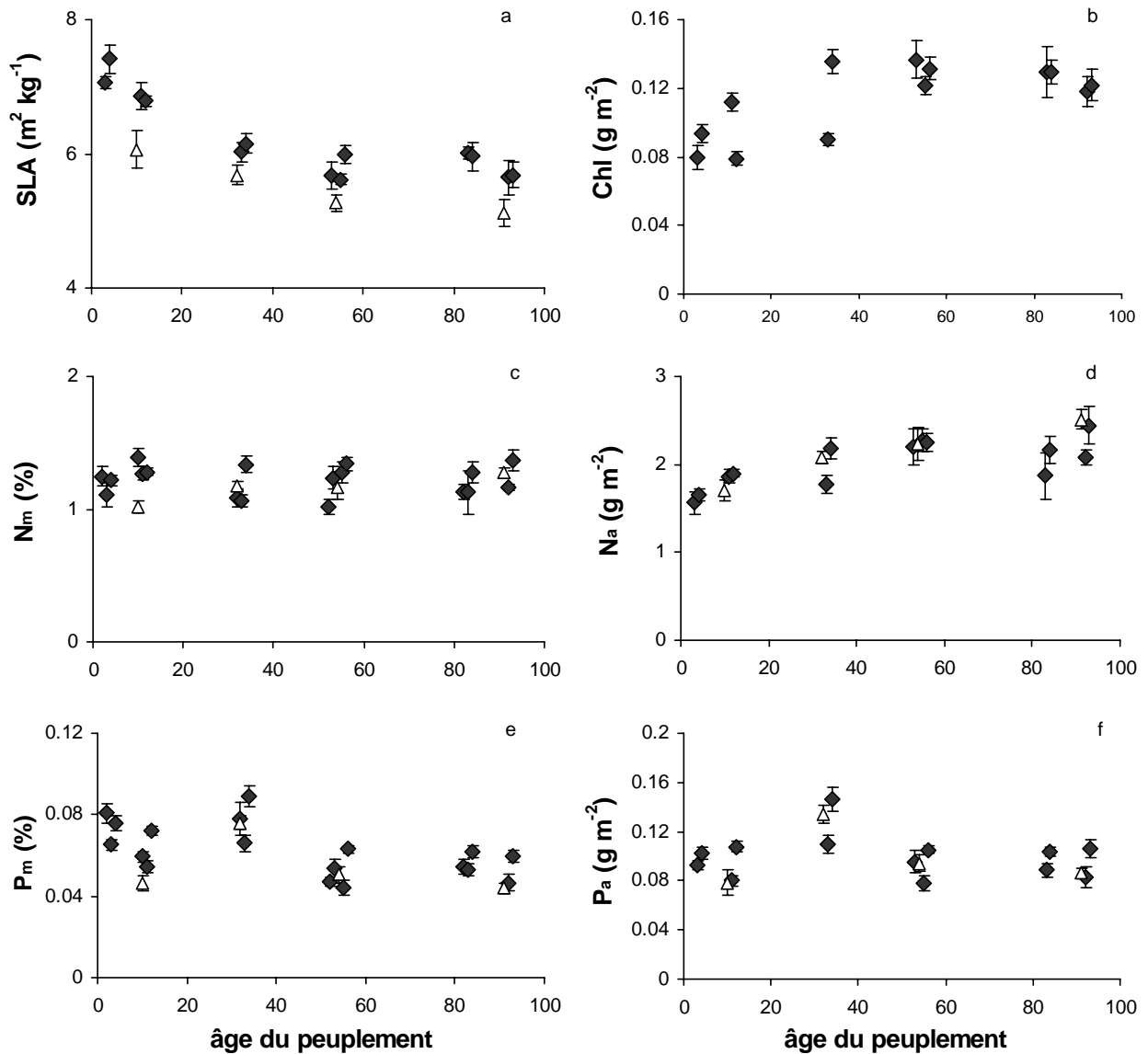
Nous avons cherché à quantifier et interpréter les éventuelles variations avec l'âge des capacités de photosynthèse du feuillage (chapitre VI). Les données acquises à partir de mesures d'échanges gazeux en conditions contrôlées sur notre chronoséquence et sur trois autres peuplements de Pin maritime lors d'expérimentations antérieures dans les mêmes conditions (Figure 30), montrent une augmentation de  $V_{\text{cmax}}$  entre 10 et 18 ans, puis une décroissance chez les peuplements âgés. Dans notre chronoséquence, aucune différence significative n'a été observée entre les peuplements de 10, 54 et 91 ans, alors que le peuplement de 32 ans possède la valeur la plus élevée, proche de celle des peuplements de 18, 25 et 29 ans. Aucune tendance n'a été observée entre  $J_{\text{max}}$  et l'âge des arbres (données non présentées). Nous n'avons pas observé de diminution de la teneur en azote avec l'âge (Figure 31). Cette dernière, exprimée par unité de surface foliaire, augmente même chez les peuplements âgés en raison d'une diminution significative de la surface massique. Ces variations de SLA sont légèrement plus importantes que celles observées à l'intérieur de la couronne par Porté and Loustau (1998) et montrent que l'anatomie des aiguilles change avec l'âge de l'arbre. Ces modifications de l'anatomie peuvent influencer la physiologie de l'aiguille (Pachepsky et al. 1995).



**Figure 30.** (a) Vitesse maximale de carboxylation ( $V_{\text{cmax}}$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) en fonction de l'âge du peuplement. Les symboles pleins représentent les valeurs moyennes obtenues lors de cette étude, les symboles vides proviennent d'études antérieures (Porté and Loustau 1998 et Medlyn et al. 2004) et les barres représentent les erreurs standards. (b) Vitesse maximale de carboxylation ( $V_{\text{cmax}}$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) en fonction de la teneur foliaire en phosphore ( $P_a$ ,  $\text{g m}^{-2}$ ).  $V_{\text{cmax}} = 166.55 P_a + 26.814$  ( $R^2 = 0.41$ ).

La teneur en phosphore par unité de masse ( $P_m$ ) est plus faible dans les peuplements âgés, alors qu'aucune tendance n'est observée avec l'âge lorsqu'elle est exprimée par unité de

surface de feuille ( $P_a$ ). Seul le peuplement de 32 ans possède des teneurs en phosphore significativement supérieures aux autres peuplements. Les variations de  $P_a$  expliquent 41 % de la variance totale de  $V_{cmax}$  (Figure 30) et 82 % des effets peuplements, révélant ainsi une limitation de la photosynthèse par le phosphore. La concentration surfacique foliaire en chlorophylle totale augmente avec l'âge du peuplement pour la même raison que  $N_a$ .



**Figure 31.** Relations entre (a) la surface massique, SLA, (b) la teneur surfacique en chlorophylle totale, Chl, (c) la teneur en azote par unité de masse,  $N_m$ , (d) par unité de surface de feuille,  $N_a$ , (e) la teneur en phosphore par unité de masse,  $P_m$ , (f) par unité de surface de feuille,  $P_a$  et l'âge du peuplement. Ces analyses ont été effectuées en janvier 2000, 2001 et 2002 sur 6 peuplements de Pin maritime (les 4 peuplements de la chronoséquence étudiée, une régénération de 3 ans et un peuplement additionnel de 82 ans) (losanges noirs) et lors des mesures d'échanges gazeux (triangles blancs).

Quelques études se sont intéressées à l'évolution des capacités photosynthétiques au cours de la vie de l'arbre. Une tendance similaire à nos résultats a été observée chez *Pseudotsuga menziesii* (McDowell et al. 2002b), où  $V_{\text{cmax}}$  est égal à  $47.9 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  dans un peuplement de 40 ans et  $27.5$  et  $38.9 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  dans des peuplements de 20 et 250 ans. Par contre, la comparaison des capacités photosynthétiques et celle de la teneur en azote foliaire entre de jeunes et de vieux arbres, a mis en évidence des taux plus faibles chez les arbres âgés (Field and Mooney 1986; Grulke and Miller 1994; Niinemets 2002; Schoettle 1994). Toutefois, des études récentes ont révélé des résultats contradictoires et n'ont pas mis en évidence de différence significative entre arbres d'âge différent (Barnard and Ryan 2003; Hubbard et al. 1999; Phillips et al. 2003; Yoder et al. 1994). Au vu de leur impact important sur l'assimilation foliaire et des résultats controversés dans la littérature, il paraît nécessaire d'approfondir nos connaissances dans ce domaine.

Nous n'avons trouvé aucune relation entre les capacités photosynthétiques ( $V_{\text{cmax}}$  et  $J_{\text{max}}$ ) et la productivité par unité de surface foliaire (Growth efficiency) dans notre chronoséquence. Toutefois, nos résultats ne peuvent réfuter l'hypothèse d'une limitation biochimique (hypothèse *H3ii(b)*) en lien avec un appauvrissement du sol en éléments minéraux. En effet, la compilation de l'ensemble des données disponibles sur Pin maritime (chapitre VI) révèle une augmentation de  $V_{\text{cmax}}$  au début de la vie du peuplement, puis ce dernier diminue après l'âge de 18 ans. Cette tendance demande à être confirmée à l'aide d'un échantillonnage plus important, mais la diminution observée contribue potentiellement au déclin de productivité observé chez les peuplements âgés de notre chronoséquence. Les variations de teneur foliaire en phosphore ( $P_a$ ), corrélées avec  $V_{\text{cmax}}$ , pourraient donc être une des causes du déclin de productivité avec l'âge de la forêt. Même si, nous ne pouvons pas exclure que les variations de teneurs en phosphore dans la chronoséquence ne soient pas liées à la fertilisation. En effet, la phase de régénération du peuplement est généralement précédée d'un "flush" de nutriments apporté par la minéralisation des souches et des rémanents du peuplement précédent (Fox et al. 1986; Vitousek and Matson 1985). La quantité d'éléments ainsi réintroduits relativement à celle qui est perdue, ainsi que la capacité du sol à les conserver, conditionnent un effet possible des nutriments lié à l'âge du peuplement. Si le taux de conservation est faible (cas de l'azote), l'effet sur la productivité est fugace, contrairement à l'effet plus durable du phosphore (mobilité réduite). Dans le cas des peuplements fertilisés au P, l'effet perdure 25-30 ans et la croissance est ensuite limitée par le manque de nutriments (Trichet, communication personnelle). Cet effet est d'autant plus rapide que la croissance est

élevée. Par ailleurs, nous ne pouvons pas écarter le fait qu'une possible diminution de la fertilité du sol joue sur la productivité, via la surface foliaire. Gower et al. (1996a) ont suggéré que l'immobilisation des nutriments dans la matière organique du sol pourrait réduire l'absorption des ions par les racines fines, conduisant à une plus grande allocation vers le système racinaire et un plus faible indice foliaire (Giardina et al. 2003).

## 5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le déclin de productivité aérienne observé chez le Pin maritime dans la chronoséquence étudiée suit la tendance de l'ensemble des forêts du globe. Seuls l'intensité du déclin et l'âge auquel il se produit semblent varier selon le type de biomes : boréal, tempéré ou tropical. Lors de ce travail, nous avons mis en évidence une diminution de productivité primaire nette aérienne (aNPP) causée par le déclin de la photosynthèse de la canopée (GPP). Le déclin de GPP est attribué, en premier lieu, à la réduction de l'indice foliaire du peuplement, réduisant l'interception de la lumière et la surface d'assimilation. Toutefois, la réduction de LAI n'explique que partiellement ce déclin au cours du développement du peuplement. En effet, nous avons mis en évidence une diminution de la productivité en biomasse aérienne par unité de surface foliaire (Growth efficiency) avec l'âge.

L'utilisation combinée de mesures écophysiologicals et dendrométriques réalisées sur notre chronoséquence, a montré un ensemble cohérent permettant de mieux comprendre les réponses physiologiques et structurales des arbres à l'augmentation de hauteur, qui sont à l'origine du déclin de productivité. Elle a permis de mettre en évidence, *in situ*, le maintien d'une homéostasie hydrique fonctionnelle au cours de la vie de l'arbre. Le Pin maritime réalise cette homéostasie, à moyen terme grâce à un ajustement hydraulique (diminution de  $A_L : A_S$ ), et à court terme par régulation stomatique. La diminution des capacités photosynthétiques observée après l'âge de 18 ans, contribue également à la limitation de la productivité par le phosphore chez les peuplements âgés, mais la généralité de ce processus reste à vérifier sur des chronoséquences de fertilité homogène. Les faibles valeurs de conductance stomatique et de  $V_{cmax}$  mesurés chez les grands arbres sont des facteurs potentiels du déclin de la productivité primaire brute. Cependant, lors de cette étude, nous n'avons pas quantifié leur impact sur la photosynthèse de la canopée. A l'issue de ce travail, ce point fera l'objet d'une étude approfondie, pour laquelle nous nous appuyerons sur un modèle écophysiological tel le modèle MuSICA, Annexe I, ou MAESTRA.

La réduction du rapport surface foliaire / surface d'aubier est un mécanisme commun à de nombreuses espèces, qui permet de compenser la perte de conductance hydraulique liée à la croissance de l'arbre en hauteur et à la complexification structurale de son architecture hydraulique. De plus amples d'investigations seront nécessaires pour déterminer la nature des

liens entre la croissance en hauteur de l'arbre, l'allocation du carbone et pour quantifier les répercussions de cet ajustement en termes de coût carboné pour l'arbre. Pour ce qui concerne l'allocation souterraine, il n'existe pas d'étude quantitative disponible sur le Pin maritime. Les données disponibles d'inventaire de biomasse et de rapport partie aérienne sur partie racinaire semblent montrer que l'allocation racinaire vers les racines de structure diminue conjointement avec l'accroissement en biomasse aérienne. Ce constat corrobore les résultats de deux autres études effectuées, pour l'une sur une espèce de pin de l'étage subalpin et pour l'autre, sur l'eucalyptus en milieu tropical pour l'autre. Ces résultats, obtenus sous des climats très contrastés, prouvent qu'une allocation préférentielle vers le système racinaire, quand les arbres vieillissent, reste très discutable. Toutefois, l'allocation racinaire, en particulier dans la mise en place des racines fines, reste la composante la moins connue dans l'étude du cycle du carbone en forêt. Si nous démontrons ici l'impact de la contrainte hydraulique sur la diminution de  $K_L$  et  $g_s$  avec la hauteur de l'arbre, nous n'excluons donc pas totalement d'autres ajustements comme l'allocation vers les racines fines (Magnani et al. 2000) et la mise en place de vaisseaux et de trachéides plus perméables (Pothier et al. 1989a). Afin d'intégrer le coût des réponses tant physiologiques que structurales, il est nécessaire de étudier le bilan de carbone de l'arbre entier, et ne pas restreindre l'hypothèse de limitation hydraulique à une simple diminution de  $K_L$  et  $g_s$  avec la hauteur de l'arbre.

Si le déclin de GPP apparaît ici comme la cause majeure du déclin de productivité aérienne, d'autres processus, comme l'augmentation de la respiration et l'allocation préférentielle vers le système racinaire, pourraient y contribuer. L'hypothèse d'un déséquilibre entre la photosynthèse et la respiration, dû à une augmentation de  $R_a$  au cours du développement du peuplement, n'a pas été examinée lors de ce travail. Même si des études ont conclu qu'il ne pouvait être à l'origine du déclin de productivité chez certaines espèces, nous pensons qu'il devrait être examiné dans le cas du Pin maritime, à partir de l'approche de Bosc et al. (2003), qui ont montré un effet de l'âge des axes ligneux sur leur taux de respiration spécifique ou surfacique.

Nous avons mis en évidence que les deux principaux facteurs limitants dans notre chronoséquence sont l'eau et le phosphore. Au cours du développement de la forêt, cette co-limitation explique une partie du déclin de productivité observée. Dans le contexte des Landes de Gascogne, où le volume de sol prospecté est limité en profondeur par la couche d'alias, notre hypothèse est confirmée par différentes observations empiriques comme la réponse

positive de la croissance aux éclaircies, au débroussaillage ou au regonflage (fertilisation tardive) et ceci, même dans les peuplements de plus de 50 ans. Cette observation prouve que la croissance des arbres est toujours limitée, à cet âge, par les ressources trophiques.

D'un point de vue plus général, nous pensons que le déclin de productivité avec l'âge est la conséquence d'une diminution de la disponibilité locale des ressources au cours du développement en hauteur et en biomasse du peuplement. Le cycle de vie des écosystèmes forestiers comporte une phase de perturbation accompagnant la disparition du peuplement précédent (incendie, tempête, coupe rase, épidémie), qui s'accompagne d'un apport en nutriments au système sol-plante, par mortalité et minéralisation. En même temps que sur le plan hydrique, les arbres, au stade juvénile, disposent d'un accès plus facile ( $K_L$  plus élevée) à des ressources plus abondantes ( $LE/R_n$  est plus faible dans une coupe rase) et ils disposent d'un pool de nutriments plus abondants. Le développement en hauteur et en biomasse du peuplement conduit à un éloignement hydraulique des feuilles vis-à-vis de leur réservoir source : le sol, et génère une diminution du pool de nutriments disponibles, par séquestration des nutriments dans la biomasse et la matière organique du sol.

Les effets de la limitation hydraulique se manifestent de façon plus significative, et éventuellement plus tôt, dans la vie du peuplement, dans des environnements limitants en eau. Elle intervient sans doute de façon plus discrète et avec des délais plus longs dans les milieux à faible demande d'évaporation et fortes précipitations annuelles. En d'autres termes, l'eau semble être le facteur primordial du déclin de productivité dans les milieux tempérés et méditerranéens, alors que la biodisponibilité des nutriments serait prépondérante dans les zones les plus arrosées du globe. Si l'hypothèse de limitation hydraulique explique la hauteur maximale atteinte pour des arbres génétiquement identiques et vivant dans un même environnement, par voie de conséquence on peut s'attendre à trouver les arbres les plus hauts dans les zones les plus humides du globe. Or, le *séquoia sempervirens*, d'une hauteur de 110 m, vit dans l'ouest américain, sous un climat tempéré avec une période de stress hydrique de 3 à 4 mois par an, mais soumis à une forte influence océanique au sein de laquelle les arbres bénéficient d'une humidité de l'air élevée, limitant leur transpiration et par là même, les contraintes hydriques.





## 6. BIBLIOGRAPHIE

- Alsheimer, M., B. Kostner, E. Falge and J.D. Tenhunen, 1998. Temporal and spatial variation in transpiration of Norway spruce stands within a forested catchment of the Fichtelgebirge, Germany. *Annales des Sciences Forestières*. 55: 103-123.
- Assmann, E., 1970. *The Principles of Forest Yield Study*. Pergamon Press, Oxford.
- Assmann, E. and F. Franz, 1965. Vorläufige Fichte-Ertragstafel für Bayern. Preliminary yield table for spruce in Bayern. *Forst Wissenschaftliches Centrallblatt*. 84: 13-43.
- Badger, M.R. and G.J. Collatz, 1977. Studies on the kinetic mechanism of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and oxygenase reactions, with particular reference to the effect of temperature on kinetic parameters. *Carnegie Institute of Washington Yearbook*. 76: 355-361.
- Barbour, M.M. and G.D. Farquhar, 2004. Do pathways of water movement and leaf anatomical dimensions allow development of gradients in (H<sub>2</sub>O)-O-18 between veins and the sites of evaporation within leaves? *Plant Cell & Environment*. 27: 107-121.
- Barnard, H.R. and M.G. Ryan, 2003. A test of the hydraulic limitation hypothesis in fast-growing *Eucalyptus saligna*. *Plant, Cell & Environment*. 26: 1-11.
- Becker, P., F.C. Meinzer and S.D. Wullschleger, 2000. Hydraulic limitation of tree height: a critique. *Functional Ecology*. 14: 4-11.
- Beets, P.N. and D.S. Pollock, 1987. Accumulation and partitioning of dry matter in *Pinus radiata* as related to stand age and thinning. *New Zealand Journal of Forestry Science*. 17: 246-271.
- Bender, M.M., 1968. Mass spectrometric studies of carbon 13 variations in corn and other grasses. *Radiocarbon*. 10: 468-472.
- Berbigier, P. and J.M. Bonnefond, 1995. Measurement and modelling of radiation transmission within a stand of maritime pine (*Pinus pinaster*). *Annales des Sciences Forestières*. 52: 23-42.
- Bernacchi, C.J., C. Calfapietra, P.A. Davey, V.E. Wittig, G.E. Scarascia-Mugnozza, C.A. Raines and S.P. Long, 2003a. Photosynthesis and stomatal conductance responses of poplars to free-air CO<sub>2</sub> enrichment (PopFACE) during the first growth cycle and immediately following coppice. *New Phytologist*. 159: 609-621.
- Bernacchi, C.J., C. Pimentel and S.P. Long, 2003b. In vivo temperature response functions of parameters required to model RuBP-limited photosynthesis. *Plant, Cell & Environment*. 26: 1419-1430.
- Bernacchi, C.J., E.L. Singsaas, C. Pimentel, A.R. Portis, Jr. and S.P. Long, 2001. Improved temperature response functions for models of Rubisco-limited photosynthesis. *Plant, Cell & Environment*. 24: 253-260.
- Binkley, D., F.W. Smith and Y. Son, 1995. Nutrient supply and declines in leaf area and production in lodgepole pine. *Canadian Journal of Forest Research*. 25: 621-628.
- Bogeat-Triboulot, M.B., F. Bartoli and D. Tagu, 2002. Effets interactifs de la mycorhization et de la sécheresse sur la conductivité hydraulique racinaire du Pin maritime. *In Flux d'eau dans la plante* Ed. G.x.e. croissance, Lusignan, pp. 41-53.

- Bond, B.J., 2000. Age-related changes in photosynthesis of woody plants. *Trends in Plant Science*. 5: 349-353.
- Bond, B.J. and M.G. Ryan, 2000. Comment on 'Hydraulic limitation of tree height: a critique' by Becker, Meinzer & Wullschlegel. *Functional Ecology*. 14: 137-140.
- Bosc, A., A. De Grandcourt and D. Loustau, 2003. Variability of stem and branch maintenance respiration in a *Pinus pinaster* tree. *Tree Physiology*. 23: 227-236.
- Brugnoli, E., K.T. Hubick, S.v. Caemmerer, S.C. Wong and G.D. Farquhar, 1988. Correlation between the carbon isotope discrimination in leaf starch and sugars of C3 plants and the ratio of intercellular and atmospheric partial pressures of carbon dioxide. *Plant Physiology*. 88: 1418-1424.
- Cannell, M.G.R. and R.C. Dewar, 1994. Carbon allocation in trees: a review of concepts in modelling. *Advances in Ecological Research*. 25: 59-104.
- Choisnel, E., D. Payen and P. Lamarque, 1987. Climatologie de la zone du projet Hapex-Mobilhy. *In* Direction de la Météorologie nationale, Paris.
- Ciais, P., P.P. Tans, M. Trolier, J.W.C. White and R.J. Francey, 1995. A Large Northern Hemisphere Terrestrial CO<sub>2</sub> Sink Indicated by the <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C Ratio of Atmospheric CO<sub>2</sub>. *Science*. 269: 1098-1101.
- Cochard, H., 1992. Vulnerability of several conifers to air embolism. *Tree Physiology*. 11: 73-83.
- Cochard, H., N. Breda and A. Granier, 1996. Whole tree hydraulic conductance and water loss regulation in *Quercus* during drought: evidence for stomatal control of embolism. *Annales des Sciences Forestières*. 53: 197-206.
- Cochard, H., F. Froux, F.F.S. Mayr and C. Coutant, 2004. Xylem wall collapse in water-stressed pine needles. *Plant Physiology*. 134: 401-408.
- Commeau, P.G. and J.P. Kimmins, 1989. Above- and below-ground biomass and production of lodgepole pine on sites with differing soils moisture regimes. *Canadian Journal of Forest Research*. 19: 447-454.
- Comstock, J. and J. Ehleringer, 1993. Stomatal response to humidity in common bean (*Phaseolus vulgaris*): implications for maximum transpiration rate, water-use efficiency and productivity. *Australian Journal of Plant Physiology*. 20: 669-691.
- Comstock, J.P., 2002. Hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and transpiration. *Journal of Experimental Botany*. 53: 195-200.
- Comstock, J.P. and M. Mencuccini, 1998. Control of stomatal conductance by leaf water potential in *Hymenoclea salsola* (T. & G.), a desert subshrub. *Plant Cell & Environment*. 21: 1029-1038.
- Cooper, A.W., 1981. Above-ground biomass accumulation and net primary production during the first 70 years of succession in *Populus grandidentata* stands on poor sites in northern lower Michigan. *In* Forest succession: concepts and Applications Eds. D.C. West, H.H. Shugart and D.B. Botkin. Springer, pp. 339-360.
- Cruizat, P. and M.T. Tyree, 1990. La montée de la sève dans les arbres. *La Recherche*. 21: 406-414.
- Cruizat, P., 1978. Non-conservative flux circulation of water in the plant: facts and problems. *Houille Blanche*.

- Cocchi, V. and D. Bert, 2003. Wind-firmness in *Pinus pinaster* Ait. stands in Southwest France: influence of stand density, fertilisation and breeding in two experimental stands damaged during the 1999 storm. *Annals of Forest Science*. 60: 209-226.
- Damesin, C. and C. Lelarge, 2003. Carbon isotope composition of current-year shoots from *Fagus sylvatica* in relation to growth, respiration and use of reserves. *Plant Cell & Environment*. 26: 207-219.
- Danjon, F., T. Fourcaud and D. Bert, 2004. Root architecture of undamaged vs. windthrown mature *Pinus pinaster*. *Annals of Forest Science* (submitted).
- Das, A.K. and P.S. Ramakrishnan, 1987. Aboveground biomass and nutrient contents in an age series of Khasi pine (*Pinus kesiya*). *Forest Ecology and Management*. 18: 61-72.
- Davidson, E.A., S.C. Hart and M.K. Firestone, 1992. Internal cycling of nitrate in soils of a mature coniferous forest. *Ecology*. 73: 1148-1156.
- Dawson, T.E., 1996. Determining water use by trees and forests from isotopic, energy balance and transpiration analyses: the roles of tree size and hydraulic lift. *Tree Physiology*. 16: 263-272.
- Day, M.E., M.S. Greenwood and C. Diaz-Sala, 2002. Age- and size-related trends in woody plant shoot development: regulatory pathways and evidence for genetic control. *Tree Physiology*. 22: 507-513.
- Day, M.E., M.S. Greenwood and A.S. White, 2001. Age-related changes in foliar morphology and physiology in red spruce and their influence on declining photosynthetic rates and productivity with tree age. *Tree Physiology*. 21: 1195-1204.
- Dean, T.J., 2001. Potential effect of stand structure on belowground allocation. *Forest Science*. 47: 69-76.
- Deleens, E., L. Barthes and J.L. Prioul, 1993. Modélisation du fractionnement isotopique du flux de C photosynthétique chez les végétaux à métabolisme C3 et C4 et les applications obtenues en chambre d'assimilation. *In Utilisation des isotopes stables pour l'étude du fonctionnement des plantes* Ed. INRA, Paris, France, pp. 43-64.
- Delzon, S., 2000. Photosynthèse de la Molinie (*Molinia coerulea* (L.) Moench) en sous-bois de Pin maritime, aux niveaux de la feuille et du couvert. INA-PG, Paris-sud et Jussieu, Paris, p. 65.
- Dewar, R.C., 1995. Interpretation of an empirical model for stomatal conductance in terms of guard cell function. *Plant, Cell & Environment*. 18: 365-372.
- Dick, J.M.P., R. Smith and P.G. Jarvis, 1990. Respiration rate of male and female cones of *Pinus contorta*. *Trees: Structure and Function*. 4: 142-149.
- Dixon, H.H., 1914. *Transpiration and the ascent of sap in plants*. MacMillan, London.
- Dixon, H.H. and J. Joly, 1894. On the ascent of sap. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London - Series B: Biological Sciences*. 186: 563-576.
- Do, F. and A. Rocheteau, 2002a. Influence of natural temperature gradients on measurements of xylem sap flow with thermal dissipation probes. I. Field observations and possible remedies. *Tree Physiology*. 22: 641-648.
- Do, F. and A. Rocheteau, 2002b. Influence of natural temperature gradients on measurements of xylem sap flow with thermal dissipation probes. II. Advantages and calibration of a noncontinuous heating system. *Tree Physiology*. 22: 649-654.

- Dreyer, E., X.I. Roux, P. Montpied, F.A. Daudet and F.A. Masson, 2001. Temperature response of leaf photosynthetic capacity in seedlings from seven temperate tree species. *Tree Physiology*. 21: 223-232.
- Duchaufour, P., 1995. *Pédologie. Sol, végétation, environnement* Ed. Masson. 324 p.
- Dunn, G.M. and D.J. Connor, 1993. An analysis of sap flow in mountain ash (*Eucalyptus regnans*) forests of different age. *Tree Physiology*. 13: 321-336.
- Duquesnay, A., N. Breda, M. Stievenard and J.L. Dupouey, 1998. Changes of tree-ring delta  $\delta^{13}C$  and water-use efficiency of beech (*Fagus sylvatica* L.) in north-eastern France during the past century. *Plant Cell & Environment*. 21: 565-572.
- Dye, P.Y., B.W. Olbrich and A.G. Poulter, 1991. The influence of growth rings in *Pinus patula* on heat pulse velocity and sap flow measurement. *Journal of Experimental Botany*. 42: 867-870.
- Eichhorn, F., 1904. Beziehungen zwischen Bestandhöhe und Bestandesmasse. *Allg. Forst- u. Jagd-Zeit.* 1: 45-49.
- Eis, S., H. Garman and L.F. Ebell, 1965. Relation between cone production and diameter increment of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco), grand fir (*Abies grandis* (Dougl.) Lindl.), and Western white pine (*Pinus monticola* Dougl.). *Canadian Journal of Botany*. 43: 1553-1559.
- Enebir, L.C., M.E. Devey, A.C. Matheson and M.U. Slee, 1998. Age-related changes in the expression of QTLs for growth in radiata pine seedlings. *Theoretical and Applied Genetics*. 97: 1053-1061.
- Epron, D., R. Liozon and B. Thiebaut, 1995. Photosynthetic characteristics of leaves of the first and second growth flushes of beech saplings (*Fagus sylvatica* L.). In *Photosynthesis: from light to biosphere. Volume V. Proceedings of the Xth International Photosynthesis Congress, Montpellier, France.*
- Ewel, K.C. and H.L. Gholz, 1991. A simulation model of the role of belowground dynamics in a Florida pine plantation. *Forest Science*. 37: 397-438.
- Farquhar, G.D., 1989. Models of integrated photosynthesis of cells and leaves. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London - Series B: Biological Sciences*. 323: 357-367.
- Farquhar, G.D., S.v. Caemmerer and J.A. Berry, 1980. A biochemical model of photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation in leaves of C<sub>3</sub> species. *Planta*. 149: 78-90.
- Farquhar, G.D., J.R. Ehleringer and K.T. Hubick, 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology & Plant Molecular Biology*. 40: 503-537.
- Farquhar, G.D. and J. Lloyd, 1993. Carbon and oxygen isotope effects in the exchange of carbon dioxide between terrestrial plants and the atmosphere. In *Stable isotopes and plant carbon-water relations*. Eds. J.R. Ehleringer, A.E. Hall and G.D. Farquhar. Academic Press Inc, San Diego, pp. 47-70.
- Farquhar, G.D., M.H. O'Leary and J.A. Berry, 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology*. 9: 121-137.

- Farquhar, G.D. and R.A. Richards, 1984. Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes. *Australian Journal of Plant Physiology*. 11: 539-552.
- Farquhar, G.D. and S. von Caemmerer, 1982. Modelling of photosynthetic response to environmental conditions. *In Encyclopedia of plant physiology. New series. Physiological plant ecology. II. Water relations and carbon assimilation* Eds. O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond and H. Ziegler. Springer-Verlag, Berlin Germany, pp. 549-587.
- Farquhar, G.D. and S.C. Wong, 1984. An empirical model of stomatal conductance. *Australian Journal of Plant Physiology*. 11: 191-210.
- Field, C.B. and H.A. Mooney, 1986. The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants. *In On the Economy of Plant Form and Function*. (Ed. T.J. Givnish) C.U. Academic Press, Cambridge, pp. 25-55.
- Ford, C.R., M.-A. McGuire, R.J. Mitchell and R.O. Teskey, 2004. Assessing variation in the radial profile of sap flux density in *Pinus* species and its effect on daily water use. *Tree Physiology*. 24: 241-249.
- Fox, T.R., J.A. Burger and R.E. Kreh, 1986. Effects of site preparation on nitrogen dynamics in the southern piedmont. *Forest Ecology and Management*. 15: 241-256.
- Franklin, J.F. and D.S. DeBell, 1988. Thirty-six years of tree population change in an old-growth Pseudotsuga-Tsuga forest. *Canadian Journal of Forest Research*. 18: 33-639.
- Franklin, J.F. and M.A. Hemstrom, 1981. Aspects of succession in the coniferous forests of the Pacific Northwest. *In Forest succession: Concepts and Applications*. Eds. D.C. West, H.H. Shugart and D.B. Botkin. Springer-Verlag, New York, pp. 212-229.
- Franks, P.J., I.R. Cowan and G.D. Farquhar, 1997. The apparent feedforward response of stomata to air vapour pressure deficit: information revealed by different experimental procedures with two rainforest trees. *Plant, Cell & Environment*. 20: 142-145.
- Ghashghaie, J., J.M. Duranceau, F.W. Badeck, G. Cornic, M.T. Adeline and E. Deleens, 2001. Delta C-13 of CO<sub>2</sub> respired in the dark in relation to delta C-13 of leaf metabolites: comparison between *Nicotiana sylvestris* and *Helianthus annuus* under drought. *Plant Cell & Environment*. 24: 505-515.
- Gholz, H.L. and R.F. Fisher, 1982. Organic matter production and distribution in slash pine (*Pinus elliottii*) plantations. *Ecology*. 63: 1827-1839.
- Giardina, C.P., M.G. Ryan, D. Binkley and J.H. Fownes, 2003. Primary production and carbon allocation in relation to nutrient supply in a tropical experimental forest. *Global Change Biology*. 9: 1438-1450.
- Gibbs, J.W., 1931. The collected Works of J. Willard Gibbs. Longmans, Green and Co., New York. 338 p.
- Gower, S.T., J.G. Isebrands and D.W. Sheriff, 1995. Carbon allocation and accumulation in conifers. *In Resource Physiology of Conifers: Acquisition, Allocation and Utilization*. Ed. E.b.W.K.S.a.T.M. Hinckley. Academic Press, New York, pp. 217-254.
- Gower, S.T., R.E. McMurtrie and D. Murty, 1996a. Aboveground net primary production decline with stand age: potential causes. *Trends in Ecology and Evolution*. 11: 378-382.

- Gower, S.T., S. Pongracic and J.J. Landsberg, 1996b. A global trend in belowground carbon allocation: can we use the relationship at smaller scales? *Ecology*. 77: 1750-1755.
- Gower, S.T., K.A. Vogt and C.C. Grier, 1992. Carbon dynamics of Rocky Mountain Douglas-fir: influence of water and nutrient availability. *Ecological Monographs*. 62: 43-65.
- Granier, A., 1985. A new method of sap flow measurement in tree stems. [French] Une nouvelle methode pour la mesure du flux de sève brute dans le tronc des arbres. *Annales des Sciences Forestières*. 42: 193-200.
- Granier, A., 1987. Sap flow measurement in Douglas-fir stems using a new thermal method. [French] Mesure du flux de sève brute dans le tronc du Douglas par une nouvelle méthode thermique. *Annales des Sciences Forestières*. 44: 1-14.
- Greene, D.F. and E.A. Johnson, 1994. Estimating the mean annual seed production of trees. *Ecology*. 75: 642-647.
- Greenwood, M.S., 1984. Phase change in loblolly pine: shoot development as a function of age. *Physiologia Plantarum*. 61: 518-522.
- Greenwood, M.S. and K.W. Hutchinson, 1993. Maturation as a developmental process. *In* Clonal forestry I: Genetics and Biotechnology. Eds. M.R. Ahuja and W.J. Libby. Springer-Verlag, Berlin, pp. 13-33.
- Grier, C.C., K.M. Lee, N.M. Nadkarni, G.O. Klock and P.J. Edgerton, 1989. Productivity of forests of the United States and its relation to soil and site factors and management practices: a review. General Technical Report Portland Oregon; U.S., Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station. p. 51.
- Grier, C.C., K.A. Vogt, M.R. Keyes and R.L. Edmonds, 1981. Biomass distribution and above- and below-ground production in young and mature *Abies amabilis* zone ecosystems of the Washington Cascades. *Canadian Journal of Forest Research*. 11: 155-167.
- Grulke, N.E. and P.R. Miller, 1994. Changes in gas exchange characteristics during the life span of giant sequoia: implications for response to current and future concentrations of atmospheric ozone. *Tree Physiology*. 14: 659-668.
- Guehl, J.M., A. Nguyen-Queyrens, D. Loustau and A. Ferhi, 1995. Genetic and environmental determinants of water-use efficiency and carbon isotope discrimination in forest trees. *In* Eurosilva: contribution to forest tree physiology Eds. H. Sandermann, Jr. and M. Bonnet-Masimbert. INRA, Paris France, pp. 297-321.
- Guehl, J.M., C. Picon and C. Senequier, 1993. Discrimination isotopique du carbone et efficience d'utilisation de l'eau chez les arbres forestiers. *In* Utilisation des isotopes stables pour l'étude du fonctionnement des plantes. Eds. P. Maillard and R. Bonhomme. INRA Editions, Paris, France.
- Guinaudeau, J., G. Illy, J. Maugé and F. Dumas, 1963. Essai de fertilisation minérale sur Pin maritime à Mimizan. Résultats après la sixième année. *Annales de l'Ecole Nationale des Eaux et Forêt*. 10: 71 p.
- Gurney, K.R., R.M. Law, A.S. Denning, P.J. Rayner, D. Baker, P. Bousquet, L. Bruhwiler, Y. Chen, P. Ciais, S. Fan, I.Y. Fung, M. Gloor, M. Heimann, K. Higuchi, J. John, T. Maki, S. Maksyutov, K.A. Masarie, P. Peylin, M. Prather, B.C. Pak, J. Randerson, J. Sarmiento, S. Taguchi, T. Takahashi and C.W. Yuen, 2002. Towards robust regional estimates of CO<sub>2</sub> sources and sinks using atmospheric transport models. *Nature*. 415: 626 - 630.

- Hackett, W.P., 1985. Juvenility, maturation, and rejuvenation in woody plants. *Horticultural Reviews*. 7: 109-155.
- Harley, P.C. and D.D. Baldocchi, 1995. Scaling carbon dioxide and water vapour exchange from leaf to canopy in a deciduous forest. I. Leaf model parametrization. *Plant, Cell & Environment*. 18: 1146-1156.
- Harley, P.C. and T.D. Sharkey, 1991. An improved model of C3 photosynthesis at high CO<sub>2</sub>: Reversed O<sub>2</sub> sensitivity explained by lack of glycerate reentry into the chloroplast. *Photosynthesis Research*. 27: 169-178.
- Harley, P.C., J.D. Tenhunen and O.L. Lange, 1986. Use of an analytical model to study limitations on net photosynthesis in *Arbutus unedo* under field conditions. *Oecologia*. 70: 393-401.
- Harley, P.C., R.B. Thomas, J.F. Reynolds and B.R. Strain, 1992a. Modelling photosynthesis of cotton grown in elevated CO<sub>2</sub>. *Plant Cell & Environment*. 15: 271-282.
- Harley, P.C., R.B. Thomas, J.F. Reynolds and B.R. Strain, 1992b. Modelling photosynthesis of cotton grown in elevated CO<sub>2</sub>. *Plant, Cell & Environment*. 15: 271-282.
- Harrington, R.A. and J.H. Fownes, 1993. Allometry and growth of planted versus coppice stands of four fast-growing tropical tree species. *Forest Ecology and Management*. 56: 315-327.
- Harrington, R.A. and J.H. Fownes, 1996. Predicting spacing effects on growth and optimal rotations of tropical multipurpose trees. *Agricultural Systems*. 50: 377-390.
- Hart, S.C., G.E. Nason, D.D. Myrold and D.A. Perry, 1994. Dynamics of gross nitrogen transformations in an old-growth forest: the carbon connection. *Ecology*. 75: 880-891.
- Haynes, B.E. and S.T. Gower, 1995. Belowground carbon allocation in unfertilized and fertilized red pine plantations in Northern Wisconsin. *Tree Physiology*. 15: 317-325.
- Helle, G. and G.H. Schleser, 2004. Beyond CO<sub>2</sub>-fixation by Rubisco - an interpretation of C-13/C-12 variations in tree rings from novel intra-seasonal studies on broad-leaf trees. *Plant Cell & Environment*. 27: 367-380.
- Hofgaard, A., 1993. 50 years of change in a Swedish boreal old-growth *Picea abies* forest. *Journal of Vegetation Science*. 4: 773-782.
- Holbrook, N.M., E.T. Ahrens, M.J. Burns and M.A. Zwieniecki, 2001. In vivo observation of cavitation and embolism repair using magnetic resonance imaging. *Plant Physiology*. 126: 27-31.
- Hubbard, R.M., B.J. Bond and M.G. Ryan, 1999. Evidence that hydraulic conductance limits photosynthesis in old *Pinus ponderosa* trees. *Tree Physiology*. 19: 165-172.
- Hubbard, R.M., B.J. Bond, R.S. Senock and M.G. Ryan, 2002. Effects of branch height on leaf gas exchange, branch hydraulic conductance and branch sap flux in open-grown *ponderosa* pine. *Tree Physiology*. 22: 575-581.
- Hubbard, R.M., M.G. Ryan, V. Stiller and J.S. Sperry, 2001. Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in *ponderosa* pine. *Plant, Cell & Environment*. 24: 113-121.
- Hunt, E.R., Jr., M.B. Lavigne and S.E. Franklin, 1999. Factors controlling the decline of net primary production with stand age for balsam fir in Newfoundland assessed using an ecosystem simulation model. *Ecological Modelling*. 122: 151-164.

- Hutchison, K.W., C.D. Sherman, J. Weber, S.S. Smith, P.B. Singer and M.S. Greenwood, 1990. Maturation in larch. II. Effects of age on photosynthesis and gene expression in developing foliage. *Plant Physiology*. 94: 1308-1315.
- Inskip, W.P. and P.R. Bloom, 1985. Extinction Coefficients of Chlorophyll a and b in N, N-Dimethylformamide and 80% Acetone. *Plant Physiology*. 77: 483-485.
- Irvine, J., B.E. Law, P.M. Anthoni and F.C. Meinzer, 2002. Water limitations to carbon exchange in old-growth and young ponderosa pine stands. *Tree Physiology*. 22: 189-196.
- Janssens, I.A., A. Freibauer, P. Ciais, P. Smith, G.J. Nabuurs, G. Folberth, B. Schlamadinger, R.W.A. Hutjes, R. Ceulemans, E.D. Schulze, R. Valentini and A.J. Dolman, 2003. Europe's terrestrial biosphere absorbs 7 to 12% of European anthropogenic CO<sub>2</sub> emissions. *Science (Washington)*. 300: 1538-1542.
- Jones, H.G. and R. Sutherland, 1991. Stomatal control of xylem embolism. *Plant Cell & Environment*. 14: 607-612.
- Jordan, D.B. and W.L. Ogren, 1984. The CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> specificity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase: dependence on ribulose bisphosphate concentration, pH and temperature. *Planta*. 161: 308-313.
- Juste, C., 1992. Caractéristiques et évolution de la matière organique en sols sableux. *In Etude et mise en valeur des sols sableux de Pologne et de France. Actes du colloque Franco-Polonais*. Eds. J. Chrétien and M. Jamagne. INRA, Orléan-Bordeaux, Octobre 1989, pp. 135-142.
- Kabeda, O., 1991. Aboveground biomass production and nutrient accumulation in an age sequence of *Pinus caribaea* stands. *Forest Ecology and Management*. 41: 237-248.
- Kaufmann, M.R. and M.G. Ryan, 1986. Physiographic, stand and environmental effects on individual tree growth and growth efficiency in subalpine forests. *Tree Physiology*. 2: 47-59.
- Kazimirov, N.I. and R.M. Morozova, 1973. *Biological Cycling of Matter in Spruce Forests of Karelia*. Academy of Sciences, Nauka, Leningrad, Russia.
- Keeling, R.F., S. Piper and M. Heimann, 1996. Global and hemispheric CO<sub>2</sub> sinks deduced from recent atmospheric oxygen measurements. *Nature*. 391: 218-221.
- Kelliher, F.M., D. Whitehead, K.J. McAneney and M.J. Judd, 1990. Partitioning evapotranspiration into tree and understorey components in two young *Pinus radiata* D. Don stands. *Agricultural and Forest Meteorology*. 50: 211-227.
- Keyes, M.R. and C.C. Grier, 1981. Above- and below-ground net production in 40-year-old Douglas-fir stands on low and high productivity sites. *Canadian Journal of Forest Research*. 11: 599-605.
- Kira, T. and T. Shidei, 1967. Primary production and turnover of organic matter in different forest ecosystems of the Western Pacific. *Japanese Journal of Ecology*. 17: 70-87.
- Kolb, T.E. and J.E. Stone, 2000. Differences in leaf gas exchange and water relations among species and tree sizes in an Arizona pine-oak forest. *Tree Physiology*. 20: 1-12.
- Köstner, B., 2001. Evaporation and transpiration from forest in Central Europe - relevance of patch-level studies for spatial scaling. *Meteorology and Atmospheric Physics*. 76: 69-82.



- Köstner, B., E. Falge and J.D. Tenhunen, 2002. Age-related effects on leaf area/sapwood area relationships, canopy transpiration and carbon gain of Norway spruce stands (*Picea abies*) in the Fichtelgebirge, Germany. *Tree Physiology*. 22: 567-574.
- Kull, O. and A. Koppel, 1987. Net photosynthetic response to light intensity of shoots from different crown positions and age in *Picea abies* (L.) Karst. *Scandinavian Journal of Forest Research*. 2: 157-166.
- Lambrot, C. and A. Porte, 2000. Amélioration du protocole d'extraction de la cellulose et de l'hollocellulose du bois: vérification de l'absence d'un effet contaminant sur les valeurs de composition isotopique du carbone dans les cernes de bois. *Cahiers Techniques de l'INRA*. 45: 19-26.
- Landsberg, J.J. and S.T. Gower, 1997. Applications of physiological ecology to forest management. Academic Press, London, NY, Sydney. 354 p.
- Landsberg, J.J., S.D. Prince, P.G. Jarvis, R.E. McMurtrie, R. Luxmoore and B.E. Medlyn, 1997. Energy conversion and use in forests: an analysis of forest production in terms of radiation utilisation efficiency (epsilon). *In* The use of remote sensing in the modeling of forest productivity. Eds. H.L. Gholz, K. Nakane and H. Shimoda. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 273-298.
- Law, B.E., M.G. Ryan and P.M. Anthoni, 1999. Seasonal and annual respiration of a ponderosa pine ecosystem. *Global Change Biology*. 5: 169-182.
- Law, B.E., O.J. Sun, J. Campbell, S.v. Tuyl and P.E. Thornton, 2003. Changes in carbon storage and fluxes in a chronosequence of ponderosa pine. *Global Change Biology*. 9: 510-524.
- Law, B.E., P.E. Thornton, J. Irvine, P.M. Anthoni and S.V. Tuyl, 2001. Carbon storage and fluxes in ponderosa pine forests at different developmental stages. *Global Change Biology*. 7: 755-777.
- Lemoine, B., 1982. Growth and yield of cluster pine or Maritime pine (*Pinus pinaster*). I. searching for a model and method. *Annales des Sciences Forestières*. 39: 321-354.
- Lemoine, B. and N. Decourt, 1969. Yield tables for Maritime pine in the South-east of France. *Revue Forestière Française*. 21: 5-17.
- Lesgourgues, Y., D. Merzeau, L. Cremière and V. Baillères, 1997. Conduite des boisements de Pin maritime sur le plateau landais : itinéraires techniques - pistes pour le futur. *In* De la gestion au développement durable. Actes du IV<sup>ème</sup> colloque Arbora, Bordeaux, 20-21 Octobre 1997, pp. 119-144.
- Leuning, R., 1990. Modelling stomatal behaviour and photosynthesis of *Eucalyptus grandis*. *Australian Journal of Plant Physiology*. 17: 159-175.
- Leuning, R., 1997. Scaling to a common temperature improves the correlation between the photosynthesis parameters  $J_{max}$  and  $V_{cmax}$ . *Journal of Experimental Botany*. 48: 345-347.
- Leuning, R., R.N. Cromer and S. Rance, 1991. Spatial distributions of foliar nitrogen and phosphorus in crowns of *Eucalyptus grandis*. *Oecologia*. 88: 504-510.
- Lewis, J.D., K.L. Griffin, R.B. Thomas and B.R. Strain, 1994. Phosphorus supply affects the photosynthetic capacity of loblolly pine grown in elevated carbon dioxide. *Tree Physiology*. 14: 1229-1244.

- Linder, S. and E. Troeng, 1981. The seasonal course of respiration and photosynthesis in strobili of Scots pine. *Forest Science*. 27: 267-276.
- Liski, J., D. Perruchoud and T. Karjalainen, 2002. Increasing carbon stocks in the forest soils of western Europe. *Forest Ecology and Management*. 169: 163-179.
- Lloyd, J., J. Grace, A.C. Miranda, P. Meir, S.C. Wong, H.S. Miranda, I.R. Wright, J.H.C. Gash and J. McIntyre, 1995. A simple calibrated model of Amazon rainforest productivity based on leaf biochemical properties. *Plant Cell & Environment*. 18: 1129-1145.
- Long, J.N. and F.W. Smith, 1992. Volume increment in *Pinus contorta* var. *latifolia*: the influence of stand development and crown dynamics. *Forest Ecology and Management*. 53: 53-64.
- Loustau, D., M. Ben-Brahim, J.P. Gaudillère and E. Dreyer, 1999. Photosynthetic responses to phosphorus nutrition in two-year-old maritime pine seedlings. *Tree Physiology*. 19: 707-715.
- Loustau, D., P. Berbigier, P. Roumagnac, C. Arruda-Pacheco, J.S. David, M.I. Ferreira, J.S. Pereira and R. Tavares, 1996. Transpiration of a 64-year-old maritime pine stand in Portugal. 1. Seasonal course of water flux through maritime pine. *Oecologia*. 107: 33-42.
- Loustau, D. and H. Cochard, 1991. Use of a portable transpiration chamber for estimating evapotranspiration in the *Molinia caerulea* understorey of a maritime pine stand. [French] Utilisation d'une chambre de transpiration portable pour l'estimation de l'évapotranspiration d'un sous-bois de pin maritime a molinie (*Molinia caerulea* (L.) Moench). *Annales des Sciences Forestières*. 48: 29-45.
- Loustau, D., J.C. Domec and A. Bosc, 1998. Interpreting the variations in xylem sap flux density within the trunk of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.): application of a model for calculating water flows at tree and stand levels. *Annales des Sciences Forestières*. 55: 29-46.
- Loustau, D., A. Granier and F. El-Hadj Moussa, 1990. Seasonal variations in sap flow in a maritime pine stand. [French] Evolution saisonnière du flux de sève dans un peuplement de pins maritimes. *Annales des Sciences Forestières*. 47: 599-618.
- Lundblad, M., F. Lagergren and A. Lindroth, 2001. Evaluation of heat balance and heat dissipation methods for sapflow measurements in pine and spruce. *Annals of Forest Science*. 58: 625-638.
- Magnani, F., M. Mencuccini and J. Grace, 2000. Age-related decline in stand productivity: the role of structural acclimation under hydraulic constraints. *Plant, Cell & Environment*. 23: 251-263.
- Makela, A. and H.T. Valentine, 2001. The ratio of NPP to GPP: evidence of change over the course of stand development. *Tree Physiology*. 21: 1015-1030.
- Martin, P.H. et al., 1998. New Estimate of the Carbon Sink Strength of EU Forests integrating Flux Measurements, Field Surveys, and Space Observations : 0.17-0.35 Gt (C). *Ambio*. 27: 582-584.
- McDowell, N., H. Barnard, B.J. Bond, T. Hinckley, R.M. Hubbard, H. Ishii, B. Kostner, F. Magnani, J.D. Marshall, F.C. Meinzer, N. Phillips, M.G. Ryan and D. Whitehead, 2002a. The relationship between tree height and leaf area:sapwood area ratio. *Oecologia*. 132: 12-20.

- McDowell, N.G., N. Phillips, C. Lurch, B.J. Bond and M.G. Ryan, 2002b. An investigation of hydraulic limitation and compensation in large, old Douglas-fir trees. *Tree Physiology*. 22: 763-774.
- McMurtrie, R.E. et al., 1994. Climatic factors controlling the productivity of pine stands: a model-based analysis. *Ecological Bulletin (Copenhagen)*. 43: 173-188.
- Medlyn, B.E., E. Dreyer, D. Ellsworth, M. Forstreuter, P.C. Harley, M.U.F. Kirschbaum, X.L. Roux, P. Montpied, J. Strassmeyer, A. Walcroft, K. Wang and D. Loustau, 2002. Temperature response of parameters of a biochemically based model of Photosynthesis. II. A review of experimental data. *Plant, Cell & Environment*. 25: 1167-1179.
- Meinzer, F.C., J.L. Andrade, G. Goldstein, N.M. Holbrook, J. Cavelier and P. Jackson, 1997. Control of transpiration from the upper canopy of a tropical forest: the role of stomatal, boundary layer and hydraulic architecture components. *Plant, Cell & Environment*. 20: 1242-1252.
- Meinzer, F.C., G. Goldstein, A.C. Franco, M. Bustamante, E. Iglar, P. Jackson, L. Caldas and P.W. Rundel, 1999. Atmospheric and hydraulic limitations on transpiration in Brazilian cerrado woody species. *Functional Ecology*. 13: 273-282.
- Meinzer, F.C., G. Goldstein, P. Jackson, N.M. Holbrook, M.V. Gutierrez and J. Cavelier, 1995. Environmental and physiological regulation of transpiration in tropical forest gap species: the influence of boundary layer and hydraulic properties. *Oecologia*. 101: 514-522.
- Meinzer, F.C. and D.A. Grantz, 1990. Stomatal and hydraulic conductance in growing sugarcane: stomatal adjustment to water transport capacity. *Plant, Cell & Environment*. 13: 383-388.
- Mencuccini, M., 2003. The ecological significance of long-distance water transport: short-term regulation, long-term acclimation and the hydraulic costs of stature across plant life forms. *Plant, Cell & Environment*. 26: 163-182.
- Mencuccini, M. and J. Comstock, 1999. Variability in hydraulic architecture and gas exchange of common bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars under well-watered conditions: interactions with leaf size. *Australian Journal of Plant Physiology*. 26: 115-124.
- Mencuccini, M. and J. Grace, 1996a. Developmental patterns of above-ground hydraulic conductance in a Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) age sequence. *Plant, Cell & Environment*. 19: 939-948.
- Mencuccini, M. and J. Grace, 1996b. Hydraulic conductance, light interception and needle nutrient concentration in Scots pine stands and their relations with net primary productivity. *Tree Physiology*. 16: 459-468.
- Mencuccini, M. and F. Magnani, 2000. Comment on 'Hydraulic limitation of tree height: a critique' by Becker, Meinzer & Wullschleger. *Functional Ecology*. 14: 135-137.
- Miller, H.G., 1984. Dynamics and nutrient cycling in plantation ecosystems. *In* Nutrition of Plantation Forests. Eds. G.B. Bowen and E.K.S. Nambiar. Academic Press, New York, pp. 53-78.
- Miller, J.M., R.J. Williams and G.D. Farquhar, 2001. Carbon isotope discrimination by a sequence of Eucalyptus species along a subcontinental rainfall gradient in Australia. *Functional Ecology*. 15: 222-232.

- Morison, J.I.L. and R.M. Gifford, 1983. Stomatal sensitivity to carbon dioxide and humidity. A comparison of two C3 and two C4 grass species. *Plant Physiology*. 1: 789-796.
- Murty, D., R.E. McMurtrie and M.G. Ryan, 1996. Declining forest productivity in aging forest stands: a modeling analysis of alternative hypotheses. *Tree Physiology*. 16: 187-200.
- Nabuurs, G.J., M.J. Schelhaas, G.M.J. Mohren and C.B. Field, 2003. Temporal evolution of the European forest sector carbon sink from 1950 to 1999. *Global Change Biology*. 9: 152-160.
- Nadelhoffer, K.J., J.D. Aber and J.M. Melillo, 1985. Fines roots, net primary production, and soil nitrogen availability: a new hypothesis. *Ecology*. 66: 1377-1390.
- Nardini, A. and M.T. Tyree, 1999. Root and shoot hydraulic conductance of seven *Quercus* species. *Annals of Forest Science*. 56: 371-377.
- Nguyen-Queyrens, A., A. Ferhi, D. Loustau and J.M. Guehl, 1998. Within-ring delta 13C spatial variability and interannual variations in wood cellulose of two contrasting provenances of *Pinus pinaster*. *Canadian Journal of Forest Research*. 28: 766-773.
- Nicoll, B.C. and A.J. Dunn, 2000. The effects of wind speed and direction on radial growth of structural roots. *In* The supporting roots of trees and woody plants: form, function and physiology. Ed. A. Stokes. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 219-225.
- Niinemets, U., 2002. Stomatal conductance alone does not explain the decline in foliar photosynthetic rates with increasing tree age and size in *Picea abies* and *Pinus sylvestris*. *Tree Physiology*. 22: 515-535.
- Nishioka, M., 1981. Biomass and productivity of forests in Mt. Mino. *Annu. Rep. Educ. Comm. Mino City*: 149-167.
- Nooden, L.D., 1988. Whole plant senescence. L.D. Nooden and A.C. Leopold (ed.) *In* Senescence and aging in plants. Academic Press, San Diego, CA, p. 281-327.
- Odum, H.T., 1956. Primary production in flowing waters. *Limology and Oceanography*. 1: 102-117.
- O'Leary, M.H., 1981. Carbon isotope fractionation in plants. *Phytochemistry*. 20: 553-567.
- Olsson, U., D. Binkley and F.W. Smith, 1998. Nitrogen supply, nitrogen use, and production in an age sequence of lodgepole pine. *Forest Science*. 44: 454-457.
- O'Neill, J.V. and R.A. Webb, 1970. Simultaneous determination of nitrogen, phosphorus and potassium in plant material by automatic methods. *Journal of the Science of Food & Agriculture*. 21: 217-219.
- Oren, R., J.S. Sperry, G.G. Katul, D.E. Pataki, B.E. Ewers, N. Phillips and K.V.R. Schafer, 1999. Survey and synthesis of intra- and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. *Plant, Cell & Environment*. 22: 1515-1526.
- Pachepsky, L.B., J.D. Haskett and B. Acock, 1995. A two-dimensional model of leaf gas exchange with special reference to leaf anatomy. *Terrestrial ecosystem interactions with global change. Papers submitted to the First Global Change and Terrestrial Ecosystem Science Conference, Woods Hole, Massachusetts, USA, 23-27 May 1994. Journal of Biogeography*. 22: 209-214.

- Panek, J.A., 1996. Correlation between stable carbon-isotope abundance and hydraulic conductivity in Douglas-fir across a climate gradient in Oregon, USA. *Tree Physiology*. 16: 747-755.
- Paquereau, M.M., 1964. Flores et climats post-glaciaires en Gironde. *Actes de la Société Linnéenne de Bordeaux*. 101: 1-156.
- Perala, D.A., 1971. Growth and yield of Black Spruce on organic soils in Minnesota. *US For. Ser. Res. Pap.*, NC-56, Minneapolis.
- Phillips, N., B.J. Bond, N.G. McDowell and M.G. Ryan, 2002. Canopy and hydraulic conductance in young, mature and old Douglas-fir trees. *Tree Physiology*. 22: 205-211.
- Phillips, N., B.J. Bond, N.G. McDowell, M.G. Ryan and A.J. Schauer, 2003. Leaf area compounds height-related hydraulic costs of water transport in Oregon White Oak trees. *Functional Ecology*. 17: 832-840.
- Porté, A., A. Bosc, I. Champion and D. Loustau, 2000. Estimating the foliage area of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) branches and crowns with application to modelling the foliage area distribution in the crown. *Annals of Forest Science*. 57: 73-86.
- Porté, A. and D. Loustau, 1998. Variability of the photosynthetic characteristics of mature needles within the crown of a 25-year-old *Pinus pinaster*. *Tree Physiology*. 18: 223-232.
- Porté, A. and D. Loustau, 2001. Seasonal and interannual variations in carbon isotope discrimination in a maritime pine (*Pinus pinaster*) stand assessed from the isotopic composition of cellulose in annual rings. *Tree Physiology*. 21: 861-868.
- Porté, A., P. Trichet, D. Bert and D. Loustau, 2002. Allometric relationships for branch and tree woody biomass of Maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.). *Forest Ecology and Management*. 158: 71-83.
- Pothier, D., H.A. Margolis, J. Poliquin and R.H. Waring, 1989a. Relation between the permeability and the anatomy of jack pine sapwood with stand development. *Canadian Journal of Forest Research*. 19: 1564-1570.
- Pothier, D., H.A. Margolis and R.H. Waring, 1989b. Patterns of change of saturated sapwood permeability and sapwood conductance with stand development. *Canadian Journal of Forest Research*. 19: 432-439.
- Putz, F., G.G. Parker and R.M. Archibald, 1984. Mechanical abrasion and intercrown spacing. *American Midland Naturalist*. 112: 24-28.
- Raich, J.W. and K.J. Nadelhoffer, 1989. Belowground carbon allocation in forest ecosystems: global trends. *Ecology*. 70: 1346-1354.
- Rebeck, J., K.F. Jensen and M.S. Greenwood, 1992. Ozone effects on the growth of grafted mature and juvenile red spruce. *Canadian Journal of Forest Research*. 22: 756-760.
- Righi, D., 1977. Genèse et Evolution des Podzols et des Sols Hydromorphes des Landes du Médoc. *In Thèse*, p. 144.
- Ritchie, G.A. and J.W. Keeley, 1994. Maturation in Douglas-fir. I. Changes in stem, branch and foliage characteristics associated with ontogenetic aging. *Tree Physiology*. 14: 1245-1259.

- Roberts, J., 1983. Forest transpiration: a conservative hydrological process? *Journal of Hydrology*. 66: 133-141.
- Rood, S.B., S. Patino, K. Coombs and M.T. Tyree, 2000. Branch sacrifice: cavitation-associated drought adaptation of riparian cottonwoods. *Trees-Structure and Function*. 14: 248-257.
- Ruark, G.A. and J.G. Bockheim, 1988. Biomass, net primary production and nutrient distribution for an age sequence of *Populus tremuloides* ecosystems. *Canadian Journal of Forest Research*. 18: 435-443.
- Ryan, M.G., 1991. Effects of climate change on plant respiration. *Ecological Applications*. 1: 157-167.
- Ryan, M.G., D. Binkley and J.H. Fownes, 1997. Age-related decline in forest productivity: pattern and process. *Advances in Ecological Research*. 27: 213-262.
- Ryan, M.G., D. Binkley, J.H. Fownes, C.P. Giardina and R.S. Senock, 2004. An experimental test of the causes of forest growth decline with stand age. *Ecological Monographs* (in press).
- Ryan, M.G., B.J. Bond, B.E. Law, R.M. Hubbard, D. Woodruff, E. Cienciala and J. Kucera, 2000. Transpiration and whole-tree conductance in ponderosa pine trees of different heights. *Oecologia*. 124: 553-560.
- Ryan, M.G., S.T. Gower, R.M. Hubbard, R.H. Waring, H.L. Gholz, W.P. Cropper, Jr. and S.W. Running, 1995. Woody tissue maintenance respiration of four conifers in contrasting climates. *Oecologia*. 101: 133-140.
- Ryan, M.G., S. Linder, J.M. Vose and R.M. Hubbard, 1994. Dark respiration of pines. *Ecological Bulletins*. 43: 50-63.
- Ryan, M.G. and R.H. Waring, 1992. Maintenance respiration and stand development in a subalpine lodgepole pine forest. *Ecology*. 73: 2100-2108.
- Ryan, M.G. and B.J. Yoder, 1997. Hydraulic limits to tree height and tree growth: what keeps trees from growing beyond a certain height. *Bioscience*. 47: 235-242.
- Sage, R.F., 1994. Acclimation of photosynthesis to increasing atmospheric CO<sub>2</sub>: the gas exchange perspective. *Photosynthesis Research*. 39: 351-368.
- Saldarriaga, J.G. and R.J. Luxmoore, 1991. Solar energy conversion efficiencies during succession of a tropical rain forest in Amazonia. *Journal of Tropical Ecology*. 7: 233-242.
- Saliendra, N.Z., J.S. Sperry and J.P. Comstock, 1995. Influence of leaf water status on stomatal response to humidity, hydraulic conductance, and soil drought in *Betula occidentalis*. *Planta*. 196: 357-366.
- Salleo, S., A. Nardini, F. Pitt and M.A.I. Gullo, 2000. Xylem cavitation and hydraulic control of stomatal conductance in laurel (*Laurus nobilis* L.). *Plant, Cell & Environment*. 23: 71-79.
- Schafer, K.V.R., R. Oren and J.D. Tenhunen, 2000. The effect of tree height on crown level stomatal conductance. *Plant, Cell & Environment*. 23: 365-375.
- Schlesinger, W.H., 1991. *Biogeochemistry: an analysis of global change*. Academic Press, San Diego, US.

- Schoettle, A.W., 1994. Influence of tree size on shoot structure and physiology of *Pinus contorta* and *Pinus aristata*. *Tree Physiology*. 14: 1055-1068.
- Scholander, P.F., H.T. Hammel, E.D. Bradstreet and E.A. Hemmingsen, 1965. Sap pressures in vascular plants. *Science*. 148: 339-346.
- Schulze, E.-D., W. Schulze, F.M. Kelliher, N.N. Vygodskaya, W. Ziegler, K.I. Kobak, H. Koch, A. Arneth, W.A. Kusnetsova, A. Sogatchev, A. Issajev, G. Bauer and D.Y. Hollinger, 1995. Aboveground biomass and nitrogen nutrition in a chronosequence of pristine Dahurian *Larix* stands in eastern Siberia. *Canadian Journal of Forest Research*. 25: 943-960.
- Sharkey, T.D., 1985. O<sub>2</sub> - Insensitive Photosynthesis in C<sub>3</sub> Plants. *Plant Physiology*. 78: 71-75.
- Siefritz, F., M.T. Tyree, C. Lovisolo, A. Schubert and R. Kaldenhoff, 2002. PIP1 plasma membrane aquaporins in tobacco: from cellular effects to function in plants. *Plant Cell*. 14: 869-876.
- Slatyer, R.O. and S.A. Taylor, 1960. Terminology in plant- and soil-water relations. *Nature*: 922-924.
- Smith, F.W. and S.C. Resh, 1999. Age-related changes in production and below-ground carbon allocation in *Pinus contorta* forests. *Forest Science*. 45: 333-341.
- Smith, R.F. and M.S. Greenwood, 1997. Effects of cone-induction treatments on black spruce (*Picea mariana*) current-year needle development and gas exchange properties. *Tree Physiology*. 17: 407-414.
- Soderstrom, B., 1991. The fungal partner in the mycorrhizal symbiosis. *In Ecophysiology of Ectomycorrhizae of Forest Trees*. Ed. M. Wallenberg, Falun, Sweden, pp. 5-26.
- Sperry, J.S., 2000. Hydraulic constraints on plant gas exchange. *Agricultural and Forest Meteorology*. 104: 13-23.
- Sperry, J.S., N.N. Alder and S.E. Eastlack, 1993. The effect of reduced hydraulic conductance on stomatal conductance and xylem cavitation. *Journal of Experimental Botany*. 44: 1075-1082.
- Sperry, J.S. and W.T. Pockman, 1993. Limitation of transpiration by hydraulic conductance and xylem cavitation in *Betula occidentalis*. *Plant, Cell & Environment*. 16: 279-287.
- Sperry, J.S. and M.T. Tyree, 1988. Mechanism of water stress-induced xylem embolism. *Plant Physiology*. 88: 581-587.
- Sprugel, D.G., 1984. Density, biomass, productivity, and nutrient-cycling changes during stand development in wave-regenerated balsam fir forests. *Ecological Monographs*. 54: 165-186.
- Steele, M.J., M.P. Coutts and M.M. Yeoman, 1989. Developmental changes in Sitka spruce as indices of physiological age. I. Changes in needle morphology. *New Phytologist*. 113: 367-375.
- Tans, P.P., I.Y. Fung and T. Takahashi, 1990. Observational constraints on the global atmospheric CO<sub>2</sub> budget. *Science*. 247: 1431-1438.
- Tcherkez, G., S. Nogues, J. Bleton, G. Cornic, F.W. Badeck and J. Ghashghaie, 2003. Metabolic origin of carbon isotope composition of leaf dark-respired CO<sub>2</sub> in French bean. *Plant Physiology*. 131: 237-244.

- Turner, J. and J.N. Long, 1975. Accumulation of organic matter in a series of Douglas-Fir stands. *Canadian Journal of Forest Research*. 5: 681-690.
- Tyree, M.T., 1999. Water Relations and Hydraulic Architecture. *In Handbook of Functional Plant Ecology*. Eds. F.I. Pugnaire and F. Valladares. Marcel Dekker, New York, pp. 221-268.
- Tyree, M.T., 2003. Hydraulic limits on tree performance: transpiration, carbon gain and growth of trees. *Trees, Structure and Function*. 17: 95-100.
- Tyree, M.T. and M.A. Dixon, 1986. Water stress induced cavitation and embolism in some woody plants. *Physiologia Plantarum*. 66: 397-405.
- Tyree, M.T. and F.W. Ewers, 1991. Tansley review No. 34. The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist*. 119: 345-360.
- Tyree, M.T., K.J. Kolb, S.B. Rood and S. Patino, 1994. Vulnerability to drought-induced cavitation of riparian cottonwoods in Alberta: a possible factor in the decline of the ecosystem. *Tree Physiology*. 14: 455-466.
- Tyree, M.T. and J.S. Sperry, 1988. Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction caused by dynamic water stress? Answers from a model. *Plant Physiology*. 88: 574-580.
- Tyree, M.T. and J.S. Sperry, 1989. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Plant Physiology & Plant Molecular Biology*. 40: 19-38.
- Valentini, R., G. Matteucci, A.J. Dolman, E.D. Schulze, C. Rebmann, E.J. Moors, A. Granier, P. Gross, N.O. Jensen, K. Pilegaard, A. Lindroth, A. Grelle, C. Bernhofer, T. Grunwald, M. Aubinet, R. Ceulemans, A.S. Kowalski, T. Vesala, U. Rannik, P. Berbigler, D. Loustau, J. Guomundsson, H. Thorgeirsson, A. Ibrom, K. Morgenstern and R. Clement, 2000. Respiration as the main determinant of carbon balance in European forests. *Nature (London)*. 404: 861-865.
- van der Honert, T.H., 1948. Water transport in plants as a catenary process. *Discussions of the Faraday Society*. 3: 146-153.
- Vanninen, P., H. Ylitalo, R. Sievanen and A. Makela, 1996. Effects of age and site quality on the distribution of biomass in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Trees, Structure and Function*. 10: 231-238.
- Vertessy, R.A., F.G.R. Watson and S.K. O'Sullivan, 2001. Factors determining relations between stand age and catchment water balance in mountain ash forests. *Forest Ecology and Management*. 143: 13-26.
- Vitousek, P.M. and P.A. Matson, 1985. Disturbance, nitrogen availability, and nitrogen losses in an intensively managed loblolly pine plantation. *Ecology*. 66: 1360-1376.
- Vitousek, P.M., P.A. Matson and K.v. Cleve, 1989. Nitrogen availability and nitrification during succession: primary, secondary, and old-field seres. *Plant and Soil*. 115: 229-239.
- Vogt, K.A., C.C. Grier, C.E. Meier and R.L. Edmonds, 1982. Mycorrhizal role in net primary production and nutrient cycling in *Abies amabilis* ecosystems in western Washington. *Ecology*. 63: 370-380.
- von Caemmerer, S., 2000. Biochemical Models of Leaf Photosynthesis. *In Techniques in Plant Sciences Series Number 2*. Csiro Publishing. 165 p.



- Walcroft, A.S., W.B. Silvester, D. Whitehead and F.M. Kelliher, 1997. Seasonal Changes in Stable Carbon Isotope Ratios within Annual Rings of *Pinus radiata* Reflect Environmental Regulation of Growth Processes. *Australian Journal of Plant Physiology*. 24: 57-68.
- Waring, R.H. and W.H. Schlesinger, 1985. *Forest ecosystems. Concepts and management*. 340 p.
- Waring, R.H. and W.B. Sylvester, 1994. Variation in foliar  $\delta^{13}\text{C}$  values within the crowns of *Pinus radiata* trees. *Tree Physiology*. 14: 1203-1213.
- Whitehead, D., 1998. Regulation of stomatal conductance and transpiration in forest canopies. *Tree Physiology*. 18: 633-644.
- Whitehead, D., F.M. Kelliher, P.M. Lane and D.S. Pollock, 1994. Seasonal partitioning of evaporation between trees and understorey in a widely spaced *Pinus radiata* stand. *Journal of Applied Ecology*. 31: 528-542.
- Whitehead, D., N.J. Livingston, F.M. Kelliher, K.P. Hogan, S. Pepin, T.M. McSeveny and J.N. Byers, 1996. Response of transpiration and photosynthesis to a transient change in illuminated foliage area for a *Pinus radiata* D. Don tree. *Plant, Cell & Environment*. 19: 949-957.
- Whitehead, D., D.W. Sheriff and D.H. Greer, 1983. The relationship between stomatal conductance, transpiration rate and tracheid structure in *Pinus radiata* clones grown at different water vapour saturation deficits. *Plant Cell & Environment*. 6: 703-710.
- Whittaker, R.H. and G.M. Woodwell, 1967. Surface area relations of woody plants and forest communities. *American Journal of Botany*. 54: 931-939.
- Woo, H.H., W.P. Hackett and A. Das, 1994. Differential expression of a chlorophyll a/b binding protein gene and a proline rich protein gene in juvenile and mature phase English ivy (*Hedera helix*). *Physiologia Plantarum*. 92: 69-78.
- Wullschleger, S.D., 1993. Biochemical Limitations to carbon Assimilation in C3 Plants - A Retrospective Analysis of the A/Ci Curves form 109 Species. *Journal of Experimental Botany*. 44: 907-920.
- Yang, S.D. and M.T. Tyree, 1994. Hydraulic architecture of *Acer saccharum* and *A. rubrum*: comparison of branches to whole trees and the contribution of leaves to hydraulic resistance. *Journal of Experimental Botany*. 45: 179-186.
- Yoda, K., K. Shinozaki, H. Ogawa, K. Hozumi and T. Kira, 1965. Estimation of the total amount of respiration in woody organs of trees and forest communities. *Journal of Biology, Osaka City University*. 16: 15-26.
- Yoder, B.J., M.G. Ryan, R.H. Waring, A.W. Schoettle and M.R. Kaufmann, 1994. Evidence of reduced photosynthetic rates in old trees. *Forest Science*. 40: 513-527.
- Zimmermann, M.H., 1983. *Xylem structure and the ascent of sap*. Springer-Verlag, Berlin. 143 p.
- Zimmermann, R., E.D. Schulze, C. Wirth, E.E. Schulze, K.C. McDonald, N.N. Vygodskaya and W. Ziegler, 2000. Canopy transpiration in a chronosequence of Central Siberian pine forests. *Global Change Biology*. 6: 25-37.



## **ANNEXES**

---

Voir fichier pdf d'annexes...