



HAL
open science

Détermination de la cinétique de la conductance stomatique en réponse à l'absence de lumière bleue chez la fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb. cv. Clarine). Effets transitoires et durables sur la transpiration foliaire.

Romain Barillot

► **To cite this version:**

Romain Barillot. Détermination de la cinétique de la conductance stomatique en réponse à l'absence de lumière bleue chez la fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb. cv. Clarine). Effets transitoires et durables sur la transpiration foliaire.. [Stage] 2009, 20 p. hal-02815632

HAL Id: hal-02815632

<https://hal.inrae.fr/hal-02815632v1>

Submitted on 6 Jun 2020

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

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

Master 2^{ème} année, cohabilité :

Université d'Angers, de Bretagne Occidentale,
de Nantes, de Poitiers, de Rennes 1, de Tours
et Agrocampus Ouest

INRA POITOU-CHARENTES



RAPPORT de STAGE EFFECTUE

par

Romain BARILLOT

au

Centre INRA URP3F, Equipe Ecophysiologie

en vue de l'obtention du

Master 2^{ème} Année STS

Spécialité : Biologie Végétale Intégrative : Gène, Plante, Agrosystème (BioVIGPA)

(Responsable de stage : Ela FRAK, Chargée de recherche INRA)

**DETERMINATION DE LA CINETIQUE DE LA
CONDUCTANCE STOMATIQUE EN REPONSE A L'ABSENCE
DE LUMIERE BLEUE CHEZ LA FETUQUE ELEVEE
(*Festuca arundinacea* Schreb. cv. Clarine).
EFFETS TRANSITOIRES ET DURABLES SUR LA
TRANSPIRATION FOLIAIRE**

Soutenance devant le jury d'examen le 15/06/2009

Table des matières

Glossaire et Abréviations	1
Introduction	2
1- Contexte écologique	2
2- Perception de la qualité lumineuse par les plantes	2
3- Réponses des plantes aux variations de la qualité lumineuse et photomorphogénèse	3
4- Signification écologique des réponses photomorphogénétiques	3
5- Cas particulier du bleu	4
6- Objectifs du stage	5
Matériels et méthodes.....	7
1- Matériel végétal et conditions de croissance	7
2- Mesures des échanges gazeux	7
3- Traitements lumineux	7
4- Protocole expérimental	8
5- Analyse statistique	9
Résultats	10
1- Effets de l'absence de bleu sur la conductance stomatique et la transpiration.....	10
2- Effets de l'absence de bleu sur la photosynthèse	12
3- Effets de l'absence de bleu sur la concentration interne en CO ₂	12
4- Impacts de différents niveaux de <i>Ci</i> sur la réponse stomatique à l'absence de bleu .	13
Discussion	14
1- Réponse des stomates à l'absence de bleu et implication du <i>Ci</i>	15
2- Effets de l'absence de bleu à l'échelle stomatique : un lien avec le contrôle de la croissance foliaire par le bleu <i>via</i> la transpiration ?	17
Conclusion.....	19
Perspectives	19

Glossaire et Abréviations

A: Vitesse d'assimilation du CO₂.

C_i: Concentration intercellulaire en CO₂.

Efficiéce photosynthétique: ce paramètre est une "correction" de la densité de flux de photons de chaque radiation par le rendement quantique relatif.

g_s: Conductance stomatique.

MAR: Morphogenetically Active Radiation (Radiations Morphogénétiquement Actives). Définit les domaines spectraux impliqués dans le contrôle de la morphogénèse et de l'architecture de la plante : Bleu (350-500 nm) et ratio Rouge clair (600-700 nm) / Rouge Sombre (700-800 nm).

PAR: Photosynthetically Active Radiation (Radiations Photosynthétiquement Actives). Définit le domaine spectral (400-700 nm) actif pour la photosynthèse.

Photoéquilibre des phytochromes (ϕ_c): Les phytochromes présentent deux formes interconvertibles : Pr (660 nm) et Pfr (730 nm) correspondant à des isoméries géométriques sur le chromophore. La forme active du phytochrome sur la morphogénèse des plantes est le Pfr et son action est fonction de sa concentration relative caractérisée par le photoéquilibre ϕ_c .

Ratio RC / RS (ζ): l'état du phytochrome est aussi souvent caractérisé par un paramètre appelé Zéta (ζ). Ce paramètre correspond au rapport entre les flux de photons dans le Rouge Clair (655-665 nm) et dans le Rouge Sombre (725-735 nm) : rapport RC/RS. Ce paramètre est simplifié puisqu'il ne prend en compte que les régions maximales du spectre d'absorption du phytochrome.

Tr: Vitesse de transpiration foliaire.

VPD: Vapour Deficit Pressure (Déficit de Pression de Vapeur). Ce paramètre correspond à la différence entre la pression de vapeur saturante à la température du végétal et la pression de vapeur d'eau de l'air ambiant.

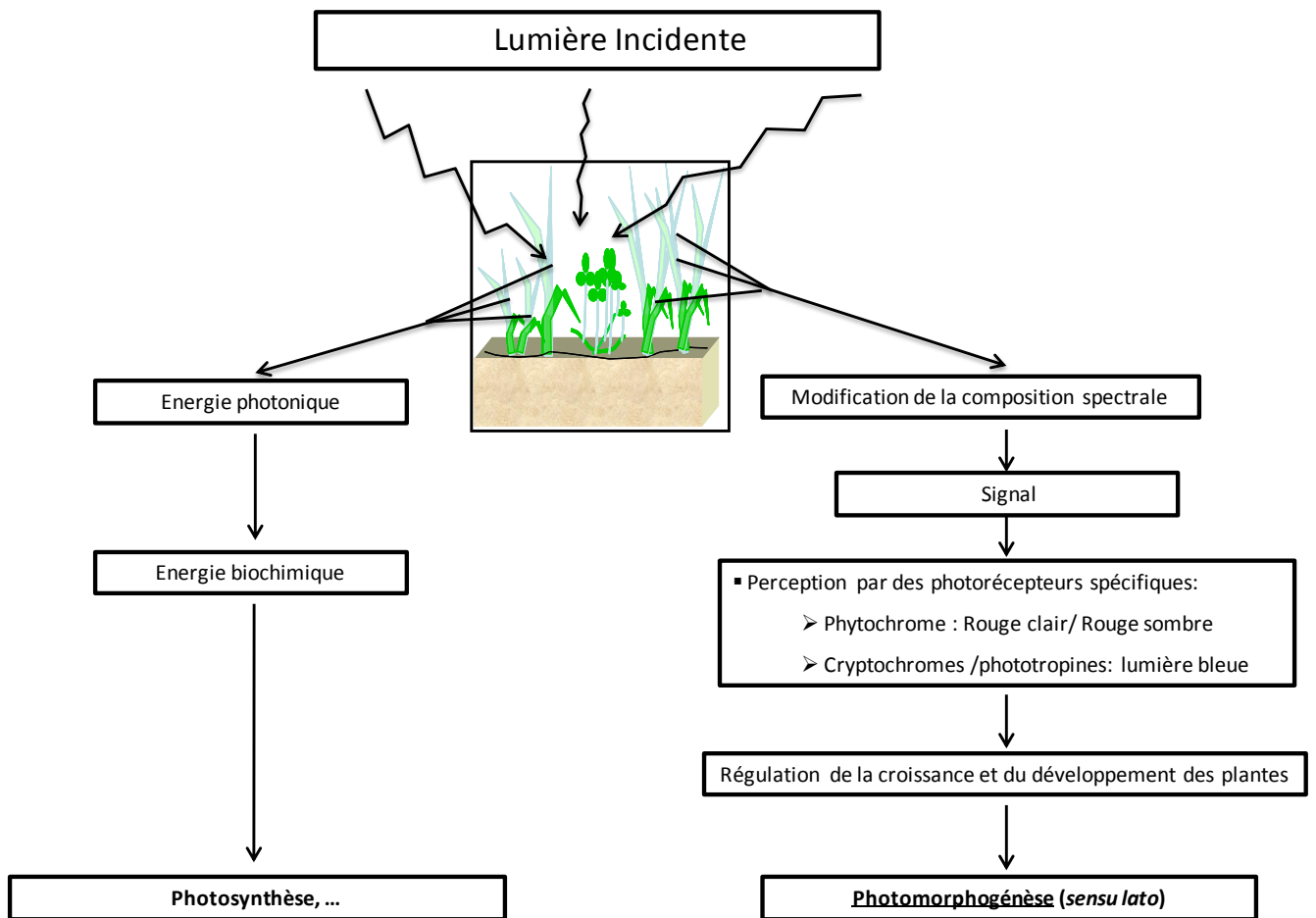


Figure 1 : Principales voies d'utilisation de la lumière par les plantes.

La lumière incidente est une source d'énergie indispensable aux végétaux qui permet notamment la réalisation de la photosynthèse. Toutefois la lumière peut également être considérée comme une source de signaux, particulièrement lorsque des variations de la qualité lumineuse surviennent *i.e.* modification de la composition spectrale (principalement dans le bleu et le rouge). Ces signaux sont perçus par des photorécepteurs particuliers : phytochromes, en ce qui concerne le ratio Rouge Clair/Rouge sombre et cryptochromes/phototropines pour le niveau de bleu. La perception de ces signaux déclenche ensuite une cascade de réactions qui se traduisent par une régulation de la croissance et du développement des plantes : photomorphogénèse.

Introduction

1- Contexte écologique

Au cours du développement des plantes, le phylloclimat (Chelle, 2005), *i.e.* le microclimat perçu au niveau des feuilles, varie fortement. Ces variations peuvent être reliées, d'une part, aux interactions géométriques qui surviennent entre le rayonnement incident et les phytoéléments de la canopée. Ces interactions vont alors créer des zones d'ombre au sein d'une même plante (dues aux couches de feuilles supérieures) et/ou entre plantes (dues à une plante voisine plus grande). D'autre part, les variations du phylloclimat résultent également des propriétés optiques des feuilles (Smith, 1982) *i.e.* leurs pigments photosynthétiques (chlorophylles) qui absorbent principalement dans les longueurs d'onde du bleu et du rouge. Les zones d'ombrage sous couvert végétal sont ainsi également caractérisées par, i) une diminution du ratio Rouge Clair (600-700nm)/Rouge Sombre (700-800nm), ii) une diminution du Rayonnement Photosynthétiquement Actif (PAR, 400-700 nm) incluant, iii) une diminution de la majeure partie du bleu (350-500 nm) (Thompson et Harper, 1988).

2- Perception de la qualité lumineuse par les plantes

On observe ainsi des variations de la qualité de la lumière dues aux fluctuations du niveau de rouge et de bleu. Ces modifications spectrales sont perçues par les végétaux (Smith, 1982) qui, outre leurs structures de conversion de l'énergie lumineuse en biomasse, ont également mis en place des structures capables de caractériser l'environnement lumineux (Figure 1). Les variations du niveau de rouge et de bleu constituent ainsi des signaux perçus par les plantes *via* des photorécepteurs spécifiques. Généralement, trois classes de photorécepteurs sont distinguées: i) le phytochrome, impliqué dans la perception du ratio Rouge Clair/ Rouge Sombre, ii) les cryptochromes (famille) et iii) les phototropines, deux systèmes de photoperception agissant comme des compteurs de photons (Smith, 1982) dans le domaine des ultraviolets A (UVA) et du bleu. Les cryptochromes sont considérés comme actifs dans le domaine spectral compris entre 390 et 530 nm (Ahmad, 1999, Ahmad *et al.*, 2002) alors que les phototropines montrent un pic d'activité à 450 nm (Christie *et al.*, 1998). En pratique, les signaux appartenant aux UVA et au bleu sont généralement caractérisés par l'intégration du flux de photons des longueurs d'onde comprises entre 350–500 nm (Varlet-Grancher *et al.*, 1993), bien que les deux types de photorécepteurs soient impliqués dans des réponses photo-dépendantes différentes. Il existe également de nombreuses autres molécules ayant une

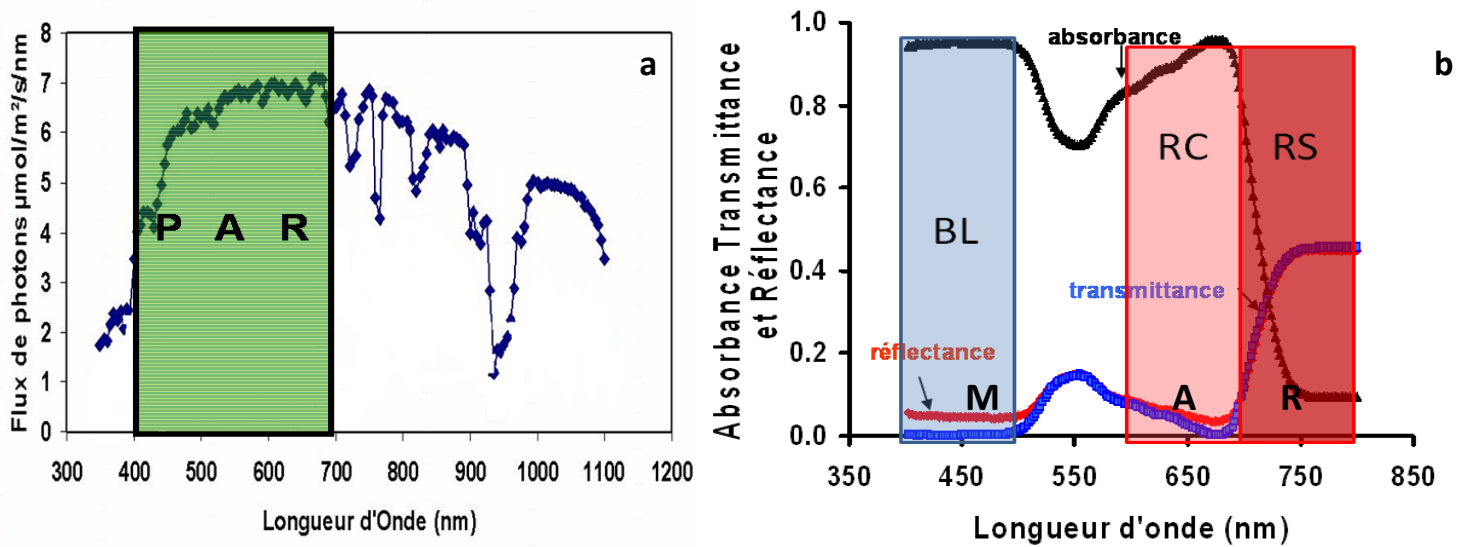


Figure 2 : Représentation des domaines spectraux, (a) du Rayonnement Photosynthétiquement Actif (PAR) et (b) du Rayonnement Morphogénétiquement Actif (MAR) défini par les propriétés optiques des feuilles.

a) Le domaine spectral du PAR est défini entre 400 et 700 nm. Le PAR constitue l'ensemble des longueurs d'onde actives pour la photosynthèse, bien que les domaines du bleu et du rouge soient les plus efficaces.

b) Sous couvert végétal, les propriétés optiques des pigments chlorophylliens (réflectance, transmittance et absorbance) des feuilles interceptant les rayonnements incidents entraînent une diminution du niveau de Bleu (BL) qui est absorbé. On note également une diminution du Rouge Clair (RC) et une augmentation relative du Rouge Sombre (RS) qui est plutôt réfléchi ou transmis, d'où une diminution du ratio RC/RS.

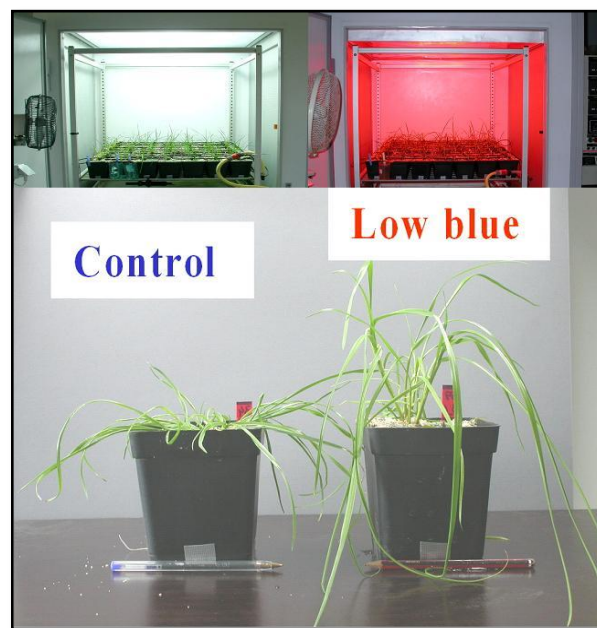


Figure 3 : Différences morphologiques entre un Raygrass développé en conditions standards (gauche) ou en absence de bleu (droite). Les plantes développées en absence de bleu présentent un port plus érigé ainsi que des feuilles plus longues. (Verdenal, 2004).

fonction supposée de photoperception mais en l'état actuel des connaissances il est impossible d'en dresser une liste exhaustive, ce qui n'est d'ailleurs pas l'objet de ce travail.

3- Réponses des plantes aux variations de la qualité lumineuse et photomorphogénèse

La perception des variations de composition spectrale par les photorécepteurs se traduit en signaux déclenchant de nombreuses réponses qui vont modifier la croissance et l'architecture des plantes, réponses dites photomorphogénétiques. La photomorphogénèse se définissant alors, plus généralement, comme un ensemble de mécanismes régulant la croissance et le développement des plantes, indépendamment de la photosynthèse, de la périodicité et de la direction du flux lumineux (Smith et Holmes, 1984). Par analogie au PAR (Photosynthetically Active Radiation), les signaux impliqués dans ces mécanismes (RC/RS, bleu) définissent ainsi le MAR (Morphogenetically Active Radiation ; Figure 2). De très nombreux processus sont ainsi contrôlés par des signaux photomorphogénétiques *e.g.* germination des graines, phototropisme, ontogénèse (ramification, croissance foliaire, tallage), floraison, horloge circadienne, sénescence...(Ballare et Casal, 2000, Casal et Alvarez, 1988, Christie et Briggs, 2001, Rousseaux *et al.*, 1996, Varlet-Grancher *et al.*, 1993).

4- Signification écologique des réponses photomorphogénétiques

En conséquence, les variations de qualité lumineuse dans un couvert végétal sont intégrées *via* les systèmes de photoperception qui déclenchent alors des cascades de signaux traduisant la présence de voisins et donc de compétiteurs actuels (au dessus) ou à venir (autour) pour la ressource lumineuse (Verdenal, 2004). La lumière, bien que fréquemment associée à son rôle photosynthétique, peut donc être également appréhendée comme un signal d'information «renseignant» les plantes sur leur environnement proche (plantes voisines) afin notamment d'anticiper les aspects trophiques de la compétition pour la lumière. Cette compétition dans les couverts végétaux est forte, et toute modification de la morphogénèse donnant lieu à une meilleure interception de la lumière peut constituer un avantage à long terme. Par exemple, il est admis que la perception d'un faible ratio RC/RS (ombre) (Ballare *et al.*, 1987) entraîne des réponses visant, soit à fuir l'ombrage: augmentation de la taille des tiges, des entre-nœuds («shade-avoiding»), soit à s'adapter à ces conditions en augmentant, par exemple, l'interception lumineuse («shade-tolerating») (Smith, 1982).

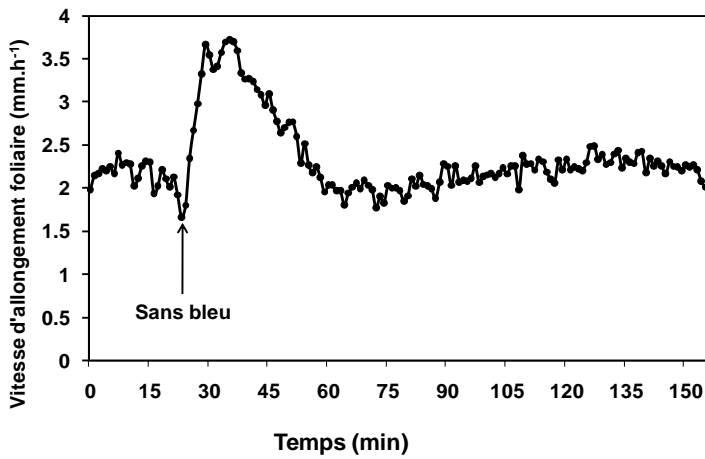


Figure 4 : Réponse de la vitesse d'allongement foliaire à l'absence de bleu. La réduction du niveau de bleu déclenche un pic de croissance instantané sur une période d'environ 40 minutes pendant laquelle la vitesse de croissance est doublée. A plus long terme, la vitesse d'allongement foliaire se stabilise à une valeur intermédiaire, environ 10 à 12 % supérieure à celle mesurée avec la présence de bleu, à niveaux de PAR équivalents. (Barillot, 2008)

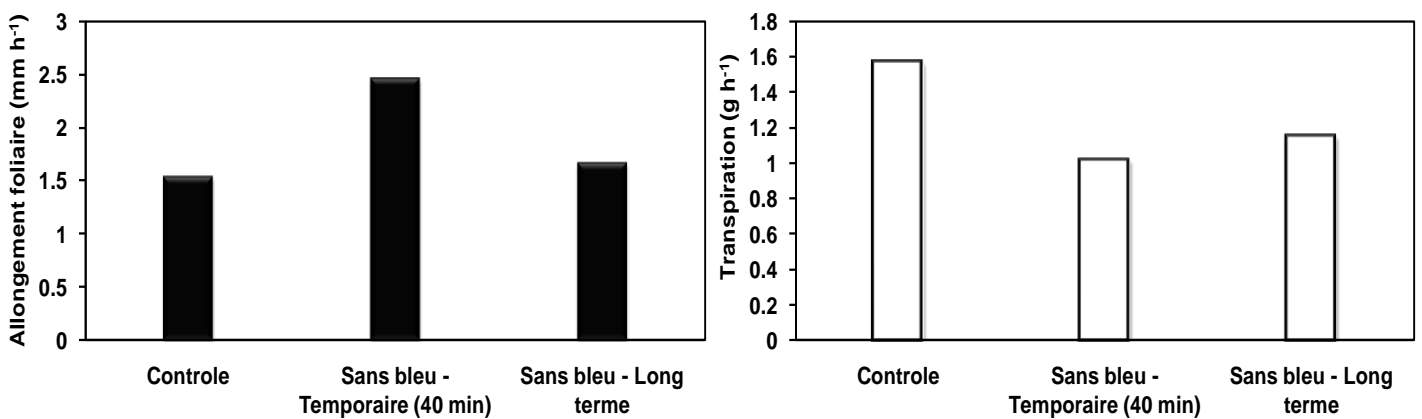


Figure 5 : Mesure simultanée des vitesses d'allongement foliaire (gauche) et de transpiration (droite) en réponse à l'absence de lumière bleue. Une première réponse transitoire, à réduction du niveau de bleu, est observée pendant 40 minutes (*cf.* ci-dessus) puis un nouvel état stable est mis en place à plus long terme. Le contrôle correspond à un traitement fournissant une efficacité photosynthétique équivalente à celle mesurée sous le traitement absence de bleu. Des mesures simultanées des flux transpiratoires permettent d'observer de fortes réductions de la transpiration sous le traitement absence de bleu, ce qui semble relié à l'augmentation de la croissance foliaire (Barillot, 2008).

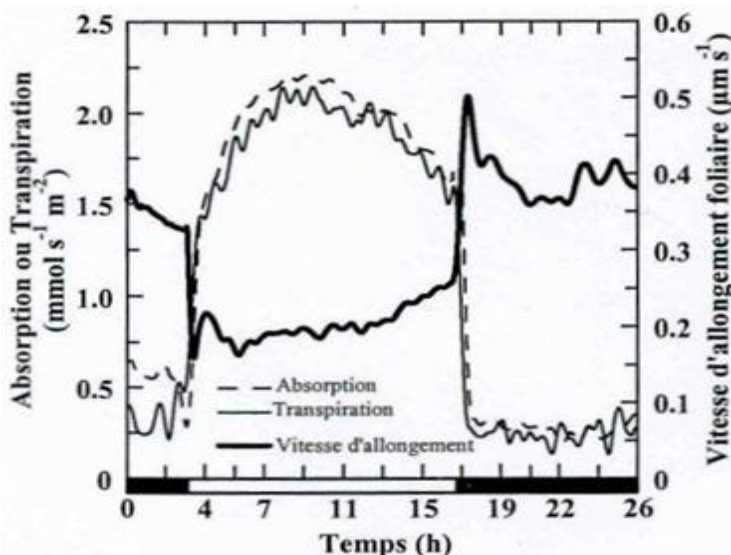


Figure 6 : Evolution journalière de la vitesse d'allongement foliaire, de la transpiration et de l'absorption d'une talle de Fétuque élevée en conditions contrôlées. (Martre, 1999).

■ Obscurité
□ Lumière

Pour conclure, les systèmes de photoperception permettent aux plantes de i) refléter l'intensité de la compétition (RC/RS) et de ii) détecter l'intensité du rayonnement indépendamment du système photosynthétique, *via* les variations du niveau de bleu.

5- Cas particulier du bleu

La caractérisation du MAR, ainsi que des réponses photomorphogénétiques qui en découlent, apparaît alors fondamentale dans la compréhension de la dynamique de mise en place des couverts végétaux, et en particulier des systèmes prairiaux. L'Unité de Recherches Pluridisciplinaire Prairies et Plantes Fourragères (URP3F), station INRA Poitou-Charentes, a donc pour objectifs de contribuer à l'amélioration de la productivité, de la valeur alimentaire, ainsi que de la pérennité des plantes fourragères tout en maîtrisant les impacts environnementaux. Ces missions sont réalisées à travers divers programmes de recherche dont un particulièrement dédié à la photomorphogénèse et à ses effets sur la compétition pour la lumière dans les peuplements prairiaux, qui présentent une forte hétérogénéité intra et interspécifique. Dans ces agrosystèmes, cette compétition est forte dès la mise en place du couvert. De nombreuses études sur les mécanismes et les réponses mis en place consécutivement à des modifications du ratio RC/RS ont d'ores et déjà été menées (Ballare *et al.*, 1997, Kasperbauer et Karlen, 1986, Wherley *et al.*, 2005). En revanche, les réponses consécutives à des variations du niveau de bleu sont moins étudiées (Lin, 2002). De plus, ces travaux ont souvent mis en avant les effets de pulses ou d'additions de lumière bleue bien que la situation inverse (absence ou diminution du niveau de bleu) soit également écologiquement pertinente puisque les zones ombrées sont notamment caractérisées par de faibles niveaux de bleu. Ainsi, Gautier et Varlet-Grancher (1996) ont montré chez la Fétuque élevée (*Festuca arundinacea*), qu'une diminution du niveau de bleu entraîne une augmentation de la vitesse de croissance foliaire (+10 à 12%) de certaines feuilles ainsi qu'un port végétatif plus érigé (Figure 3). De plus, il semble que l'application d'un faible niveau de bleu entraîne un pic de croissance instantané de la feuille émergente (Figure 4) chez la Fétuque élevée (+ 50% pendant 40 minutes), suivi d'un niveau de croissance, à plus long terme, supérieur de 11% (Barillot, 2008, données non publiées). Par ailleurs, des mesures de transpiration, concomitantes aux mesures de vitesse d'élongation foliaire, ont permis de conclure que l'absence de lumière bleue entraînait également une diminution de la transpiration (Figure 5). Or, il a été montré (Martre *et al.*, 2001, Parrish et Wolf, 1983) que la croissance foliaire dépend également de la transpiration (Figure 6): plus le flux transpiratoire est important plus

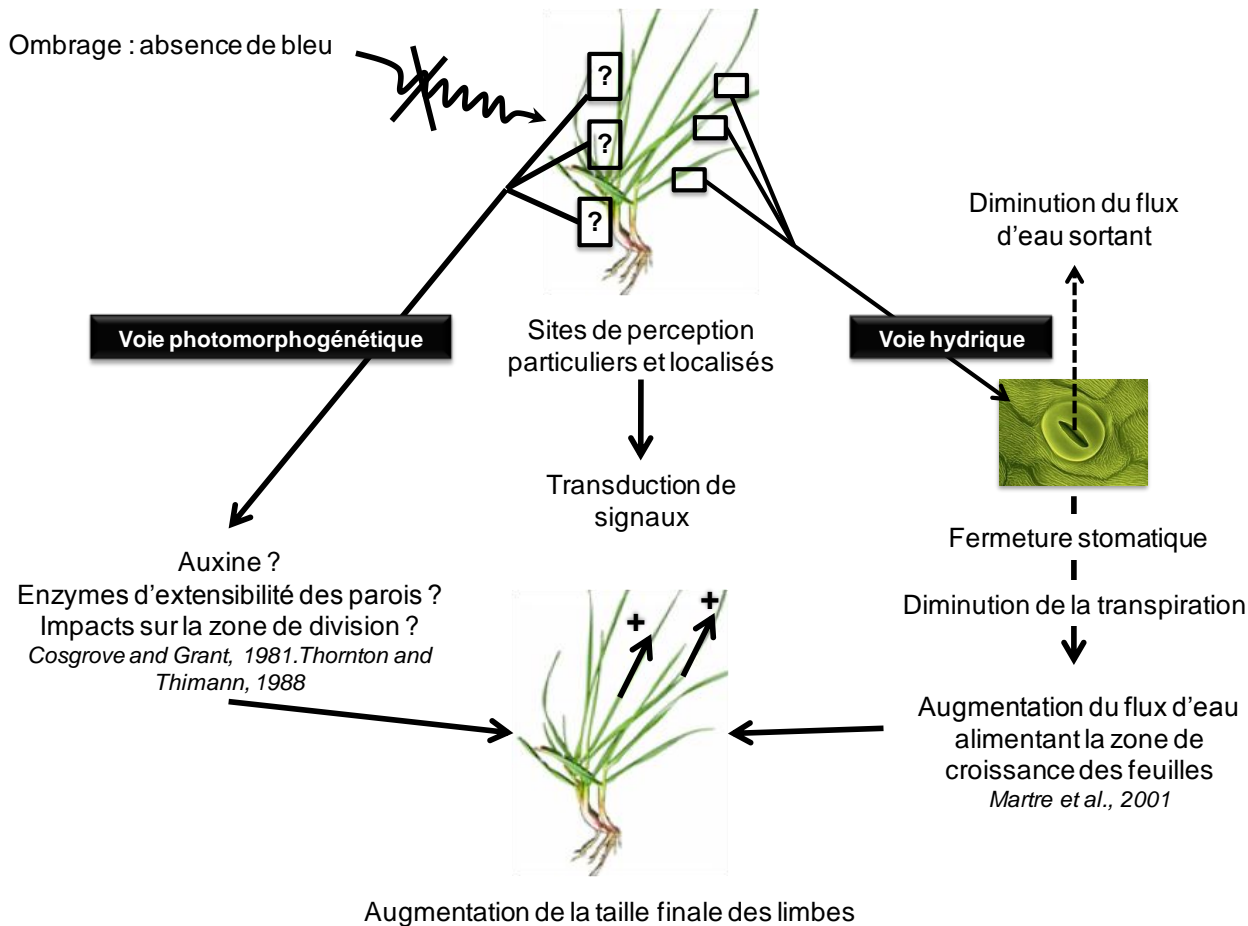


Figure 7 : Représentation possible des mécanismes d'action de l'induction de la croissance foliaire par l'absence de lumière bleue. D'une part, l'absence de lumière bleue pourrait être perçue par des photorécepteurs localisés, capables d'induire une cascade de transduction de signaux aboutissant à des mécanismes d'action cellulaires voire moléculaires. D'autre part, l'absence de bleu pourrait être responsable d'une fermeture stomatique qui se traduirait par une diminution de la transpiration foliaire et donc par un flux d'eau plus important dirigé vers la zone de croissance et les cellules en élévation, conduisant à une augmentation de la vitesse d'allongement des feuilles en croissance foliaire.

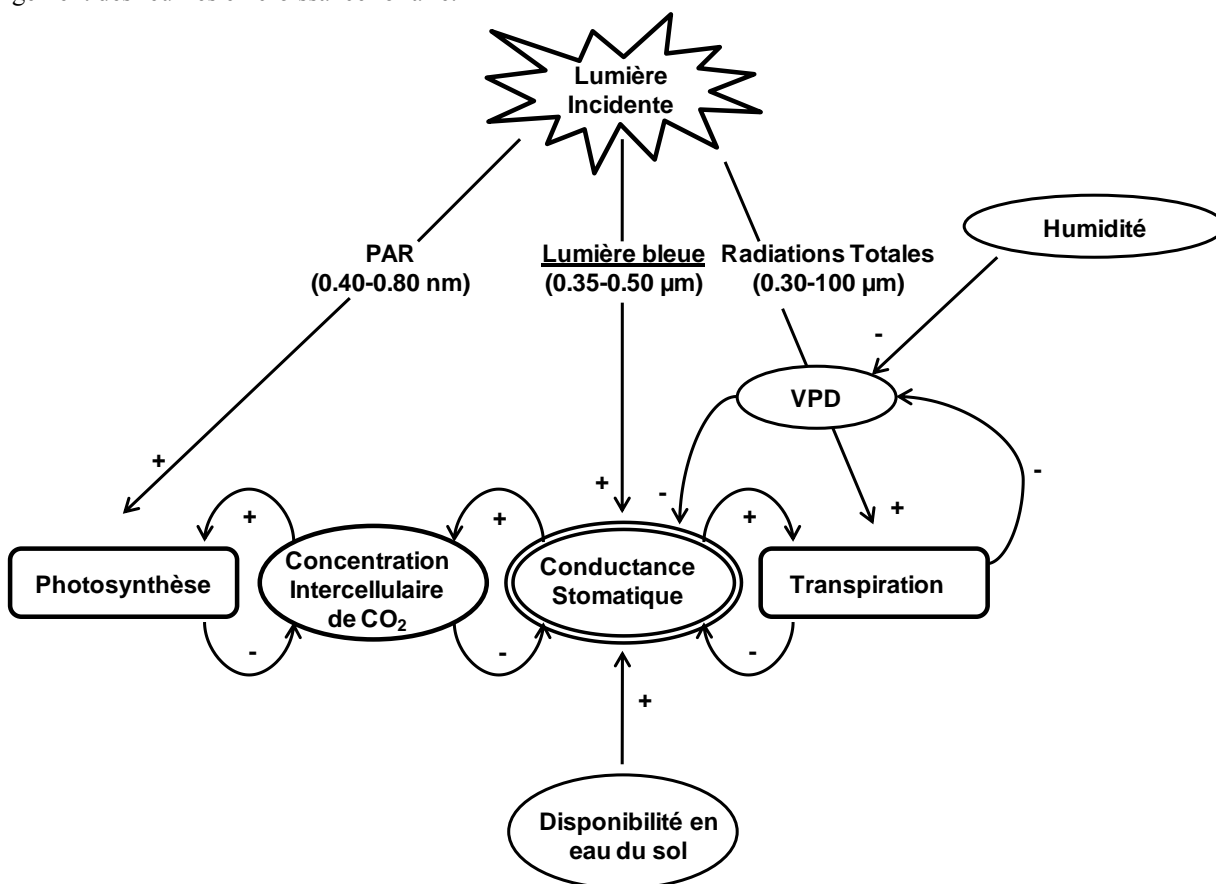


Figure 8 : Schéma conceptuel du contrôle stomatique par les facteurs environnementaux et ses conséquences sur les échanges gazeux.

le flux d'eau dirigé vers la zone de croissance est faible, réduisant d'autant l'élongation cellulaire. Autrement dit, il est également possible que l'absence de bleu provoque une augmentation de la croissance foliaire *via* une diminution de la transpiration (flux d'eau plus important dirigé vers la zone de croissance foliaire). De plus, ces variations de transpiration, consécutives à l'absence de bleu, pourraient s'expliquer par une modification de l'état stomatique. En effet, l'impact de la lumière bleue sur les stomates a été largement étudié (Gautier, 1991, Karlsson et Assmann, 1990, Lawson, 2009, Shimazaki *et al.*, 2007, Zeiger *et al.*, 1987) et il a été montré que des pulses de lumière bleue provoquent une ouverture quasi-instantanée des stomates chez la plupart des espèces testées. On peut alors penser que lors de l'expérience menée en 2008 (Barillot), la diminution de la quantité de bleu ait entraîné une baisse de la transpiration *via* une fermeture des stomates. Une nouvelle problématique apparaît alors (Figure 7): **l'augmentation de la croissance foliaire, résultant de l'absence de bleu, est-elle liée à des processus purement photomorphogénétiques et/ou est-elle directement la conséquence d'une modification des flux hydriques (transpiration)?** Au-delà de l'aspect fondamental cette hypothèse implique d'autres réflexions notamment sur la manière d'expérimenter, de modéliser voire de raisonner sur l'impact de la lumière bleue sur les végétaux. Ainsi, la recherche de sites de perception de la lumière bleue se conceptualise différemment selon que le bleu s'avère être perçu par des structures particulières et localisées (*e.g.* la pointe de la feuille en croissance) ou bien si la perception de ce signal est plus intégrative c'est-à-dire réalisée à l'échelle de la plante entière (*e.g.* implication des stomates distribués sur toute la surface feuillée de la plante).

6- Objectifs du stage

Le travail présenté ici est donc une poursuite des études débutées en 2008 (Barillot), qui permettra de progresser sur la quantification de **l'implication de la voie hydrique dans les processus dits photomorphogénétiques** tels que la réponse de la croissance foliaire (allongement) à la lumière bleue. Cette hypothèse repose sur une modification de l'état stomatique par l'absence de lumière bleue. Néanmoins, le régime lumineux des radiations appartenant au bleu est inclus dans un réseau complexe d'interactions de facteurs environnementaux qui affectent simultanément le fonctionnement stomatique qui, en retour, modifie ces facteurs (Figure 8). Les stomates sont ainsi sous le contrôle de très nombreux facteurs environnementaux (Raschke, 1979): l'humidité relative, le Déficit de Pression de Vapeur (VPD), la disponibilité en eau du sol et également la qualité de la lumière *i.e.* la

densité du flux de photons appartenant au bleu. Brièvement, l'effet de la lumière bleue sur les stomates peut déclencher des variations de la concentration intercellulaire en CO_2 (C_i) et donc des variations de la vitesse d'assimilation, qui est également sous contrôle du niveau de PAR (flux d'électrons). D'autre part, la transpiration foliaire est à la fois fonction des rayonnements thermiques incidents, mais est également dépendante de l'ouverture stomatique. Néanmoins, les relations qualité lumineuse - état hydrique ont été très peu étudiées (Brogardh, 1975, Karlsson, 1986) bien que cela nécessiterait d'autres expérimentations au vue de l'importance d'un phénomène comme la transpiration sur le statut hydrique de la plante et donc sur sa croissance. Nous pouvons néanmoins supposer que l'absence de bleu, à PAR constant, devrait déclencher une fermeture stomatique. Toutefois les nombreuses et complexes rétroactions qui agissent au niveau stomatique laissent à penser que la fermeture stomatique induite par une diminution ou une absence de bleu pourrait conduire à une réduction du C_i qui, en retour entrainerait une réouverture des stomates. Il apparaît donc nécessaire, dans un premier temps, de réaliser un travail exploratoire au niveau foliaire afin de caractériser le comportement des stomates en absence de lumière bleue. De plus, les études menées sur la lumière bleue sont relativement complexes puisque cette radiation est également active sur les mécanismes dépendant du niveau de PAR. Dans la plupart des travaux, le manque de bleu a été compensé en saturant la photosynthèse avec de forts niveaux de lumière rouge. Cependant, ce traitement ne résout pas la question de l'efficacité photosynthétique (fortes différences) dans les cas où la lumière bleue est ajoutée.

L'objectif de l'étude présentée ici, est donc de, i) **quantifier le comportement stomatique**, à travers la mesure des **échanges gazeux**, en réponse à une forte réduction du niveau de bleu, tout en maintenant un niveau de PAR relativement élevé et une efficacité photosynthétique équivalente, et ii) de tester le **rôle putatif du C_i** sur la réponse des échanges gazeux induite par l'absence de lumière bleue. La conductance stomatique, la transpiration, la photosynthèse et la concentration interne en CO_2 ont donc été mesurées sur des feuilles matures de Fétuque élevée (*Festuca arundinacea*) soumises à différents traitements lumineux ainsi qu'à différentes concentrations en CO_2 .

Tableau 1 : Composition de la solution nutritive utilisée lors de la culture des clones de Fétuque élevée.

Macronutrients	mM	Micronutrients	μM
KNO_3	1.90	H_3BO_3	25.00
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	0.55	MnSO_4	2.00
NH_4NO_3	2.50	ZnSO_4	2.00
CaCl_2	0.50	CuSO_4	0.50
NaCl	0.10	H_2MoO_4	0.50
MgSO_4	0.50	Fe-HEDTA	20.00
KH_2PO_4	0.40		
K_2HPO_4	0.30		

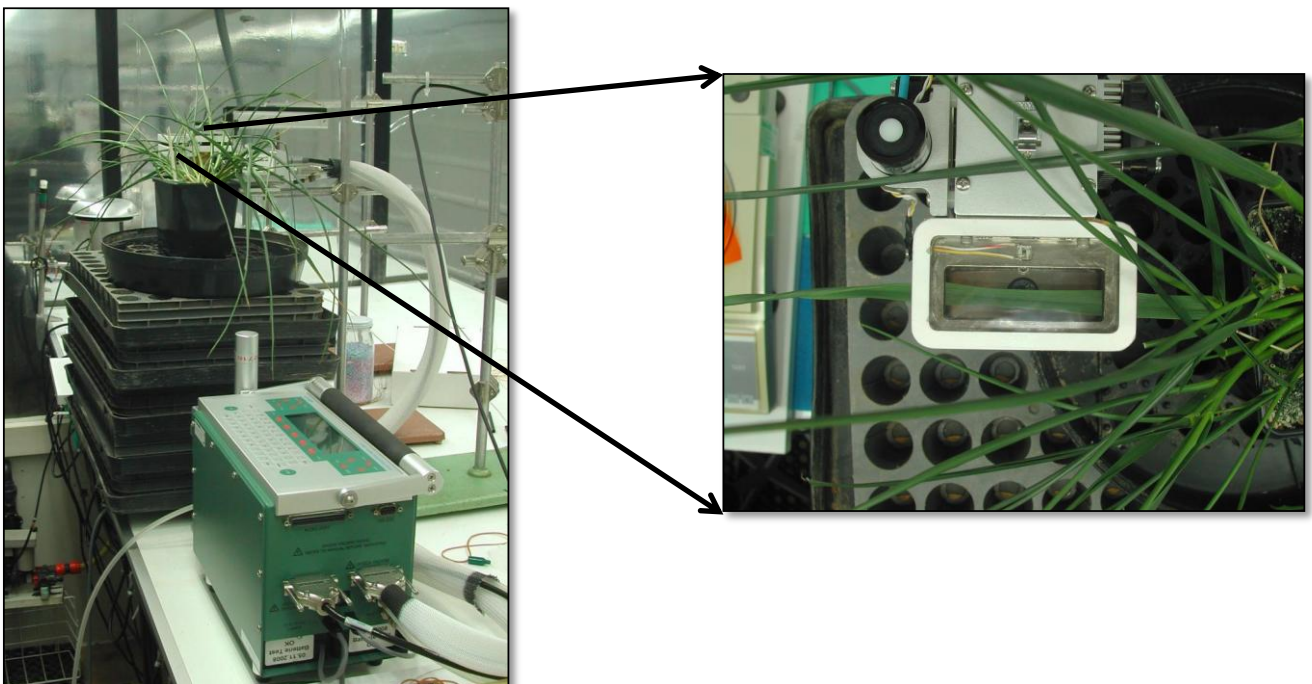


Figure 9 : Dispositif de mesure des échanges gazeux *via* un Analyseur de Gaz par InfraRouge (gauche). Au moment de l'expérimentation, les plantes étaient transférées dans une chambre de culture. Chaque feuille testée était ensuite placée dans la chambre de mesure de l'analyseur (droite) sur laquelle des filtres de transmission de lumière étaient placés.

Matériels et méthodes

1- Matériel végétal et conditions de croissance

Des clones de Fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb. cv. Clarine) ont été repiqués dans des pots individuels en plastique de 0.4 l, remplis de sable. Les plantes ont été conditionnées dans une enceinte climatique (phytotron) où l'humidité relative était fixée à 80% avec un apport de solution nutritive (Tableau 1) automatique 8 fois par jour (volume ajusté selon le stade de développement : entre 30 et 80 ml par jour). Le développement des plantes s'est réalisé sous une photopériode de 14 heures avec un PAR de $380 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fourni par des lampes à iodure métallique (HQI 400W, Osram, France). Les clones de Fétuque élevée ont été produits régulièrement afin d'obtenir des plantes présentant des stades similaires pour les mesures d'échanges gazeux.

Les plantes utilisées étaient transférées dans une chambre de culture (Strader) au moment des expériences. La photopériode était également fixée à 14 heures avec un niveau de PAR de $486 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

La température de chaque chambre climatique était réglée à 19°C le jour ainsi que la nuit.

2- Mesures des échanges gazeux

Les mesures d'échanges gazeux ont été réalisées grâce à un Analyseur de Gaz par InfraRouge (LI-6400; Li-Cor Inc, Lincoln, NE, USA), équipé d'une chambre d'analyse ($2 \times 6 \text{ cm}^2$; LI-6400-11) adaptée aux mesures de feuilles allongées de type graminée. La face supérieure de cette chambre est recouverte d'un film transparent (Figure 9) alors que la face inférieure, opaque, soutient un thermocouple (LI-6400-04) destiné à mesurer la température foliaire. Un capteur de rayonnement (GaAsp), mesurant le niveau de PAR est également situé dans la partie supérieure de cette chambre. Grâce à cet appareil, un suivi en continu des échanges gazeux a été réalisé *i.e.* conductance stomatique (g_s), transpiration foliaire (Tr), photosynthèse (A) et concentration interne en CO_2 (C_i). Ce suivi a été réalisé en fonction de différents traitements lumineux imposés aux feuilles placées dans la chambre de mesure.

3- Traitements lumineux

Les effets d'une réduction du niveau de bleu (350-500 nm) sur les échanges gazeux ont été étudiés en plaçant des filtres de transmission de lumière au dessus de la chambre de mesure

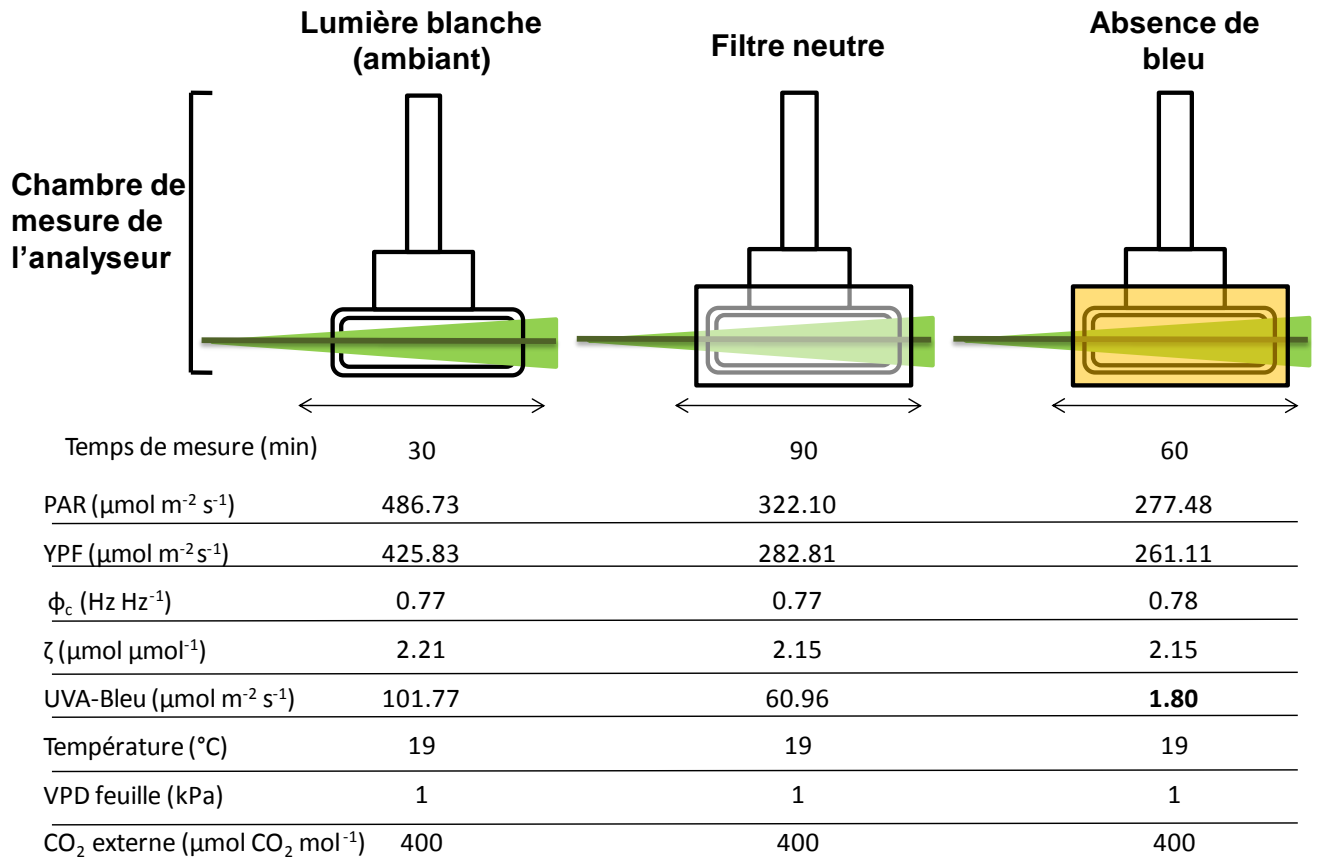


Figure 10 : Protocole expérimental et conditions environnementales de l'expérience 1.

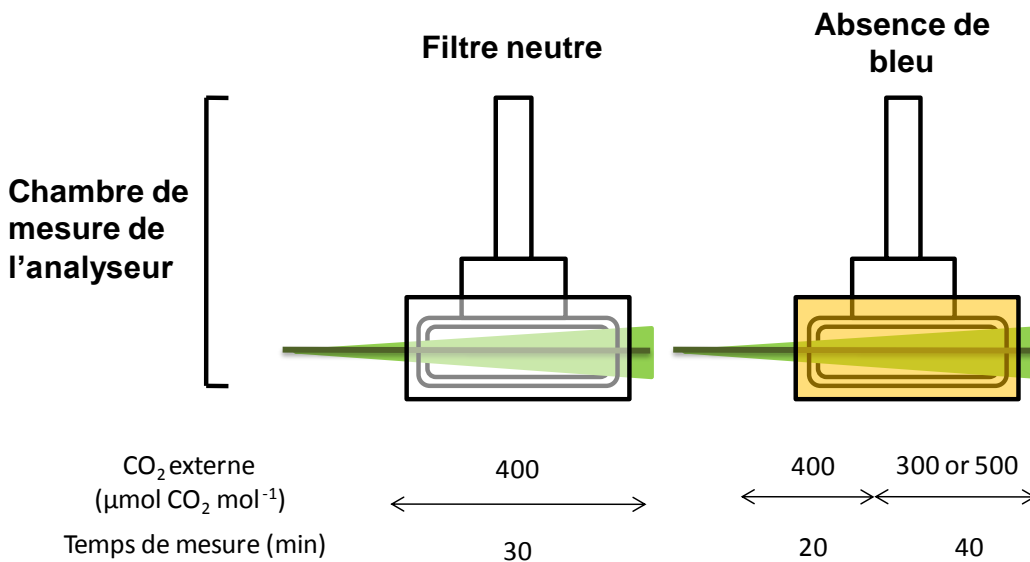


Figure 11 : Protocole expérimental de l'expérience 2. Après 20 minutes de traitement absence de bleu, la concentration en CO₂ de l'air a été modifiée de $\pm 100 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$.

transparente de l'analyseur. De faibles niveaux de bleu ($1.80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ont été obtenus grâce à un Lee Filter HT 015, absorbant les longueurs d'onde définissant le bleu, tout en maintenant un niveau de PAR relativement élevé. Au vu de la faible quantité de bleu présente sous ce filtre nous avons considéré, dans ce travail, que le bleu était absent pour ce traitement. Un filtre neutre (Lee Filter 216) a également été utilisé en tant que contrôle puisque celui-ci fournit une efficacité photosynthétique équivalente à celle mesurée sous le filtre coupant le bleu. Ce filtre est qualifié de « neutre » en raison de sa capacité à absorber (environ 25%) de manière équivalente l'ensemble des longueurs d'onde du spectre incident, créant ainsi un ombrage « neutre » par opposition aux ombrages « verts » créés par les végétaux. Les propriétés optiques de ces filtres sont précisées en Annexe I.

4- Protocole expérimental

4.1- Expérience 1: Réponse des échanges gazeux à l'absence de bleu

Les échanges gazeux ont été mesurés sur la dernière feuille mature de chaque plante. Les feuilles ont été tout d'abord placées dans la chambre de mesure de l'analyseur, sous la lumière blanche de la chambre de culture pour 2 heures d'acclimatation de manière à stabiliser la conductance stomatique. Lors de cette expérience, la température foliaire était fixée à 19°C, le VPD à 1 kPa, et la concentration en CO_2 de l'air à $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$. Chaque feuille a ensuite été soumise à une série de 3 traitements lumineux : lumière blanche (ambient-W), ombrage neutre (filtre neutre-N) et finalement absence de bleu (B-) (Figure 10). Les échanges gazeux ont été tout d'abord mesurés pendant 30 minutes sous conditions ambiantes. Ensuite, le filtre neutre a été placé au dessus de la feuille pendant 90 minutes. Le dernier traitement a consisté à remplacer le filtre neutre par le filtre coupant le bleu. Les échanges gazeux en absence de bleu ont ainsi été mesurés pendant 60 minutes.

Cette expérience a été répétée sur 2 lots de 5 plantes chacun. En effet, les mesures ont tout d'abord été réalisées sur un premier lot de « jeunes » plantes ayant atteint le stade de 3 feuilles matures sur le maître brin. Ces mesures ont ensuite été répétées sur un lot de plantes plus développées : 5-6 feuilles matures sur l'axe principal et environ 8 talles (mesures ayant été réalisées sur l'axe principal).

4.2- Expérience 2: interaction entre absence de bleu et concentration interne en CO_2

Au cours de la seconde expérience (Figure 11), nous avons étudié les possibles interactions entre l'absence de bleu et le niveau de C_i ainsi que leurs effets sur la réponse

stomatique induite par l'absence de bleu. Les mesures ont été également conduites sur la dernière feuille mature de chaque plante. Les feuilles ont été placées dans la chambre de mesure de l'analyseur, directement sous le filtre neutre, puis laissées pour acclimatation pendant 2 heures. La température foliaire, le VPD, ainsi que la concentration en CO₂ de l'air ont été fixés aux valeurs définies pour la 1^{ère} expérience. Les échanges gazeux ont ensuite été mesurés sous ombrage neutre pendant 30 min. Le filtre coupant le bleu a ensuite remplacé le filtre neutre pour une mesure de 60 minutes. Lors de cette expérience, la concentration en CO₂ de l'air a été modifiée 20 min après le début du traitement « absence de bleu ». Deux niveaux de CO₂ ont été imposés : 300 ou 500 µmol CO₂ mol⁻¹. Cette expérience a été répétée sur 4 plantes appartenant au 1^{er} lot (jeunes plantes) : 2 plantes ont été soumises à une chute du CO₂ à 300 µmol CO₂ mol⁻¹, alors que les 2 autres plantes ont subi une augmentation du niveau de CO₂ à 500 µmol CO₂ mol⁻¹.

5- Analyse statistique

Les analyses de variances (ANOVA) ont été réalisées avec un logiciel SAS, utilisant la procédure GLM afin de déterminer l'effet significatif ou non du traitement lumineux sur g_s , Tr , A et C_i . L'homocédasticité a été vérifiée par distribution aléatoire des points résiduels pour chaque variable. L'ensemble des analyses statistiques a été réalisé sous SAS 8.01 (SAS Institute, Cary, NC, USA). La comparaison des valeurs de g_s , Tr , A et C_i entre les traitements (neutre vs sans bleu) ou entre les différentes phases (effet maximal du traitement [B-] et à la nouvelle phase d'équilibre [B-ss]) a été réalisée *via* la méthode de Scheffe (Steel et Torrie, 1980). Le seuil de significativité a été fixé à une probabilité de 0.05 (α) pour l'ensemble des tests réalisés.

L'analyse des dynamiques de réponse de la conductance stomatique aux traitements (lumineux et CO₂) a été réalisée grâce à l'ajustement de deux modèles non linéaires (Zeiger *et al.*, 1985):

- i) La fermeture stomatique a été ajustée avec une fonction exponentielle décroissante :

$$g_s = g_{s_0} * e^{-k_c * t} \quad \text{Equation 1,}$$

où g_{s_0} représente la valeur initiale de la conductance stomatique au commencement du traitement absence de bleu, k_c est le paramètre de fermeture stomatique inverse du temps et t est le temps. La vitesse maximale de fermeture stomatique se produit à t_0 .

- ii) La réouverture stomatique a été ajustée avec la fonction suivante

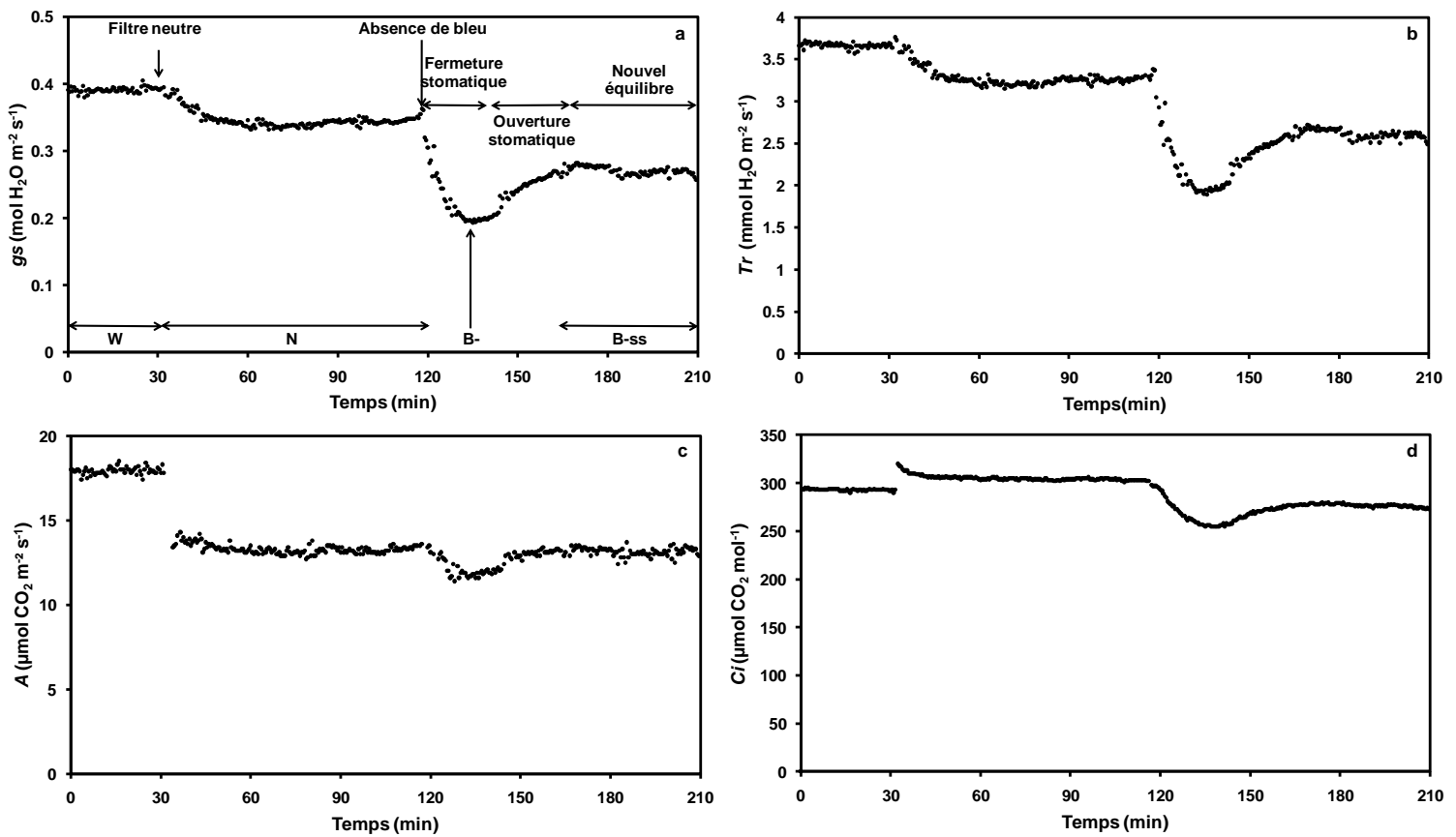


Figure 12 : Réponses typiques de la conductance stomatique (g_s)-a, de la transpiration (Tr)-b, de la photosynthèse (A)-c et de la concentration en CO_2 interne (C_i)-d aux différents traitements lumineux. Les feuilles ont d'abord été placées sous lumière ambiante (W) puis ensuite soumises à un ombrage neutre (N). Finalement, la lumière bleue a été réduite à $1.80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, tout en maintenant de forts niveaux de PAR. La distinction a été faite entre les valeurs minimales atteintes sous le traitement absence de bleu : B- (effet maximal du traitement) et les nouveaux équilibres atteints après 45 minutes d'absence de bleu : B-ss

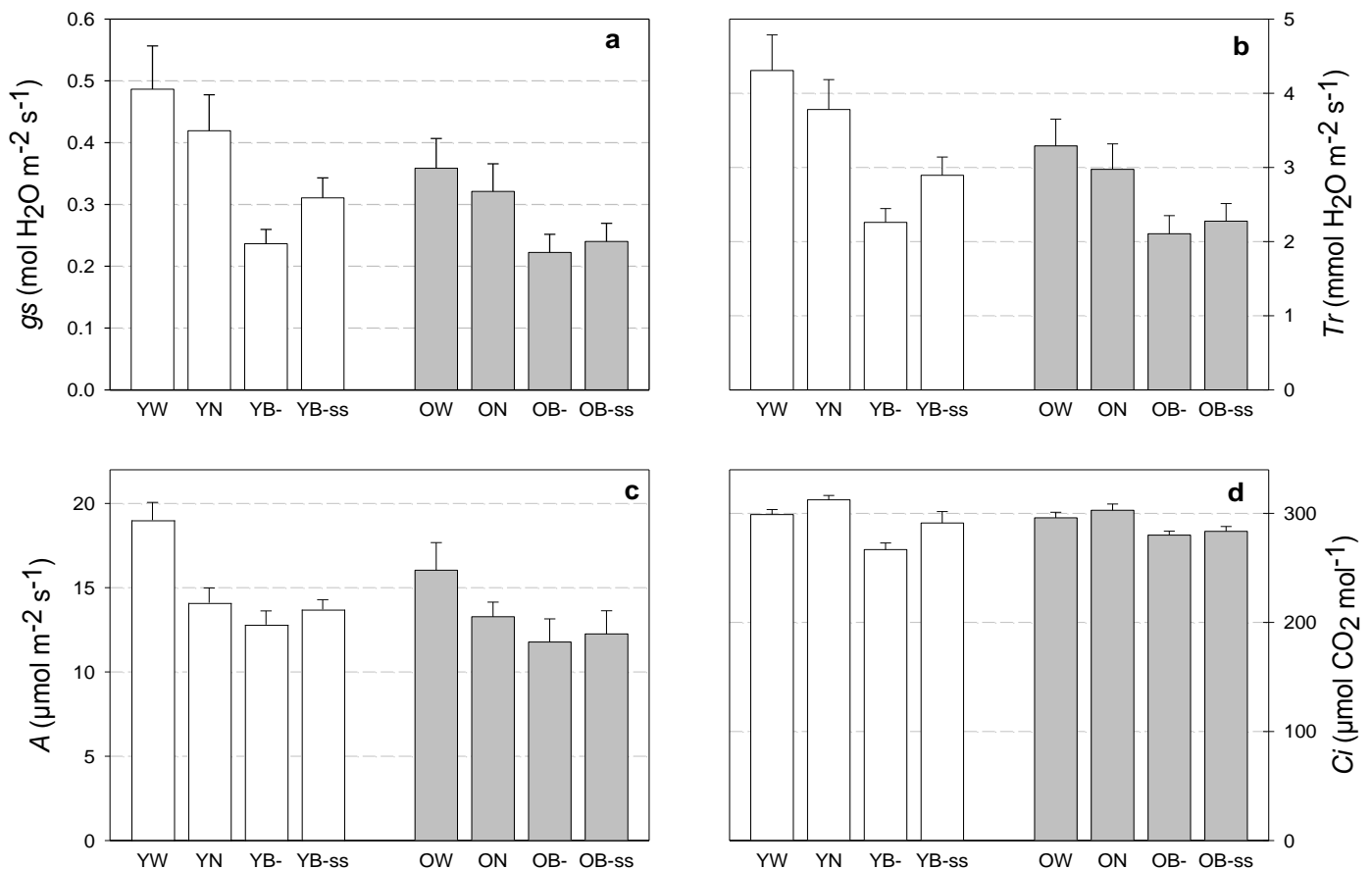


Figure 13 : Réponses des échanges gazeux foliaires aux différents traitements lumineux chez les jeunes plantes (Y) et les plantes plus développées (O). La conductance stomatique (a), la transpiration (b), l'assimilation (c) et la concentration intercellulaire en CO_2 (d) ont été mesurés sous les traitements ambiant = lumière blanche (W), ombrage neutre (N), et absence de bleu : (B-) pour la réponse transitoire et (B-ss) pour le nouvel état d'équilibre. Les résultats représentent la moyenne \pm l'écart-type. $n=5$ pour les 2 lots de plantes.

$$gs = gs_{\max} * (1 - e^{-k_o * t}) \quad \text{Equation 2,}$$

où gs_{\max} correspond à la valeur maximale de la conductance stomatique (asymptote), k_o est le paramètre d'ouverture stomatique inverse du temps et t est le temps.

Les deux modèles non linéaires utilisés ont été ajustés *via* la méthode des moindres carrés (Steel et Torrie, 1980). Les paramètres ont été optimisés par la méthode itérative de Levenberg–Marquardt utilisant un calcul automatique des dérivées partielles. Les valeurs initiales de chaque paramètre dépendent des variables qui sont ajustées (Escobar-Gutiérrez *et al.*, 2009).

Résultats

1- Effets de l'absence de bleu sur la conductance stomatique et la transpiration

Une réponse typique de la conductance stomatique (gs), chez une plante du 1^{er} lot (jeunes plantes), est illustrée sur la Figure 12a. Cette figure permet de diviser la cinétique de la conductance stomatique en 4 périodes : i) les valeurs initiales de gs mesurées sous la lumière blanche (W), ii) la réponse de la conductance stomatique consécutive à l'application du filtre neutre (N), iii) l'effet maximal de l'absence de bleu *i.e.* les valeurs minimales de gs (B-) et iv) la phase de réouverture stomatique aboutissant sur de nouveaux états stationnaires (B-ss). Afin d'améliorer la lisibilité des résultats, les données issues de chaque plante ont été compilées en histogrammes selon les périodes définies ci-dessus (Figure 13a, barres blanches).

Sous la lumière blanche (W), la conductance stomatique, mesurée chez les plus jeunes plantes, était comprise entre 0.39 et 0.55 mol H₂O m⁻² s⁻¹. Par ailleurs, l'application du filtre neutre (N) a entraîné une rapide diminution de la conductance stomatique de 13.67 ± 3.69 %. Suite à cette diminution, les valeurs de conductance stomatique sont restées relativement stables. En revanche, la réduction du niveau de bleu (B-) à 1.80 μmol m⁻² s⁻¹ a déclenché, chez toutes les feuilles, une forte diminution instantanée (de l'ordre de la minute), mais temporaire, de la conductance stomatique (Figure 12a) de 43.23 ± 4.55 % par rapport au traitement neutre ($P < 0.0001$, Tableau 2a). Les valeurs minimales de gs *i.e.* 0.24 ± 0.02 mol H₂O m⁻² s⁻¹, ont été atteintes 19 ± 2 minutes après la réduction du niveau de bleu. A partir de ce point, une réouverture stomatique progressive a été systématiquement observée conduisant

Tableau 2 : Résultats de l'ANOVA et du test de contraste (*P* values).

a) Comparaisons effectuées chez les jeunes plantes (Y) et b) chez les plantes plus développées (O). Le test de comparaison statistique a été réalisé pour 4 variables : conductance stomatique (*gs*), transpiration (*Tr*), assimilation (*A*) et concentration interne en CO₂ (*Ci*), mesurées sous ombrage neutre (N), au moment de l'effet maximum de l'absence de bleu (B-) et lors de l'établissement des nouveaux états stationnaires (B-ss).

a		YB-	YB-ss	b		OB-	OB-ss
YN	<i>gs</i>	< 0.0001	< 0.0001	ON	<i>gs</i>	< 0.0001	< 0.0001
	<i>Tr</i>	< 0.0001	< 0.0001		<i>Tr</i>	< 0.0001	< 0.0001
	<i>A</i>	< 0.001	ns		<i>A</i>	< 0.0001	< 0.01
	<i>Ci</i>	< 0.0001	< 0.0001		<i>Ci</i>	< 0.0001	< 0.0001
YB-	<i>gs</i>		< 0.01	OB-	<i>gs</i>		ns
	<i>Tr</i>		< 0.001		<i>Tr</i>		< 0.05
	<i>A</i>		< 0.01		<i>A</i>		< 0.1
	<i>Ci</i>		< 0.0001		<i>Ci</i>		< 0.1

Tableau 3 : Vitesses de mouvement stomatique en réponse à l'absence de lumière bleue chez des plantes jeunes (Y) et plus âgées (O). Valeurs calculées après ajustement de deux fonctions non-linéaires (voir partie analyse statistique) sur les données de cinétique de conductance stomatique. *k_c* correspond à la vitesse de fermeture stomatique et *k_o* est la vitesse de réouverture stomatique. Les valeurs moyennes sont présentées ± l'écart-type (SD). n=5 pour chaque lot de plantes.

	Jeunes plantes (Y)		Plantes matures (O)
Concentration en CO ₂ de l'air (μmol CO ₂ mol ⁻¹)	400		400
Paramètre (% s ⁻¹)	<i>k_c</i>	<i>k_o</i>	<i>k_c</i>
Moyenne	0.33	0.10	0.24
SD	0.06	0.01	0.06

à une stabilisation de la conductance (B-ss) après 45 minutes, à 74.55 ± 5.49 % des valeurs mesurées sous le filtre neutre. Un nouvel état stationnaire, intermédiaire entre les traitements N et B- ($P < 0.0001$ et $P < 0.01$ respectivement), a alors été atteint par la conductance stomatique.

De la même façon que la conductance stomatique, la transpiration foliaire (Tr) maximale (Figure 12b) a été mesurée sous la lumière ambiante (W), valeurs alors comprises entre 3.66 et 4.91 mmol H₂O m⁻² s⁻¹ (Figure 13b, barres blanches). L'application du filtre neutre a cependant réduit la transpiration de 12.10 ± 3.26 % (3.78 ± 0.36 mmol H₂O m⁻² s⁻¹). Une forte diminution significative ($P < 0.0001$) de 43.23 ± 4.55 % par rapport au traitement neutre a également été mesurée en réponse à l'absence de bleu. De la même façon que la conductance stomatique, un nouvel état stationnaire a été mesuré 45 minutes après le début du traitement absence de bleu à 76.79 ± 4.66 % du traitement neutre.

Les réponses de la conductance stomatique (Figure 13a, barres grises) et de la transpiration foliaire (Figure 13b, barres grises) ont été également mesurées chez le second lot de plantes plus développées. Sous la lumière blanche (W), gs et Tr étaient respectivement comprises entre 0.31 et 0.42 mol H₂O m⁻² s⁻¹ et entre 2.92 et 3.76 mmol H₂O m⁻² s⁻¹. Ces valeurs sont significativement plus faibles (test non présenté) que celles mesurées chez le lot de plantes moins développées. L'application de l'ombrage neutre a déclenché une diminution de gs de 10.47 ± 1.48 % et Tr de 10.00 ± 1.41 %. Le traitement absence de bleu a provoqué une diminution significative, par rapport au filtre neutre, de la conductance stomatique et de la transpiration de 30.65 ± 3.75 % et de 29.14 ± 3.36 % respectivement ($P < 0.0001$ pour gs et Tr , Tableau 2b). De plus, les valeurs minimales de gs et de Tr ont été atteintes 26 ± 5.75 minutes après le début du traitement sans bleu et se sont finalement stabilisées à 75.00 ± 4.00 % et à 76.67 ± 3.72 % des niveaux mesurés sous le traitement neutre, pour gs et Tr respectivement.

Les valeurs minimales absolues (B-) de gs et de Tr mesurées en réponse à l'absence de bleu ne sont pas significativement différentes (non présenté) quel que soit le stade des plantes. Malgré un comportement stomatique similaire, les réponses des plantes plus développées à l'absence de bleu diffèrent de par leur amplitude et leur temps de réponse. En effet, chez ces plantes gs et Tr ont respectivement diminué de 30.65 et de 29.14 % en réponse à l'absence de bleu, au lieu de 43.23 et de 40.00 % chez le 1^{er} lot de plantes. La réponse à l'absence de bleu a été également retardée en moyenne de 7 minutes chez les plantes les plus développées. Cette observation est renforcée par les calculs de vitesse de fermeture stomatique : 0.24 % s⁻¹ au lieu de 0.33 % s⁻¹ pour les plantes du 1^{er} lot (k_c , Tableau 3). Ensuite, la réouverture stomatique

a été moins marquée pour le second lot de plantes puisque qu'il n'y a pas de différence significative entre les traitements B- et B-ss (Tableau 2b). En effet, la conductance stomatique a augmenté de 0.24 à 0.31 mol H₂O m⁻² s⁻¹ ($k_o = 0.10 \text{ \% s}^{-1}$, Tableau 3) après 45 minutes d'absence de bleu chez les jeunes plantes (+32.62 %) alors que cette réouverture n'a pas excédé 8.16% pour les plantes les plus développées (de 0.22 à 0.24 mol H₂O m⁻² s⁻¹).

2- Effets de l'absence de bleu sur la photosynthèse

Une réponse typique de la photosynthèse (A) à l'absence de bleu, chez les plus jeunes plantes, est illustrée sur la Figure 12c, l'ensemble des données étant résumées sur la Figure 13c (barres blanches).

Sous la lumière ambiante, la valeur moyenne de la photosynthèse était proche de $19.01 \pm 0.94 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Suite au traitement neutre, une chute de la photosynthèse à $14.10 \pm 0.79 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a été observée en réponse à la diminution de PAR imposée par le filtre neutre ($-165 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, Figure 10). Après une heure d'enregistrement, les feuilles ont été soumises à une réduction du niveau de bleu, ce qui a déclenché une légère diminution de la photosynthèse (Figure 12c) à $12.81 \pm 0.73 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ($P < 0.001$). Après 45 minutes, la photosynthèse s'est stabilisée à des valeurs proches de $13.71 \pm 0.51 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, et par conséquent a rejoint des niveaux équivalents à ceux mesurés sous le filtre neutre (pas de différence significative entre N et B-ss, Tableau 2a).

Les valeurs moyennes de photosynthèse, mesurées chez les plantes plus développées (Figure 13c, barres grises), étaient proches de $16 \pm 1.47 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ sous traitement ambiant. L'application des traitements neutre ($13.38 \pm 0.77 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) et sans bleu ($11.78 \pm 1.22 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) a déclenché des cinétiques de réponse de la photosynthèse équivalentes à celles observées chez les jeunes plantes. Après 45 minutes, la photosynthèse s'est stabilisée à une valeur proche de $12.25 \pm 1.23 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, sans toutefois regagner un niveau similaire à celui mesuré sous le filtre neutre (différence significative entre N et B-ss, Tableau 2b).

3- Effets de l'absence de bleu sur la concentration interne en CO₂

Il est à noter que contrairement aux autres variables le C_i n'est pas mesuré mais estimé en fonction de la concentration externe en CO₂, de la conductance stomatique au CO₂ et de la vitesse d'assimilation et de transpiration (Annexe II).

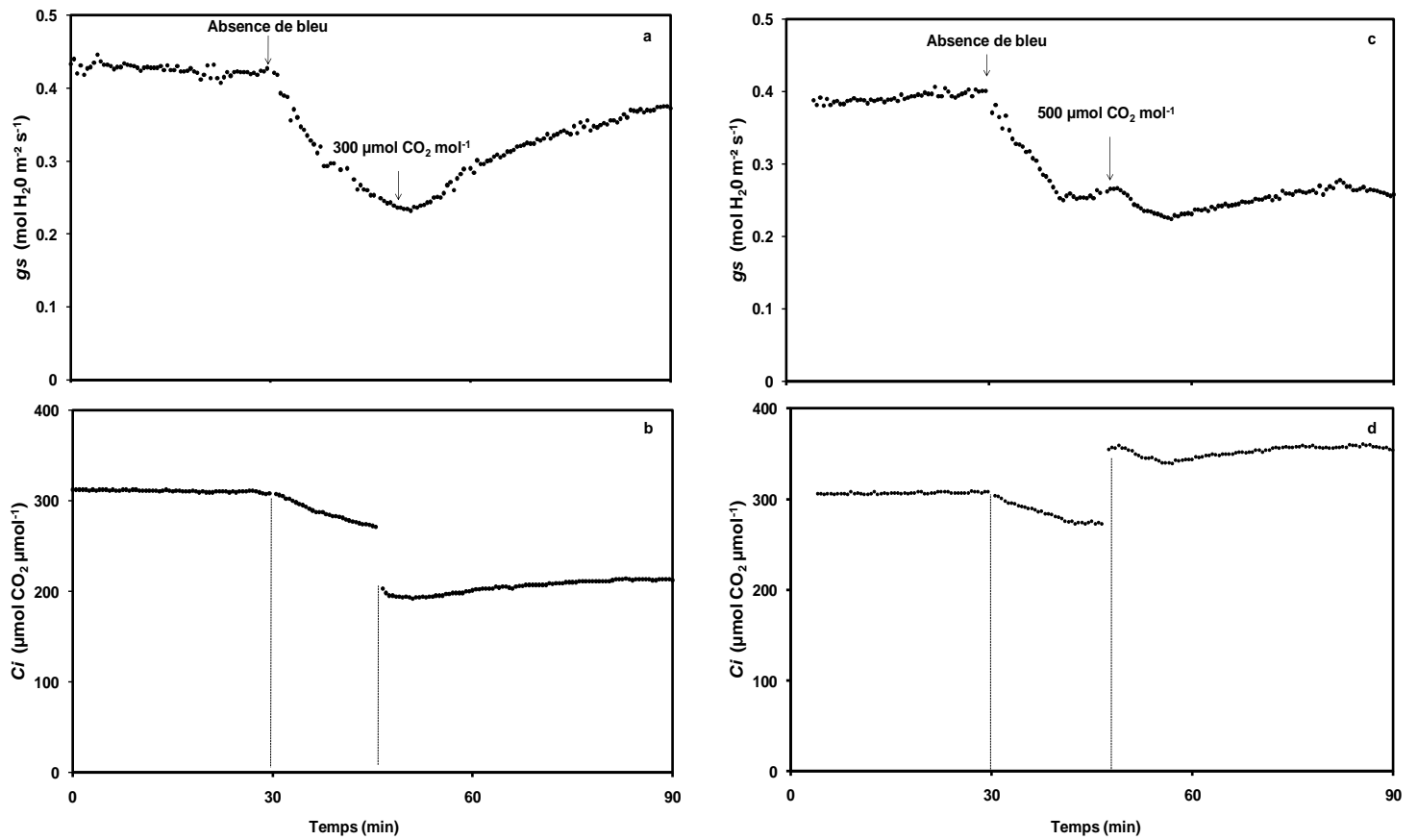


Figure 14 : Réponses typiques de la conductance stomatique (g_s , en haut) et de la concentration interne en CO_2 (C_i , en bas) à l'absence de lumière bleue et au niveau de CO_2 externe.

ab : concentration externe en CO_2 fixée à $300 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$, après 20 minutes de traitement absence de bleu ($n=2$).

cd : concentration externe en CO_2 fixée à $500 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$, après 20 minutes de traitement absence de bleu ($n=2$).

Les réponses du C_i aux conditions lumineuses ont donc été estimées, dans un premier temps chez les jeunes plantes (réponse typique illustrée sur la Figure 12d, et données compilées en Figure 13d, barres blanches). Sous le traitement ambiant, la valeur moyenne de C_i était proche de $300 \pm 4.20 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$. Une augmentation, d'environ 5%, a été observée en réponse au traitement neutre. Cette augmentation peut s'expliquer par la chute de photosynthèse consécutive à l'application du filtre neutre, aboutissant ainsi à une diminution de la consommation du CO_2 interne. La réduction de la photosynthèse apparaît alors plus «forte» que la diminution de l'entrée de CO_2 causée par la fermeture stomatique de 13.67 %. En revanche, sous le filtre coupant le bleu, le C_i a été rapidement réduit à $267 \pm 5.50 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ ($P < 0.0001$), ce qui est en lien avec la forte fermeture stomatique (Figure 13a). Ensuite, une augmentation du C_i a été observée 45 minutes après la réduction du niveau de bleu. Le C_i s'est alors stabilisé à un niveau intermédiaire *i.e.* à $92 \pm 2.67 \%$ des valeurs mesurées sous le filtre neutre.

La Figure 13d (barres grises) représente la réponse du C_i à l'absence de bleu chez les plantes les plus développées dont le niveau initial était proche de $295 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$. Le traitement neutre a également déclenché une augmentation du C_i de $2.33 \pm 1.23 \%$ ($P < 0.0001$), ce qui est environ la moitié de celle observée chez les jeunes plantes. Cette réponse du C_i est moins marquée ce qui peut être expliqué par une baisse plus modérée de la photosynthèse chez les plantes matures soumises à l'ombrage neutre, conduisant à une consommation relativement plus importante du C_i . L'application du filtre coupant le bleu a provoqué une chute du C_i de $7.49 \pm 1.35 \%$ ($P < 0.0001$) par rapport au traitement neutre. Nous n'avons pas mesuré d'augmentation significative du C_i après 45 minutes de traitement sans bleu, ce qui peut être relié à la faible réouverture stomatique observée chez les plantes du second lot.

4- Impacts de différents niveaux de C_i sur la réponse stomatique à l'absence de bleu

Au cours de la seconde expérience, seul le lot de jeunes plantes a été soumis à différents niveaux de CO_2 . Les réponses typiques de la conductance stomatique et du C_i en fonction de chaque traitement sont illustrées sur la Figure 14. Sous le traitement neutre, la valeur moyenne de g_s était comprise entre 0.38 et $0.43 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. L'application du filtre coupant le bleu a déclenché la réponse typique de la conductance stomatique et du C_i à l'absence de bleu telle qu'elle a été décrite précédemment (Figure 12a et d). Ainsi, les vitesses

Tableau 4 : Effet des différentes concentrations de l'air en CO₂ sur la vitesse d'ouverture (k_o) des stomates. Le changement de la concentration en CO₂ a eu lieu au moment de l'effet maximal du bleu sur la conductance (B-). Les valeurs de k_c et k_o ont été calculées après ajustement de deux fonctions non-linéaires (voir partie analyse statistique). n= 2 pour chaque changement de concentration.

Jeunes plantes			
Concentration en CO ₂ de l'air (μmol CO ₂ mol ⁻¹)	400	400 à 300	400 à 500
Paramètre (% s ⁻¹)	k _c	k _o	k _c
Moyenne	0.29	0.06	0.46
SD	0.04	0.01	0.03

de fermeture stomatique étaient proches de celles calculées lors de la 1^{ère} expérience : $0.29 \% \text{ s}^{-1}$ (k_c , Tableau 4). La concentration de l'air en CO_2 de la chambre d'analyse a ensuite été modifiée au moment où les valeurs de conductance stomatique étaient minimales *i.e.* 19 minutes après le début du traitement absence de bleu, valeur que nous avons arrondie à 20 minutes pour le changement de consigne du CO_2 . Ainsi, suite à une réduction du niveau de CO_2 à $300 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$, une forte augmentation de la conductance stomatique a été observée. Celle-ci, s'est ensuite stabilisée à des valeurs proches de celles mesurées sous le filtre neutre (Figure 14a), aboutissant ainsi à un maintien du C_i à des niveaux suffisants malgré la réduction de $100 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$. Toutefois, la réouverture stomatique (k_o , Tableau 4) a été moins rapide que celle observée précédemment après les 20 minutes d'absence de lumière bleue : $0.06 \% \text{ s}^{-1}$ au lieu de $0.10 \% \text{ s}^{-1}$ (jeunes plantes).

En revanche, une augmentation du niveau de CO_2 de 400 à $500 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ (appliquée selon le même protocole que précédemment) a déclenché la réponse opposée (Figure 14c et d). Dans ce cas, une diminution supplémentaire de la conductance stomatique a été observée, conduisant à des valeurs équivalentes à $63 \pm 1.63 \%$ de celles mesurées sous le filtre neutre. Cette phase de fermeture stomatique s'est déroulée rapidement : valeurs de k_c proches de $0.46\% \text{ s}^{-1}$.

Discussion

Etant donné le rôle important joué par la lumière bleue sur la photosynthèse, nous n'avons pas directement comparé les mesures d'échanges gazeux issues du traitement ambiant avec le traitement absence de bleu. Dans cette étude, un filtre neutre a donc été utilisé afin d'obtenir un niveau d'efficacité photosynthétique similaire à celui présent sous le filtre coupant le bleu, permettant ainsi de ne pas analyser des réponses inhérentes à la photosynthèse (aspects trophiques). Les mesures de photosynthèse réalisées sous les traitements neutre et absence de bleu confirment effectivement qu'un niveau d'efficacité photosynthétique semblable était fourni par les 2 types de filtres (Figure 13c, B-ss). Ce point est essentiel, notamment dans le domaine de la photomorphogénèse, afin de déterminer (dans notre cas) si les réponses observées sont réellement imputables à l'absence de bleu ou bien si elles sont liées à des mécanismes dépendant du niveau de PAR. Au même titre que l'efficacité photosynthétique, d'autres paramètres (Figure 10) tels que le photoéquilibre des phytochromes (ϕ_c) ou encore le

ratio RC / RS (ζ), doivent être correctement caractérisés et comparables afin d'identifier clairement l'impact du facteur étudié (Christophe *et al.*, 2006).

1- Réponse des stomates à l'absence de bleu et implication du C_i

Bien que l'étude présentée ici ait été conduite à l'échelle foliaire, les extrapolations à l'échelle de la plante dans un peuplement végétal restent écologiquement pertinentes puisque les zones d'ombrage peuvent être très localisées et donc n'affecter que de petites surfaces sur la plante. L'objectif de cette étude était de quantifier l'effet de l'absence de lumière bleue sur la conductance stomatique et ses conséquences sur la transpiration foliaire. Les cinétiques de réponse de la conductance stomatique en fonction des traitements lumineux, illustrées sur la Figure 13a, montrent une certaine variabilité entre les plantes testées (particulièrement pour les traitements W et N). Cependant, la représentation des réponses « en relatif » de la conductance stomatique (non présenté) démontre que chaque feuille a répondu de façon quasi-similaire au traitement lumineux, et ce, proportionnellement à la conductance stomatique initiale, comme cela a été rapporté par Karlsson (1986).

Dans notre étude, la réduction du niveau de bleu à $1.80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a systématiquement déclenché une forte fermeture stomatique, instantanée et transitoire, et ce, quel que soit le stade des plantes utilisées. Au vue de la bibliographie, une telle réponse peut être reliée aux photorécepteurs de la lumière bleue situés dans les stomates : les phototropines. L'absence ou la réduction du niveau de bleu pourrait en effet impliquer les phototropines qui seraient alors capables d'inactiver des H^+ -ATPases. En conséquence, une faible quantité de protons serait transloquée dans l'espace apoplastique, ce qui déclencherait une dépolarisation de la membrane stomatique aboutissant alors à une fermeture des stomates. Ce raisonnement reste toutefois une hypothèse car il n'a été démontré que dans le cas opposé : en augmentant le niveau de bleu (Shimazaki *et al.*, 2007). Bien que nous ayons observé une réponse stomatique « inverse », les cinétiques rapportées dans cette étude restent cohérentes avec celles décrites dans d'autres travaux, même si les espèces utilisées diffèrent (Assmann et Grantz, 1990, Iino *et al.*, 1985). En effet, de très nombreuses études ont décrit que des pulses de lumière bleue déclenchaient des ouvertures rapides des stomates suivant des cinétiques proches de celles rapportées dans cette étude. Il est également intéressant de noter qu'au cours de ces nombreux travaux, une très large gamme de densité de flux de photons (appartenant au bleu) a été testée, allant de valeurs relativement élevées : $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Iino *et al.*, 1985) à de faibles niveaux : $1.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Karlsson, 1986). A notre connaissance, la fermeture stomatique

décrite dans la présente étude n'a cependant jamais été rapportée, même au cours des travaux où les pulses de lumière bleue étaient réalisés avec de très faibles niveaux. De plus, lors de ces études les faibles niveaux de bleu ont été surimposés sur des fonds de lumière rouge et/ou sur des plantes présentant un développement particulier lié aux conditions d'éclairage (*e.g.* plantes maintenues à l'obscurité, hypocotyles). Il est également à noter que, contrairement à notre expérience où le niveau de bleu a été réduit, la plupart de ces travaux a été réalisée avec des additions et non des réductions de lumière bleue, ce qui pourrait impliquer d'autres types de mécanismes (y compris trophiques).

Dans notre étude, une réponse particulière des stomates a également été observée, malgré la persistance du signal « absence de bleu », *i.e.* une augmentation de la conductance stomatique jusqu'à un nouvel état d'équilibre (Figure 13a). Cette réponse n'a jamais été décrite dans les autres études, et ce, même pour les rares expériences où de faibles niveaux de bleu ont été utilisés (Karlsson et Assmann, 1990, Shimazaki *et al.*, 2007). Cette singularité pourrait s'expliquer par les temps relativement courts durant lesquels les pulses de lumière bleue ont été appliqués dans ces études *i.e.* de l'ordre de la seconde ou de la minute (1 heure dans notre cas). En ce qui concerne notre étude, cette réouverture stomatique pourrait être expliquée, d'une part, par la demande photosynthétique constante qui règne sous le filtre coupant le bleu, puisque celui-ci maintient un niveau de PAR relativement élevé, ce qui se traduit par un flux d'électrons constant. D'autre part, la réduction du niveau de bleu entraîne une forte fermeture stomatique qui se traduit par une diminution de l'influx de CO₂ et donc du *Ci*. Une fois le stock de CO₂ consommé par la photosynthèse, un ou plusieurs signaux pourraient ainsi induire une réouverture stomatique afin de maintenir un niveau de *Ci* suffisant pour alimenter ce processus. Toutefois, la conductance stomatique ne regagne pas les valeurs initiales mesurées sous l'ombrage neutre. Ceci est dû à l'obtention d'un nouvel équilibre stomatique, contrôlé par le signal « absence de bleu » (=fermeture) et la demande photosynthétique *via* le *Ci* (=ouverture). L'intégration de ces signaux aboutirait alors à un nouvel équilibre et ainsi sur des valeurs intermédiaires de *g_s* tel que cela aurait pu être analysé à partir du schéma conceptuel proposé sur la Figure 8. Les résultats issus des manipulations du niveau de *Ci* chez les plus jeunes plantes confirment l'implication potentielle du *Ci* dans la réponse des stomates à l'absence de bleu, particulièrement en ce qui concerne la réouverture stomatique. En effet, une réduction de la concentration externe en CO₂ au cours du traitement absence de bleu, a déclenché une forte ouverture stomatique, ce qui a « permis » aux feuilles de maintenir un niveau suffisant de CO₂ assurant ainsi le fonctionnement photosynthétique (Figure 14b). En revanche, une augmentation du *Ci* en absence de bleu a déclenché une

fermeture stomatique supplémentaire qui « renforce » l'effet de l'absence de bleu, le niveau de CO₂ n'étant désormais plus limitant dans cette situation (Figure 14d). Ces résultats renforcent l'hypothèse d'un contrôle stomatique par le CO₂, tel que cela a été décrit par Morison et Gifford (1983), sensibilité qui pourrait alors moduler la réponse des stomates à la lumière bleue (Lasceve *et al.*, 1993). Ce contrôle pourrait impliquer des mécanismes photosynthétiques non directement liés au *Ci* (Assmann, 1999) *e.g.* la photosynthèse des chloroplastes stomatiques (Zhu *et al.*, 1998), ou encore la photorespiration (Igamberdiev *et al.*, 2004). Toutefois l'hypothèse d'une modulation des réponses stomatiques au bleu par le *Ci* *via* les mécanismes photosynthétiques nécessiterait d'autres expérimentations pour infirmer ou confirmer son implication notamment par des modifications des concentrations en O₂ de l'air ce qui permettrait de modifier (augmenter ou réduire) l'activité carboxylase de la RubisCO.

De plus, notre étude met en évidence l'importance du stade phénologique puisque les plantes les plus développées ont montré des réponses à l'absence de bleu moins marquées et retardées. Les différences observées entre ces deux lots de plantes peuvent s'expliquer par un effet «âge» (Field, 1987) et/ou par les besoins nutritifs importants de ces plantes et en particulier ceux liés au statut hydrique de la plante. L'implication de certaines hormones peut alors être envisagée *e.g.* l'Acide Abscisique (ABA) qui peut également contrôler la fermeture stomatique en cas de stress (Raschke, 1987, Roelfsema et Hedrich, 2005). En conséquence, des réponses morphogénétiques variables pourraient donc être observées dans un peuplement, non du fait de la variabilité génétique (intra-spécifique) mais du fait de différences de sensibilité au signal bleu qui seraient alors dépendantes du niveau de développement ontogénique des plantes.

2- Effets de l'absence de bleu à l'échelle stomatique : un lien avec le contrôle de la croissance foliaire par le bleu *via* la transpiration ?

Dans cette étude nous avons démontré que l'absence de lumière bleue déclenche une forte fermeture stomatique instantanée, suivie d'une chute de la transpiration de 41.1%. Ce résultat est également cohérent avec ceux décrits dans d'autres travaux, bien que les réponses inverses aient été observées *i.e.* des pulses de lumière bleue qui déclenchent une augmentation de la transpiration foliaire (Brogardh, 1975, Johnsson *et al.*, 1976, Karlsson, 1986). Nous pouvons donc faire l'hypothèse que cette fermeture stomatique, en réponse à l'absence de bleu, pourrait entraîner une réduction globale de la transpiration puisque Martre, Cochard et Durand

(2001) ont montré que la transpiration est fortement corrélée à la surface foliaire. D'autres expérimentations, à l'échelle de la plante entière, seraient cependant nécessaires afin de vérifier cette hypothèse d'un contrôle de la transpiration globale par la lumière bleue. De plus, de telles études pourraient permettre de caractériser les mécanismes impliqués dans l'augmentation de la vitesse de croissance foliaire induite par de faibles niveaux de bleu (Christophe *et al.*, 2006, Gautier et Varlet-Grancher, 1996). En effet, plusieurs hypothèses non exclusives, peuvent être avancées pour expliquer ce comportement. D'une part, des mécanismes biochimiques ou biomoléculaires peuvent être impliqués dans l'augmentation de la croissance foliaire consécutive à la réduction du niveau de bleu *e.g.* l'effet du bleu sur l'auxine (Thornton et Thimann, 1967), sur la division cellulaire (Munzner et Voigt, 1992) ou encore sur le relâchement des parois (Folta *et al.*, 2003). D'autre part, l'effet du bleu sur la croissance foliaire peut également être appréhendé par son effet sur la conductance stomatique et donc sur la transpiration, tel que cela a été décrit dans cette étude où la lumière bleue était absente, tout en maintenant un niveau de PAR relativement élevé. En effet, transpiration et vitesse de croissance foliaire sont fortement corrélées (Barillot, 2008, Martre *et al.*, 2001, Parrish et Wolf, 1983). Nous pouvons alors supposer que l'augmentation de la croissance foliaire (vitesse d'allongement), consécutive à la réduction du niveau de bleu, est reliée à la réduction de la conductance stomatique qui aboutit à une diminution de la transpiration. De plus, il apparaît que la chute de conductance stomatique, consécutive à la réduction de la lumière bleue (Figure 12a), présente une cinétique tout à fait comparable avec celle du pic de croissance foliaire (Figure 4) observé en 2008 (Barillot) suite à une diminution globale du niveau de bleu. Ces cinétiques sont effectivement comparables en termes de temps de réponse, d'amplitude et de durée. Un tel lien entre bleu, croissance et état hydrique a également été pressenti au cours d'une étude conduite par Cosgrove et Green (1981) à l'échelle cellulaire, où il a été montré que des pulses de lumière bleue inhibent la croissance des hypocotyles en diminuant les propriétés plastiques des parois cellulaires ce qui modifie la pression de turgescence. A l'issue de l'étude présentée ici, il apparaît donc que d'autres expérimentations, à l'échelle de la plante entière, sont requises afin de quantifier la contribution de la voie hydrique (*via* les stomates) dans le contrôle de la croissance foliaire par la lumière bleue.

Conclusion

Notre étude a permis de quantifier l'impact de l'absence de lumière bleue sur le comportement stomatique de feuilles matures chez la Fétuque élevée et en particulier sur la conductance stomatique et transpiration. En effet, la réduction du niveau de bleu à $1.80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, avec un niveau d'efficacité photosynthétique comparable à celui du traitement neutre a systématiquement déclenché :

- i) une forte fermeture instantanée des stomates de l'ordre de 43% (jeunes plantes).
- ii) une réouverture des stomates après 20 minutes d'absence de bleu en relation avec la concentration interne en CO_2 . Le niveau de C_i étant alors un bon candidat dans le pilotage de la réouverture stomatique.
- iii) un nouvel état stationnaire de g_s après environ 45 min dû à un équilibre entre les signaux « absence de bleu » et « C_i ».

Nous avons également observé une forte chute de la transpiration foliaire proportionnelle à celle de la conductance stomatique. Une telle modulation de la transpiration par la lumière bleue à travers les stomates constitue un point déterminant au vu de l'importance de ce processus hydrique sur le fonctionnement des plantes.

Perspectives

Les résultats présentés ici confirment la nécessité de mener d'autres expérimentations, à l'échelle de la plante entière, afin de quantifier l'implication de la voie hydrique (transpiration) dans les processus considérés comme photomorphogénétiques tels que l'augmentation de la vitesse de croissance foliaire en réponse à l'absence de bleu. Des travaux menés précédemment avaient en effet d'ores et déjà pu établir une relation entre bleu, croissance foliaire et transpiration. Cependant, les conclusions émises lors de ces travaux s'appuyaient sur une hypothèse forte qui était la modification de l'état stomatique en absence de bleu. L'étude présentée ici permet la confirmation, nécessaire, de cette hypothèse mais aussi de mettre en avant l'intégration, par la plante, des nombreux signaux pilotant la conductance stomatique et notamment le C_i . Cette observation, bien que réalisée au niveau foliaire, permettrait cependant d'expliquer la cinétique du pic de croissance observé sur des feuilles émergentes soumises à l'absence de bleu. Des travaux supplémentaires doivent donc être menés afin de i) quantifier l'implication du C_i dans la réponse stomatique et de préciser

son mode d'action (manipulation des concentrations en O₂ de l'air) et de ii) quantifier l'impact des variations de transpiration sur la réponse de la croissance foliaire à l'absence de lumière bleue (modification des statuts hydriques, courbes de réponse de la croissance foliaire à la lumière bleue, utilisation de mutants...*etc.*). La quantification de l'implication de la voie hydrique dans les processus photomorphogénétiques est essentielle, notamment dans la recherche des sites de perception à la lumière bleue. En effet, ces travaux se conceptualisent différemment si la transpiration s'avérait être un paramètre déterminant, puisque que dans ce cas la perception de la lumière bleue serait réalisée et intégrée de façon globale *via* les stomates situés sur l'ensemble de la surface foliaire. Ces expérimentations sont essentielles car la photomorphogénèse est un processus déterminant dans la compréhension du fonctionnement des peuplements végétaux, et ce, particulièrement pour les agrosystèmes prairiaux où la compétition pour la lumière est forte. Ainsi une meilleure compréhension des mécanismes de perception de la lumière bleue ainsi que des réponses qui en découlent permettrait d'adapter et d'améliorer la modélisation et le pilotage de ces agrosystèmes en choisissant (sélection / création variétale) par exemple des espèces présentant une architecture aérienne optimale pour leur développement.

L'étude présentée ici a fait l'objet d'un article scientifique qui sera très prochainement soumis pour publication au journal *Plant Physiology* (Barillot *et al.*, 2009).

Bibliographie

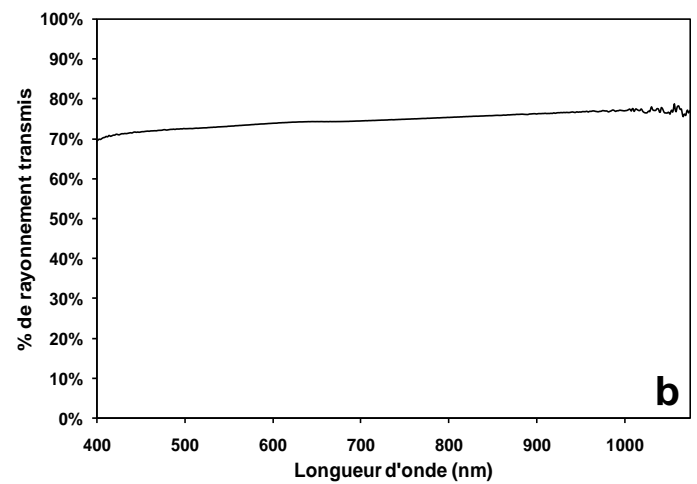
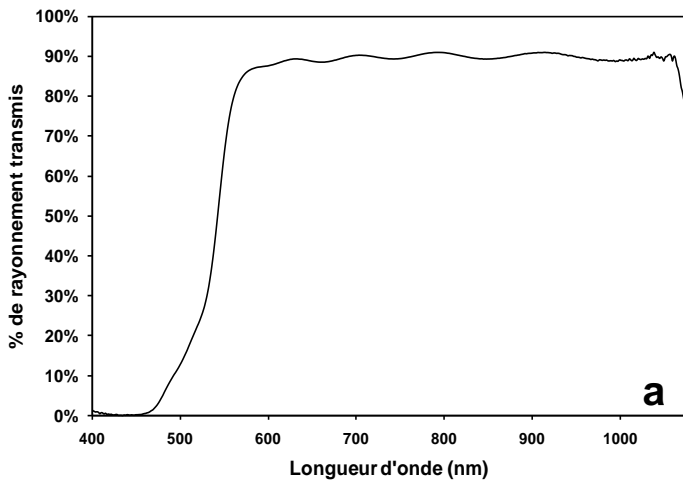
- Ahmad, M.** (1999) Seeing the world in red and blue: insight into plant vision and photoreceptors. *Current Opinion In Plant Biology*, **2**, 230-235.
- Ahmad, M., Grancher, N., Heil, M., Black, R.C., Giovani, B., Galland, P. and Lardemer, D.** (2002) Action spectrum for cryptochrome-dependent hypocotyl growth inhibition in Arabidopsis. *Plant Physiol.*, **129**, 774-785.
- Assmann, S.M.** (1999) The cellular basis of guard cell sensing of rising CO₂. *Plant Cell Environ.*, **22**, 629-637.
- Assmann, S.M. and Grantz, D.A.** (1990) Stomatal Response To Humidity In Sugarcane And Soybean - Effect Of Vapor-Pressure Difference On The Kinetics Of The Blue-Light Response. *Plant Cell Environ.*, **13**, 163-169.
- Ballare, C.L. and Casal, J.J.** (2000) Light signals perceived by crop and weed plants. *Field Crops Research*, **67**, 149-160.
- Ballare, C.L., Sanchez, R.A., Scopel, A.L., Casal, J.J. and Ghera, C.M.** (1987) Early Detection Of Neighbor Plants By Phytochrome Perception Of Spectral Changes In Reflected Sunlight. *Plant Cell Environ.*, **10**, 551-557.
- Ballare, C.L., Scopel, A.L. and Sanchez, R.A.** (1997) Foraging for light: photosensory ecology and agricultural implications. *Plant, Cell and Environment*, **20**, 820-825.
- Barillot, R.** (2008) Contribution à la recherche de sites de perception de la lumière bleue chez la Fétuque (*Festuca arundinacea*). INRA Lusignan.
- Brogardh, T.** (1975) Regulation Of Transpiration In Avena - Responses To Red And Blue-Light Steps. *Physiologia Plantarum*, **35**, 303-309.
- Casal, J.J. and Alvarez, M.A.** (1988) Blue-Light Effects On The Growth Of Lolium-Multiflorum Lam Leaves Under Natural Radiation. *New Phytologist*, **109**, 41-45.
- Chelle, M.** (2005) Phylloclimate or the climate perceived by individual plant organs: What is it? How to model it? What for? *New Phytologist*, **166**, 781-790.
- Christie, J.M. and Briggs, W.R.** (2001) Blue light sensing in higher plants. *Journal Of Biological Chemistry*, **276**, 11457-11460.
- Christie, J.M., Reymond, P., Powell, G.K., Bernasconi, P., Raibekas, A.A., Liscum, E. and Briggs, W.R.** (1998) Arabidopsis NPH1: A flavoprotein with the properties of a photoreceptor for phototropism. *Science*, **282**, 1698-1701.
- Christophe, A., Moulia, B. and Varlet-Grancher, C.** (2006) Quantitative contributions of blue light and PAR to the photocontrol of plant morphogenesis in *Trifolium repens* (L.). *Journal Of Experimental Botany*, **57**, 2379-2390.
- Cosgrove, D.J. and Green, P.B.** (1981) Rapid Suppression Of Growth By Blue-Light - Biophysical Mechanism Of Action. *Plant Physiol.*, **68**, 1447-1453.
- Escobar-Gutiérrez, A.J., Combes, D., Rakocevic, M., de Berranger, C., Eprinhard-Ciesla, A., Sinoquet, H. and Varlet-Grancher, C.** (2009) Functional relationships to estimate Morphogenetically Active Radiation (MAR) from PAR and solar broadband irradiance measurements: The case of a sorghum crop. *Agricultural and Forest Meteorology*, **In Press, Corrected Proof**.
- Field, C.B.** (1987) Leaf-age effects on stomatal conductance. In *Stomatal function* (Zeiger, E.F., G.D.; Cowan, I.R. eds). Stanford, California USA: Stanford University Press, pp. 367-384.
- Folta, K.M., Pontin, M.A., Karlin-Neumann, G., Bottini, R. and Spalding, E.P.** (2003) Genomic and physiological studies of early cryptochrome 1 action demonstrate roles for auxin and gibberellin in the control of hypocotyl growth by blue light. *Plant J.*, **36**, 203-214.

- Gautier, H.** (1991) Physiologie des stomates. réponse à la lumière bleue des protoplastes de cellules de garde. Toulouse: Université Paul Sabatier.
- Gautier, H. and Varlet-Grancher, C.** (1996) Regulation of leaf growth of grass by blue light. *Physiologia Plantarum*, **98**, 424-430.
- Igamberdiev, A.U., Mikkelsen, T.N., Ambus, P., Bauwe, H., Lea, P.J. and Gardestrom, P.** (2004) Photorespiration contributes to stomatal regulation and carbon isotope fractionation: a study with barley, potato and Arabidopsis plants deficient in glycine decarboxylase. *Photosynthesis Research*, **81**, 139-152.
- Iino, M., Ogawa, T. and Zeiger, E.** (1985) Kinetic-Properties Of The Blue-Light Response Of Stomata. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, **82**, 8019-8023.
- Johnsson, M., Issaias, S., Brogardh, T. and Johnsson, A.** (1976) Rapid, Blue-Light-Induced Transpiration Response Restricted To Plants With Grass-Like Stomata. *Physiologia Plantarum*, **36**, 229-232.
- Karlsson, P.E.** (1986) Blue-Light Regulation Of Stomata In Wheat Seedlings.1. Influence Of Red Background Illumination And Initial Conductance Level. *Physiologia Plantarum*, **66**, 202-206.
- Karlsson, P.E. and Assmann, S.M.** (1990) Rapid And Specific Modulation Of Stomatal Conductance By Blue-Light In Ivy (Hedera-Helix) - An Approach To Assess The Stomatal Limitation Of Carbon Assimilation. *Plant Physiol.*, **94**, 440-447.
- Kasperbauer, M.J. and Karlen, D.L.** (1986) Light-Mediated Bioregulation Of Tillering And Photosynthate Partitioning In Wheat. *Physiologia Plantarum*, **66**, 159-163.
- Lasceve, G., Gautier, H., Jappe, J. and Vavasseur, A.** (1993) Modulation Of The Blue-Light Response Of Stomata Of Commelina-Communis By Co₂. *Physiologia Plantarum*, **88**, 453-459.
- Lawson, T.** (2009) Guard cell photosynthesis and stomatal function. *New Phytologist*, **181**, 13-34.
- Lin, C.T.** (2002) Blue light receptors and signal transduction. *Plant Cell*, **14**, S207-S225.
- Martre, P.** (1999) Architecture hydraulique d'une talle de Fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.). Implications pour les relations entre la transpiration et l'expansion foliaire. Poitiers: Université de Poitiers.
- Martre, P., Cochard, H. and Durand, J.L.** (2001) Hydraulic architecture and water flow in growing grass tillers (*Festuca arundinacea* Schreb.). *Plant Cell Environ.*, **24**, 65-76.
- Morison, J.I.L. and Gifford, R.M.** (1983) Stomatal Sensitivity To Carbon-Dioxide And Humidity - A Comparison Of 2 C-3 And 2 C-4 Grass Species. *Plant Physiol.*, **71**, 789-796.
- Munzner, P. and Voigt, J.** (1992) Blue-Light Regulation Of Cell-Division In *Chlamydomonas-Reinhardtii*. *Plant Physiol.*, **99**, 1370-1375.
- Parrish, D.J. and Wolf, D.D.** (1983) Kinetics Of Tall Fescue Leaf Elongation - Responses To Changes In Illumination And Vapor-Pressure. *Crop Science*, **23**, 659-663.
- Raschke, K.** (1979) Movements of stomata. In *Encyclopedia of Plant Physiology* (Haupt, W. and Feinleib, M. eds). New York: Springer-Verlag, pp. 383-441.
- Raschke, K.** (1987) Action of abscisic acid on guard cells. In *Stomatal function* (Zeiger, E., Farquhar, G.D. and Cowan, I.R. eds). Stanford, California USA: Stanford University Press., pp. 253-279.
- Roelfsema, M.R.G. and Hedrich, R.** (2005) In the light of stomatal opening: new insights into 'the Watergate'. *New Phytologist*, **167**, 665-691.
- Rousseaux, M.C., Hall, A.J. and Sanchez, R.A.** (1996) Far-red enrichment and photosynthetically active radiation level influence leaf senescence in field-grown sunflower. *Physiologia Plantarum*, **96**, 217-224.

- Shimazaki, K.I., Doi, M., Assmann, S.M. and Kinoshita, T.** (2007) Light regulation of stomatal movement. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **58**, 219-247.
- Smith, H.** (1982) Light quality, photoperception, and plant strategy. *Annual Review of Plant Physiology*, **33**, 481-518.
- Smith, H. and Holmes, M.G.** (1984) *Techniques in photomorphogenesis*: Academic Press.
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H.** (1980) *Principles and Procedures of Statistics: a Biometrical Approach* New York: McGraw-Hill.
- Thompson, L. and Harper, J.L.** (1988) The Effect Of Grasses On The Quality Of Transmitted Radiation And Its Influence On The Growth Of White Clover *Trifolium-Repens*. *Oecologia*, **75**, 343-347.
- Thornton, R.M. and Thimann, K.V.** (1967) Transient Effects of Light on Auxin Transport in the *Avena* Coleoptile. *Plant Physiol.*, **42**, 247- 257.
- Varlet-Grancher, C., Moulia, B., Sinoquet, H. and Russel, G.** (1993) Crop structure and light microclimate: characterization and applications. In *Crop structure and light microclimate: characterization and applications*. eds). pp.
- Varlet-Grancher, C., Moulia, B., Sinoquet, H. and Russell, G.** (1993) Spectral Modification Of Light Within Plant Canopies - How To Quantify Its Effects On The Architecture Of The Plant Stand. In *Crop Structure And Light Microclimate* (Varletgrancher, C., Bonhomme, R. and Sinoquet, H. eds). Paris: INRA Editions, pp. 427-451.
- Verdenal, A.** (2004) Impact de la lumière bleue sur la croissance et la dynamique cellulaire des feuilles de Ray-Grass anglais (*Lolium perenne* L.) chez deux génotypes à morphologie foliaire contrastée.
- Wherley, B.G., Gardner, D.S. and Metzger, J.D.** (2005) Tall fescue photomorphogenesis as influenced by changes in the spectral composition and light intensity. *Crop Science*, **45**, 562-568.
- Zeiger, E., Iino, M. and Ogawa, T.** (1985) The Blue-Light Response Of Stomata - Pulse Kinetics And Some Mechanistic Implications. *Photochem. Photobiol.*, **42**, 759-763.
- Zeiger, E., Iino, M., Shimazaki, K.I. and Ogawa, T.** (1987) The blue-light response of stomata: mechanism and function. In *Stomatal function* (Zeiger, E., Farquhar, G.D. and Cowan, I.R. eds). Stanford, California USA: Stanford University Press., pp. 209-227.
- Zhu, J., Talbott, L.D., Jin, X. and Zeiger, E.** (1998) The stomatal response to CO₂ is linked to changes in guard cell zeaxanthin. *Plant Cell Environ.*, **21**, 813-820.

Annexes

▪ Annexe I



Annexe I : Propriétés optiques des filtres de transmission de lumière utilisées lors des expérimentations.

a) Lee filter HT 015, filtre utilisé dans le but de réduire la transmission de la lumière bleue.

b) Lee filter 216, filtre neutre abaissant le niveau de radiation globale, permettant ainsi de fournir une efficacité photosynthétique équivalente à celle présente sous le filtre coupant la lumière bleue.

▪ Annexe II

$$C_i = \frac{\left(g_{tc} - \frac{E}{2}\right) C_s - A}{g_{tc} + \frac{E}{2}}$$

Annexe II : Calcul de la concentration interne en CO_2 (C_i). g_{tc} : conductance totale au CO_2 , E représente la vitesse de transpiration, C_s la concentration en CO_2 de la chambre *Sample* et A la vitesse d'Assimilation du CO_2 .

Romain BARILLOT, 2009. Détermination de la cinétique de la conductance stomatique en réponse à l'absence de lumière bleue chez la Fétuque élevée. Effets transitoires et durables sur la transpiration foliaire.

Equipe d'Ecophysiologie des plantes fourragères, INRA, UR4 URP3F, BP 6, F-86600 Lusignan.

RESUME :

La qualité de la lumière et en particulier sa composition en bleu est impliquée dans le fonctionnement et la morphogénèse des plantes. De plus, des variations du niveau de lumière bleue se produisent fréquemment dans les peuplements végétaux puisque les zones d'ombre sont caractérisées par une diminution simultanée des niveaux de PAR et de bleu. Le fonctionnement des plantes *i.e.* les échanges gazeux sont donc affectés par ces deux facteurs. Toutefois, peu de connaissances sont disponibles sur le comportement des échanges gazeux en réponse à de faibles niveaux de bleu indépendamment du niveau de PAR. L'objectif de cette étude a donc été de caractériser, chez la Fétuque élevée, les réponses des échanges gazeux foliaires à une forte et immédiate réduction du niveau de bleu. Un Analyseur de Gaz par InfraRouge, combiné à des filtres de transmission de lumière, a donc été utilisé dans le but d'étudier le comportement de la conductance stomatique (g_s), de la transpiration (Tr), de l'assimilation (A) et de la concentration intercellulaire de CO_2 (C_i), en réponse à un PAR incident privé de bleu ($1.80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Les résultats ont été comparés à ceux issus d'un filtre neutre fournissant un niveau d'efficacité photosynthétique équivalent à celui du filtre coupant le bleu. Nous avons montré que la réduction du niveau de bleu entraîne une forte diminution instantanée de la conductance stomatique et de la transpiration de 44% et 41% respectivement. Toutefois une réouverture stomatique progressive a systématiquement été observée après 20 minutes de traitement absence de bleu, conduisant ainsi à l'obtention de nouveaux états stationnaires. Nous avons alors émis l'hypothèse que cette réouverture était en relation avec le niveau de C_i . Ces résultats ont été confirmés chez un lot de plantes plus développées, bien que les réponses soient moins marquées et retardées. Nous avons finalement conclu que la transpiration pouvait jouer un rôle important dans les réponses morphogénétiques liées au bleu, à travers la réponse des stomates.

Mots clés : Photomorphogénèse, Croissance foliaire, *Festuca arundinacea*, Signal, C_i .

Romain BARILLOT, 2009. Determination of the stomatal conductance kinetic under blueless PAR in tall fescue. Transient and long term effects on leaf transpiration rate.

Equipe d'Ecophysiologie des plantes fourragères, INRA, UR4 URP3F, BP 6, F-86600 Lusignan.

ABSTRACT:

Light quality and in particular its content in blue light is involved in plants functioning and morphogenesis. Blue light variations frequently occur within a stand as shaded zones are characterized by simultaneous decrease of PAR and blue light levels. Thus, plant functioning, *i.e.* gas exchange, is affected by these two factors. However, little is known about the only effects of low-blue light on gas exchange. The aim of this study was therefore to characterize in Tall fescue, leaf gas exchange responses to a strong and sudden reduction of blue light. An InfraRed Gas Analyser with light transmission filters was used in order to study stomatal conductance (g_s), transpiration (Tr), assimilation (A) and intercellular concentration of CO_2 (C_i) behaviours in response to blueless PAR ($1.80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Results were compared to those obtained under a neutral filter supplying an equivalent photosynthetic efficiency than the blue less PAR filter. We showed that the reduction of blue light triggered a drastic and instantaneous decrease of g_s and Tr by 44 % and 41% respectively. However, a progressive increase in g_s was observed 20 minutes after the low-blue light treatment thus leading to new steady states. We therefore hypothesized that this stomatal reopening was related to the C_i level. Results were confirmed in more developed plants although they exhibited delayed and less marked responses. We concluded that transpiration could play a key role in blue light induced morphogenetic responses in plants through the stomatal behaviour.

Key words: Photomorphogenesis, Leaf growth, *Festuca arundinacea*, Signal, C_i .