



HAL
open science

Le contrôle hydrique du fonctionnement stomatique du Pin maritime

Raphaël Dulhoste

► **To cite this version:**

Raphaël Dulhoste. Le contrôle hydrique du fonctionnement stomatique du Pin maritime. [Stage] Université des Sciences et Technologies (Bordeaux 1), Talence, FRA. 2005, 25 p. hal-02830725

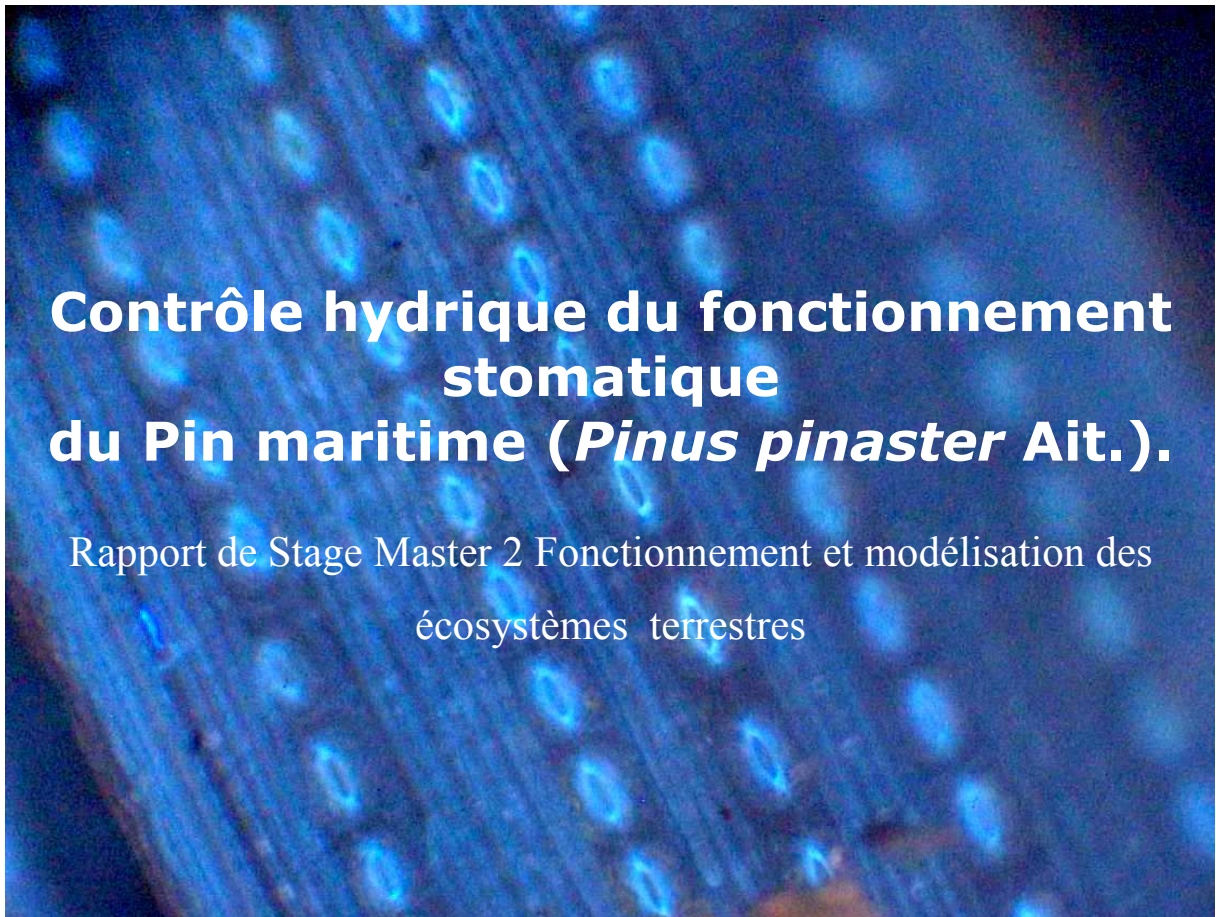
HAL Id: hal-02830725

<https://hal.inrae.fr/hal-02830725>

Submitted on 7 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.



**Contrôle hydrique du fonctionnement
stomatique
du Pin maritime (*Pinus pinaster* Ait.).**

Rapport de Stage Master 2 Fonctionnement et modélisation des
écosystèmes terrestres

Raphaël Dulhoste

Maître de Stage : Denis Loustau.

Talence Juillet de 2005.

Remerciement.

Vu que vous étiez beaucoup trop nombreux et que les remerciements sont toujours source de complications, je remercie tous ceux et celles qui m'ont accompagné pendant ce stage et qui ont participé à d'importants moments de discussion sur ce sujet, et sur ce qui ne s'écrit pas dans les mémoires mais dans l'âme des personnes et qui fait parti de ce que j'ai appris avec vous.

Merci.

Résumé

De nombreux auteurs ont montré que les stomates répondaient à la différence de pression de vapeur feuille-air et le Pin maritime semble montrer une réponse à ce facteur. Pour étudier le contrôle hydraulique du fonctionnement stomatique chez le Pin maritime, nous avons mesuré en laboratoire la réponse stomatique à la différence de pression de vapeur feuille-air et au potentiel hydrique foliaire d'aiguilles sur des pins maritimes de 8 ans, en contrôlant chacun de ces facteurs. Ces mesures ont été complétées par une caractérisation de la courbe pression – volume des aiguilles et des observations anatomiques de coupes transversales d'aiguilles à différents niveaux de déshydratation. Nous avons comparé ces mesures la courbe de vulnérabilité à la cavitation établie sur les mêmes arbres par la méthode de centrifugation. Nous montrons que la différence de pression de vapeur d'eau entre l'air et la feuille et la transpiration n'ont pas d'action directe sur l'ouverture stomatique. Par contre, la baisse du potentiel hydrique foliaire entre -1.6 et -2.0 MPa provoque la fermeture stomatique indépendamment des conditions de transpiration ou de différence de pression de vapeur de l'air. Le pin maritime présente par ailleurs une vulnérabilité relativement faible à la cavitation, atteignant 20% de perte de conductivité caulinare à un potentiel de -3.0 MPa. La chute de conductance stomatique au potentiel hydrique seuil s'accompagne d'une chute de la conductivité axiale apparente des aiguilles et de la perte de turgescence des tissus foliaires sans qu'une manifestation anatomique spécifique soit détectée. La fermeture stomatique intervient précocement à un potentiel supérieur de 1.0 à 1.5 Mpa aux déclenchements du collapsus du xylème foliaire et de la cavitation du xylème caulinare.

Sommaire.

<i>Introduction.</i>	2
<i>Matériel et Méthode.</i>	5
Matériel Végétal	5
Mesure du potentiel hydrique foliaire.	5
Dispositif de mesure	5
Réponse de la conductance stomatique au différentiel de pression de vapeur air -feuille à Potentiel hydrique constant.	7
Réponse de la conductance stomatique au Potentiel hydrique.	7
Courbe de vulnérabilité a la cavitation	8
Anatomie foliaire.	8
Mesure Courbe Pression Volume.	9
Mesure N, P, Chlorophylle foliaire	10
<i>Résultats.</i>	11
Réponse des échanges gazeux foliaires au VPD_{AF} .	11
Courbe de réponse de la conductance stomatique au potentiel hydrique foliaire.	13
Courbe de vulnérabilité à la cavitation.	13
Déformation anatomique foliaire	15
Conductivité axiale foliaire	16
Azote, Phosphore et chlorophylle foliaire.	16
Courbe Pression Volume.	16
<i>Discussion Conclusion</i>	18
<i>Bibliographie.</i>	21

Introduction.

La présence de stomates, ensemble de cellules épidermiques spécialisées délimitant un pore ou ostiole mettant en relation le milieu interne d'un organe végétal et l'atmosphère environnante, est une adaptation à la vie terrestre des végétaux supérieurs permettant la régulation des échanges gazeux de CO₂ et de vapeur d'eau. Actuellement les mécanismes mis en œuvre à l'échelle des cellules stomatiques pour contrôler l'ouverture des stomates sont bien établis. L'ouverture et la fermeture des stomates dépendent de la différence de pression de turgescence entre les cellules de garde et les cellules voisines (Franks et al 1998, Franks et al 2001). Les facteurs environnementaux qui induisent cette réponse et la façon dont les cellules stomatiques perçoivent ces signaux restent mal connus (Franks 2003).

Pendant les trois dernière décennies, le comportement des stomates a été étudié d'une part pour comprendre leur fonctionnement (Schulze et al 1972, 1986, Mott & Parkhurst 1991, Meinzer & Grantz 1991, Monteith 1995, Saliendra et al 1995, Bunce 1997, 2000, Meinzer et al 1997, Heath 1998, Day 2000, Maherali et al, 2003, Iio et al 2004, Brodribb & Holbrook 2005) et d'une autre pour modéliser la régulation biologique des échanges de vapeur d'eau et de CO₂ par les facteurs de l'environnement (Jarvis 1976, Tardieu & Davies 1992, Leuning 1995, Jones 1998, Gao et al 2002, Dewar 2002, Buckley & Mott 2002, Buckley, Mott & Farquhar 2003). Les stomates répondent à plusieurs facteurs externes (Schulze 1972, 1986, Mott & Parkhurst 1991, Meinzer & Grantz 1991, Monteith 1995, Meinzer et al 1997, Frank et al 1997, Lawson et al 2003, Macfarlane et al 2004) que l'on peut classer en deux grands groupes, les facteurs qui affectent directement la photosynthèse comme la lumière et la teneur en CO₂ atmosphérique ,et ceux qui affectent le fonctionnement hydrique des stomates, donc les plus importants sont l'écart de pression entre la feuille et l'air (VPD_{AF}) et le potentiel hydrique foliaire (Ψ_l).

Les plantes répondent à la sécheresse atmosphérique, augmentation du VPD_{air}, en réduisant l'ouverture de l'ostiole ce qui diminue la conductance stomatique à la diffusion de vapeur d'eau (Schulze 1972, 1986, Meinzer & Grantz 1991, Monteith 1995, Mott et al 1997, Bunce 1997, 1998, Heath 1998, Jarvis & Davies 1998, Day 2000, Mott & Franks 2001, Maherali et al, 2003, Iio et al 2004) ce qui a été vérifié dans le cas du Pin maritime (Loustau et al 1990, Loustau et al. 1996, Delzon et al 2004). La plupart de ces études montrent un effet de feedback hydraulique expliqué par l'action du VPD_{air} sur la transpiration et sa répercussion sur le statut hydrique des cellules de garde. Schulze et al (1972), Farquhar (1978) ont aussi montré une action directe, ou feedforward, du VPD_{air} sur les stomates. Plus récemment,

Comstock et Mencuccini (1998) ont constaté que la réponse stomatique au VPD_{air} est supprimée chez des plantes dont la partie souterraine est maintenue à un potentiel hydrique positif.

L'effet du potentiel hydrique sur la conductance stomatique a aussi été abondamment étudié (Reich & Hinckley 1989, Irvine et al, 1998, Oren et al 2001, Mediavilla & Escudero 2004). La majorité de ces études, comme Loustau et al. (1990) chez le Pin maritime ont montré un effet du potentiel de base sur la conductance maximale. L'effet du potentiel hydrique foliaire instantané en conditions naturelles a également été étudié chez différentes espèces tempérées et tropicales (Dang et al 1997, Brodribb & Holbrook 2003, 2004). Brodribb et Holbrook (2003, 2004) montrent que la conductance stomatique diminue de façon brutale quand le potentiel hydrique foliaire atteint une plage relativement étroite de valeurs négatives et que cette plage de valeurs critiques varie entre les espèces et au cours de la saison. Ces études en conditions naturelles ne permettent néanmoins pas de discriminer l'action des facteurs environnementaux de celles des stimuli internes, car il existe en particulier une forte corrélation entre le potentiel hydrique foliaire et le VPD_{AF} (Squire 1978, Bonal & Guehl 2001, Major & Johnsen 2001, Villagrosa et al 2003).

Une hypothèse, désormais classique, avancée pour expliquer la fermeture stomatique considère que la régulation stomatique limite la déshydratation pour protéger l'intégrité de son système de conduction xylémien en évitant la cavitation. Plusieurs études ont ainsi montré que la fermeture stomatique se produit avant le potentiel auquel apparaît l'embolisme du xylème (Raven 2002) du à la cavitation. Cependant, la marge de sécurité hydrique ménagée par la fermeture stomatique est variable d'une espèce à l'autre et il semble bien que la fermeture stomatique chez certaines espèces n'ait en fait pas de relation fonctionnelle avec la cavitation du xylème. Cochard et al. (2004b) ont montré que dans le cas de 4 espèces de conifères, le xylème foliaire s'écrase sur lui-même ce qui réduit sa conductivité hydraulique, et ce à un potentiel plus élevé que celui provoquant la cavitation du xylème. Ce collapsus des trachéides foliaires a également été observé par Brodribb & Holbrook (2005) dans les trachéides transversale des feuilles de Podocarpus. Une hypothèse récente fait ainsi jouer au collapsus un rôle dans la fermeture stomatique, sur la base que cet événement cause une diminution la conductivité du xylème et donc une chute du potentiel hydrique foliaire.

L'objet principal de notre étude était de discriminer dans le comportement stomatique du Pin maritime la réponse au statut hydrique foliaire de la réponse à la différence de pression de vapeur entre la feuille et l'atmosphère et d'explorer les hypothèses de régulation stomatique de la cavitation et du collapsus du xylème foliaire chez cette espèce. Nous avons basé notre

étude sur la mesure de la réponse des échanges gazeux d'aiguilles de pin maritime au VPD_{AF} et au potentiel hydrique sur rameaux détachés et en conditions contrôlées et sur l'observation des caractéristiques hydriques et anatomiques des aiguilles mesurées. Pour cela, nous avons mis au point une méthode de contrôle du potentiel hydrique foliaire de rameaux entiers au laboratoire et mis en œuvre des méthodes, de mesure rapide de la cavitation, ainsi que d'observation anatomique par microscopie à épifluorescence sur échantillon d'aiguilles congelées.

Matériel et Méthode.

Matériel Végétal

L'ensemble des mesures a été réalisé sur des rameaux de Pin maritime (*Pinus pinaster* Ait.) , récoltés sur des arbres âgés de 7 ans et d'environ 8 m de hauteur et 0.0835m de diamètre à 1.3 m de haut, situés dans la parcelle *L* du domaine de l'Hermitage (INRA Pierroton), origine verger à graines de Cabanac. Ces arbres avaient été utilisés pour la réalisation d'une expérience de fertilisation contrôlée en 1995. Les rameaux utilisés ont été prélevés dans le tiers supérieur de la couronne, la veille des mesures et laissés une nuit an acclimatation au laboratoire recoupés sous eau.

Mesure du potentiel hydrique foliaire.

Les mesures de potentiel hydrique ont été réalisées en utilisant la technique des chambres à pression de type Schölander. Au cours de nos expérimentations, nous avons mesuré le potentiel hydrique du xylème des rameaux échantillonnés en mesurant une aiguille imperméabilisée par une couche d'huile de paraffine. Le potentiel hydrique à la base des aiguilles installées dans la chambre de mesure d'échanges gazeux a été mesuré en utilisant l'aiguille « jumelle » du même brachyblaste.

Dispositif de mesure

Pour contrôler à la fois le VPD_{AF} et le potentiel hydrique des aiguilles, le dispositif de mesure suivant a été mis au point et utilisé. Le matin de la journée de mesures, le rameau est placé dans un système de double (figure 1) en chambre climatique:

- la première est la minicuvette du système de mesure d'échanges gazeux climatisé CMS-WALZ (CMS-400, compagnie WALZ Effletrich, Allemagne) ou sont placées les aiguilles sur lesquelles ont été effectuées les mesures d'échanges gazeux,
- la seconde chambre est une enceinte mobile de tissu en coton humidifié en permanence qui englobe l'ensemble rameau + minicuvette et permet de stopper la transpiration du rameau en saturant l'humidité de l'air quand cela est nécessaire.

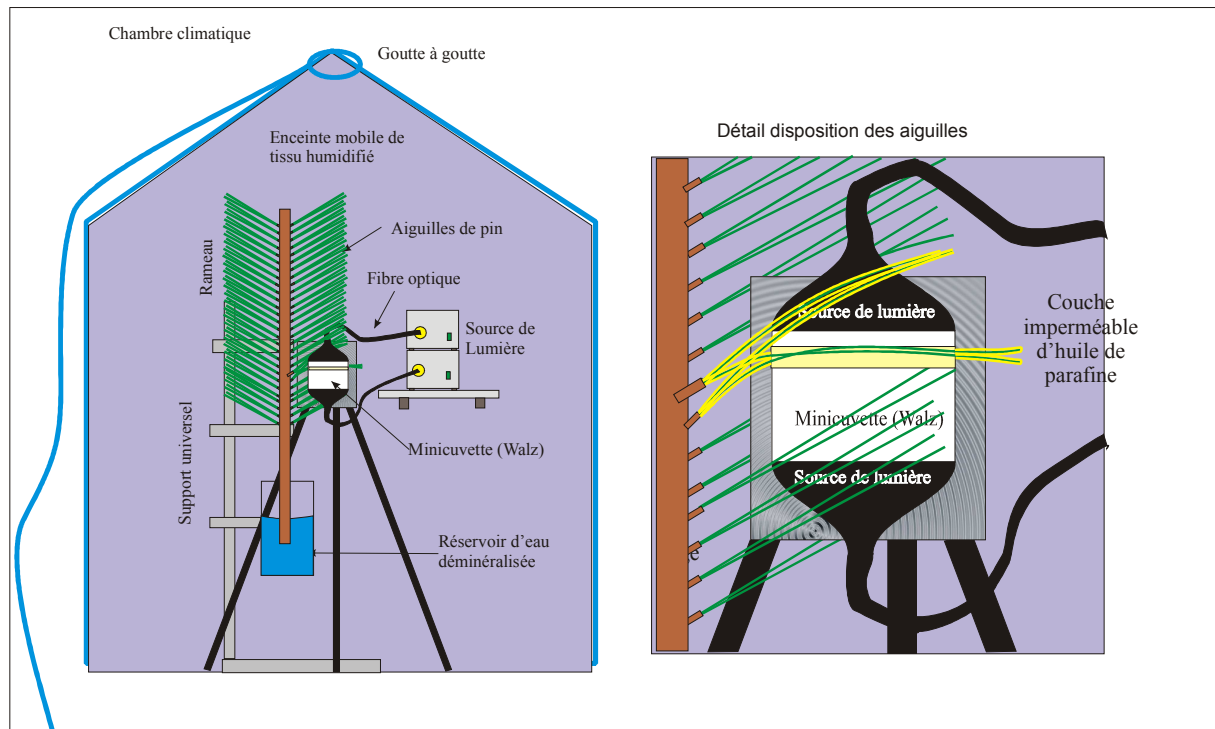


Figure 1: Dispositif de mesure utilisé.

Le CMS-400 est un système de mesure d'échanges gazeux de type ouvert, à chambre climatisée. La température de la chambre de mesure est contrôlée à l'aide d'un élément Peltier. L'humidité de l'air est régulée en entrée par un générateur de point de rosée et mesurée en sortie par un hygromètre à point de rosée avec une précision de 0.1 °C (Walz, TS-2 Germany). L'éclairement de chacune des deux faces des aiguilles est maintenu constant à $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ par deux sources de lumière halogène de 150 W transmises sur les deux faces supérieure et inférieure de la minicuvette par des fibre optique. La température des aiguilles de la minicuvette n'est pas mesurée, faute d'une sonde adéquate, mais calculée par bilan d'énergie comme chez Delzon et al. (2005). Pour chaque série de mesure un groupe de 4 à 6 aiguilles étaient placées dans la minicuvette en prenant soin de ne pas prendre deux aiguilles du même brachyblaste. Après s'être assuré que le rameau est réhydraté à un potentiel proche de 0 MPA en fin de nuit, le potentiel hydrique souhaité est obtenu de la façon suivante. Le rameau est laissé en transpiration à l'air libre dans la chambre climatique sous un éclairement de $300 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. La diminution de potentiel est suivie par mesure régulière du potentiel hydrique foliaire. Quand la valeur voulue de potentiel hydrique est atteinte, la transpiration du rameau est stoppée en le recouvrant avec la chambre de tissu humidifié (figure 1). Plusieurs tests préliminaires ont montré que le potentiel hydrique du rameau peut être maintenu à ± 0.05 Mpa pendant plusieurs heures.

Réponse de la conductance stomatique au différentiel de pression de vapeur air - feuille à Potentiel hydrique constant.

Nous avons réalisé une courbe complète de réponse de la conductance stomatique et de la photosynthèse nette au VPD_{AF} à trois niveaux de potentiel hydrique, 0, -1.0 -1.5 et -2.0 MPa et avec trois ou quatre répétitions à chaque niveau. Pour chaque rameau, la courbe de réponse stomatique au VPD_{AF} a ensuite été réalisée sur 4 ou 6 aiguilles d'un an placées dans la minicuvette du système climatisé de mesure d'échanges gazeux WALZ CMS (Compagnie Walz ; Effeltrich, Allemagne). Les aiguilles insérées dans la minicuvette étaient laissées attachées au rameau dont le potentiel hydrique a été amené à la valeur négative voulue. Chaque courbe de réponse a été faite à une concentration en CO_2 de 380-430 ppm, en augmentant le VPD_{air} en 7 paliers de 700 à 4500 Pa. Les VPD_{air} de 700 à 3000 Pa ont été réalisés à une température de l'air de 28 °C en variant la pression de vapeur d'eau de l'air avec un générateur de point de rosée à condensation. Les VPD_{air} supérieurs ont été obtenus en déshydratant l'air à un point de rosée inférieur à 0°C (limite basse du générateur de point de rosée) avec une colonne de silicagel en dérivation du circuit d'air principal. Le VPD_{air} maximum, 4500 Pa, a été obtenu en fixant la température de l'air de la cuvette à 31°C. Les conditions stationnaires d'échanges gazeux étaient obtenues en 30 à 45 mn à chaque palier de VPD_{air} . A chaque point de VPD nous avons mesuré le potentiel hydrique du xylème caulinaire du rameau sur une des aiguilles « jumelle » des aiguilles insérées dans la minicuvette. La température des aiguilles de la minicuvette n'a pas été mesurée faute d'une mesure adéquate, mais calculée par bilan d'énergie comme chez Delzon et al. (2005).

Réponse de la conductance stomatique au Potentiel hydrique.

Cinq courbes de réponse au potentiel hydrique foliaire ont été réalisées dans des conditions similaires aux précédentes. Les conditions dans la chambre ont été conservées constantes à un VPD_{air} de 1000 ou 2000 Pa. Les paliers de potentiel hydrique (-0.09, -0.5, -1, -1.5 et -2 MPa) ont été réalisés comme précédemment et conservés stables pendant 30 minutes pour opérer la mesure d'échanges gazeux. La conductivité hydraulique axiale apparente des aiguilles a été estimée à chaque palier au cours de deux des cinq courbes de réponse par le rapport entre la différence de potentiel ($\Psi_p - \Psi_d$) entre la partie distale (partie d'aiguille émergente de la chambre à l'opposé du pétiole) et la partie proximale (estimée par le potentiel de son aiguille jumelle imperméabilisée) d'une aiguille de la minicuvette pondérée par le flux de transpiration de l'aiguille, E , et la distance pétiole – minicuvette, l (Figure 1, eq. (1)).

$$K_l = (\Psi_p - \Psi_d) / E/l \quad (1)$$

Courbe de vulnérabilité a la cavitation

Pour déterminer le potentiel auquel se produit la cavitation dans le xylème, trois types de rameaux ont été récoltés : 1) des rameaux formés en 2004 de troisième ordre de ramification ($D_{\text{sous écorce}} \approx 9$ mm); 2) des rameaux de deuxième ordre formés en 2004 ($15 \leq D_{\text{sous écorce}} \leq 25$ mm) et, 3) des rameaux former en 2005 ($D_{\text{sous écorce}} \approx 8$ mm). Tous les rameaux ont été collectés, recoupés sous eau déminéralisée et maintenus à l'obscurité pour être transportés au laboratoire d'écophysiologie de l'INRA-Clermont-Ferrand , unité P.I.A.F. où ont été faites les mesures avec Hervé Cochard.

Avant la réalisation des courbe de vulnérabilité à la cavitation, les rameaux ont été écorcés, nettoyés et recoupés à nouveau sous eau. La technique utilisée a été mise au point par H. Cochard (Cochard 2002, Cochard et al. 2005) et permet de changer le potentiel hydrique au sein d'un axe conducteur par la force centrifuge. Les rameaux recoupés à une longueur de 26 cm sont placés dans un plateau métallique rotatif, en maintenant les deux extrémités de l'axe dans deux récipients de volume différent. La perte de conductivité relative est estimée en mesurant le flux d'eau circulant à travers le rameau pour une différence de pression connue. Pour ce faire la technique consiste à mesurer la vitesse de déplacement du ménisque d'eau du récipient contenant le plus d'eau qui se vide à travers l'axe dans le récipient le moins rempli car ces deux volumes d'eau sont soumis à une force centrifuge différente proportionnelle à leur masse et leur distance à l'axe de rotation. Les mesures de conductivité sont réalisées à une vitesse de rotation constante, inférieure à celle atteinte lors de la mise en tension de la colonne d'eau, correspondant à un potentiel de 1 MPa.

Anatomie foliaire.

Pour l'observation de l'anatomie foliaire, des faisceaux d'aiguilles ont été déshydratés à l'air en laboratoire sans les séparer de leur rameau afin de conserver le lien hydraulique entre les deux aiguilles jumelles. Le potentiel du rameau a été suivi toutes les 10 minutes, des échantillons on été prélevés à différents paliers de potentiel: -0.70, -1, -1.7, -2 et -2.9 MPa.

La partie apicale d'une des aiguilles (échantillon) a été congelée *in situ* dans de l'azote liquide pour les observations anatomiques. La partie basale (témoin) a été recoupée sous eau et réhydratée. Le potentiel hydrique de l'ensemble a été mesuré sur l'aiguille jumelle.

Les échantillons congelés ont été conservés à -36 °C jusqu'à l'observation microscopique qui a eu lieu dans les 48 heures. Les fragments d'aiguille témoin (réhydratés) ont été observés le jour même de la préparation, pour éviter tout risque de modification de structure ou composition.

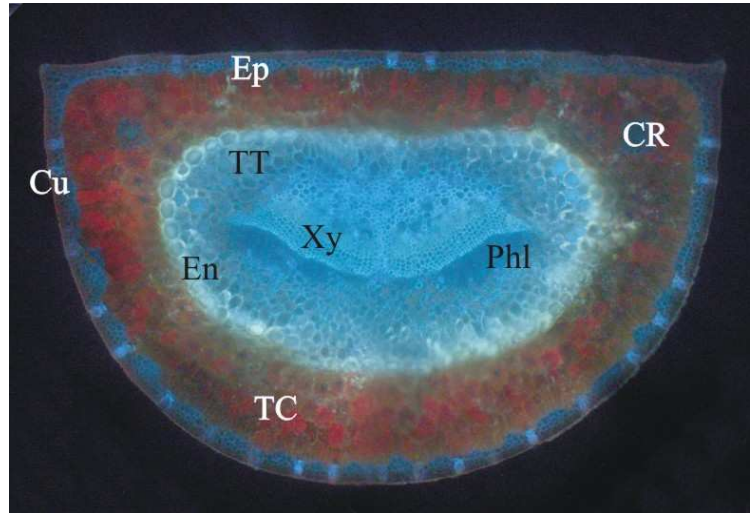


Figure 2: Coupe d'aiguille. Ep) Epiderme, Cu) Cuticule, TT) Tissu de transfusion, CR) Canal de résine, En) Endoderme, Xy) Xylème, Phl) Phloème, TC) Tissu chlorophyllien (Mauseth 1998).

Les observations ont été réalisées sur un microscope Olympus (modèle BH2-RFCA, Allemagne) équipé d'un système d'épifluorescence, qui permet de distinguer les tissus contenant de la lignine des tissus non lignifiés et la présence de chlorophylle. Les échantillons congelés étaient placés sur un porte-objet métallique avec un réservoir d'azote liquide permettant d'effectuer les coupes et les observations en maintenant l'échantillon congelé.

Sur le témoin les observations ont été réalisées sur le même porte-objet à température ambiante.

Mesure Courbe Pression Volume.

Pour les mesures des paramètres hydrauliques des aiguilles, deux groupes de courbe pression volume ont été réalisés, une première partie à la fin de l'hiver pour déterminer la meilleure façon de travailler et un autre groupe en parallèle avec les mesures d'échanges gazeux.

Ces courbes ont été réalisées selon une méthode dérivée de celle de Tyree & Hamel (1972), où sont déterminés pour un groupe de 40 aiguilles le poids frais, le poids sec, le poids frais à différent potentiel hydrique, en les déshydratant de façon graduelle. Chaque aiguille individuelle n'est mesurée qu'une seule fois. On a déterminé les différentes composantes du

potentiel hydrique des aiguilles et la fraction d'eau des aiguilles après ajustement d'une courbe de réponse de $1/\Psi_1$ à la teneur relative en eau.

Mesure N, P, Chlorophylle foliaire

Les teneurs en azote, phosphore et chlorophylle foliaire ont été déterminées avec C Lambrot (Laboratoire d'Analyses Végétales de l'unité EPHYSE) pour toutes les aiguilles utilisées pour les courbes de réponse au VPD_{air} et au Potentiel hydrique foliaire, suivant les méthodes standard du laboratoire, voir par exemple Delzon et al. (2004). Pour ces déterminations, le matériel végétal a été prélevé et congelé à -36 °C immédiatement après la fin des mesures et jusqu'au moment de la détermination. La détermination a été réalisée par extraction et colorimétrie.

Résultats.

Réponse des échanges gazeux foliaires au VPD_{AF} .

Les résultats montrent qu'il existe une interaction entre les effets du potentiel hydrique foliaire et le VPD_{AF} (figure 3). La valeur maximale de conductance stomatique est de $140 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, obtenues à de valeurs intermédiaires de VPD_{AF} entre 1500 et 2500 Pa. La figure 4 résume la réponse stomatique moyenne au VPD_{AF} obtenue à trois niveaux de potentiel hydrique pour l'ensemble de l'échantillon mesuré ($n=10$ rameaux).

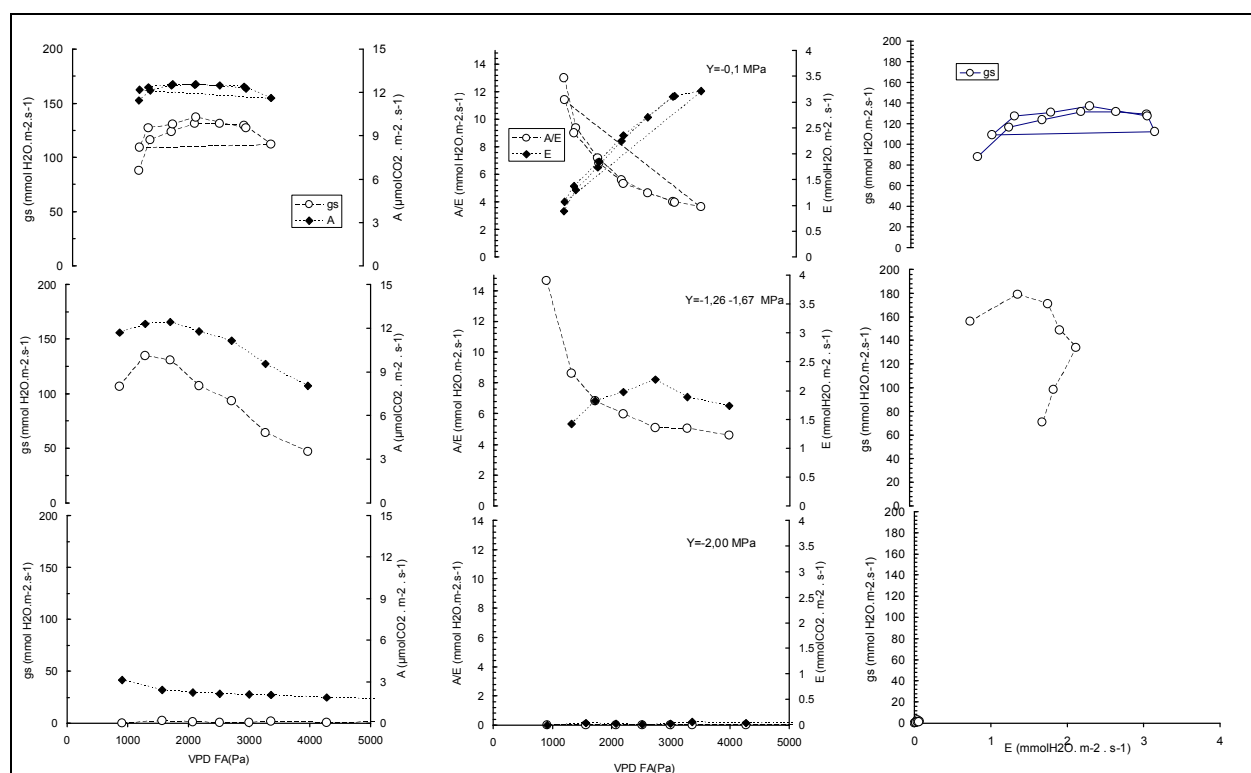


Figure 3 . Exemple des réponses de la conductance stomatique (g_s), photosynthèse nette (A), l'efficacité de l'eau instantanée (A/E) à la différence de pression de vapeur d'eau air-feuille (VPD_{AF}) à différents niveaux de potentiel hydrique foliaire, et relation conductance stomatique – transpiration obtenue.

Les courbes de réponse de la conductance stomatique et de l'assimilation suivent une même forme ce qui confirme que la photosynthèse est seulement limitée, dans cette expérience, par la concentration interne en CO_2 et donc par g_s .

Au niveau élevé de potentiel hydrique, la conductance stomatique se montre peu sensible au VPD_{AF} et la transpiration augmente linéairement avec le VPD_{AF} alors que l'efficacité de l'eau instantanée diminue suivant une forme parabolique. La conductance stomatique est insensible au niveau de transpiration. Au niveau intermédiaire, le potentiel hydrique n'a pas pu être

maintenu stable et on a observé une chute de potentiel foliaire qui passait typiquement de -0.8 à faible VPD_{AF} à -1.6 MPa à fort VPD_{AF} . A ce niveau, l'effet du VPD_{AF} est donc difficilement séparable de l'effet possible du potentiel hydrique foliaire. La conductance stomatique montre une réponse en «cloche» avec un maximum vers 1500Pa et une diminution aux plus forts VPD_{AF} . La transpiration augmente jusqu'à environ 2500 Pa et diminue ensuite et la relation $g_s - E$ montre une succession de trois phases, une phase de légère augmentation à faible transpiration, suivie d'une diminution de g_s à E croissant et enfin d'une diminution de g_s et E , bien décrites par Monteith (1995).

Pour les courbes obtenues à un potentiel hydrique de -2 MPa, la conductance stomatique est très faible et ne montre pas de réponse. Les autres variables A , E et A/E prennent aussi des valeurs très faibles.

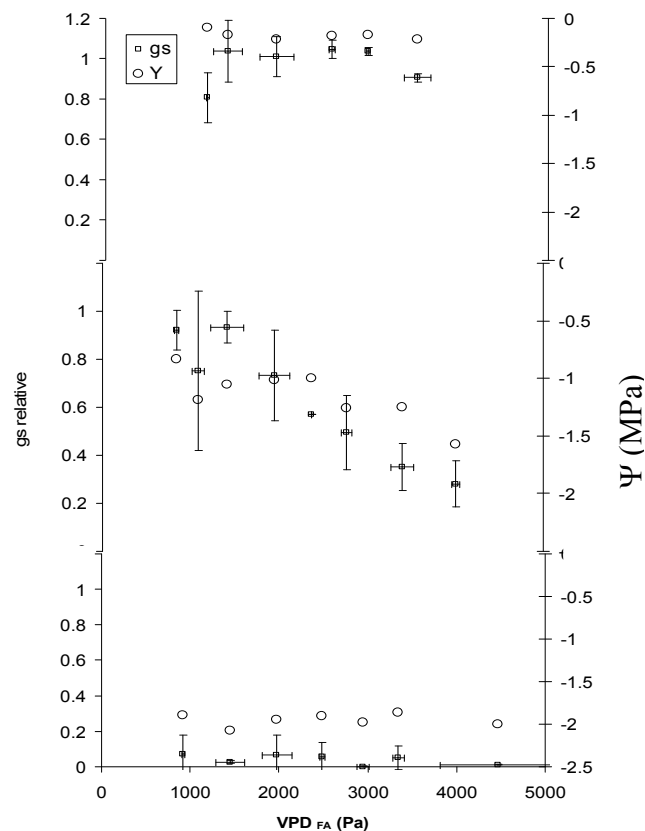


Figure 4 : Relation conductance relative moyenne et différence de pression de vapeur Feuille-Air (VPDAF) à trois niveaux de potentiel hydrique, -0.09, -0.8 à -1.6 et -2 MPa. Et potentiel hydrique des mêmes mesures. Chaque symbole représente la valeur moyenne de trois rameaux, les barres donnent l'écart type de la valeur moyenne. Sur le diagramme -0.8 -1.6, les valeurs moyennes de potentiel hydrique mesuré sont indiquées. Pour les autres graphes, les variations de potentiel hydrique entre deux niveaux de VPDAF étaient inférieures 0.05 MPa.

Courbe de réponse de la conductance stomatique au potentiel hydrique foliaire.

Les courbes de réponse de g_s au potentiel hydrique montrent que les stomates se ferment de façon brutale dans une plage de potentiel variable entre -1,6 et -2 MPa selon les répétitions opérées. A des potentiels inférieurs, g_s conserve une valeur proche de la valeur maximale tandis qu'en deçà g_s est minimale (illustration pour deux rameaux à différents VPD_{AF} figure 5). Cette réponse semble plus brutale à faible VPD_{AF} mais une seule répétition à ce niveau de VPD_{AF} a été faite.

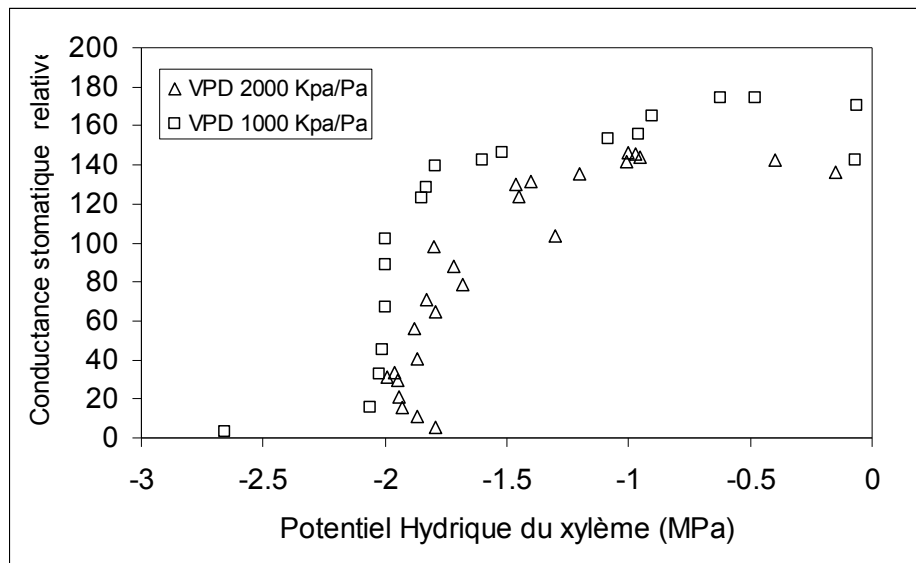


Figure 5 : Réponse de la conductance stomatique au potentiel hydrique du xylème à deux valeurs de différence de pression de vapeur feuille air (VPD_{AF}).

Courbe de vulnérabilité à la cavitation.

La courbe obtenue présente une allure classique. Nos résultats montrent que les rameaux utilisés subissent une perte de 50 % de conductivité à une valeur de potentiel hydrique entre -3.5 et -4.0 MPa (figure 4) et de 90 % vers -4.5 MPa (figure 6). Les différents rameaux montrent le même comportement indépendamment du niveau de développement ou de la section. Nous avons reporté sur le même diagramme la réponse stomatique au potentiel hydrique pour tous les plants mesurés ($n=5$) et la courbe de vulnérabilité (figure 7). Cette représentation permet de réaliser que la fermeture stomatique intervient à près de 1 MPa au dessus du seuil de 20 % de perte de conductivité (à -3 MPa).

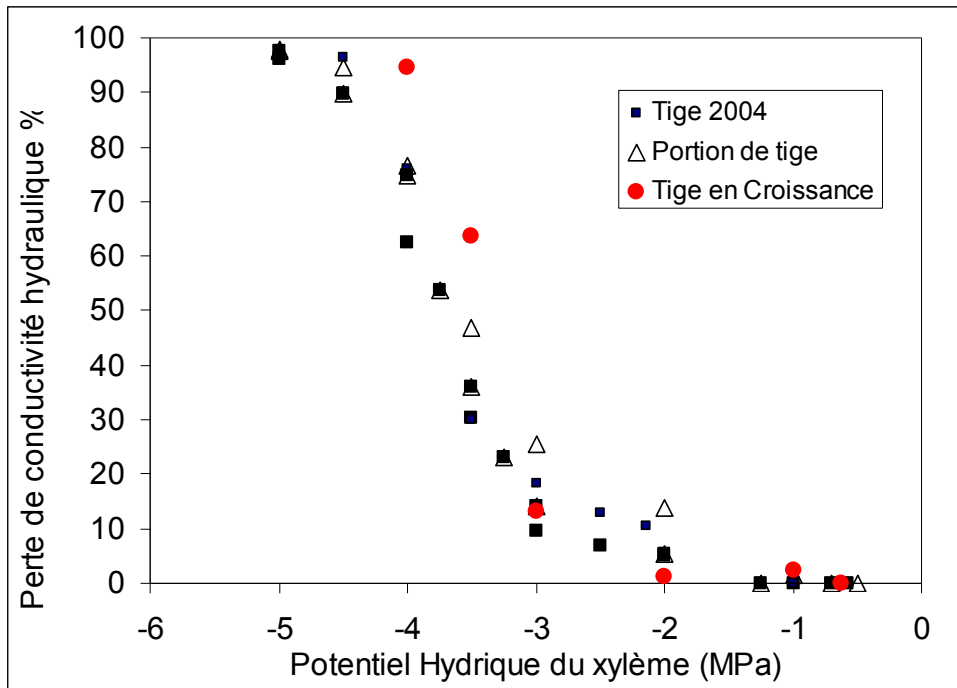


Figure 6 : Courbe de vulnérabilité à la cavitation pour les différents type de rameaux utilisés ; tige de 2004, portion de tige 2004 et tige 2005. La perte de conductivité caulinaire et exprimé en fonction de la conductivité maximale mesuré a -0.5 MPa.

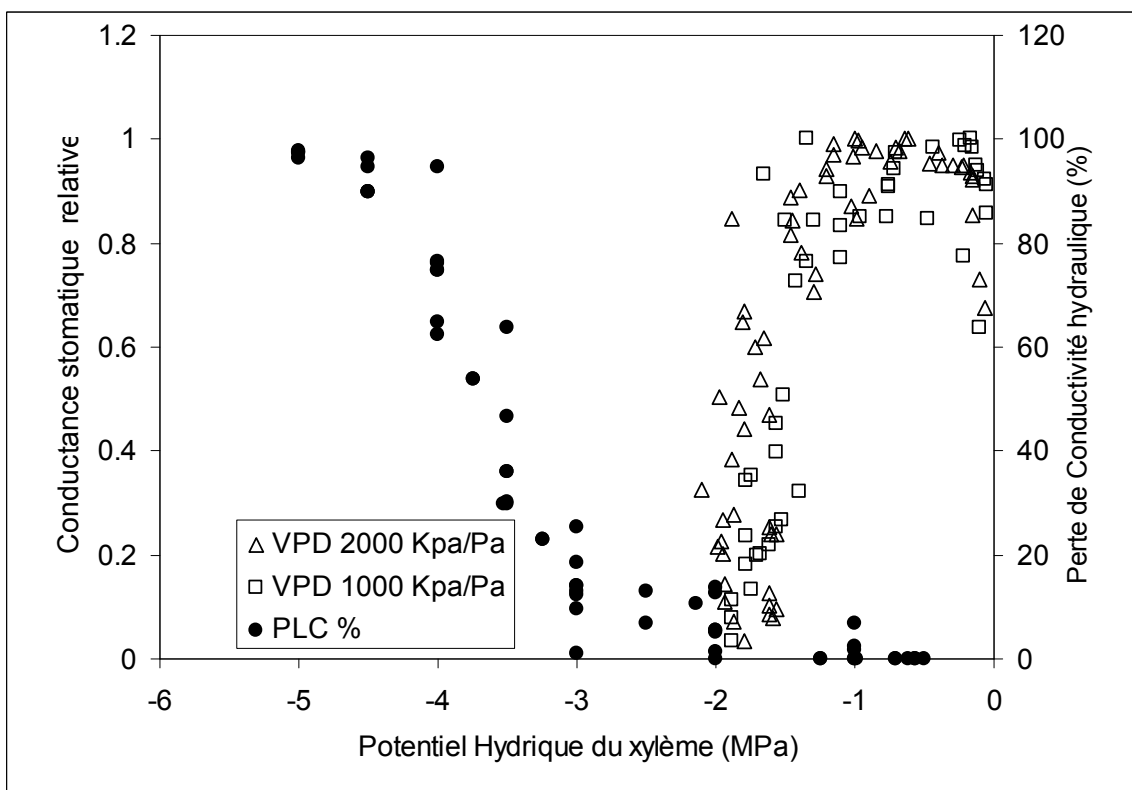


Figure 7 : Relation entre la conductance stomatique relative, perte de conductivité hydraulique du xylème et le potentiel hydrique. La conductance relative et estimée en fonction de la conductance maximale du rameau.

Déformation anatomique foliaire

Les aiguilles réhydratées montrent une proportion assez stable de des surfaces de section transversale des tissus foliaires : la partie la plus importante est le mésophylle (près de 50 %), suivie du tissu de transfusion (près de 35 %), le reste étant répartie entre épiderme, endoderme, cuticule, xylème et phloème. Nous n'avons pas détecté de déformation pariétale évoquant un collapsus des trachéides du xylème pour des potentiels aussi négatifs que -2.5 Mpa. Les aiguilles étudiées montrent une déformation au niveau des tissus internes à l'endoderme au fur et à mesure que l'aiguille se déshydrate (potentiels hydriques plus négatifs) (figure 8). Tout se passe comme si l'aiguille s'écrasait radialement sur elle-même, on note en particulier que la face plane de l'aiguille, légèrement convexe à 0 MPa devient concave à -2.0 Mpa..

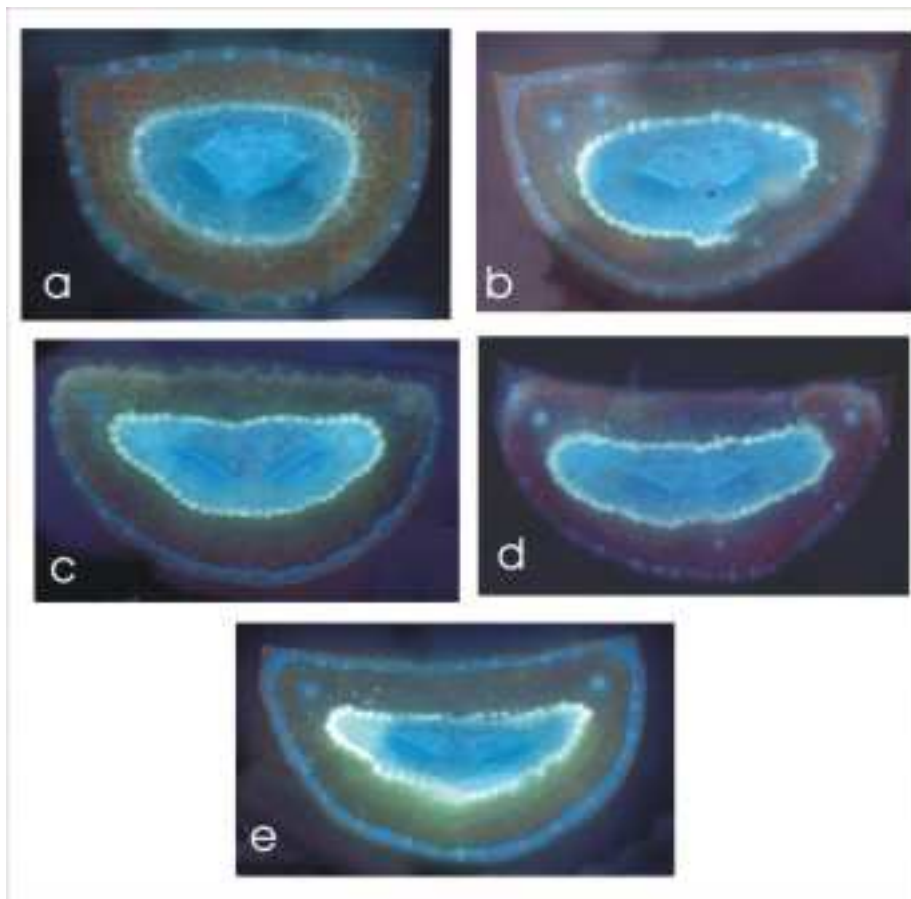


Figure 8 : Coupes transversales d'aiguille à différents niveaux de potentiel hydrique foliaire, vues en microscopie à épifluorescence à grossissement 10: a) 0 MPa, b) -1 MPa c) -1,60 MPa d) -2 MPa e) -2.9 MPa.

La compression de tissu se fait en plus grande partie suivant l'axe radial alors que les dimensions en largeur de l'aiguille sont à peu près constantes.

Conductivité axiale foliaire

Les mesures de potentiel hydriques ont été réalisées lors de 25 mesures d'échanges gazeux sur 6 des rameaux utilisés. Bien que cet effectif d'échantillonnage ne permette pas de donner une signification statistique à nos résultats, nous observons une chute brutale de conductivité hydraulique apparente à un potentiel hydrique inférieur à -1.4 MPa. La différence de potentiel hydrique entre la base et l'extrémité distale de l'aiguille pouvant alors atteindre 0.2 MPa.

Azote, Phosphore et chlorophylle foliaire.

Les teneur en d'azote, phosphore et chlorophylle sont stables durant toute la série de mesure et en accord avec les teneurs typiques pour cette espèce (figure 6 et 7).

Courbe Pression Volume.

La figure 8 représente les deux familles de courbe 1/ potentiel hydrique – teneur en eau établies en mars et mai 2005 (diagramme de Höfler modifié). Les deux courbes, d'allure classique, sont similaires et permettent d'estimer le potentiel osmotique à pleine turgescence à une valeur comprise entre -1.1 et -1.3 MPa . La perte de turgescence est observée à des valeurs de teneur relative en eau proches de 0.9 où le potentiel osmotique est compris entre -1.6 et -1.8 MPa.

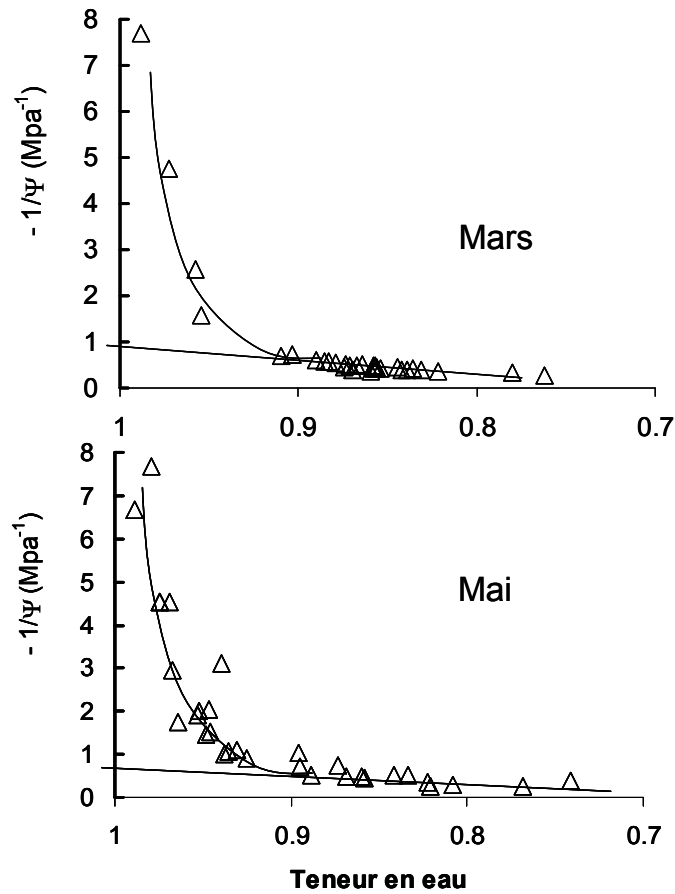


Figure 8 : Courbes potentiel ($1/\Psi$) - teneur en eau obtenues avant et pendant les mesures d'échanges gazeux sur un échantillon de 40 aiguilles prélevées sur les mêmes arbres. Chaque symbole représente une mesure une aiguille différente. Les droites de régression donnent la variation de $1/\Psi$ avec la teneur en eau. La courbe décrivant la variation non linéaire de $1/\Psi$ avec la teneur en eau correspond à la zone de turgescence.

Discussion Conclusion

La différence de pression de vapeur d'eau entre l'air et la feuille et la transpiration n'ont pas d'action directe sur l'ouverture stomatique. Ceci a déjà été observé sur des plantes maintenues à des potentiels positifs (Comstock & Mencuccini 1998, Mencuccini et al 2000, Tang & Boyer 2003) mais rarement pour des potentiels hydriques négatifs. Ce résultat amène à reconsidérer les données obtenues *in situ* montrant une relation étroite entre la conductance stomatique et le VPD_{AF} (Loustau et Granier 1993, Loustau et al. 1996, Bosc 1999, Delzon et al. 2005). Nos résultats suggèrent que cette relation serait un effet des variations de potentiel hydrique foliaire coïncidentes des variations du VPD_{AL} comme nous l'observons au niveau intermédiaire de potentiel hydrique (-0.8 à 1.6 Mpa, figure 3). Ce comportement est bien compatible avec les données de terrain montrant l'homéostasie du potentiel hydrique chez le Pin maritime (Loustau *et al.* 1990) puisqu'il aboutit à maintenir effectivement le potentiel hydrique au dessus d'un potentiel seuil (Delzon *et al.* 2005). Il interroge l'interprétation des observations classiques de la relation entre g_s et VPD_{AF} obtenues en conditions naturelles ou dans des expérimentations sur feuilles et rameaux détachés où le potentiel hydrique foliaire n'est pas contrôlé (Franks 2004, Monteith 1995). Dans sa revue de référence, Monteith observe que 234 articles sur 271 compilés reportent une diminution linéaire de g_s en réponse au VPD et cinq seulement l'absence de réponse, telle qu'observée ici à potentiel foliaire élevé. Nous montrons en fait que les trois régimes de réponse au déficit de pression de vapeur proposées par Monteith correspondent ici à des niveaux du potentiel hydrique foliaire : insensibilité au VPD, régime A, au potentiel hydrique >-1.0 MPa, une diminution approximativement linéaire ou feedback hydraulique, régime C, entre -1.0 et -1.6 MPa, et fermeture stomatique à transpiration décroissante, entre -1.6 et 2.0 MPa, régime B. Ce dernier correspond effectivement à une diminution de conductivité hydraulique (Dewar, 2002), ici foliaire. Nos résultats soulèvent enfin la question de la portée réelle des modèles de conductance stomatique courants, *e.g.*, Leuning (1995) qui décrivent une réponse stomatique au VPD indépendamment des variations de potentiel hydrique foliaire. Ils suggèrent au contraire que le comportement stomatique pourrait s'expliquer uniquement par des variations de potentiel hydrique foliaire.

La baisse du potentiel hydrique foliaire entre -1.6 et -2.0 MPa provoque la fermeture stomatique indépendamment des conditions de transpiration ou de différence de pression de vapeur de l'air. Cette forme de réponse, où la conductance stomatique chute de 90 à 20% de sa valeur maximale pour une variation assez faible de potentiel, 0.4 MPa, a été observée chez

plusieurs espèces par Dang et al (1997) et Brodribb et al. (2003) en conditions naturelles. Nos mesures en laboratoire sur rameaux détachés montrent de surcroît qu'en dehors de cette gamme de potentiel, la conductance stomatique est presque insensible au potentiel hydrique et au déficit de pression de vapeur de l'air. La chute de conductance stomatique se produit dans la plage de perte de turgescence des tissus foliaires, estimée dans le diagramme de Höffler entre -1.4 et -1.8 MPa. Cette concordance milite en faveur d'un contrôle hydraulique des cellules stomatiques, soit que celles-ci soient étroitement couplées au statut hydrique du reste de la feuille et perdent donc leur turgescence à cette valeur de potentiel hydrique soit que cette perte de turgescence provoque une chute de conductivité hydraulique du circuit xylème-mésophylle-épiderme-cellules de garde et amènent celles-ci à leur valeur propre de perte de turgescence. Nos résultats, à caractère partiel, sur la perte de conductivité foliaire iraient dans ce sens. L'hypothèse d'un médiateur chimique comme l'ABA ne peut cependant pas être ici écartée. Notons toutefois que cette fermeture est rapidement réversible ce qui n'est un signe de l'action d'une hormone.

Le Pin maritime présente une vulnérabilité relativement faible à la cavitation. La perte de conductivité induite par la mise sous tension du xylème caulinaire atteint 20% de sa valeur maximale à un potentiel de -3.0 Mpa, similaire à la valeur obtenue dans la littérature (Piñol & Salas 2000) ces valeurs de potentiel hydrique ne sont jamais observées en conditions naturelles chez cette espèce (Loustau et al. 1990, 1996, Delzon et al. 2004). La tige, sur laquelle nous avons fait cette caractérisation n'est peut être pas le tissu le plus vulnérable du système hydraulique chez le Pin maritime et il serait nécessaire de faire ces mesures sur des aiguilles et pétiole, parties périphériques du système et les plus vulnérables en général (Cochard, 2002).

La chute de conductance stomatique au potentiel hydrique seuil s'accompagne d'une chute de la conductivité axiale apparente des aiguilles et de la perte de turgescence des tissus foliaires mais sans manifestation anatomique spécifique. Bien que le nombre de répétitions des mesures de différence de potentiel distal – proximal ait du être limité en raison de la durée impartie à ce travail, nos mesures montrent clairement un seuil de potentiel situé à -1.5 Mpa environ au-delà duquel la différence moyenne de potentiel proximal– distal passe brutalement de ~0.01 à -0.20 MPa. Nous interprétons cette augmentation brusque comme une chute de conductivité hydraulique. Elle se produit à une valeur de potentiel proche de la perte de turgescence des tissus foliaires comme cela a été observé par Brodribb et Holbrook (2003) chez différentes espèces tropicales. Cependant, nous n'avons pas observé dans cette plage de potentiel hydrique de manifestation anatomique particulière: l'écrasement radial des différents

tissus au cours de la déshydratation débute avant -1.0 MPa et semble assez progressif. Cet écrasement radial se produit à des valeurs de potentiel bien supérieures au seuil de 20% de cavitation estimé ici (-3.0 MPa) et ne s'accompagne pas de collapsus du xylème, contrairement ce que pouvaient suggérer les données de Cochard (2004). Nos observations anatomiques ne montrent en effet pas de collapsus à des potentiels supérieurs à -2.8 MPa. Cependant, cette chute brutale de conductivité n'est pas sans évoquer un mécanisme de type cavitation (Jones & Sutherland 1991) et suggère de mesurer la vulnérabilité à la cavitation des trachéides foliaires de cette espèce.

La fermeture stomatique intervient donc ici à un potentiel supérieur de 1.0 à 1.5 Mpa aux déclenchements du collapsus du xylème foliaire et de la cavitation du xylème caulinaire. Le pin maritime se comporte donc ici comme une espèce à forte marge de sécurité (Sperry 2002) et la chute de conductance hydraulique due à la cavitation et l'embolie n'explique pas la réponse stomatique chez cette espèce au printemps. Le comportement observé ici n'est donc pas strictement un contrôle stomatique de la cavitation (Jones et Sutherland 1991 ; Cochard et al. 2002) ou du collapsus du xylème foliaire (Cochard, 2004), ce qui interroge les hypothèses couramment avancées sur le contrôle stomatique de la cavitation depuis Tyree et Sperry (1988), Jones et Sutherland (1992) et chez le Pin maritime par Loustau et al. (1989). Nous pensons que les pistes de mécanismes du contrôle stomatique à explorer dans le futur chez le Pin maritime sont plutôt la perte de turgescence, de conductivité axiale foliaire et les déformations anatomiques observées aux valeurs de potentiel hydrique proches du potentiel seuil (Brodribb et al. 2003).

Bibliographie.

- Bonal, D. & J.-M. Guehl 2001. Contrasting patterns of leaf water potential and gas exchange responses to drought in seedlings of tropical rainforest species. *Funct Ecology* 15(4): 490-496.
- Bosc, A. 1999. Etude expérimentale du fonctionnement hydrique et carboné des organes aériens du pin maritime (*Pinus pinaster* Ait) : intégration dans un modèle structure - fonction appliquée à l'analyse de l'autonomie carbonée des branches de la couronne d'un arbre adulte. Université Victor Segalen Bordeaux 2. Bordeaux, France.
- Brodribb, T. J. & N. M. Holbrook. 2003. Stomatal Closure during Leaf Dehydration, Correlation with Other Leaf Physiological Traits. *Plant Physiol.* 132(4): 2166-2173.
- Brodribb, T. J. & N. M. Holbrook. 2004. Diurnal depression of leaf hydraulic conductance in a tropical tree species. *Plant Cell Environ* 27(7): 820-827.
- Brodribb, T. J., N. M. Holbrook, E. J. Edwards & M. V. Gutiérrez. 2003. Relations between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. *Plant Cell Environ* 26(3): 443-450.
- Brodribb, T. J., N. M. Holbrook, M. A. Zwieniecki & B. Palma 2005. Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist* 165(3): 839-846.
- Brodribb, T. J. & N. M. Holbrook. 2005. Water Stress Deforms Tracheids Peripheral to the Leaf Vein of a Tropical Conifer *Plant Physiol.* 137(3): 1139-1146.
- Buckley, T. N., K. A. Mott, & G. D. Farquhar. 2003. A hydromechanical and biochemical model of stomatal conductance. *Plant Cell Environ* 26(10): 1767-1785.
- Bunce, J. A. 1997. Does transpiration control stomatal responses to water vapour pressure deficit? *Plant Cell Environ* 20(1): 131-135.
- Bunce, J. A. 2000. Responses of stomatal conductance to light, humidity and temperature in winter wheat and barley grown at three concentrations of carbon dioxide in the field. *Global Change Biol* 6(4): 371-382.
- Cochard H. 2002. A technique for measuring xylem hydraulic conductance under high negative pressures. *Plant Cell and Environment* 25: 815-819
- Cochard H., G Damour C. Bodet, I Tharwat, M. Poirier & T Ameglio. 2005. Evaluation of a new centrifuge technique for rapid generation of xylem vulnerability curves. *Physiologia Plantarum* In press.
- Cochard, H., A. Nardini & L. Coll 2004. Hydraulic architecture of leaf blades: where is the main resistance? *Plant Cell Environ* 27(10): 1257-1267.
- Cochard, H., F. Froux, S. Mayr, & C. Coutand. 2004. Xylem Wall Collapse in Water-Stressed Pine Needles. *Plant Physiol.* 134(1): 401-408.
- Cochard, H., L. Coll, X. Le Roux, & T. Améglio. 2002. Unraveling the Effects of Plant Hydraulics on Stomatal Closure during Water Stress in Walnut. *Plant Physiol.* 128(1): 282-290.
- Comstock, J. & M. Mencuccini 1998. Control of stomatal conductance by leaf water potential in *Hymenoclea salsola* (T. & G.), a desert subshrub. *Plant Cell Environ* 21(10): 1029-1038.

- Comstock, J. P. 2002. Hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and transpiration. *J. Exp. Bot.* 53(367): 195-200.
- Cunningham, S. C. 2004. Stomatal sensitivity to vapour pressure deficit of temperate and tropical evergreen rainforest trees of Australia. *Trees - Structure and Function* 18(4): 399-407.
- Day M. 2000. Influence of temperature and leaf-to-air vapor pressure deficit on net photosynthesis and stomatal conductance in red spruce (*Picea rubens*) *Tree Physiology* 20, 57-63
- Delzon, S., M. Sartore, R. Burllett, R. Dewar & D. Loustau. 2004. Hydraulic responses to height growth in maritime pine trees. *Plant Cell Environ* 27(9): 1077-1087.
- Delzon, S. , A. Bosc, L. Cantet and D. Loustau. 2005. Variation of the photosynthetic capacity across a chronosequence of maritime Pine correlates with needle phosphorus concentration. *Annals of Forest Science*. In Press
- Dewar, R. C. 2002. The Ball-Berry-Leuning and Tardieu-Davies stomatal models: synthesis and extension within a spatially aggregated picture of guard cell function. *Plant Cell Environ* 25(11): 1383-1398.
- Farquhar G.D. 1978. Feedforward responses of stomata to humidity. *Australian Journal of Plant Physiology* 5, 769-772.
- Farquhar, G. D. and T. D. Sharkey 1982. Stomatal Conductance and Photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* 33(1): 317-345.
- Franks, P. J. 2003. Use of the pressure probe in studies of stomatal function. *J. Exp. Bot.* 54(387): 1495-1504.
- Franks, P. J., Cowan, I. R. & G. D. Farquhar. 1998. A study of stomatal mechanics using the cell pressure probe. *Plant Cell Environ* 21(1): 94-100.
- Franks, P. J., I. R. Cowan, & 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 Environ* 20(1): 142-145.
- Franks, P. J., T. N. Buckley, J. C. Shope, & K. A. Mott. 2001. Guard Cell Volume and Pressure Measured Concurrently by Confocal Microscopy and the Cell Pressure Probe. *Plant Physiol.* 125(4): 1577-1584.
- Gao, Q., P. Zhao, X. Zeng, X. Cai & W. Shen. 2002. A model of stomatal conductance to quantify the relationship between leaf transpiration, microclimate and soil water stress. *Plant Cell Environ* 25(11): 1373-1381.
- Heath, J. 1998. Stomata of trees growing in CO₂-enriched air show reduced sensitivity to vapour pressure deficit and drought. *Plant Cell Environ* 21(11): 1077-1088.
- Iio, A., H. Fukasawa, Y. Nose . & Y. Kakubari. 2004. Stomatal closure induced by high vapor pressure deficit limited midday photosynthesis at the canopy top of *Fagus crenata* Blume on Naeba mountain in Japan. *Trees - Structure and Function* 18(5): 510-517.
- Irvine J., M. P. P., F. Magnani & J. Grace 1998. The response of *Pinus sylvestris* to drought: stomatal control of transpiration and hydraulic conductance. *Tree physiology* 18(6): 393-402.

- Jarvis P.G. 1976. The interpretation of the variations in leaf water potential and stomatal conductance found in canopies in the field. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B* 273, 593–610.
- Jarvis, A. & W. Davies 1998. The coupled response of stomatal conductance to photosynthesis and transpiration. *J. Exp. Bot.* 49: 399-406.
- Jones H.G. & Sutherland R.A. 1991. Stomatal control of xylem embolism. *Plant, Cell and Environment* 14, 607–612.
- Jones, H. 1998. Stomatal control of photosynthesis and transpiration. *J. Exp. Bot.* 49: 387-398.
- Lawson, T., K. Oxborough, J. I. L. Morison & N.R. Baker. 2003. The responses of guard and mesophyll cell photosynthesis to CO₂, O₂, light, and water stress in a range of species are similar. *J. Exp. Bot.* 54(388): 1743-1752.
- Leuning R. 1990. Modelling stomatal behaviour and photosynthesis of *Eucalyptus grandis*. *Australian Journal of Plant Physiology* 17, 159–175.
- Loustau D, A. Granier & F. El Hadj Moussa 1990. Evolution saisonnière du flux de sève dans un peuplement de pins maritime. *Ann. Sci. For.* 21 : 599-616.
- Loustau D, & A. Granier. 1993. Environmental control of water flux through maritime pine (*Pinus pinaster* Ait). In: *Water transport in plants under climatic stress*, Borghetti M., Grace J., Raschi A., Cambridge University Press, p 205-218.
- 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.
- Macfarlane, C., D. A. White, & M. A. Adams. 2004. The apparent feed-forward response to vapour pressure deficit of stomata in droughted, field-grown *Eucalyptus globulus* Labill. *Plant Cell Environ* 27(10): 1268-1280.
- Maherali, H., H. B. Johnson & R. B. Jackson. 2003. Stomatal sensitivity to vapour pressure difference over a subambient to elevated CO₂ gradient in a C3/ C4 grassland. *Plant Cell Environ* 26(8): 1297-1306.
- Major J. E. & K. H. Johnsen 2001. Shoot water relations of mature black spruce families displaying a genotype × environment interaction in growth rate. III. Diurnal patterns as influenced by vapor pressure deficit and internal water status *Tree Physiology* 21, 579–587
- Mauseth J. D. 1998. *Plant anatomy*. The Benjamin/Cummings publishing Company INC, Menlo Park, California, USA.
- Mediavilla, S. and A. Escudero 2004. Stomatal responses to drought of mature trees and seedlings of two co-occurring Mediterranean oaks. *Forest Ecology and Management* 187(2-3): 281-294.
- Meinzer F.C. & Grantz D.A. 1991. Coordination of stomatal, hydraulic, and canopy boundary layer properties: do stomata balance conductances by measuring transpiration? *Physiologia Plantarum* 83, 324–329.
- Meinzer, F. C., T. M. Hinckley & C. Ceulemans. 1997. Apparent responses of stomata to transpiration and humidity in a hybrid poplar canopy. *Plant Cell Environ* 20(10): 1301-1308.

- Mencuccini, M., S. Mambelli, & J. Comstock. 2000. Stomatal responsiveness to leaf water status in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is a function of time of day. *Plant Cell Environ* 23(10): 1109-1118.
- Monteith J.L. 1995. A reinterpretation of stomatal responses to humidity. *Plant, Cell and Environment* 18, 357–364.
- Mott K.A. & Parkhurst D.F. 1991. Stomatal responses to humidity in air and helox. *Plant, Cell and Environment* 14, 509–515.
- Mott, K. A. & P. J. Franks 2001. The role of epidermal turgor in stomatal interactions following a local perturbation in humidity. *Plant Cell Environ* 24(6): 657-662.
- Mott, K. A., F. Denne & J. Powell. 1997. Interactions among stomata in response to perturbations in humidity. *Plant Cell Environ* 20(9): 1098-1107.
- Oren, R., J. S. Sperry, G. G. Katuk, D.E. Pataki, B.E. Ewers, N. Phillips & K.V.R. Schafer. 1999. Survey and synthesis of intra- and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. *Plant Cell Environ* 22(12): 1515-1526.
- Oren, R., J. S. Sperry, B.E. Ewers · D.E. Pataki, N. Phillips ·& J.P. Megonigal. 2001. Sensitivity of mean canopy stomatal conductance to vapor pressure deficit in a flooded *Taxodium distichum* L. forest: hydraulic and non-hydraulic effects. *Oecologia* 126(1): 21-29.
- Piñol, J. & A. Sala 2000. Ecological implications of xylem cavitation for several Pinaceae in the Pacific Northern USA. *Funct Ecology* 14(5): 538-545.
- Raven, J. A. 2002. Selection pressures on stomatal evolution. *New Phytol* 153(3): 371-386.
- Reich & P. B. a. T. M. Hinckley. 1989. Influence of pre-dawn water potential and soil-to-leaf hydraulic conductance on maximum daily leaf diffusive conductance in two oak species. *Functional Ecology* 3: 719-726.
- Saliendra, N. Z., J. S. Sperry, J. Comstock. 1995. Influence of leaf water status on stomatal response to humidity, hydraulic conductance, and soil drought in *Betula occidentalis*. *Planta*: 196(2): 357-366.
- Schulze, E. D. 1986. Carbon Dioxide and Water Vapor Exchange in Response to Drought in the Atmosphere and in the Soil. *Annual Review of Plant Physiology* 37(1): 247-274.
- Schulze E D 1972. Stomatal responses to changes in humidity in plants growing in the desert. *Planta*: 108: 259-270.
- Sperry, J. S. 2000. Hydraulic constraints on plant gas exchange. *Agricultural and Forest Meteorology* 104(1): 13-23.
- Sperry, J. S. 2004. Coordinating stomatal and xylem functioning - an evolutionary perspective. *New Phytol* 162(3): 568-570.
- Squire G. R. 1978. Stomatal behaviour of Tea (*Camelia sinensis*) in relation to environment. *Journal of Applied Ecology*. 15: 287-301
- Tang, A.-C. and J. S. Boyer 2003. Root pressurization affects growth-induced water potentials and growth in dehydrated maize leaves. *J. Exp. Bot.* 54(392): 2479-2488.
- Tardieu F. & Davies W.J. 1992. Stomatal response to ABA is a function of current plant water status. *Plant Physiology* 98, 540– 545.

- Tardieu F. & Davies W.J. 1993. Integration of hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and water status of droughted plants. *Plant, Cell and Environment* 16, 341–349.
- Tyree MT & Hammel HT 1972. The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure-bomb technique. *J Exp Bot* 23:267–282.
- Tyrre M. T. & 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 Physiol* 88: 574–580
- Vilagrosa, A., J. Bellot, V. R. Vallejo & E. Gil-Pelegrín. 2003. Cavitation, stomatal conductance, and leaf dieback in seedlings of two co-occurring Mediterranean shrubs during an intense drought. *J. Exp. Bot.* 54(390): 2015-2024.